

温経湯の LH-RH 分泌促進作用

大阪大学医学部産科婦人科学教室

田坂 慶一 三宅 侃 大塚 志郎
吉本 泰弘 青野 敏博 谷澤 修

Stimulatory Effect of a Traditional Herbal Medicine, Unkeito on LH-RH Release

Keiichi TASAKA, Akira MIYAKE, Shirou OHTSUKA,

Yasuhiro YOSHIMOTO, Toshihiro AONO and Osamu TANIZAWA

Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka University Medical School, Osaka

概要 無月経, 不妊に対する漢方薬の効果が報告されているが, その作用機序に関する成績は殆どみられない。本研究では *in vitro* でラットの視床下部と下垂体を連続環流するシステムを用い, 漢方薬の中で, 排卵障害への有効性が報告されている温経湯の LH-RH と LH 分泌に及ぼす効果を検討した結果, 以下の成績を得た。

- 1) 温経湯は視床下部-下垂体を連続環流した時に LH 分泌を亢進させるが, 下垂体を単独環流した時には LH 分泌作用はない。
- 2) 温経湯は視床下部からの LH-RH 分泌を促進した。
- 3) 温経湯の生薬成分のうち, 牡丹皮は LH 分泌亢進作用を認めたが, 他の生薬成分の甘草, 人参, 芍薬, 川芎, 当帰にはその作用がなかった。

以上の結果から, 温経湯は視床下部に作用し, LH-RH の分泌を亢進させ, この LH-RH が下垂体からの LH の分泌を促進させることが明らかになり, 臨床的に視床下部不全による無排卵症に対して治療効果が期待される。

Synopsis In order to study the effect of Unkeito (Chinese name, Wen-Jan-Tang), a traditional Chinese herbal medicine and its components on luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) and LH release, the mediobasal hypothalamus (MBH) alone or the pituitary alone or the pituitary in sequence with the MBH from normal female rats in diestrus was perfused in a sequential double-chamber perfusion system. LH-RH release from MBH increased significantly ($p < 0.05$) by 50~100% of the basal level 30~90 min after the beginning of Unkeito administration. Unkeito at 5 μ g/ml induced significant LH release (60~95% increase) from the pituitary in series with the MBH, but had no effect on LH release from the pituitary perfused alone. One of Unkeito's components Botanpi induced significant LH release, although other five components had no effect on LH release. These data suggest that Unkeito induces LH release from the pituitary through hypothalamic LH-RH, and can be used for the treatment of patients with hypothalamic amenorrhea.

Key words: Traditional herbal medicine • Sequential double-chamber perfusion system • LH • LH-RH

緒言

漢方薬は産婦人科領域において種々の疾患に古くから使用されている。なかでも不妊症の治療に当帰芍薬散, 桂枝茯苓丸, 女神散, 四物湯, 桃核承気湯, 防風通聖散, 温経湯など10種類以上の漢方薬が使用され, 妊娠例が報告されている^{2)3)5)~11)}。これらのうちで当帰芍薬散と桂枝茯苓丸に関する報告例が多く, 妊娠率は40~50%に達

しているが, 他の漢方薬でも妊娠率は10~40%と報告されている。このように不妊症に対する漢方薬療法は良好な成績を得ているが, 性ステロイドホルモン, clomiphene citrate, hMG-hCG や LH-RH などの薬剤療法と比較し, その作用部位や作用機序の解明が著しく遅れており, 適応症例の選択も明確でない。本研究では, 排卵障害や不妊症などの治療に用いられる漢方薬の中から, 最近注

目されている温経湯を選び、ラットの視床下部一下垂体連続環流システムを用いて、LH-RHやゴナドトロピン分泌に及ぼす影響について検討し、温経湯の作用機序の一端を明らかにした。

研究方法

ラットの視床下部と下垂体を別々のチェンバーに入れ、in vitroで連続環流するシステムを開発した。このシステムを用い、温経湯やその構成成分を投与した際の環流液中のLHまたはLH-RHをradioimmunoassay (RIA)にて測定し、それぞれの薬剤の効果を検討した。以下には対象としたラット、使用薬剤、視床下部一下垂体連続環流システム、RIA系について詳述する。

