釣藤散の高血圧自然発症ラット (SHR) 進展期に対する血圧, 自律神経系への影響

横瀬 友好 日野 亨 黒田 一明
櫻井 由美 山元 寿子 吉澤 亜人
岡 常英 上松瀬勝男

日本大学医学部内科学講座内科2部門 (駿河台日本大学病院循環器科), 東京, 〒101-8309 千代田区神田駿河台1-8-13

Effects of Choto-san (Diao-Teng-San) on Blood Pressure and Autonomic Nervous System in Spontaneously Hypertensive Rats of Progressive Hypertension

Tomoyoshi YOKOSE Toru HINO Kazuaki KURODA
Yumi SAKURAI Hisako YAMAMOTO Tsuguto YOSHIZAWA
Tsunehide OKA Katsuo KANMATSUSE

The 2nd Department of Internal Medicine, Nihon University School of Medicine (Surugadai Nihon University Hospital, Cardiology), 1-8-13, Surugadai, Kanda, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8309, Japan

Abstract

Choto-san was administered to 6-week-old spontaneously hypertensive rats (SHR) at the usual dose used for humans and at a 10-times higher dose, and its effects on blood pressure and the autonomic nervous system were examined. Significant blood pressure elevation was noted in the SHRs administered with the 10-fold dose, but no such changes were observed in the SHRs that were administered the usual human dose. Since the urinary levels of adrenaline and noradrenaline and the granulocyte count significantly increased in the 10-fold dose group, the elevation in blood pressure in this group appears to be attributable to stimulation of the sympathetic nervous system. Accelerated sympathetic nervous activity is noted in SHRs during the growing stage, and the excessively high dose of Choto-san probably further stimulated the sympathetic nervous activity.

Key words : Choto-san, SHR, sympathetic nervous system

要旨

6週齢の自然発症高血圧ラット (SHR) に釣藤散をヒト通常量および10倍量を投与し, 血圧及び自律神経系に対する影響について検討した。10倍量投与のSHRで昇圧が有意に促進されたが, 通常量投与のSHRでは変化は認めなかった。10倍量投与群では尿中アドレナリン, ノルアドレナリンおよび顆粒球が有意に増加していることから, 交感神経系の亢進に基づく結果と考えられた。進展期SHRでは交感神経活動が亢進しており, 過量の釣藤散が交感神経活動をさらに亢進させた可能性が示唆された。

キーワード: 釣藤散, SHR, 交感神経系

緒言

高血圧症及びその随伴症状に対して用いられる漢方方剤の主なものに, 黄連解毒湯, 三黄瀉心湯, 桃核承気湯, 防風通聖散, 大柴胡湯, 釣藤散などがある。釣藤散は高血圧症及びその随伴症状である頭痛, 肩こり, 耳鳴り, めまい感などを有する患者に投与され, 降圧効果と随伴症状の改善が認められている¹⁾²⁾。また釣藤散は高血圧自然発症ラット (SHR)

などの高血圧動物においても降圧作用³⁾⁴⁾が認められているが, その降圧機序については不明な部分が多い。既に我々は12週齢のSHRを用いて釣藤散の降圧効果とその作用機序として, レニン・アンジオテンシン系 (RA系), 交感神経系の抑制効果を報告した⁵⁾。今日, 2次予防から1次予防へと治療, 予防医学の主眼がシフトしている。東洋医学には元来, 「未病を治す」という所謂1次予防の概念がある。

