

鹿茸, 紅参製劑靈鹿参の薬理学的研究 (第2報) :
神経系に対する作用

庄司 政満*, 森下 信一
救心製薬 (株) 総合研究所

Pharmacological Studies of Reirokusan Which Contains
Velvet Horn and Red Ginseng (2): Effects on Nervous System

Masamichi SHOJI* and Shin-ichi MORISHITA

*Research Laboratories, Kyushin Pharmaceutical Co., Ltd.,
1-31-7, Wada, Suginami-ku, Tokyo 166-0012, Japan*

(Received June 15, 2000)

Reirokusan improved the clinical signs of the experimental allergic encephalomyelitis in rats at doses of 300 and 1000 mg/kg/day p.o. and the signs of the experimental autonomic imbalance in mice, such as the increase in heart rate and the decrease in nociceptive threshold, at 1000 mg/kg/day p.o., and protected mice against the stress-induced decreases of the sexual and the learning behaviours at 300 and 1000 mg/kg/day p.o. and at 1000 mg/kg/day p.o., respectively. Furthermore, it improved the signs of the experimental peripheral neuropathy in rats, such as the decrease in muscle weights of hind-limb, the ataxia of ambulation and the shorting of distance between digits of hind-paw, at 100, 300 and 1000 mg/kg/day p.o., 300 and 1000 mg/kg/day p.o. and at 1000 mg/kg/day p.o., respectively. It also significantly facilitated the neurite outgrowth in the organ culture of the chicken embryonic dorsal root ganglia at a concentration of 16.7 mg/ml, and augmented the facilitation of that outgrowth by NGF at 5 mg/ml. These results suggest that Reirokusan may improve the abnormalities in the nervous system induced by abnormality in the immune system, stress or injury. In particular, the improvement of the abnormality in the nervous system induced by the injury may be related to the facilitative action of the medicine on the neurite outgrowth.

Keywords : Reirokusan; velvet horn; red ginseng; nervous system; encephalomyelitis; NGF; neurite outgrowth

霊鹿参は鹿茸と紅参を配合した生薬製剤である¹⁾。鹿茸は、副交感神経系の緊張亢進²⁾、神経・筋系の機能改善³⁾、心機能の正常状態への回復促進⁴⁾、内分泌系および消化器系の機能促進⁵⁾、疲労回復⁶⁾、性機能の回復促進⁷⁾、赤血球数増加⁸⁾、抗体産生増強⁹⁾、性ホルモン様¹⁰⁾などの作用を有することが報告されており、また、紅参は、抗ストレス⁶⁾、学習機能改善⁷⁾、性機能の回復促進⁸⁾、赤血球変形能促進⁹⁾、抗体産生増強¹⁰⁾など多くの作用を有することが報告されている。

著者らは前報¹⁾において、霊鹿参の免疫系に対する作用を検討し、これに免疫の異常を正常な方向へ回復させる作用があることを報告した。近年、内部環境の恒常性を保つための生体調節系として、免疫系、神経系、内分泌系が相互に関連しあって生体調節系として働いていることが紹介されていることから¹¹⁾、霊鹿参が、免疫系のみならず、神経系や内分泌系による生体調節系にも作用して、生体の維持や調節に関与しうものと考えられた。また、霊鹿参の構成生薬である鹿茸には、神経系の構成単位である複合脂質（特に、プロテオリピッド、ガングリオシド、スフィンゴミエリン）が多く含まれており¹²⁾、これらに、神経・筋系の機能促進作用があることから²⁾、今回は特に神経系に対する霊鹿参の作用の検討を中心に、ラットにおける実験的アレルギー性脳脊髄炎、宙吊りストレス負荷によって低下したマウスの性行動および学習行動、マウスにおける実験的自律神経失調症、ラットにおける実験的末梢性神経麻痺、ならびに鶏胚後根知覚神経節における神経線維増生に対する作用を検討した。

材料及び方法

1. 実験動物

IV-CS系雄性または雌性マウス（動物繁殖研究所）、ddY系雄性マウス、Wistar系雄性ラット（以上、日本エスエルシー）、Lewis系雌性ラット（セアック吉富）、Hartley系雄性モルモット（日本医科学動物資材研究所）、白色レグホーン・バブコック系鶏有精卵（三宅解卵所）を使用した。

2. 使用薬物

霊鹿参（救心製薬株式会社；鹿茸末（宮忠、以下鹿茸）1200 mg、紅参乾燥エキス（松浦薬業、以下紅参）800 mgおよび賦形剤40 mgを含有する）、尿素（国産化学）、カルボキシメチルセルロース（CM-52, Whatman）、結晶ペニシリンGカリウム（萬有製薬）、アミドブラック10B、シアノコバラミン（以下VB₁₂）（以上和光純薬工業）、ウシ結核死菌H37RA、フロイント不完全アジュバント（以下IFA）（以上Difco）、カプトプリル、塩酸イミプラミン（以下イミプラミン）、ジンセノサイドRb₁、牛血漿トロンピン、牛血清アルブミン（以下BSA）、HEPES（以上Sigma）、安息香酸エストラジオール（オバホルモン水懸注；帝国臓器）、グリシン、プロゲステロン（以上東京化成）、塩化アセチルコリン（オビソート注射用；第一製薬、以下アセチルコリン）、鶏血漿（クエン酸処理；ジャパンラム）、神経成長因子（mouse；Chemicon、以下NGF）、ダルベコー改変最小必須培地（高グルコース型12100；Gibco、以下DMEM）を使用した。

霊鹿参の投与量は、*in vitro*の実験を除いて、100、300、1000 mg/kg/dayとした。鹿茸および紅参の投与量は、霊鹿参1000 mg/kg/dayに含有される588 mg/kg/dayおよび392 mg/kg/dayとした。

特記しないかぎり、霊鹿参および鹿茸は蒸留水に懸濁し、また、紅参は蒸留水に溶解して10 ml/kgを経口投与した。対照群の動物には相当量の蒸留水あるいは生理食塩水を被験薬液の代わりに与えた。

3. アレルギー性脳脊髄炎（EAE）に対する作用

感作に用いる抗原（myelin basic protein；以下MBP）を、Deiblerら¹³⁾の方法を参考にして抽出、精製し、電気泳動法¹³⁾によりMBP精製物を確認した。すなわち、Hartley系雌性モルモット（250～571 g）を脱血、安楽死させた後、脊髄を摘出して直ちに凍結させ、クロロホルム-メタノール溶液を加えて5000 rpmで5分間ホモジナイズした。冷蔵庫内で一晩攪拌し

た後吸引ろ過し、組織残物をクロロホルム-メタノール溶液、そして更にアセトンにて処理して吸引ろ過し、組織残物に蒸留水を加えて一晚攪拌した。吸引ろ過後、組織残物に蒸留水を加えて攪拌し、1 N HCl で pH 3.0 に調整した。pH 3.0 にて1時間放置し、この酸性懸濁液を 12500 × g で1時間遠心分離後ろ過し、ろ液を凍結乾燥して MBP 抽出物を得た。この抽出物を 0.001 N HCl 中に再溶解して pH 3.0 に調整し、精製した尿素溶液¹³⁾を加えて 2 M 尿素を含む MBP 抽出物を調製した。これに、凍結組織と同量のカルボキシメチルセルロースを加えて攪拌し、1 N NaOH で pH 11.6 に調整して攪拌後、遠心分離 (3000 rpm, 5 min, 4 °C) した。残渣に 2 M 尿素, 0.02 M NaCl, 0.02 M グリシネート¹³⁾を含む水溶液を加え攪拌して同様に遠心分離し、残渣に蒸留水を加えて攪拌した。遠心分離後、残渣に蒸留水を加え、1 N HCl で pH 2.5 に調整し、攪拌後同様に遠心分離した。残渣に 0.1 N HCl を加え、攪拌後遠心分離して上清を採取した。上清を蒸留水にて一晚透析した後凍結乾燥し、MBP 精製物を得た。以上の抽出、精製過程は全て 5 °C 以下で行った。

次に、電気泳動装置 (ELEPOS, PS-520D, アドバンテック東洋) を用いて MBP 精製物を確認した。すなわち、調製したポリアクリルアミドゲル¹³⁾をガラス管に注入し、翌日、MBP 精製物を 8 M 尿素水溶液に溶解し、Lowry 法にてそのタンパク質量が 50 ~ 100 μg とした MBP 精製溶液 50 ~ 100 μl をゲル上に重ねた。その上に注意深く 1 M 酢酸水溶液を重ね、各チャンパーに 1 M 酢酸水溶液を入れて、2.5 mA/gel の一定の電流で 2 時間、室温にて電気泳動した。1% アミドブラック 10B を含む 7% 酢酸水溶液中にゲルを 1 時間浸して染色し、次に 3% 酢酸水溶液中で濯ぐことにより過量の染料を取り除いた。