1. 対象動物

Wistar-Imamichi系成熟雌ラット(180~220g)から毎日午前11時30分頃膣スミアを採取し性周期を確認した後、Diestrus-II期の午後0時30分に断頭屠殺した。視床下部は外側視床下部溝、視神経交叉部、乳頭体に囲まれた部分で、正中隆起腹側表面から2mmの深さとした。下垂体は後葉も含めて使用した。

2. 使用薬剤

排卵障害、無月経、不妊症などに効果があるとされている温経湯およびその成分を使用した。温経湯エキス粉末は12種の生薬を表1に示した割合で混合し、約10倍量の水を加え、100℃にて90分間加熱抽出したのち濾過し、減圧濃縮し、さらに噴霧乾燥し、褐色の粉末を得た。温経湯は専門家の永年の臨床経験からこれらの成分を薬効別に4群に分けている。本研究で使用したのは、産婦人科疾患の薬物である芍薬、川芎、当帰、牡丹皮の4成分と全身性疾患の薬物の内の人参、甘草の2成分の計6成分である。

3. 視床下部一下垂体連続環流システム

0.1mlのプラスチックチェンバー2個を連結し、ミニポンプにより環流液を環流し、フラクシオンコレクターで環流液を採集するのが、このシステムの概略である。

午後0時30分に断頭屠殺後、別々に摘出した視床下部と下垂体をそれぞれ第一と第二のチェンバーに入れ環流した。薬剤の視床下部への直接作

表1 温経湯の成分

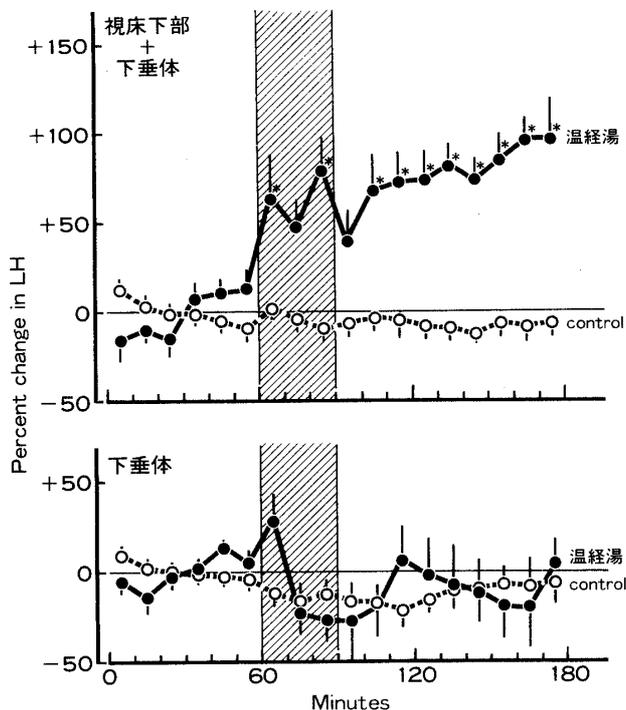
I. 全身性疾患の薬物	
① 桂皮	2 g
② 甘草	2 g
③ 人参	2 g
④ 麦門冬	4 g
⑤ 呉茱萸	1 g
II. 産婦人科疾患の薬物	
⑥ 芍薬	2 g
⑦ 川芎	2 g
⑧ 当帰	3 g
⑨ 牡丹皮	2 g
III. 消化器疾患の薬物	
⑩ 生姜	1 g
⑪ 半夏	4 g
IV. 出血性疾患の薬物	
⑫ 阿膠	2 g

