

動物性生薬（蝮虫，蟻虫，水蛭）の血小板凝集能に
及ぼす影響

牛尾由美子・服部 雅康・有地 滋

（近畿大学東洋医学研究所*）

Effects of Bōchū, Shachū, and Suishitsu Extracts on Human
Platelets Aggregation

Yumiko USHIO, Masayasu HATTORI and Shigeru ARICHI

The Research Institute of Oriental Medicine, Kinki University

The inhibitory effects of the extracts from anti-“Oketsu” drugs, Bōchū, Shachū, and Suishitsu on the aggregation of human platelets were examined.

1) Hot water extracts of Bōchū, Shachū, and Suishitsu inhibited the aggregation of human platelets induced by adenosine diphosphate (ADP) and epinephrine.

2) Fraction 2 separated from Shachū extract using Sephadex G-50 showed the remarkable inhibition of platelet aggregation by ADP.

3) Fraction 1 (high molecular fraction of sugar) separated from Suishitsu extract using Sephadex G-50 inhibited remarkably the platelet aggregation by ADP.

蝮虫，蟻虫，及び水蛭は，古くから中国において漢薬として用いられており，神農本草経や本草綱目¹⁾に収載されている。

蝮虫はアブの成虫の乾燥品，蟻虫はサツマゴキブリの無翅の成虫の乾燥品，及び水蛭はヒルの乾燥品を充てており，表1に示すように，蝮虫，蟻虫，水蛭はいずれも駆瘀血薬すなわち血管内の血液の流れが悪くなって，ある部分に長く停滞しているような病態の治療薬として，大

*所在地：大阪府南河内郡狹山町大字西山（〒589）

Table 1. Comparison of Bōchu, Sachū, and Suishitsu

	ボウチユウ ヒ ボウ モク ボウ 蠅虫 (蜚蠊 木蠹)	シヤ チユウ 蟻 虫	スイ シツ 水 蛭
〔和名, ラテン名〕	阿布 <i>Tabanus fulvus</i>	於女牟之 <i>Blatta</i>	比留 <i>Hirudo</i>
〔基 本〕	双翅類アブ類 <i>Tabanus</i> sp. の成虫を主に充てる。	サツマゴキブリ <i>Opisthoptia orientalis</i> , Burm. の成虫を主に充てる。	ヒル類ヒル属 <i>Hirudo</i> sp. 諸種。主としてヒル (チスイビル) <i>H. nipponia</i> , Whit. を充てる。
〔作 用〕	有毒。通利血脈九竅, 墮胎	有毒。生子, 破堅, 和血, 止痛, 舒筋, 接骨, 通乳脈	有毒。利水道, 無子, 逐惡血, 墮胎
〔処 方〕	・九江散〔癰瘍〕 ・消血散〔打撲〕 ・抵当湯〔経閉〕	・大黃蟻虫丸〔虚弱〕	・抵当湯〔経閉〕
〔応 用〕	積聚, 堅痞, 癰瘕, 瘀血, 下血, 賊血, 喉痺, 女子月水不通, 癡狂, 瘀熱	心腹寒熱, 血積, 癰瘕, 血閉月水不通, 重舌, 口瘡, 夜啼, 腹痛	瘀血, 月閉, 血瘕, 積聚, 赤白遊疹, 廔腫, 毒腫, 折傷, 漏血
〔成 分〕			hirudin histamine様物質, ネコ血圧降下作用, 催リンパ作用
〔薬 理〕	血液凝固抑制, 溶血作用	血液凝固抑制, 溶血作用	血液凝固抑制, 溶血作用

黄蟻虫丸, 抵当湯に配合され, 大黃蟻虫丸は膠原病, 肝硬変などに, 抵当湯は月経不順, 子宮筋腫などに用いられている。

これら3種の駆瘀血薬の水製あるいはアルコール製エキスに血液凝固抑制作用, 溶血作用²⁾, 及び線溶系亢進作用のあることは既に知られている。そこで本研究においては, それら駆瘀血生薬の血液凝固抑制作用をさらに詳細に解明するため, まず血小板をとり上げ, その凝集能に対する作用を検討し若干の知見を得たので報告する。

実 験 方 法

1. 試料の抽出及び分画

蠅虫, 蟻虫, 水蛭乾燥品は香港市場品を用い, 熱湯抽出を3回(約9時間)行ない, その抽出液を凍結乾燥し使用時まで保存した。また, 実験に用いた各 fraction は, その凍結乾燥品水溶液を 3000 rpm, 10 min 遠心し, その上清を太田らの方法³⁾により Sephadex G-50を用いてゲルろ過することによって得た。