感作、症状観察は Constantinescu ら¹¹⁾の方法を参考にして行った。すなわち、MBP 精製物を 200 μg/ml の濃度になるように Dulbecco's phosphate buffered saline (pH 7.5 ~ 7.6)¹⁵⁾に懸濁し、ウシ結核死菌 H37RA 5 mg/ml を含有している IFA (フロイント完全アジュバントに相当) を MBP 精製物と同量の割

合で混合し、エマルジョンを調製した。これをエーテル麻酔した Lewis 系雌性ラット (使用開始時体重 121 ~ 169 g) の両後肢足蹠部皮下に合計 0.3 ml 接種し、その日より 21 日間ラットの体重を測定して被験薬を 1 日 1 回経口投与した。また、接種 7 日後より毎日症状観察を行い、症状を以下の 0 ~ 6 のスコアとして表した。

0 ; 正常. 1 ; 弛緩性の尾, 異常歩行. 2 ; 後肢衰弱あるいは重度の運動失調. 3 ; 最小限後肢を動かす状態. 4 ; 後肢の麻痺. 5 ; EAE による瀕死状態, 呼吸減少, 自発運動がほとんどあるいは全くない状態. 6 ; 死亡.

4. ストレス負荷によって低下した性行動および学習行動に対する作用

IV-CS 系雄性 (使用開始時体重 24 ~ 32 g) および雌性 (使用開始時体重 22 ~ 28 g) マウスを使用した。マウス宙吊りストレス負荷、性行動および学習行動に対する作用の実験は既報¹⁶⁾の方法に準拠した。安息香酸エストラジオール (ES) とプロゲステロンで発情させた雌マウス 3 匹を、単独で飼育しておいた雄マウスのケージに入れて 1 日 10 分間 5 日にわたり観察し、4 日以上イントロミッション (挿入) が観察された雄マウスを実験に使用した。性行動および学習行動試験、宙吊りストレスの負荷、被験薬の経口投与はこの順番で同時刻に行った。性行動に対する作用は以下のように検討した。すなわち、1 匹の雄マウスを 10 匹の発情期にある雌マウスと 10 分間ケージに入れ、性行動 (リッキング; なめる, マウンティング; のりかかる, イントロミッション) を示したマウスの数、試験期間中 1 匹当たりの性行動の回数、雄マウスが最初に性行動を示すまでの時間を各々記録し、被験薬の作用を検討した。また、学習行動に対する作用は以下のように検討した。すなわち、初日の性行動試験後、10 分間ステップダウン装置¹⁷⁾にて受動回避行動を獲得させ、翌日より各々のマウスを 3 分間ゴム台の上に乗せ、マウスが台から降りた場合を受動回避行動の失敗と見なした。ステップダウン装置は 1 mA の電流が流れるグリッド上にゴムの台 (直径 4.5 cm, 高さ 4.5 cm) を乗せたケージ (10 × 10 × 60 cm) から成り立っている。各

々のマウスが最初に（記憶の消去：1(E)），あるいは2回目と3回目に（記憶再現の失敗：2(R)と3(R)）台から降りた日を記録し，被験薬の作用を検討した．また，実験終了後，各々のマウスが台から降りた日数の合計（Total(R)）を記録し，記憶再現の失敗の指標とした．宙吊りストレス負荷は，マウスの鼻が水（18～19℃）の水面に着くように逆さ吊りすることにより実施した．これを初日は30分間，その後1日60分間になるまで1日10分間ずつ延長し，実験終了まで1日60分間ずつ負荷し続けた．また，ストレスを負荷しない動物を正常群とした．霊鹿参はストレス負荷当日より1日1回14日間経口投与した．なお，各測定項目におけるストレス負荷対照群と霊鹿参投与群との間の有意差の数をプロット数とした．

5. 自律神経失調症に対する作用

実験は松田ら¹⁸⁾の方法に準拠した．ddY系雄性マウス（24～32g）を毎日午前9時から午後4時までの間は1時間毎に24℃と4℃の環境に，午後4時から翌朝9時の間は4℃の環境において飼育することにより，7日間反復寒冷（SART）ストレスを負荷した．霊鹿参，鹿茸および紅参はストレス負荷前日から8日間経口投与した．また，有効対照物質として使用したイミプラミンは，10mg/kg/dayを8日間腹腔内投与した．

1) 痛覚閾値に対する作用

ストレス負荷前日，負荷当日，負荷2，4，6日後に，圧刺激鎮痛効果測定装置（MK-300，室町機械）を使用してマウスの尾根部より約1.5cm先の部位に圧刺激を加え，マウスが逃避反応を示すのに要した圧を測定して痛覚閾値とした．なお，ストレス負荷前日に痛覚閾値が80～120gのマウスを選別し，各群のストレス負荷開始前の痛覚閾値の平均値が，ほぼ均等になるように群分けした．

2) 心拍数に対する作用

心拍数は，ストレス負荷前日と負荷7日後に，第Ⅱ誘導心電図の信号を瞬時心拍計ユニット（AT-601G，日本光電）に誘導して測定し，ポリグラフ（RM-6300，日本光電）にて記録した．

また，各群のストレス負荷開始前の心拍数の平均値が，ほぼ均等になるように群分けした．

3) 摘出十二指腸におけるアセチルコリン（ACh）反応性に対する作用

ストレス負荷7日後に，胃幽門部より約5mmのところから下方へ20mmの十二指腸を摘出し，32℃のTyrode液30mlを満たしたマグヌス管に懸垂し，混合ガス（95% O₂+5% CO₂）を通気しながら，ACh 10⁻¹Mによる収縮反応をアイソトニックトランスデューサー（TD-112S，日本光電）を介して記録した．反応性は正常対照群の摘出十二指腸における平均収縮高を100%とし，それに対するストレス負荷被験薬投与群の収縮高の割合を%で表した．また，負荷は0.3gとした．

6. 末梢性神経麻痺に対する作用

Wistar系雄性ラット（使用開始時体重172～216g）を使用した．長谷川ら¹⁹⁾の方法に準拠して，左側の坐骨神経を脛骨神経と腓骨神経の分岐部より約5mm中枢部において，接触面を平にしたペアン鉗子で3分間一定圧（鉗子三段目）で圧挫した．圧挫後直ちに縫合し，結晶ペニシリンGカリウム3万単位を筋肉内に注入した．霊鹿参，鹿茸および紅参は，圧挫当日より1日1回15日間経口投与した．有効対照物質として使用したVB₁₂は，1mg/kg/dayを圧挫当日より1日1回15日間腹腔内投与した．圧挫後，末梢性神経麻痺の程度を長谷川ら¹⁹⁾の採点基準に従い，歩行時の障害の程度に応じた10段階のスコアにて採点した．また，麻痺の指標として第一と第五指間の距離も測定した．指間距離の変化は右側後肢の指間距離を100%とした時の圧挫側の指間距離の比で表した．さらに，圧挫14日後に左右の腓腹筋，ヒラメ筋，足底筋および前脛骨筋を摘出し，神経圧挫と薬物投与の筋湿重量に対する影響を，右側の筋湿重量を100%とした時の圧挫側の筋湿重量比から判定した．

7. 神経線維増生に対する作用

齋藤と西山²⁰⁾の方法を参考にして，白色レグホーン・バブコック系鶏有精卵（使用開始時重量50～65g）の鶏胚後根知覚神経節における神経

線維増生に対する作用を検討した。実体顕微鏡 (SM5 または SMZ 型, 日本光学工業) 下で, 9 日鶏胚より後根知覚神経節を摘出した。

1) 被験薬の神経線維増生に対する直接作用

96 穴平底プレートのウェルに, 100 U/ml 牛血漿トロンピンおよび 1% BSA を含む DMEM 25 μ l を入れ, 各々 1~3 個の後根知覚神経節を移し, 被験薬液あるいはリン酸緩衝生理食塩水 (pH 7.5, 以下 PBS) 12.5 μ l を加えた。さらに 1% BSA を含む DMEM 12.5 μ l および鶏血漿 25 μ l を加えて, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ の条件下にて 40 時間インキュベート (CO₂ インキュベーター; MCO-175, 三洋電機) し, 倒立顕微鏡 (CK2, オリンパス) 下で神経線維増生度を観察した。