用をみるために、第一のチェンバーに視床下部を入れ、第二のチェンバーに下垂体を入れずに環流し、薬剤の下垂体直接作用をみる際には、第一のチェンバーに視床下部を入れず、第二のチェンバーに下垂体を入れて環流した。環流系は37℃に保たれ、環流液はMedium 199(阪大微研)を95% O₂-5%CO₂の混合ガスを通じながら、ミニポンプを用い流速3ml/時間で環流した。午後3時までの2時間30分の間は環流系を安定させるために環流し、環流液は採集しなかつた。午後3時から環流液の採集を開始し、10分ごとに0.5mlずつ1時間6サンプルを採集した後、温経湯やその成分を5または500μg/mlの濃度に溶解したMediumまたは対照としてこれらの薬剤を含まないMediumを30分間環流し、その後は元のMediumに戻した。午後6時までの合計5時間30分環流したが、この内後半の3時間に18サンプルを採集した。また視床下部のみを環流して、環流液中のLH-RHを測定する際には、LH-RHの変性防止のために、5mMのBacitracinを5μlずつ採集チューブに予め入れておいた。この他の環流システムについての詳細は我々の他の報告¹⁴⁾に譲る。採集したサンプルは-20℃で保存した。

4. RIA

環流液中のLH-RHとLHはすでに報告^{12)~14)}したようにそれぞれのRIAにて測定した。LH-

図1 温経湯投与前後のLHの変動(斜線部分は温経湯投与時を示す。* $p < 0.05$, 対温経湯投与前基礎分泌値)



RH と LH の RIA の感度はそれぞれ0.6pg/tube と2ng/tube であり, 測定内変異係数はそれぞれ7.5%と13.8%であった。得られた成績ははじめの6サンプルの基礎分泌値の平均値をとりそれよりの増減を百分率で表わした。有意差検定は paired t-test を使用した。

成績

各薬物を投与前の LH-RH と LH の基礎分泌値はそれぞれ20~50pg/0.5ml/10分および50~100ng/0.5ml/10分で, 各実験群間で大きな差は認められなかった。

温経湯投与前後の LH の変動を図1に示した。上段には視床下部と下垂体を連続環流し, 5 μ g/ml の温経湯を投与した時の LH の変動を示しているが, 温経湯投与直後より環流液中の LH 濃度は投与前値の50~100%増加し環流終了まで, そのレベルを持続した。一方下段には下垂体のみを環流した成績を示したが, 温経湯を500 μ g/ml と大量投与した時でも, 濃度は有意な変動を認めなかった。

図2には視床下部のみを環流し, 温経湯を投与

図2 温経湯投与前後のLH-RH濃度の変動(* $p < 0.05$, 対温経湯投与前基礎分泌値)

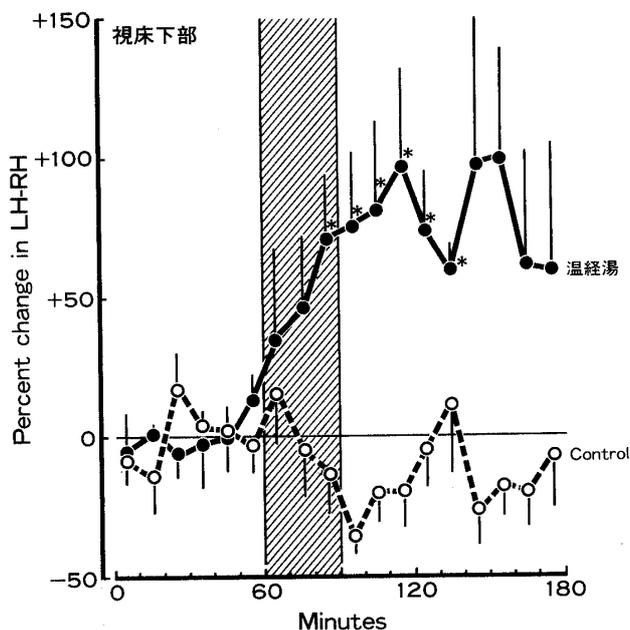
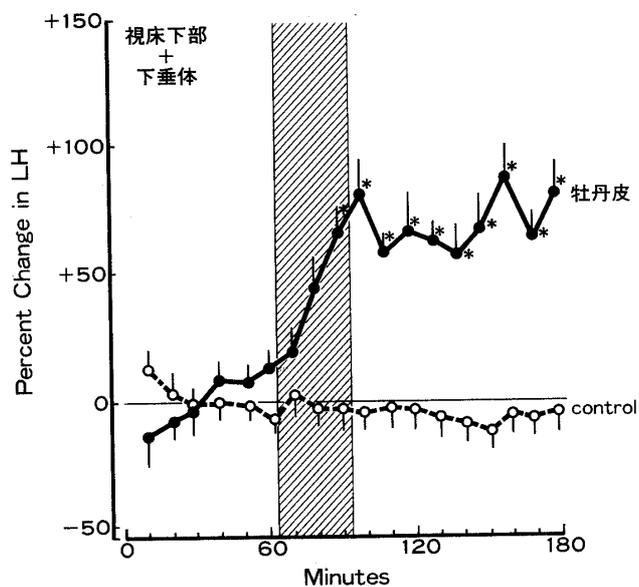