2. 血小板の分離

正常人の全血（9容量）に3.8%クエン酸Na（1容量）を混和し、遠心分離により多血小板（PRP）と乏血小板血漿（PPP）を得た。

3. 血小板凝集能の測定方法^{4,5)}

血小板凝集はNKK HEMA TRACER（二光バイオサイエンス）で測定し、惹起物質のADP（アデノシン-2-リン酸）、コラーゲン、エピネフィリン（L-エピネフィリン重酒石酸塩）は、アグリパック（京都第一科学）及びアラキドン酸Na（Sigma社製）を用いた。

また、蝨虫、蟻虫、水蛭エキス及び各fractionは、それぞれ2.5, 5.0, 10.0 mg/ml濃度の生食溶液とし、各溶液を20 μ lずつ（終濃度は200, 400, 800 μ g/mlに相当）、PRP 0.2mlに添加した。5分間インキュベーション後、惹起物質20 μ lを加え凝集曲線を描いた。また抑制率は、対照を100%として、対照と試料との最大凝集値の差を%で示した。

4. 糖の定量⁶⁾

ゲルろ過の各tube溶液の糖は、フェノール硫酸法により測定した。

5. ニンヒドリン陽性物質の定量⁷⁾

ゲルろ過後の各tube溶液について、ニンヒドリン定量法を用いて測定した。

結 果 と 考 察

1. 蝨虫、蟻虫、水蛭熱水抽出エキスの血小板凝集抑制作用

蝨虫、蟻虫、水蛭エキス共に、ADP 1 μ Mでは濃度依存的にADP 1次凝集を抑制した（図1）。また、ADP 5 μ Mでは蟻虫と水蛭に弱い2次凝集抑制作用がみられた（図2）。しかし、コラーゲン5 μ g/mlでは、ほとんど抑制作用は認められなかった（図3）。エピネフィリン1 μ g/mlでは、蟻虫10 mg/ml（終濃度800 μ g/ml）で70%程度の強い抑制がみられた（図4）。アラキドン酸1 mMでは、3種のエキス共に抑制作用は認められなかった（図5）。

2. 各fractionの血小板凝集抑制作用

ADP 1 μ M及び5 μ M共に抑制活性の認められた蟻虫と水蛭について、さらにSephadex G-50を用いてゲルろ過分画を行ない各fractionの血小板凝集抑制作用を観察した。

蟻虫：蟻虫のゲルろ過後の各tube溶液についてニンヒドリン反応物質及び糖の測定を行なった結果、tube number 15~46に糖の存在が認められ、tube number 30~47にニンヒドリン反応が強く認められた（図6）。そこで、No. 11~29の高分子分画（分子量5万~10万）をfraction 1、たん白のピークを認めたNo. 30~53をfraction 2、それ以降の低分子分画（分子量約5万以下）をfraction 3とし、各fractionについて血小板凝集抑制作用を検討し