2) NGF による神経線維増生に対する被験薬の作用

96 穴平底プレートのウェルに, 100 U/ml 牛血漿トロンピン, 1% BSA, 25 mM HEPES - NaOH (pH 7.4) を含む DMEM 25 μ l を入れ, 各々 1~3 個の後根知覚神経節を移し, 被験薬液あるいは PBS 10 μ l を加えた。さらに最終濃度が各々 0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 ng/ml になるように 1% BSA を含む DMEM で希釈した NGF 液 15 μ l および鶏血漿 25 μ l を加え, 直接作用の場合と同様に神経線維増生度を観察した。

神経線維増生度は, 被験薬液のかわりに最終濃度 0~64 ng/ml (公比 2; 9 段階) の NGF 液 25 μ l を加え, 0~8 のインデックスとして表した²⁰⁾。

霊鹿参, 鹿茸, 紅参は PBS に懸濁あるいは溶解させて 15 分間室温にて放置し 4000 rpm, 25 $^{\circ}$ C, 25 分間遠心分離した後の上清を, また, 有効対照物質のアセチルコリンあるいはジンセノサイド Rb₁ は PBS に溶解し, 各々ろ過滅菌し, 被験薬液とした。1) における霊鹿参, 鹿茸, 紅参, アセチルコリンの最終濃度は各々 16.70 mg/ml, 9.80 mg/ml, 6.53 mg/ml, 5.0 μ M, 2) における霊鹿参, 鹿茸, 紅参, ジンセノサイド Rb₁ の最終濃度は各々 5.0 mg/ml, 2.94 mg/ml, 1.96 mg/ml, 30 μ M とした。

8. 統計学的処理

得られた結果は平均±標準誤差で表した。アレルギー性脳脊髄炎モデルにおける症状の等級を示したスコアは U 検定にて, また, 性行動を示した動物の匹数および学習行動での 1(E), 2(R) および 3(R) における動物の匹数は Fischer の直接確率計算法にて解析した。その他の多群間のデータは Tukey あるいは Bonferroni の多重比較検定法にて解析した。また, 2 群間のデータは Student あるいは Welch の t 検定にて解析した。

実験結果

1. アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) に対する作用

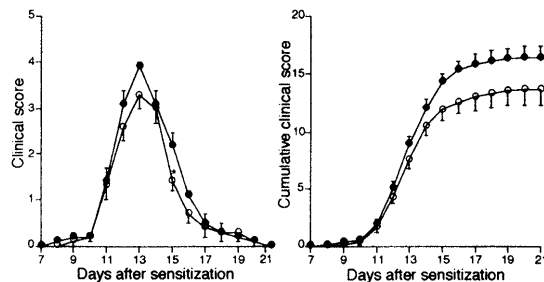


Fig. 1 Effect of Reirokusan 300 mg/kg/day on the clinical signs in EAE rats. The clinical signs are shown as the clinical scores (left) and the cumulative clinical scores (right). The data are expressed as the mean \pm S.E. (n=10). **P<0.05, as compared with the control group using the Mann-Whitney U-test. ●: Control, ○: Reirokusan 300 mg/kg/day, p.o.

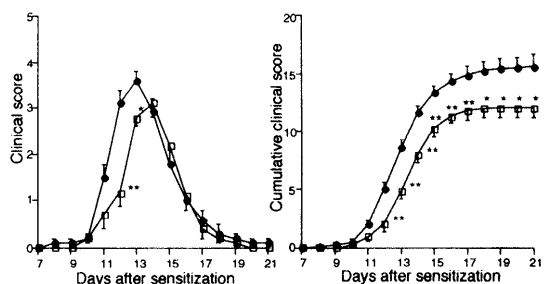


Fig. 2 Effect of Reirokusan 1000 mg/kg/day on the clinical signs in EAE rats. The clinical signs are shown as the clinical scores (left) and the cumulative clinical scores (right). The data are expressed as the mean \pm S.E. (n=10). *: P<0.05, **: P<0.01, as compared with the control group using the Mann-Whitney U-test. ●: Control, □: Reirokusan 1000 mg/kg/day, p.o.

実験的アレルギー性脳脊髄炎に対する被験薬の作用を, 症状スコアの変化および体重の増減を指標にして検討した。霊鹿参は 300 mg/kg/day 投与 (Fig. 1) によって感作後 15 日目に, また, 1000 mg/kg/day 投与 (Fig. 2) によって感作後 12 日目および 13 日目に, 症状の平均スコアを有意に低下させた。さらに, 霊鹿参 1000

mg/kg/day 投与群では感作後 12 日目から症状の累積スコアの有意な増加抑制が認められた (Fig. 2). また, 有効対照物質として使用したカプトプリルは 30 mg/kg/day 投与により感作後 16 日目の平均スコアを, また, 感作後 17 日目以降の累積スコアの増加を有意に低下させた (Fig. 3). 体重の増減については, 霊鹿参が 1000 mg/kg/day 投与によって感作後 12 日目に体重の減少を有意に抑制した (Fig. 4) 一方, カプトプリル 30 mg/kg/day 投与群では体重の増減における有意な変化はみられなかった.

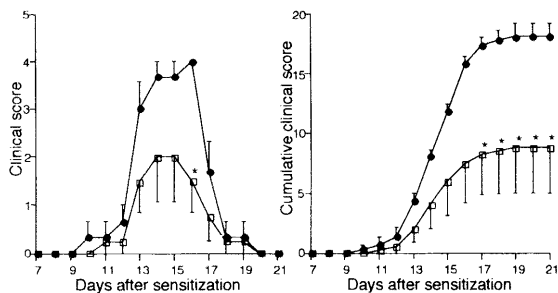


Fig. 3 Effect of captopril 30 mg/kg/day on the clinical signs in EAE rats. The clinical signs are showed as the clinical scores (left) and the cumulative clinical scores (right). The data are expressed as the mean±S.E. *: P<0.05, as compared with the control group using the Mann-Whitney U-test. ●: Control (n=3), □: captopril 30 mg/kg/day, p.o. (n=4).

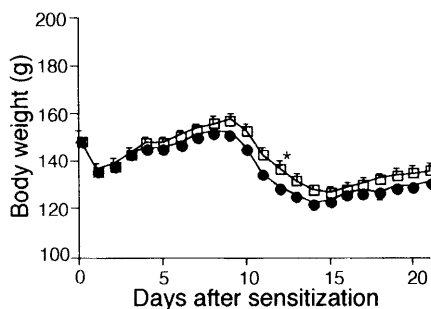


Fig. 4 Effect of Reirokusan 1000 mg/kg/day on the body weight in EAE rats. The data are expressed as the mean±S.E. (n=10). *: P<0.05, as compared with the control group using the t-test. ●: Control, □: Reirokusan 1000 mg/kg/day, p.o.

2. ストレス負荷によって低下した性行動および学習行動に対する作用

ストレス負荷対照群, ストレス非負荷対照群 (正常対照群) およびストレス負荷霊鹿参投与群の性行動 (Fig. 5, 6) と学習行動 (Fig. 7) に対する作用のデータを示し, また, その概要を Table 1 にまとめた. Table 1 における矢印の数は ストレス負荷対照群と有意差があったプロットの数を示している.

ストレス負荷により, ストレス負荷対照群では性行動および学習行動の低下が認められた. 霊鹿参 300 mg/kg/day 投与群では, ストレスによっ

て低下したイントロミッション行動について回復傾向が認められた (Fig. 5). また, 1000 mg/kg/day 投与群では, 低下したリッキング行動, マウンティング行動, イントロミッション行動すべてについて有意な回復作用がみられ (Fig. 6), さらに, 低下した学習行動 [1(E), 2(R), 3(R) および Total(R)] についても回復傾向が認められた (Fig. 7).

3. 自律神経失調症に対する作用

1) 痛覚閾値に対する作用

SART ストレス負荷により痛覚閾値の低下が認められ, 霊鹿参は 1000 mg/kg/day 投与により, この痛覚閾値低下を有意に抑制した. また, 紅参 392 mg/kg/day および有効対照物質のイミプラミン 10 mg/kg/day でも痛覚閾値低下の有意な抑制が認められた (Fig. 8-B). 正常マウスの痛覚閾値に対しては, 霊鹿参, 鹿茸, 紅参とも有意な影響を及ぼさなかった (Fig. 8-A).