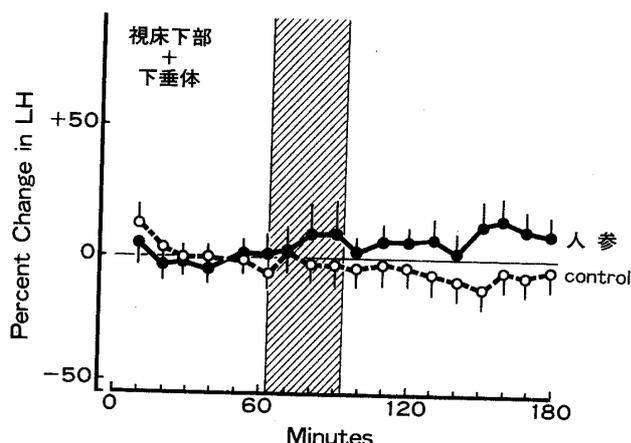
図3 牡丹皮投与前後のLHの変動(* $p < 0.05$, 対投与前基礎分泌値)



した時の環流液中 LH-RH 濃度を示した。温経湯投与直後より環流液中の LH-RH 濃度は上昇し, 温経湯投与開始後30分から90分迄の LH-RH の濃度は投与前に比較して有意に高かった。

すでに表1に掲げたように, 温経湯は12種類の生薬成分が配合されているが, この内の6種類の生薬成分の LH 分泌に及ぼす影響については以

図4 人参投与前後のLHの変動



下のおりである。視床下部と下垂体を連続環流し、牡丹皮を投与した際の環流液中のLHの変動を図3に示した。牡丹皮投与後から環流液中のLH濃度は増加し、投与前値の160~180%に達し、環流中はその値を持続した。成分の一つである人参の投与前後では、図4に示したように、殆ど変動を示さず、対照と比較しても有意な差は認めなかった。さらに温経湯の他の成分である甘草、芍薬、川芎、当帰を投与しても人参同様に、分泌に影響を与えなかった。

考 案

今回の *in vitro* でのラットの視床下部と下垂体を連続環流した実験成績をまとめると次のごとくなる。

1) 温経湯は視床下部を単独で環流した時のLH-RH分泌と視床下部一下垂体を連続環流した時のLH分泌を亢進させるが、下垂体を単独環流した時にはLH分泌を促進する作用はない。

2) 温経湯の生薬成分のうち、牡丹皮はLH分泌を亢進する作用を認めたが、甘草、人参、芍薬、川芎、当帰にはその作用がなかった。

これらの結果から、温経湯は直接下垂体に作用するのではなく、視床下部からのLH-RH分泌を促進させ、このLH-RHが下垂体に作用し、下垂体のLH分泌促進を惹起させるものと推定される。