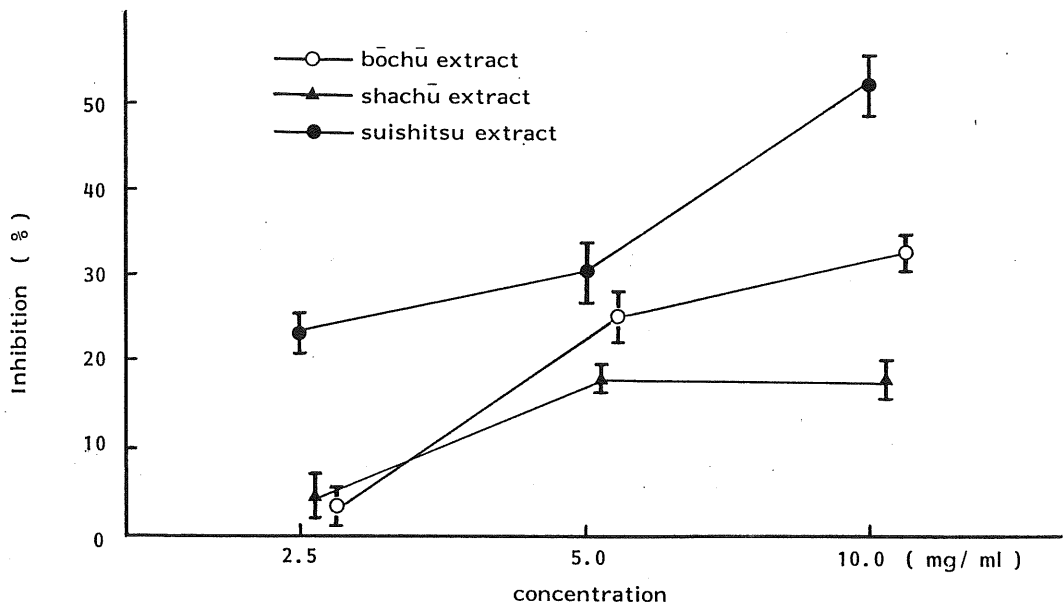


Fig. 1. Inhibitory effects on the platelet aggregation induced by ADP 1 μ M. Symbols and bars represent the mean $\pm$ S. E. of three measurements.

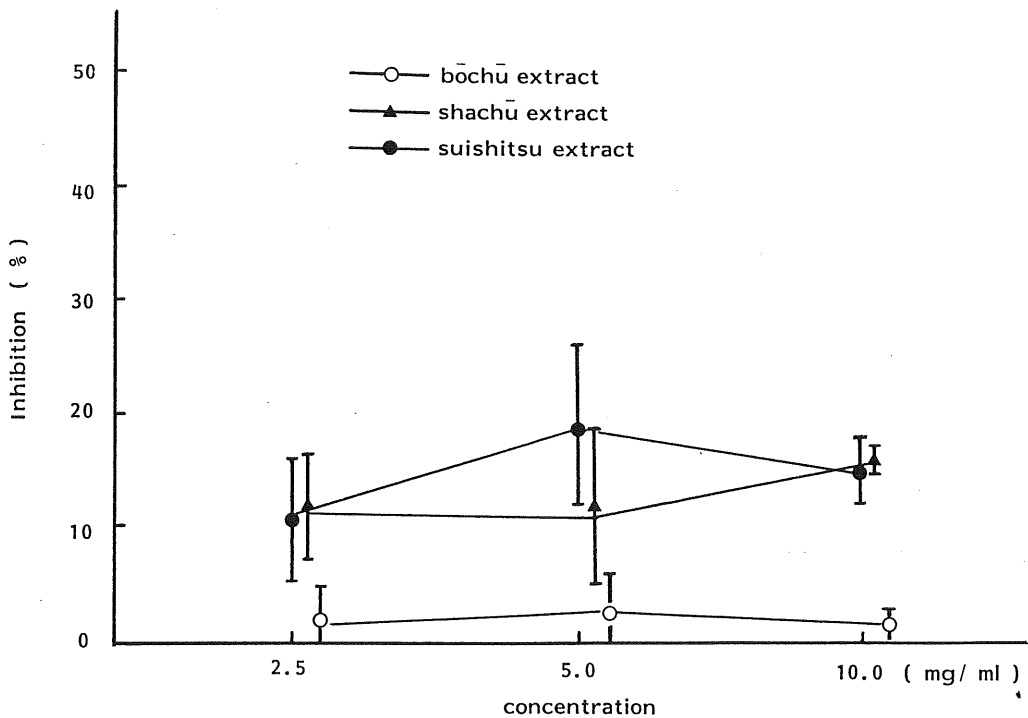


Fig. 2. Inhibitory effects on the platelet aggregation induced by ADP 5 μ M. Symbols and bars represent the mean $\pm$ S. E. of three measurements.