2) 心拍数に対する作用

SART ストレス負荷により心拍数の増加が認められ, 霊鹿参は 1000 mg/kg/day 投与により, この心拍数増加を有意に抑制した. また, 鹿茸 588 mg/kg/day, 紅参 392 mg/kg/day 投与でも, 心拍数増加の有意な抑制が認められた. 一方, イミプラミン 10 mg/kg/day 投与では, 心拍数増加を減少させる傾向はみられたものの, 有意差は認められなかった (Fig. 9-B). 正常マウスの心拍数に対しては, 霊鹿参, 鹿茸, 紅参とも有意な影響を及ぼさなかった (Fig. 9-A).

3) 摘出十二指腸におけるアセチルコリン (ACh) 反応性に対する作用

SART ストレス負荷により十二指腸の ACh 反応性の低下が認められた. 霊鹿参 1000 mg/kg/day 投与で若干の ACh 反応性低下の改善傾向がみられたが, 有意差は認められなかった. また, 鹿茸 588 mg/kg/day, 紅参 392 mg/kg/day 投与でも, 有意な作用は認められず, イミプラミン 10 mg/kg/day 投与でのみ ACh 反応性低下の有意な改善が認められた. 正常マウスの十二指腸の ACh 反応性に対しては, 霊鹿参, 鹿茸, 紅参とも有意な影響を及ぼさなかった (データ未掲載).

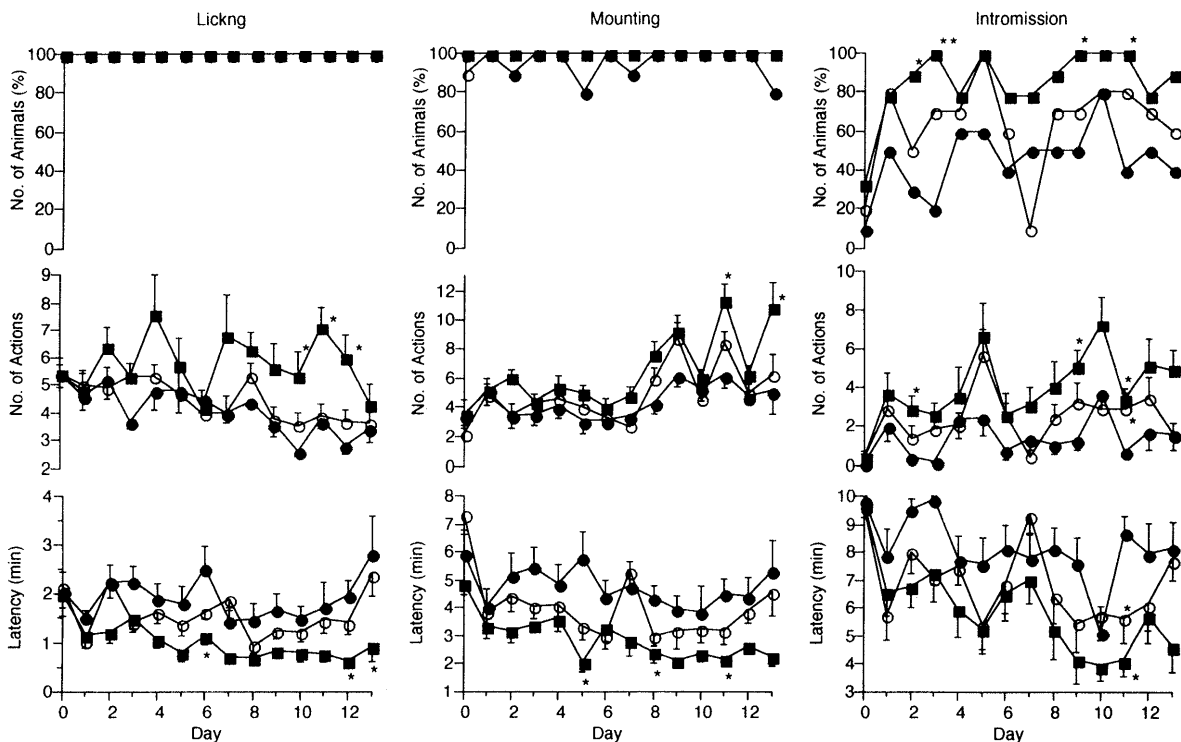


Fig. 5 Effect of Reirokusan 300 mg/kg/day on the sexual behaviour in stressed mice. The data are expressed as the mean \pm S.E. (n=9~10). *:P<0.05, **:P<0.01, as compared with the stress control group using the multiple comparison procedure or Fisher's exact probability method.
 ●:Stress control, ■:Normal control, ○:Reirokusan 300 mg/kg/day, p.o.

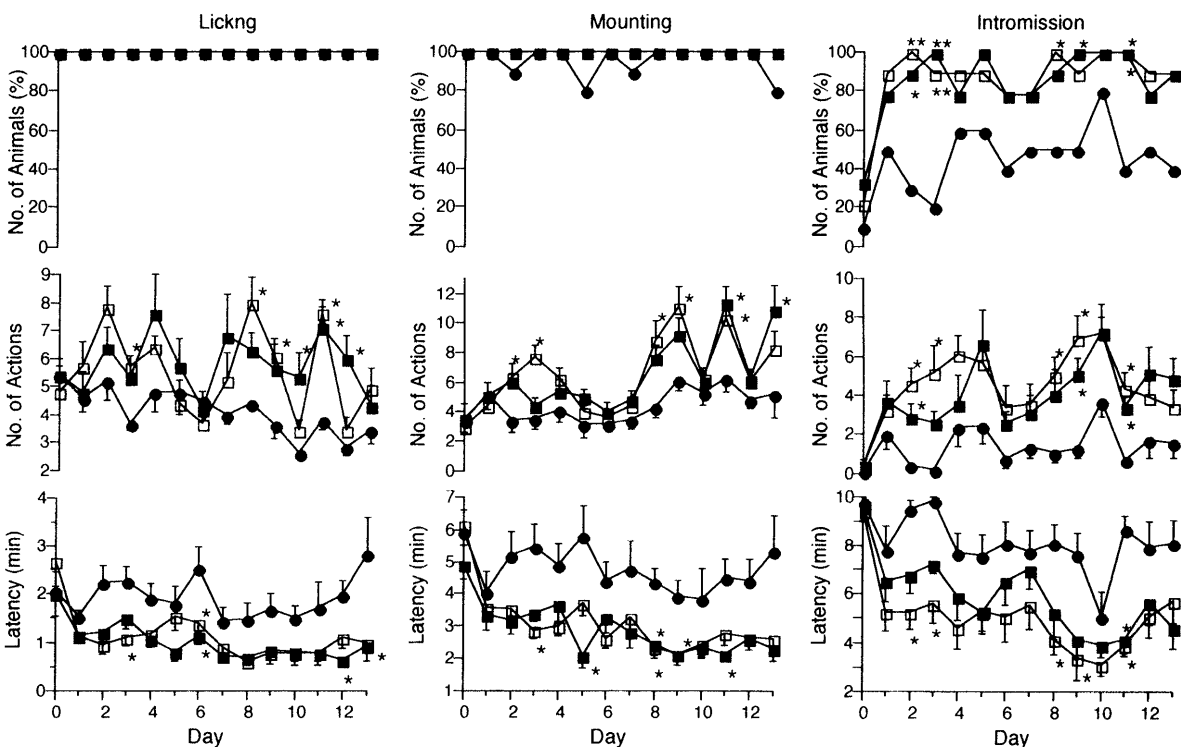


Fig. 6 Effect of Reirokusan 1000 mg/kg/day on the sexual behaviour in stressed mice. The data are expressed as the mean \pm S.E. (n=9~10). *: P<0.05, **: p<0.01, as compared with the stress control group using the multiple comparison procedure or Fisher's exact probability method.
 ●: Stress control, ■: Normal control, □: Reirokusan 1000 mg/kg/day, p.o.