今回、我々は釣藤散を SHR の高血圧発症前の進展期に投与し、その高血圧発症予防と、作用機序について検討した。

材料と方法

1. 薬物

薬物はカネボウ薬品株式会社より提供された釣藤散エキス顆粒 (EK47) を使用した。

2. 実験動物

実験動物は5週齢の SHR (船橋農場: SHR/Izumo) と正常血圧モデルとして同週齢のウィスター京都ラット WKY (船橋農場: WKY/Izumo) を購入し、温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $35 \pm 5\%$ 、12時間明暗サイクル (明期7:00~19:00, 暗期19:00~7:00) の動物飼育室で1週間飼育した後実験に供した。SHR は無作為に釣藤散を投与しない群 ($n=6$)、ヒトの通常量を投与した通常量群 ($n=6$)、ヒトの10倍量を投与した10倍量群 ($n=6$) の3群に分け、WKY にはヒトの10倍量を投与した。釣藤散の投与量はヒト1日量7.5g を体重50kg として換算し、通常量は 0.15g/kg を、10倍量は 1.5g/kg をそれぞれ脱イオン水に溶解して自由に飲水させた。対照群は脱イオン水を飲水させた。いずれの群も減塩食で飼育した。

3. 測定項目

1) 体重・飼料摂取量・飲水量・尿量

釣藤散投与前と投与2週毎に12週齢まで体重、飼料摂取量、飲水量を測定した。代謝ケージを用い、24時間尿量を測定した。

2) 収縮期血圧・心拍数

釣藤散投与前と投与2週毎に12週齢まで収縮期血圧、心拍数を Rat Tail Manometer Tachometer System (KN-210, 夏目製作所, 東京, 日本) により測定した。

3) 尿中カテコラミン値、クレアチニン値

代謝ケージを用いて24時間尿を採取し、尿中アドレナリン値、ノルアドレナリン値は HPLC 法、クレアチニン値はアルカリピクリン酸法で、釣藤散投与前と投与後2週毎に12週齢までそれぞれ測定した。なお尿中アドレナリン値、ノルアドレナリン値は尿中クレアチニン排泄量で補正した。

4) 血漿レニン活性・血漿アンジオテンシン II 値・血漿アルドステロン値・白血球数・顆粒球数・リンパ球数

釣藤散投与6週後の12週齢で採血のため各ラットはエーテル麻酔下に左頸動脈にカテーテル (PE50) を挿入し、皮下を通して両肩甲骨間の皮膚に固定した。カテーテル留置の2日後に意識下で採血し、血漿レニン活性、血漿アンジオテンシン II 値を RIA 2 抗体法、血漿アルドステロン値を RIA 固相法、白血球数を電気抵抗検出法、顆粒球数、リンパ球数を鏡顕法でそれぞれ測定した。

4. 統計処理

数値はすべて $\text{mean} \pm \text{SE}$ で表示し、統計処理は分散分析を行った後、群内の経時的変化は反復測定一分散分析で解析し、各群間の比較は Scheffe 検定あるいは Tukey-Kramer 検定を用いた。有意水準は 5% 未満とした。

結果

1. 体重、飼料摂取量、飲水量、尿量

体重、飼料摂取量、飲水量、尿量は実験期間を通して各群間に有意な差は認められなかった。なお飲水量から求めた釣藤散摂取量は SHR の通常量群は $0.056 \pm 0.009\text{g/日}$ 、10倍量群は $0.543 \pm 0.094\text{g/日}$ 、WKY は $0.606 \pm 0.118\text{g/日}$ であり、それぞれヒト換算量とほぼ一致していた。

2. 収縮期血圧 (Fig.1)