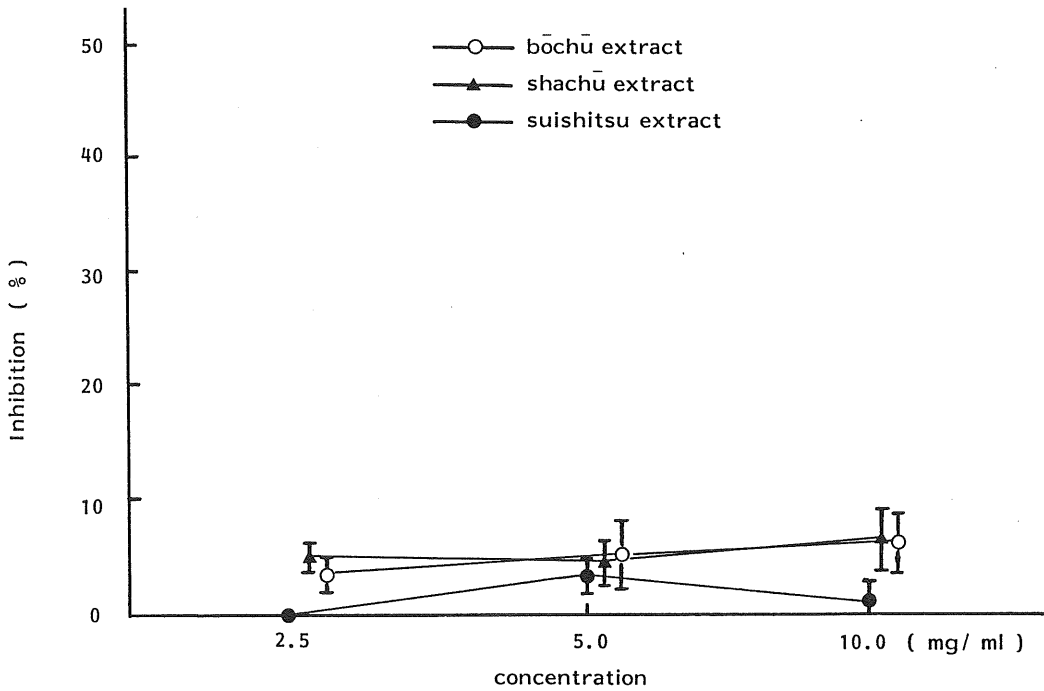


Fig. 3. Inhibitory effects on the platelet aggregation induced by collagen 5 μ g/ml. Symbols and bars represent the mean $\pm$ S. E. of three measurements.

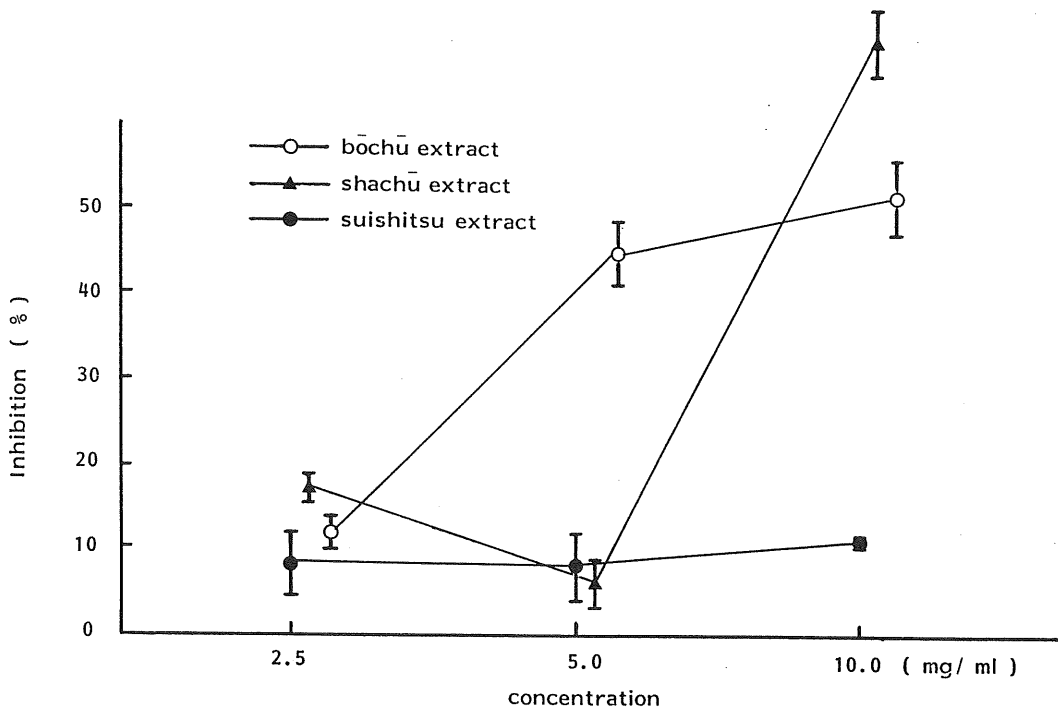


Fig. 4. Inhibitory effects on the platelet aggregation induced by epinephrine 1 μ g/ml. Symbols and bars represent the mean $\pm$ S. E. of three measurements.