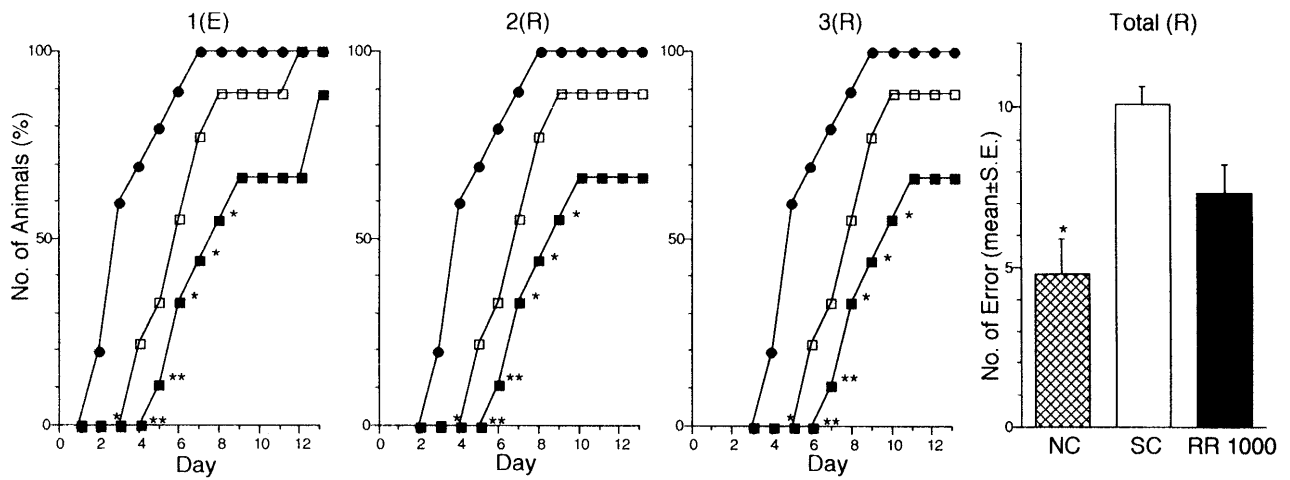


Fig. 7 Effect of Reirokusan 1000 mg/kg/day on the passive avoidance learning response in stressed mice. 1(E): 1st error (extinction of memory); 2(R): 2nd error (failure of retrieval of memory); 3(R): 3rd error (failure of retrieval of memory); Total (R): total error days (failure of retrieval of memory). ● and SC: Stress control, ■ and NC: Normal control, □ and RR 1000: Reirokusan 1000 mg/kg/day, p.o. Other explanations are the same as those in the legend to Fig. 6.

Table 1 Effect of Reirokusan on the sexual and learning behaviour in stressed mice

Drug	Dose (mg/kg/day, 14 days, p.o.)	Sexual behaviour			Learning behaviour			
		L	M	I	1(E)	2(R)	3(R)	Total(R)
Reirokusan	100	—	—	—	—	—	—	—
	300	—	—	↑	—	—	—	—
	1000	↑↑	↑↑	↑↑↑	↑	↑	↑	—

Protective effects against the decrease in the sexual behaviour (L: licking, M: mounting and I: intromission) and the learning behaviour (1(E): extinction of memory, 2(R),3(R) and Total (R): failure of retrieval of memory) are marked. The number of arrows indicates the number of plots which differed significantly from the stress control group (↑: 1~5 plots, ↑↑: 6~9 plots and ↑↑↑: 10~ plots). —: no effect.

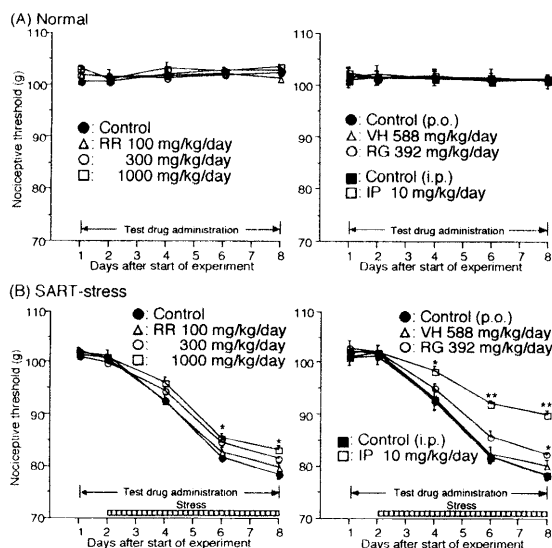


Fig. 8 Effects of Reirokusan, velvet horn, red ginseng and imipramine on the nociceptive threshold in normal (A; upper) and SART-stressed (B; lower) mice. The data are expressed as the mean ± S.E. (n=6). *: P<0.05, **: P<0.01, as compared with the corresponding control group using the multiple comparison procedure or the t-test. Abbreviations- RR: Reirokusan (p.o.), VH: velvet horn (p.o.), RG: red ginseng (p.o.), IP: imipramine (i.p.).

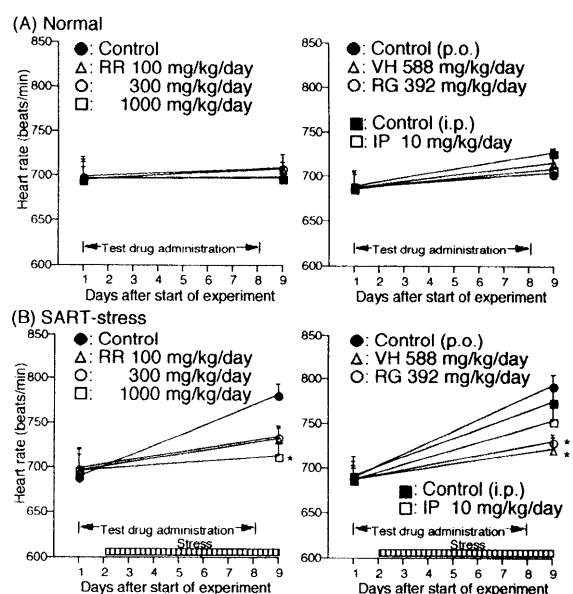


Fig. 9 Effects of Reirokusan, velvet horn, red ginseng and imipramine on the heart rate in normal (A; upper) and SART-stressed (B; lower) mice. Other explanations, abbreviations and symbols are the same as those in the legend to Fig. 8.

4. 末梢性神経麻痺に対する作用

坐骨神経圧挫による歩行機能障害に対する被験薬の効果を検討した。霊鹿参は対照群と比較して用量依存的な回復促進作用を示し、圧挫10日後には300および1000 mg/kg/day投与により、また、14日後には1000 mg/kg/day投与によってスコア低下の有意な回復が認められ、歩行機能障害改善効果がみられた。鹿茸588 mg/kg/dayおよび紅参392 mg/kg/day投与でもスコア低下の回復傾向がみられたが、有意差は認められなかった。また、有効対照物質として使用したVB₁₂は1 mg/kg/dayの投与により、圧挫14日後のスコア低下を有意に回復させ、歩行機能障害改善効果が認められた (Fig. 10)。

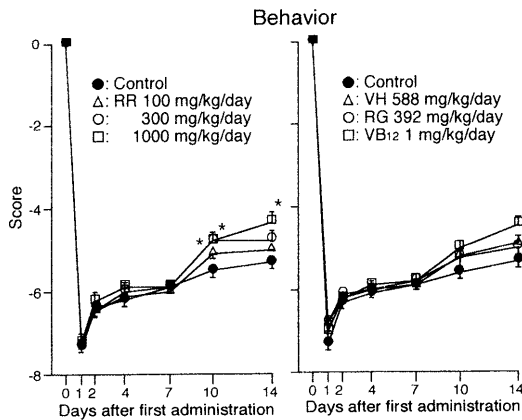


Fig. 10 Effects of Reirokusan, velvet horn, red ginseng and cyanocobalamin on the walking behavior of the left hind-paw after crushing at a distal level of the rat sciatic nerve. The data are expressed as the score on a scale 10 (-9~0) according to the degree of behavioral disorder of the left hind-paw, and the mean±S.E. (n=9~10). *: P<0.05, as compared with the corresponding control group using the multiple comparison procedure. RR: Reirokusan (p.o.), VH: velvet horn (p.o.), RG: red ginseng (p.o.), VB₁₂: cyanocobalamin (i.p.).