釣藤散投与前の収縮期血圧は、SHR の対照群 $148.4 \pm 1.6\text{mmHg}$ 、通常量群 $150.0 \pm 2.3\text{mmHg}$ 、10倍量群 $153.3 \pm 4.7\text{mmHg}$ であり3群間で有意差はなく、WKY の釣藤散投与前の収縮期血圧は $120.6 \pm 2.5\text{mmHg}$ で、SHR の3群に比し有意 ($P < 0.001$) に低値であった。SHR の10倍量群は実験期間で最も昇圧の程度が大きく、4週後の10週齢 $187.1 \pm 5.3\text{mmHg}$ 、12週齢 $212.5 \pm 4.5\text{mmHg}$ と投与前値と比較し有意 (それぞれ $P < 0.001$) に上昇した。群間の比較では、釣藤散投与4週目の10週齢で SHR 対照群の $159.6 \pm 10.9\text{mmHg}$ と比較し、SHR の10倍量群は $187.1 \pm 5.3\text{mmHg}$ で有意 ($P < 0.05$) に高値であった。さらに、投与6週目の12週齢では SHR 通常量群 165.5 ± 9.4 、SHR 対照群 $186.2 \pm 7.3\text{mmHg}$ と比較し、SHR の10倍量群は $212.5 \pm 4.5\text{mmHg}$ で有意 ($P < 0.001$, $P < 0.05$) に高値であった。SHR の通常量群は実験期間を通じ、昇圧の程度が緩やかで8週齢から10週齢にかけて有意な昇圧はなく、12週齢で SHR 対照群、10倍量群に比し有意 ($P < 0.05$, $P < 0.001$) に低値であった。WKY は実験期間中は

Fig. 1 Effects of Choto-san on systolic blood pressure in SHR and WKY

○ : SHR control △ : SHR normal dose □ : SHR 10 times dose
◆ : WKY * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$: vs SHR control *** $P < 0.001$:
vs SHR groups

Fig. 2 Effects of Choto-san on Heart rate in SHR and WKY

○ : SHR control △ : SHR normal dose □ : SHR 10 times dose
◆ : WKY ** $P < 0.01$: vs SHR control & 10 times dose * $P < 0.05$:
vs SHR control ** $P < 0.01$: vs SHR groups

は一定の血圧値で推移した。

3. 心拍数 (Fig. 2)

釣藤散投与前の心拍数は, SHR の対照群 386.0 ± 4.0 bpm, 通常量群 386.6 ± 4.2 bpm, 10倍量群 388.6 ± 4.5 bpmであり3群間で有意差はなく, WKY の釣藤散投与前の心拍数は 358.3 ± 8.3 bpmで, SHR の3群に比し有意 ($P < 0.01$) に低値であった。10週齢の対照群 388 ± 1.9 bpm, 通常量群 380 ± 3.5 bpm, 10倍量群 380 ± 3.0 bpmで, 通常量群および10

倍量群が対照群と比較し有意 ($P < 0.05$) に低値であった。12週齢では対照群 390 ± 2.8 bpm, 通常量群 378.3 ± 3.0 bpm, 10倍量群 388.3 ± 3.2 bpmで通常量群が他の2群と比較し有意 ($P < 0.01$) に低値であった。WKY は実験期間中有意な変化は認めなかった。

4. 尿中アドレナリン値 (Fig. 3)

釣藤散投与前の尿中アドレナリン値は, SHR の対照群 3.3 ± 2.7 ng/mg; Cr, 通常量群 2.5 ± 1.8 ng/mg; Cr, 10倍量群 1.8 ± 1.0 ng/mg; Cr, WKY 2.5 ± 1.4 ng/

Fig. 3 Effects of Choto-san on urinary adrenaline in SHR and WKY

○ : SHR control △ : SHR normal dose □ : SHR 10 times dose

◆ : WKY **P<0.01 : vs SHR control, normal dose & WKY

**P<0.01 : vs SHR control & normal dose

Fig. 4 Effects of Choto-san on urinary noradrenaline in SHR and WKY

○ : SHR control △ : SHR normal dose □ : SHR 10 times dose

◆ : WKY *P<0.05 : vs SHR control, normal dose & WKY

mg ; Cr であり 4 群間で有意差は認めなかった。実験期間中の尿中アドレナリン値の上昇の程度は SHR の 10 倍量群で著しく、10 週齢 17.4 ± 1.4 ng/mg ; Cr, 12 週齢 31.6 ± 4.9 ng/mg ; Cr であり SHR の他群と比較し有意 ($P < 0.01$) に高値であった。