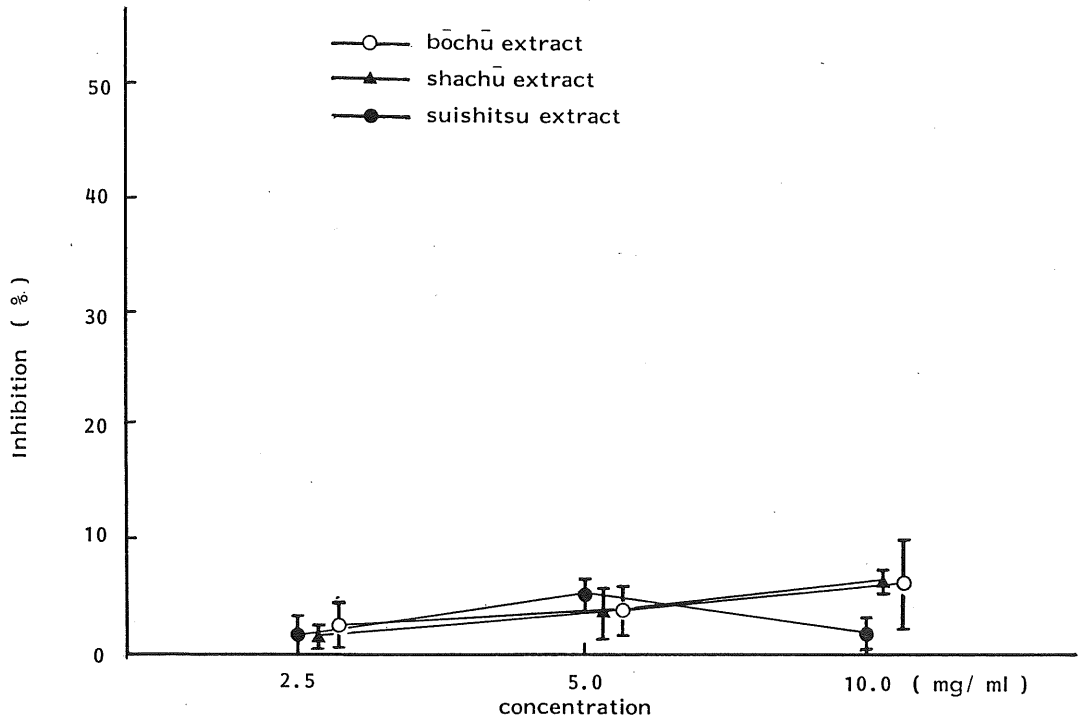


Fig. 5. Inhibitory effects on the platelet aggregation induced by arachidonic acid 1 mM. Symbols and bars represent the mean $\pm$ S. E. of three measurements.