坐骨神経圧挫による第一と第五指間距離の短縮に対する被験薬の効果を検討した。圧挫14日後に、霊鹿参1000 mg/kg/dayおよびVB₁₂ 1 mg/kg/day投与によって、指間距離短縮の有意な回復が認められ、麻痺症状の改善効果がみられた (Fig. 11)。

圧挫14日後に足筋を摘出し、坐骨神経圧挫による足筋重量の低下に対する被験薬の効果を検討した。前脛骨筋と足底筋については霊鹿参100 mg/kg/day投与から、また、ヒラメ筋と腓腹筋については300 mg/kg/day投与から筋重量の有意な回復が認められ、麻痺症状の改善効果がみられた。鹿茸588 mg/kg/day投与群でも前脛骨筋、ヒラメ筋、腓腹筋について、また、紅参392

mg/kg/day投与群では前脛骨筋と腓腹筋について、筋重量低下の有意な回復が認められた。有効対照物質のVB₁₂でも4種すべての筋について、筋重量低下の有意な回復が認められた (Fig. 12)。

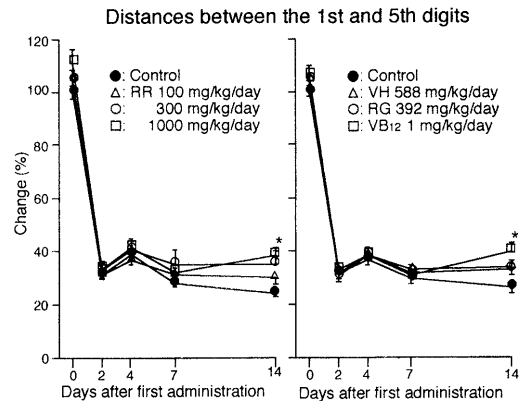


Fig. 11 Effects of Reirokusan, velvet horn, red ginseng and cyanocobalamin on the distance between the first and fifth digits of the rat hind-paw after crushing at a distal level of the sciatic nerve. The data are expressed as the percentage of distances between the first and fifth digits of the left hind-paw relative to the right hind-paw, and the mean±S.E. (n=9~10). *: P<0.05, as compared with the corresponding control group using the multiple comparison procedure. Abbreviations and symbols are the same as those in the legend to Fig. 10.

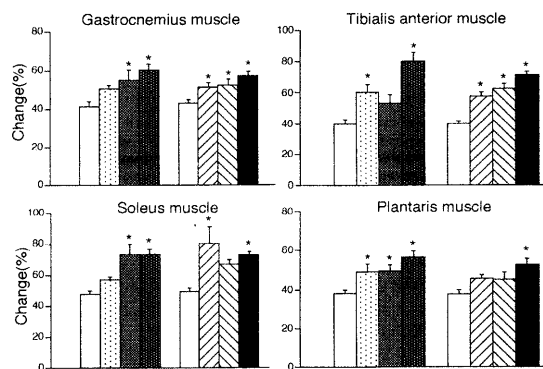


Fig. 12 Effects of Reirokusan, velvet horn, red ginseng and cyanocobalamin on the gastrocnemius muscle, the soleus muscle, the tibialis anterior muscle and the plantaris muscle atrophy of the rat hind limb 14 days after crushing at a distal level of the sciatic nerve. The data are expressed as the change of muscle weights of left hind-paw relative to right hind-paw, and the mean±S.E. (n=9~10). *: P<0.05, as compared with the corresponding control group using the multiple comparison procedure. □: Control, △: RR 100 mg/kg/day, ○: RR 300 mg/kg/day, ■: RR 1000 mg/kg/day, ▨: VH 588 mg/kg/day, ▩: RG 392 mg/kg/day, ▭: VB₁₂ 1 mg/kg/day. Abbreviations are the same as those in the legend to Fig. 10.

5. 神経線維増生に対する作用

神経線維増生に対する被験薬の直接作用を検討した結果、霊鹿参16.70 mg/mlの適用によって神経線維増生の有意な促進が認められた。また、鹿茸9.80 mg/mlおよび紅参6.53 mg/mlの適用では対照群と比較して神経線維増生の促進傾向はみられたが有意差は認められなかった。有効対照物質のアセチルコリンは5 μMの適用により神経線維増生を有意に促進した (Fig. 13)。

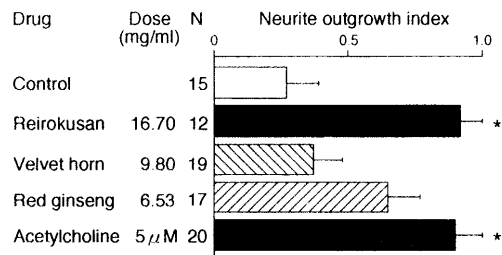


Fig. 13 Effects of Reiropusan, velvet horn, red ginseng and acetylcholine on the neurite outgrowth in the organ culture of the chicken embryonic dorsal root ganglia. The data are expressed as the mean \pm S.E. *: $P < 0.05$, as compared with the control group using the multiple comparison procedure.

次に、NGFによる神経線維増生に対する被験薬の作用を検討した結果、霊鹿参 5.0 mg/ml、紅参 1.96 mg/ml および有効対照物質であるジンセノサイド Rb₁ 30 μ M 適用により、NGFによる神経線維増生促進の増強傾向が認められた。特に、霊鹿参 5.0 mg/ml 適用群では NGF 0.5 および 4 ng/ml 添加時、紅参 1.96 mg/ml 適用群では NGF 0.5 ng/ml 添加時、また、ジンセノサイド Rb₁ 30 μ M 適用群では NGF 2 および 4 ng/ml 添加時の神経線維増生促進の有意な増強が認められた (Fig. 14)。

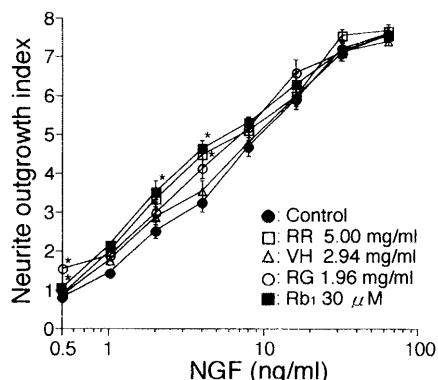


Fig. 14 Effects of Reiropusan, velvet horn, red ginseng and ginsenoside Rb₁ on the NGF-induced neurite outgrowth in the organ culture of the chicken embryonic dorsal root ganglia. The data are expressed as the mean \pm S.E. ($n=7\sim 15$). *: $P < 0.05$, as compared with the control group using the multiple comparison procedure. RR: Reiropusan, VH: velvet horn, RG: red ginseng, Rb₁: ginsenoside Rb₁.

考 察

神経系に対する霊鹿参の作用を中心に、ラットにおける実験的アレルギー性脳脊髄炎、宙吊りストレス負荷によって低下したマウスの性行動および学習行動、マウスにおける実験的自律神経失調症、ラットにおける実験的末梢性神経麻痺、鶏胚後根知覚神経節における神経線維増生に対する作

用について検討した。その結果、霊鹿参の投与によりアレルギー性脳脊髄炎発症の抑制、性行動および学習行動低下の改善、自律神経失調状態および末梢性神経麻痺症状の改善が認められた。また、霊鹿参は神経線維の増生を促進し、NGFによる神経線維の増生もさらに増強した。

恒常性を維持する生体内調節系としては、免疫系、神経系、内分泌系が存在するが、これら三つの系は相互に関連しあっていることが紹介されていることから¹⁾、一つの系に異常が生じると、他の二つの系も影響を受ける。霊鹿参には免疫能の低下あるいは亢進状態を各々正常な方向に改善する作用があることから¹⁾、免疫異常が引き金となって起こる神経系あるいは内分泌系の異常を、霊鹿参が改善する可能性が考えられる。免疫異常と神経系異常を有するモデルとしてはアレルギー性脳脊髄炎 (EAE) 発症モデルが知られている。EAEは、抗原刺激で産生された感作 T 細胞が血液脳関門を通過し、ミエリン膜上の蛋白質と反応して生じる中枢神経脱髄性の自己免疫疾患であり²⁾、また、病理学的には血管周囲性単核細胞の浸潤と脱髄を示すことから、人の多発性硬化症、急性散在性脳脊髄炎に類似した病態であると報告されている^{2,3)}。この病態モデルを用いて霊鹿参の作用を検討した結果、霊鹿参に EAE の発症を抑制する作用が認められた。霊鹿参は T 細胞が関与する細胞性免疫能の変動を正常化することから¹⁾、T 細胞を介する自己免疫機構の改善によってこれを抑制した可能性が考えられる。また、霊鹿参の構成成分である鹿茸は神経系の構成成分であるスフィンゴミエリン、ガングリオシド、プロテオリピッドなどの複合脂質を多く含んでいることから^{1,2)}、それらが EAE で破壊された神経系の修復に利用され、EAE 症状の改善に寄与した可能性が考えられる。