温経湯に限らず漢方薬の視床下部一下垂体一性腺系機能に及ぼす影響について検討した報告はきわめて少ない。これらをまとめると、漢方薬は

1) カテコールアミン分泌、2) LH-RH分泌、3) LH-RHに対する下垂体の反応性、4) ゴナドトロピン分泌、5) 性ステロイドホルモン分泌などに影響を与えると考えられている。この中で温経湯の作用として報告されているのはLH-RHに対する下垂体の反応性の亢進、ゴナドトロピン分泌の亢進、性ステロイドホルモンの分泌亢進などであり、本研究の成績からLH-RHの分泌促進作用も実証されたことになる。

朝海ら¹⁾は続発性無月経患者に温経湯を2カ月間投与し、投与前後にLH-RHテストを施行したところ、LH-RHに対するゴナドトロピンの反応性に改善がみられたことを報告している。このことから温経湯は下垂体直接作用をも有している可能性がある。

温経湯投与後のゴナドトロピン分泌や性ステロイドホルモン分泌の亢進はヒトや動物において認められる⁴⁾が、とくにラットにおいて明らかである。左雨ら⁴⁾は生後20日齢の幼若メスラットに温経湯を経口投与し、腔開口の日齢、血中ゴナドトロピン、血中性ステロイドホルモンを測定した。腔開口の日齢は対照群の 34.0 ± 1.7 日に比べ、温経湯投与群では 31.6 ± 1.0 日と有意に早かった。同時に測定した血中FSHとエストラジオールはともに対照群では25日齢までは低値であるが、31日から33日齢にかけ急上昇し、34日齢には腔開口したのに比べ、温経湯を投与した群では両ホルモンとも29日齢に上昇し、33日齢には対照群とは逆に減少していた。つまり温経湯を投与すると、FSH、エストラジオールとも対照群と比較して4日以上早く増加し、その結果腔開口も2日以上早く認められたことになる。この実験成績から温経湯は血中ゴナドトロピン分泌を亢め、これが卵巣に作用し、血中エストラジオール分泌が増加し、性成熟を早めたと理解される。これらの成績からは温経湯の下垂体への直接作用なのか、上位中枢を介した結果なのかが明確でない。しかし今回のわれわれの成績を考慮に入れると、温経湯は視床下部に作用しLH-RH分泌を促進し、その結果下垂体性ゴナドトロピン、ついで卵巣性性ステロイドホルモン分泌の亢進を来たしたものと推定され

る。

以上のように温経湯は主として視床下部またはそれより上位中枢に作用し、性腺系機能を賦括するが、下垂体への直接作用を有している可能性もある。また今まで温経湯投与後の血中性ステロイドホルモン値の上昇が報告されているが、卵巣への直接作用なのか、下垂体などの上位中枢を介した結果なのか、明らかでなく、今後検討しなければならない。

温経湯は表1に示したように12種の生薬成分の混合物であり、これらは薬効別に4群に分けられている。温経湯のLH-RH分泌促進作用をさらに詳しく調べるためには、これら生薬成分のすべてについて検討しなければならないが、今回は産婦人科疾患の薬物とされている4種の生薬成分すべてと、全身性疾患の薬物のうちから2種の生薬成分を選び、ゴナドトロピン分泌に及ぼす影響を調べた結果、牡丹皮のみにその作用があり、他の生薬成分には認められなかった。これ以外の六つの成分については検討していないので明確でないが、温経湯のLH-RHとLH分泌促進作用は少なくとも牡丹皮にあると考えられる。牡丹皮は従来から血液凝固抑制作用と鎮痛・鎮静作用があるといわれており、その主成分はペオニフロリンやオキシペオニフロリンなどのモノテルペン配糖体とペオノール、ペオノサイドなどのフェニール性化合物である。このうち前者のモノテルペン配糖体は芍薬の根の抽出物であり、今回の生薬実験でも効果のないことが判明しているため、おそらくペオノールなどのフェニール性化合物がLH-RHやLHの分泌を促進する作用を有している可能性があり、今後の検討を待たなければならない。

以上のごとく温経湯の視床下部—下垂体—卵巣系に及ぼす作用はいまだ明確でないが、本研究で明らかにした視床下部からのLH-RHの分泌を促進する作用以外は不明といえる。今後は視床下部以外の部位、とくに下垂体や卵巣に対する温経湯の直接作用についても解明していく必要がある。