5. 尿中ノルアドレナリン値 (Fig. 4)

釣藤散投与前の尿中アドレナリン値は、SHR の対照群 15.5 ± 8.0 ng/mg ; Cr, 通常量群 14.0 ± 6.0 ng/mg ; Cr, 10 倍量群 10.6 ± 3.0 ng/mg ; Cr, WKY 18.0 ± 7.0 ng/mg ; Cr であり 4 群間で有意差は認めなかった。SHR の 10 倍量群以外の群では投与前から 12 週

齢まで上昇の程度は同等で各群間で有意差は認めなかったが、SHR の 10 倍量群は 10 週齢 67.8 ± 4.8 ng/mg ; Cr, 12 週齢 156.7 ± 11.2 ng/mg ; Cr と、12 週齢において急激な上昇が認められた。

6. 血漿レニン活性 (Table. 1)

12 週齢時の血漿レニン活性は SHR の対照群で 7.8 ± 1.8 ng/ml/hr, 通常量群 8.9 ± 2.8 ng/ml/hr, 10 倍量群 8.6 ± 2.9 ng/ml/hr, WKY 4.7 ± 0.2 ng/ml/hr で 4 群間で有意差は認めなかった。

7. 血漿アンジオテンシン II 値 (Table. 1)

12 週齢時の血漿アンジオテンシン II 値は SHR の

Table.1 Effects of Choto-san on PRA, Angiotensin II and Aldosterone in SHR and WKY

	PRA (ng/ml/hr)	Angiotensin II (pg/ml)	Aldosterone (pg/ml)
SHRcontrol	7.8±1.8	31.4±16.9	203.4±99.2
SHR 通常量	8.9±2.8	24.0±5.8	283.4±47.0
SHR10倍量	8.6±2.9	23.4±6.0	404.8±76.6
WKY	4.7±0.2	15.6±2.9	190.0±41.9

Table.2 Effects of Choto-san on WBC, Granulocyte and Lymphocyte in SHR and WKY

	白血球数 (/μl)	顆粒球数 (/μl)	リンパ球数 (/μl)
SHRcontrol	5400.0±252.9	1102.4±42.6	4682.8±142.2
SHR 通常量	5800.0±164.3	1761.6±194.1	4155.6±132.9
SHR10倍量	6760.0±1135.1	3004.8±729.7*	3930.8±445.5
WKY	5940.0±800.3	1024.8±230.1	4915.2±810.1

*P<0.05 : vs SHR control & WKY

対照群で31.4±16.9pg/ml, 通常量群24.0±5.8pg/ml, 10倍量群23.4±6.0pg/ml, WKY15.6±2.9pg/mlで4群間で有意差は認めなかった。

8. 血漿アルドステロン値 (Table.1)

12週齢時の血漿アルドステロン値は SHR の対照群で203.4±99.2pg/ml, 通常量群283.4±47.0pg/ml, 10倍量群404.8±76.6pg/ml, WKY190.0±41.9pg/mlで4群間で有意差は認めなかった。

9. 白血球数, 顆粒球数, リンパ球数 (Table.2)

12週齢時の白血球数は SHR の対照群で5400.0±252.9/μl, 通常量群5800.0±164.3/μl, 10倍量群6760.0±1135.1/μl, WKY5940.0±800.3/μlで4群間で有意差は認めなかった。顆粒球数は SHR の対照群は1102.4±42.6/μl, 通常量群1761.6±194.1/μl, 10倍量群3004.8±729.7/μl, WKY1024.8±230.1/μlで SHR の10倍量群が対照群および WKY に比し有意(P<0.05)に高値であった。リンパ球数は SHR の対照群は4682.8±142.2/μl, 通常量群4155.6±132.9/μl, 10倍量群3930.8±445.5/μl, WKY4915.2±810.1/μlであり統計学的には有意差は認められなかった。