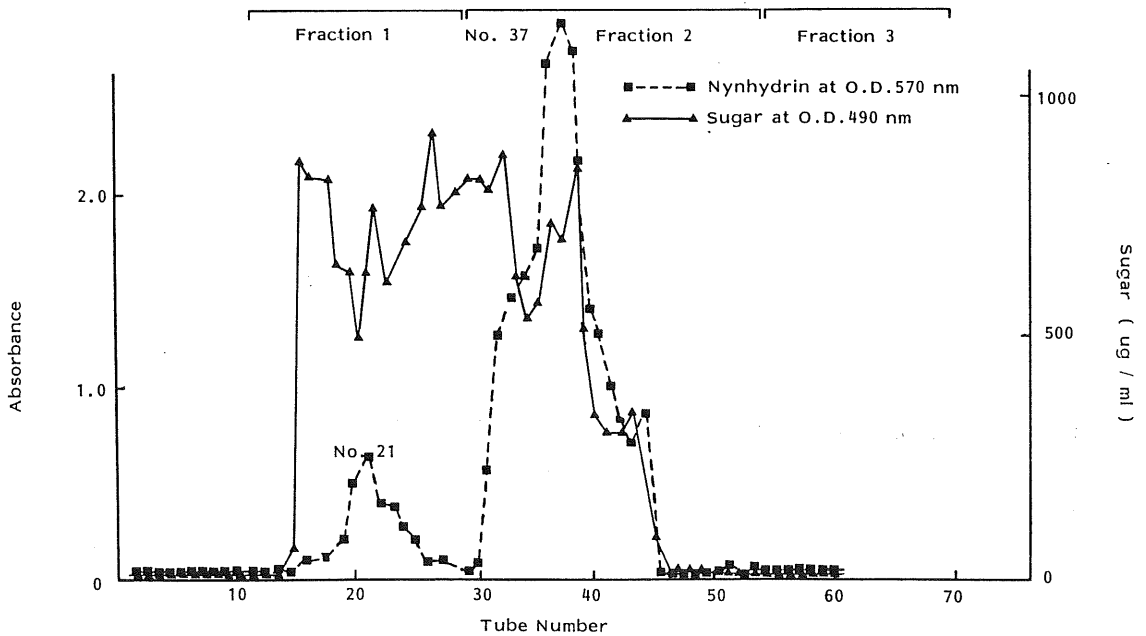


Fig. 6. Gel filtration of nynhydrin positive substance and sugar in Shachū extract

Table 2. Inhibitory effects of shachū fractions on the platelet aggregations

inducer	sample	inhibition percent (%) ¹⁾		
		2.5	5.0	10.0 ²⁾
ADP 1 μ M	fraction 1	0.0 $\pm$ 1.7	0.0 $\pm$ 0.7	0.0 $\pm$ 0.8
	fraction 2	0.8 $\pm$ 1.3	6.0 $\pm$ 2.0	27.7 $\pm$ 1.7
	fraction 3	1.8 $\pm$ 2.0	10.0 $\pm$ 2.8	10.0 $\pm$ 2.3
ADP 5 μ M	fraction 1	5.7 $\pm$ 2.3	3.0 $\pm$ 1.3	4.2 $\pm$ 2.0
	fraction 2	11.7 $\pm$ 2.3	9.3 $\pm$ 2.7	19.8 $\pm$ 2.8
	fraction 3	0.0 $\pm$ 1.0	13.3 $\pm$ 2.3	13.3 $\pm$ 2.3
collagen	fraction 1	7.0 $\pm$ 2.7	4.2 $\pm$ 2.0	6.8 $\pm$ 1.7
	fraction 2	0.0 $\pm$ 5.8	5.8 $\pm$ 2.8	25.0 $\pm$ 3.0
	fraction 3	3.2 $\pm$ 1.3	6.2 $\pm$ 1.2	9.5 $\pm$ 3.7

1) Values are represented as means of three experiments and S. E.

2) concentration (mg/ml) of the various samples.

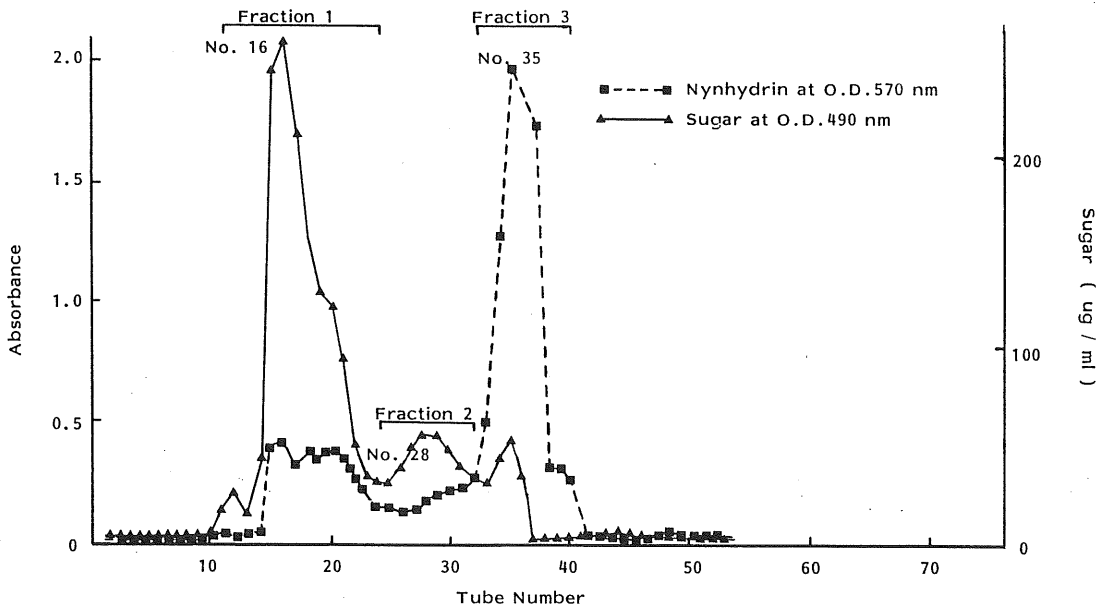


Fig. 7. Gel filtration of nynhydrin positive substance and sugar in Suishitsu extract