温経湯は臨床的には排卵障害例、とくに視床下部不全による無排卵症に、clomiphene citrate 同

様に治療効果が期待できるはずである。今までにも温経湯を無排卵症例に投与すると、29~41%²⁾⁵⁾に排卵が認められており、7~13%⁵⁾の妊娠率も報告されている。しかしこれらの症例が必ずしも視床下部不全症例に限られていなかったことを考え併せると、温経湯による排卵率、妊娠率はこれ以上に良くなるものと推定される。今後は視床下部不全婦人を対象にして温経湯の効果についての多数例での検討が待たれる。

本研究で使用した温経湯およびその生薬成分は津村順天堂より提供を受けた。またラットLHのRIAキットは米国NIAMDDKより提供された。

文 献

1. 朝海 怜, 岡田紀三男, 左雨秀治, 坂本 忍, 小畑英介, 岡本良平: 漢方薬投与の内分泌学的検討—湯経湯による短期的無月経治療の試み—. 日不妊会誌, 29: 419, 1984.
2. 楠原浩二, 松本和紀, 横山 敬, 小田原靖, 松江正始, 本村英三, 篠塚正一, 蜂屋祥一: 未婚の排卵障害婦人に対する温経湯の効果. 産婦人科研究のあゆみ, No. 1, (竹内正七, 坂元正一編), 17, 診断と治療社, 東京, 1984.
3. 村田高明, 宇田川康博, 林 茂隆, 北井啓勝, 倉沢滋明: 不妊と漢方療法. 臨産, 35: 343, 1981.
4. 左雨秀治, 朝海 怜, 熊井昭彦, 岡本良平: 温経湯の基礎的実験. 産婦人科研究のあゆみ, No. 2, (竹内正七, 坂元正一編), 99, 診断と治療社, 東京, 1985.
5. 新川唯彦, 宇津木利雄, 五十嵐正雄: 月経異常による不妊症に対する温経湯の使用経験. 産婦人科研究のあゆみ, No. 2, (竹内正七, 坂元正一編), 76, 診断と治療社, 東京, 1985.
6. 玉舎輝彦, 大野洋介, 山田俊夫, 和田圭介, 藤本次良, 岡田弘二: 不妊患者ならびに排卵障害を訴える未婚女性に対する漢方の試み. 日不妊会誌, 27: 472, 1982.
7. 田中俊誠, 桜木範明, 林 宏: 無月経および不妊婦人に対する漢方薬の使用経験. 産婦の世界, 33: 527, 1981.
8. 寺師睦宗: 不妊・不育症の漢方治療の30例. 日本東洋医学会誌, 27: 135, 1977.
9. 柳沼 恣: 高testosterone血症と高LH血症および稀発月経との関連性. 日不妊会誌, 28: 386, 1983.
10. 矢内原巧: 月経異常, 不妊症の漢方療法—その現代医学的評価—. 日産婦誌, 36: 451, 1984.
11. 雪村八一郎, 佐藤 晃, 山田隆司, 富田和彦, 福田 透: 和漢薬治療を試みた多嚢胞性卵巣, 下垂体腺腫による不妊症例. 信州医誌, 31: 228, 1983.

12. Hayashi, T., Glotz, H.J., Aono, T. and Matsumoto, K.: Influence of gestenorone caproate on rat prostate. *J. Steroid. Biochem.*, 11: 1217, 1976.
 13. Miyake, A., Kawamura, Y., Aono, T. and Kurachi, K.: Changes in plasma LH-RH levels during the normal menstrual cycle in women. *Acta Endocrinol.*, 93: 257, 1980.
 14. Miyake, A., Tasaka, K., Kawamura, Y., Sakumoto, T. and Aono, T.: Progesterone facilitates the LRH releasing action of oestrogen. *Acta Endocrinol.*, 101: 321, 1982.
(特別掲載 No. 5831 昭60・9・26受付)
-