我々は、以前、霊鹿参の免疫系に対する作用を検討した際に、ストレスの負荷により免疫能が低下することを経験している。ストレスは、免疫系のみならず、神経系^{2,3)}や内分泌系^{2,1)}に影響を与えることが知られている。性行動や学習行動は、大脳皮質を中心に、辺縁系や視床下部などの神経系が関与して調節されているが、近年、ストレスが性行動や学習行動に影響を及ぼし、それらの行

動の低下を起こす原因の一つであると考えられ、動物実験でも、宙吊りストレスを負荷することによって、性行動および学習行動の低下が報告されている¹⁷⁾。さらに、この宙吊りストレスによる性行動の減退は、睪丸、前立腺重量や尿中テストステロン量に変化がなかったことから、生殖器系への直接的な影響の結果ではなく、ストレスによる神経系およびそれに関与する内分泌系に起因していると考えられている²⁵⁾。このモデルを用いて紅参の作用が検討されており、性行動および学習行動の低下を抑制することが報告されている²⁵⁾。一方、鹿茸は、中医学において『腎虚』の薬として使用されているが²⁶⁾、中医学でいう『腎』とは、泌尿生殖器系と一部の神経系、造血系、内分泌系の機能を包括したものの²⁷⁾と考えられており、性欲減退など生殖活動の低下したときには、鹿茸のような『腎』を補う薬が用いられている。また、鹿茸中のリン脂質にはラットにおける学習と記憶機能を向上させる効果があると紹介されている²⁸⁾。そこで、この宙吊りストレス負荷モデルを用いて、霊鹿参の性行動および学習行動低下に対する作用を検討した。その結果、霊鹿参はストレスによる行動抑制を有意に改善し、宙吊りストレスによる神経系や内分泌系の変化を軽減すると考えられた。

学習や記憶障害には、自律神経系の障害による脳内のアセチルコリンやノルアドレナリン量の低下が関与しているという報告がある²⁹⁾。身体各器官は正常に作動するために自律神経系によって調節されているが、その調節機能に異常が生じ、交感神経系と副交感神経系のバランスが崩れると自律神経失調状態に陥る。自律神経失調症は、交感神経系と副交感神経系の不均衡によって、機能的な異常が生じる病態である。自律神経失調症のモデルである反復寒冷（SART）ストレス負荷モデル³⁰⁾では、全身症状としては副交感神経系の緊張を示し³¹⁾、痛覚閾値の低下や摘出十二指腸のACh反応性の低下¹⁸⁾が、また、循環器、特に心臓については交感神経系の緊張を示し³¹⁾、心拍数の増加¹⁸⁾が認められている。我々は神経系の機能的な障害に対する霊鹿参の作用を検討するため、このモデルを用いて自律神経失調症に対する作用を検討した。SARTストレス負荷により痛覚閾値の低下、心拍数の増加、摘出十二指腸の

ACh反応性の低下がみられ、霊鹿参は痛覚閾値低下と心拍数増加を抑制したが、十二指腸のACh反応性の低下については改善しなかった。これは、霊鹿参が交感神経機能低下および亢進による自律神経失調状態に特に作用する可能性を示している。SARTストレス負荷による痛覚過敏には、交感神経系の緊張低下³²⁾やセロトニン神経系の活性低下³³⁾などが関与していると考えられている。紅参は経口投与により、血中および副腎内のノルアドレナリンやアドレナリン含量を増加し、交感神経系の機能を高めることから³⁴⁾、霊鹿参による交感神経機能低下の改善には主に紅参が関与しているものと考えられる。また、紅参は心拍数の増加も抑制した。紅参は交感神経系の興奮時にはむしろ、人参中のサポニンがカテコールアミンの遊離を阻害すると報告されていることから³⁵⁾、おそらく交感神経系の興奮時にはそれを抑制する作用が優位に働くものと考えられる。また、鹿茸のアルコール抽出物は、臨床において、副交感神経優位の方向に作用することによって交感神経の緊張状態を改善すると報告されており³⁶⁾、今回の実験でも鹿茸がストレスにより増加した心拍数を低下させていることから、霊鹿参による交感神経機能亢進の改善には鹿茸も関与しているものと考えられる。なお、正常なマウスの痛覚閾値、心拍数、十二指腸のACh反応性に対して、霊鹿参、鹿茸、紅参とも有意な影響を及ぼさず、自律神経失調モデルマウスにのみ作用が認められた。自律神経失調症は、交感神経緊張状態と副交感神経緊張状態が併さって発現する場合は認められ³⁷⁾、単純に、一方の神経系が緊張しているからといって、もう一方の神経系の機能が低下しているとはかぎらない。そのため、今回病態動物において認められた霊鹿参の作用も、一方の神経系を抑制して他方の神経系を促進した結果であると考えよりはむしろ、両神経系の不均衡を是正して正常な状態に近づけようと作用した結果であると考えられる。

次に、末梢神経を圧挫することによって神経系に器質的な障害を与えて、霊鹿参の作用を検討した。その結果、霊鹿参に歩行機能障害、後肢指間距離の短縮、後肢筋肉の萎縮の改善が認められた。歩行機能障害や後肢指間距離の短縮において、霊

鹿参による改善は 1000 mg/kg で有意に認められるものの、鹿茸、紅参では改善傾向しか認められなかったことから、両生薬の作用が合わさって霊鹿参の作用を発現しているものと思われる。また、後肢筋肉の萎縮に対し、鹿茸あるいは紅参単独でも改善が認められており、各々の生薬にも作用があることが示された。

この坐骨神経の圧挫による障害からの回復には神経の再生が強く関与しており、坐骨神経、脛骨神経、内側足底神経などの組織学的検索によっても、神経再生による障害の回復が認められたことが報告されている¹⁹⁾。一方、坐骨神経を切断したウサギの筋電図パターン推移を指標にして、NGF が神経再生を促進し、症状を改善することが報告されている³⁸⁾。そこで、我々は、霊鹿参が神経の再生に影響を与えるか否かを、神経線維の増生を指標に、NGF 存在下および非存在下において検討した。まず、霊鹿参による神経線維増生に対する直接作用を検討したところ、有意な促進作用が認められた。培養神経節の神経線維の増生を直接促進する物質としては、アセチルコリン、環状ヌクレオチドがあるが、これらの物質の作用は、NGF による作用に比較して、増生した神経線維の長さが短く、また、NGF に対する抗体を加えても抑制されないことから、NGF による作用とは異なるメカニズムで神経線維の増生を促進すると報告されている³⁹⁾。鹿茸にはコリン様物質が含まれ²⁾、人参にもコリン⁴⁰⁾やヌクレオシド類⁴¹⁾が含まれるとされており、また、霊鹿参自身による作用も、NGF によるそれに比べて増生した神経線維の長さが短かったことから、これらの成分が霊鹿参の作用に関係しているものと考えられる。一方、霊鹿参は NGF による神経線維の増生も有意に促進させた。また、紅参も NGF の作用を有意に増強したが、霊鹿参の作用の方がより強かったことから、紅参と鹿茸の作用が合わさって霊鹿参の作用を発現しているものと考えられる。Saito ら³⁹⁾は、ジンセノサイド Rb₁ に NGF による神経線維増生を促進する作用があると報告しており、本実験でも確認している。紅参にはジンセノサイド Rb₁ が含有されていることから、この物質が霊鹿参の NGF による作用に寄与

しているものと考えられる。NGF は、生体内では神経支配を受ける標的組織の細胞から分泌され、神経終末にある特異的な受容体に結合して細胞内に取り込まれ、軸索の逆行輸送により核に運ばれて成長のシグナルを伝え⁴²⁾、DNA 合成を促進して⁴³⁾、神経細胞ならびに神経線維の成長に携わっている。霊鹿参の NGF 作用増強の機序については、現在のところ不明でありさらに検討しなければならないが、人参に核酸やタンパク合成の促進作用が報告されていることから⁴⁴⁾、NGF による DNA 合成を高めることによって作用を増強している可能性も考えられる。また、ジンセノサイドは、神経節ニューロン中への NGF の取り込みや、神経膜における NGF と受容体間の相互作用に影響すると考えられていることから³⁹⁾、エンドサイトーシスの促進や NGF と受容体間の相互作用の増強によって NGF の作用を強めている可能性も考えられる。このように、霊鹿参には自ら神経線維を増生する作用と、NGF による神経線維増生を促進する作用が認められ、各々の作用には紅参および鹿茸の様々な成分の関与の可能性が考えられた。今回の実験では、他の *in vivo* での実験を考慮して被験薬の調製溶媒を PBS に限定し、また、適用量も霊鹿参の作用発現用量を中心に設定したが、今後は紅参や鹿茸の成分による作用をより明らかにする上で、各生薬の適用量の増加や調製溶媒の選定を含めた検討を行いたいと考えている。また、NGF は脳内のコリン作動性ニューロンの機能維持や生存、そして学習や記憶の回復に関与している因子⁴²⁾でもあるため、ストレス負荷によって生じる学習行動低下に対する霊鹿参の改善にも、NGF 作用の増強が関係している可能性も考えられる。