た。表2に示すように、ADP $1\mu\text{M}$ 及び $5\mu\text{M}$ で fraction 2 に強い抑制作用が認められた。また、コラーゲン凝集でも 10mg/ml ($800\mu\text{g/ml}$ の終濃度) で fraction 2 に強い抑制作用がみられたが、濃度依存性の抑制効果は認められなかった。

水蛭：塵虫と同様にゲルろ過を行ない各 fraction に分画した。ゲルろ過後の tube 溶液について塵虫と同様にニンヒドリン陽性物質と糖を検索した。その結果、tube number 33 ~ 40 にニンヒドリン反応を認めた。また、No. 14 ~ 24 に糖の存在が認められた(図7)。そこで、糖の多い分画として No. 11 ~ 24 を高分子 fraction 1 (分子量約5万~10万)、No. 25 ~ 32 を fraction 2、たん白の多い分画として No. 33 ~ 42 を低分子 fraction 3 (分子量約5万以下)とし、塵虫 fraction 同様に各 fraction について血小板凝集抑制作用を検討した。表3に示すように、ADP $1\mu\text{M}$ では fraction 1 に強い抑制活性を活性を認めた、また、ADP $5\mu\text{M}$ では、fraction 1, 2, 3 共に 5.0mg/ml (終濃度 $400\mu\text{g/ml}$) 以上の濃度で強い抑制作用がみられた。コラーゲン凝集では、 10mg/ml (終濃度 $800\mu\text{g/ml}$) で fraction 2 に強い抑制活性が認められたが濃度依存性の抑制効果は得られなかった。

これらの結果から、塵虫の糖及びたん白の多い分画及び水蛭の高分子の糖の多い分画が、Ca 依存性の凝集反応に対し抑制活性をもつことが推測された。

Table 3. Inhibitory effects of suishitsu fractions on the platelet aggregations

		inhibition percent (%) ¹⁾		
inducer	sample	2.5	5.0	10.0 ²⁾
ADP $1\mu\text{M}$	fraction 1	3.0 ± 2.0	25.3 ± 3.3	22.7 ± 3.2
	fraction 2	4.2 ± 1.7	4.3 ± 2.0	$18.3b \pm 2.0$
	fraction 3	0.0 ± 1.7	3.7 ± 2.7	13.7 ± 3.7
ADP $5\mu\text{M}$	fraction 1	4.2 ± 2.0	13.8 ± 2.0	20.0 ± 2.3
	fraction 2	1.7 ± 2.3	14.0 ± 3.0	17.0 ± 2.7
	fraction 3	3.0 ± 1.3	19.3 ± 2.0	23.0 ± 2.7
collagen	fraction 1	0.0 ± 2.7	2.0 ± 2.0	7.2 ± 2.8
	fraction 2	8.0 ± 2.3	2.3 ± 1.8	25.0 ± 2.2
	fraction 3	1.8 ± 1.2	0.0 ± 2.7	12.7 ± 2.7

1) Values are represented as means of three experiments and S. E.

2) concentration (mg/ml) of the various samples.

ま と め

1. 蛭虫, 蟻虫, 水蛭熱水抽出エキスには, 共に ADP, エピネフィリン凝集に対する抑制作用が認められた。
2. 蟻虫エキスでは, fraction 2 に ADP 1 次及び 2 次凝集に対する著しい凝集抑制作用が認められた。
3. 水蛭エキスでは, fraction 1 に ADP 1 次及び 2 次凝集に対する強い抑制活性が認められた。

文 献

1. 木村康一(1976) 新註 國譯本草綱目 第十冊
2. 山田 有(1958) 岐阜医紀 6 : 560.
3. 太田隆男, 大久保雅啓, 奥村重雄, 毛利威徳, 秋山 弘, 服部雅康(1985) 微量栄養素研究 2 : 169.
4. 山崎博男(1978) 臨床検査 22 : 935
5. 安永幸二郎(1979) 日本臨床(夏季増刊号) 37 : 832.
6. DUBOIS, M., K. A. GILLES, J. K. HAMILTON, p. A. REBERS and F. SMITH (1956) Anal. Chem. 28:350
7. MOOVE, S. and W. H. STEIN (1954) J. Biol. Chem. 211:907