考察

釣藤散は石膏, 陳皮, 半夏, 麦門冬, 茯苓, 人參, 防風, 甘草, 生姜, 釣藤鈎, 菊花の11種の生薬より構成されている。これらの構成生薬の中で, 半夏, 人參, 生姜, 釣藤鈎は循環器系に対する作用が明らかにされている。血圧に関して人參には SHR⁶⁾, 脳卒中易発症高血圧ラット (SHRSP)⁷⁾, 食塩感受性高血圧ラット (DOC)⁷⁾において降圧作用が報告さ

れている。また釣藤鈎には多くのインドール系アルカロイドが含まれ, なかでもヒルスチンには末梢血管拡張作用, α受容体遮断作用, 電位依存性カルシウムチャネルの抑制作用など多彩な作用^{8),9)}が認められ, これらの作用によって血圧など循環器系に影響を与えることが報告されている。さらに釣藤鈎には中枢のセロトニン受容体機能に関連した鎮静作用¹⁰⁾, 抗痴呆効果¹¹⁾なども指摘されている。これらの報告のように釣藤散の構成生薬の薬理作用が解明されるにつれて釣藤散の方剤としての降圧機序も徐々に明らかにされてきている。また我々は既に12週齢の SHR に釣藤散を投与し, その降圧機序を交感神経系と RA 系の面から検討し, 両系を抑制することを報告した⁵⁾。今回我々は高血圧発症前の進展期 SHR を用い, 釣藤散の高血圧発症予防効果についてその作用機序を含めて検討した。

今回の成績では通常量群は実験期間を通じ, 昇圧の程度が緩やかで8週齢から10週齢にかけて有意な昇圧はなく, 12週齢で SHR 対照群, 10倍量群に比し有意に低値であったが, 10倍量投与の SHR では昇圧が促進した。また尿中アドレナリン値, ノルアドレナリン値, 顆粒球数の上昇が10倍量投与の SHR で認められた。以上から10倍量投与群の昇圧促進は交感神経系の亢進によるものと推測された。現在まで, 釣藤散の降圧作用についての報告はかなりみられるが, 昇圧促進作用についての報告はみられない。今回の結果は, 4週齢の SHR に釣藤散を投与し降圧と血中アドレナリンの低下が認められたとする太

田ら⁴⁾の報告と一致しなかった。これは釣藤散投与量の違いによる可能性も考えられる。太田らの報告では釣藤散投与量が680mg/kg/日であるのに対し、我々の実験では10倍量群で1500mg/kg/日と2倍以上である。今回の成績でも通常量投与群(150mg/kg/日)では12週齢においてコントロール群と比較し有意な昇圧抑制と心拍数の上昇抑制、尿中アドレナリン値の低下が認められた。また正常血圧モデルであるWKYにも10倍量を投与したが、昇圧は認めていない。ラットではヒトに比べ降圧薬に対する反応性が弱く、現代医学の降圧薬においてもヒトの5~10倍量を投与し降圧作用が認められる。同様に、種々の漢方薬での検討もその投与量はヒトの2倍以上がほとんどである。12週齢以降の高血圧症の完成した成熟期SHRを用いた我々の検討でも血圧値に変化を認めたのは10倍量投与群であった。すでに高血圧症の完成した成熟期SHRに比べ進展期SHRでは交感神経活動が亢進している。このように進展期SHRは高血圧症完成の準備段階とも考えられ、交感神経系の反応性も亢進していると思われる。従ってこのような時期では投与量の増加が交感神経活動をさらに亢進させ、昇圧が促進した可能性がある。しかし、一方で既に我々が報告したように交感神経系を抑制し降圧作用を示す釣藤散が、今回のように、なぜ交感神経活動を亢進させたのか詳細は不明である。あるいはこのような生体の内部環境の違いが東洋医学における「証」の違いとして認識され、進展期SHRが釣藤散を投与すべき「証」ではなかったと考えることもできる。構成生薬について検討すると、昇圧を促進した可能性のあるものとして人参が挙げられる。人参は視床下部-下垂体に作用し、ACTH、コルチコステロンの分泌を促進する¹²⁾。すなわち過量の人参が視床下部-下垂体-副腎系を賦活することにより、間接的に交感神経系を活性化した可能性は否定できない。さらに人参は脳幹ノルアドレナリンを増加させる¹³⁾ことから中枢性に交感神経活動を亢進させた可能性も否定できない。今回の成績は12週齢以降に釣藤散を投与した成績と相反する結果であった。しかしながら今回は6週齢から12週齢まで期間を区切って行っており、さらに12週齢以降も観察を継続した場合、SHRに10倍量を投与した群が既に報告した結果と同様に12週齢以降で降圧されるかどうかは今後の検討課題である。