以上、霊鹿参の薬理作用を、特に神経系に対する作用を中心に検討した結果、免疫異常、ストレス、そして損傷による神経系の異常を正常な状態に回復させる作用を有することが示された。また、霊鹿参には神経線維増生の促進および NGF による作用の促進効果が認められた。今後は、鹿茸や紅参のどの成分がどのような機構で霊鹿参の作用に関与しているのか、さらに検討していきたいと考えている。

引用文献

- 1) 庄司政満, 小國泰弘, 鈴木岳洋, 杉本智潮, 佐藤仁美, 小倉達也, 森下信一, 山田陽城, 竹谷孝一, 糸川秀治, *Natural Medicines*, 50, 232 (1996)
- 2) 難波恒雄著, “和漢薬百科図鑑 [II]”, 保育社, 大阪, 1994, pp. 281
- 3) 上海科学技術出版社 小学館編, “中薬大辞典”, 第四卷, 小学館, 東京, 1985, pp. 2785
- 4) 林 培英, 潘 意鏘, *中成薬研究*, 12, 28 (1984)
- 5) 田村豊幸, *薬理と治療*, 24, 455 (1996)
- 6) 坂田利家, 衛藤 宏, “薬用人参 '89 - その基礎・臨床研究の進歩-”, 山村雄一, 熊谷 朗監修, 大浦彦吉, 奥田拓道, 森澤成司, 山本昌弘編集, 共立出版株式会社, 東京, 1989, pp. 20
- 7) 阪中雅広, 温 同春, 松田正司, “薬用人参 '95 - 臨床効果からモデル動物による検証まで-”, 熊谷 朗編, 共立出版株式会社, 東京, 1994, pp. 19
- 8) 吉村裕之, “薬用人参 '95 - 臨床効果からモデル動物による検証まで-”, 熊谷 朗編, 共立出版株式会社, 東京, 1994, pp. 159
- 9) 高野健太郎, 山口武典, 原 齊, 尾前照雄, “薬用人参 '89 - その基礎・臨床研究の進歩-”, 山村雄一, 熊谷 朗監修, 大浦彦吉, 奥田拓道, 森澤成司, 山本昌弘編集, 共立出版株式会社, 東京, 1989, pp. 131
- 10) 森澤成司, “薬用人参 '89 - その基礎・臨床研究の進歩-”, 山村雄一, 熊谷 朗監修, 大浦彦吉, 奥田拓道, 森澤成司, 山本昌弘編集, 共立出版株式会社, 東京, 1989, pp. 187
- 11) 広川勝彦編, “神経・内分泌・免疫系のクロストーク”, 学会出版センター, 東京, 1993, pp. 3
- 12) 佐野昌之, 今井正文, 田原溶夫, 滝川勝雄, *応用薬理*, 6, 717 (1972)
- 13) Deibler, G.E., Martenson, R.E. and Kies, M.W., *Prep. Biochem.*, 2, 139 (1972)
- 14) Constantinescu, C.S., Ventura, E., Hilliard, B. and Rostami, A., *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 17, 471 (1995)
- 15) Dulbecco, R. and Vogt, M., *J. Exp. Med.*, 99, 167 (1954)
- 16) Morishita, S., Shoji, M., Oguni, Y., Hirai, Y., Sugimoto, C. and Ito, C., *Phytother. Res.*, 7, 57 (1993)
- 17) Saito, H., Nishiyama, N., Fujimori, H., Hinata, K., Kamegaya, T., Kato, Y. and Bao, T., “The Role of Catecholamines and Neurotransmitters”, Edited by Usdin, F., Kvenandsky, R. and Kopin, I.J., Gordon and Breach, New York, 1984, pp. 467
- 18) 松田理英, 西沢幸二, 井上 治, 齋藤雄二, 鈴木 章, 秦 多恵子, *日薬理誌*, 100, 157 (1992)
- 19) 長谷川和雄, 三国直二, 酒井 豊, *日薬理誌*, 74, 721 (1978)
- 20) 齋藤 洋, 西山信好, “医薬品の開発 第2巻 薬理活性物質II”, 柴田承二監修, 原田正敏編集, 廣川書店, 東京, 1989, pp. 328
- 21) a) Bernard, C.C.A., Leydon, J. and Mackay, I.R., *Eur. J. Immunol.*, 6, 655 (1976), b) Ortiz-Ortiz, L., Nakamura, R.M. and Weigle, W.O., *J. Immunol.*, 117, 576 (1976)
- 22) a) 永井克孝, *神経進歩*, 24, 12 (1980), b) 田平 武, *医学のあゆみ*, 145, 318 (1988)
- 23) 安藤一也, *からだの科学*, 101, 69 (1981)
- 24) 末松弘行, *からだの科学*, 101, 73 (1981)
- 25) 包 天桐, 上山敬司, 日向恵子, 齋藤 洋, *薬理と治療*, 12, 1470 (1984)
- 26) 神戸中医学研究会編著, “中医臨床のための中薬学”, 医歯薬出版, 東京, 1992, pp. 396

- 27) 中山医学院編, “漢薬の臨床応用”, 神戸中医学研究会訳編, 医歯薬出版, 東京, 1979, pp. 13
- 28) 竹内青二, 高知衛研報, 40, 57 (1993)
- 29) 山本経之, *Molecular Med.*, 32, 146 (1993)
- 30) 喜多富太郎, 秦 多恵子, 米田良三, 尾陰多津子, 日薬理誌, 71, 195 (1975)
- 31) 秦 多恵子, 喜多富太郎, 伊藤栄次, 原田典子, 日薬理誌, 83, 413 (1984)
- 32) Hata, T., Kita, T., Itoh, E. and Kawabata, A., *J. Auton. Pharmacol.*, 8, 45 (1988)
- 33) Hata, T., Itoh, E. and Kawabata, A., *Japan. J. Pharmacol.*, 56, 101 (1991)
- 34) 高橋栄司, “薬用人参’89 - その基礎・臨床研究の進歩 -”, 山村雄一, 熊谷 朗監修, 大浦彦吉, 奥田拓道, 森澤成司, 山本昌弘編集, 共立出版株式会社, 東京, 1989, pp. 58
- 35) 高橋栄司, 工藤賢三, 立川英一, “薬用人参’95 - 臨床効果からモデル動物による検証まで -”. 熊谷 朗編, 共立出版株式会社, 東京, 1994, pp. 126
- 36) 銅直春雄, 中川俊二, 綾 好典, 黒木かおる, 伊藤 侑, 現代の診療, 16, 1129 (1974) 高橋栄司, 工藤賢三, 立川英一, “薬用人参’95 - 臨床効果からモデル動物による検証まで -”. 熊谷 朗編, 共立出版株式会社, 東京, 1994, pp. 126
- 37) 阿部達夫, 西田昂平, 治療, 58, 1673 (1976)
- 38) 中沢恒幸, 鈴木恵晴, 壁島彬郎, 小宮英靖, 猪股丈二, 神経進歩, 10, 275 (1966)
- 39) Saito, H., Suda, K., Schwab, M. and Thoenen, H., *Japan. J. Pharmacol.*, 27, 445 (1977)
- 40) Takatori, K., Kato, T., Asano, S., Ozaki, M. and Nakashima, T., *Chem. Pharm. Bull.*, 11, 1342 (1963)
- 41) 檜山千都子, 宮井幸枝, 吉田久信, 山崎和男, 田中 治, 薬誌, 98, 1132 (1978)
- 42) 林 恭三, 医学のあゆみ, 145, 323 (1988)
- 43) Andres, R.Y., Jeng, I. and Bradshaw, R.A., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 74, 2785 (1977)
- 44) 上海科学技術出版社 小学館編, “中薬大辞典”, 第三卷, 小学館, 東京, 1985, pp. 2017