高血圧発症の予防の意義は脳、心臓血管疾患、腎不全など重篤な合併症の予防にある。今回の結果は予想に反し、SHRに釣藤散を10倍量投与することにより昇圧が促進された。この機序のひとつとして交感神経活動亢進状態では過量の釣藤散が交感神経系をさらに亢進させた可能性が示唆された。

結語

今回、我々は釣藤散をSHRの高血圧発症前の進展期に投与し、その高血圧発症予防と、作用機序について検討したが予想に反し、10倍量投与のSHRで昇圧の促進が認められた。これは交感神経活動の亢進している時期では釣藤散の大量投与により交感神経の興奮性がさらに増大したものと考えられた。

稿を終えるにあたり、釣藤散エキス顆粒をご提供いただいたカネボウ薬品株式会社に深謝申し上げます。

本論文の要旨は第51回東洋医学会学術総会(2000年5月、京都)において発表した。

文献

- 1) 假野隆司, 他: 釣藤散と本態性高血圧症(臨床研究第1報: 血圧と血中脂質および電解質に及ぼす影響について), 和漢医薬会誌, **3**, 123-128(1986)
- 2) 永田勝太郎, 他: 高血圧におけるQOLと釣藤散の効果, 和漢医薬誌, **8**, 252-253(1991)
- 3) 尾崎正若, 他: 釣藤散及び黄連解毒湯の脳卒中易発症ラット(SHR-SP)の血圧に対する作用, 和漢医薬会誌, **2**, 560-561(1985)
- 4) 太田 尚, 他: 黄連解毒湯および釣藤散の高血圧自然発症ラットの血圧と血中カテコラミンに対する影響, 和漢医薬会誌, **3**, 336-337(1986)
- 5) 横瀬友好, 他: 高血圧自然発症ラットにおける釣藤散の血行動態, 交感神経, レニン・アンジオテンシン系の及ぼす影響, 日本臨床生理学雑誌, **2**, 125-131(2000)
- 6) 松田秀秋: 日本生薬学会29年会講演要旨集, 10(1982)
- 7) 岸部一郎: 第17回和漢薬シンポジウム講演要旨集, 6(1983)
- 8) Yano S., et al.: Ca²⁺ channel blocking effects of hirsutine, an indole alkaloid from uncaria genus, in the isolated rat aorta, Planta Med, **57**, 403-405(1991)
- 9) 山原條二, 他: 釣藤散のカルシウム流入阻害作用

- 成分, 日薬理誌, **90**, 133-140 (1987)
- 10) 更井啓介, 他: 釣藤散, 抑肝散および釣藤鈎の中
 枢セロトニン受容体機能に及ぼす影響—行動薬理
 学的検討—. 和漢医薬会誌, **3**, 326-327 (1986)
- 11) Terasawa K., et al. : Choto-san in the treatment of vas-
 cular dementia : a double-blind, placebo-controlled
 study. Phytomedicine, **4**, 15-22 (1997)
- 12) Hiai S., et al. : Endocrinol Jpn. **26**(6), 661 (1979)
- 13) Petkov. W. : Arzneim-Forsch **28**, 388 (1978)