

オウゴンの心・血管系に対する作用：baicalin の 血管平滑筋収縮作用とその作用機序

脇田 広美,^{*a)} 鈴木 永雄,^{b)} 宮本 謙一^{c)}

^{a)}(株) ツムラ・開発本部

^{b)}金沢大学大学院・自然科学研究科

^{c)}金沢大学医学部附属病院・薬剤部

Effects of Scutellariae Radix on the cardiovascular system : Vasoconstrictile effect of baicalin and its mechanism of action

Hiromi WAKITA,^{*a)} Nagao SUZUKI,^{b)} Ken-ichi MIYAMOTO^{c)}

^{a)}Development Division, Tsumura & Co., 12-7, Nibancho, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8422, Japan.

^{b)}Department of Clinical Pharmaceutics, Kanazawa University, 13-1, Takara-machi, Kanazawa 920-0934, Japan.

^{c)}Department of Hospital Pharmacy, Kanazawa University School of Medicine, 13-1, Takara-machi, Kanazawa 920-8641, Japan.

(Received October 29, 2002. Accepted December 2, 2002.)

Abstract

Scutellariae Radix and its main constituent, baicalin, concentration-dependently contracted the isolated rat aorta, and its contractile responses were tachyphylaxic. Wogonin, another constituent in Scutellariae Radix, conversely concentration-dependently relaxed the contraction induced by phenylephrine in the isolated rat aorta, and the relaxation was not tachyphylaxic. Applying the sample containing baicalin and wogonin in the same proportion as the content ratio in Scutellariae Radix, it was observed that the isolate rat aorta contracted in the same way as Scutellariae Radix and baicalin. From the results with adrenergic blockers, serotonergic blockers, tetrodotoxine and NO synthase inhibitors, it is suggested that the mechanism of contractile effect of Scutellariae Radix and baicalin on the vascular smooth muscle is not based on the adrenergic and serotonergic system, and endothelium derived relaxing factor. Furthermore, cyclooxygenase inhibitors suppressed the contractile response to baicalin in the isolated rat aorta, correlation was identified between prostanoids concentration and the contraction by baicalin. Repeated applications of baicalin induced the decrease of prostanoids production while weakening the strength of contraction. The above results suggest that prostanoids production is involved in the contractile response to baicalin.

Key words Scutellariae Radix, baicalin, wogonin, cyclooxygenase, prostanoids.

緒 言

既報¹⁾の通り、オウゴンの熱水抽出エキス、およびその主要な含有成分である baicalin に血管平滑筋収縮作用があることを見出し、さらに、その作用機序について、何らかの活性物質の放出が関与していることを示唆する結果を得た。そこで、オウゴンの主要含有成分である baicalin と、同じくオウゴン含有成分である wogonin を用いて、その作用機序を検討した。

材料と方法

(1) 実験動物と標本の摘出

Wistar 系雄性ラット (体重300~400g) を用い、pentobarbital sodium (50mg/kg, i.p.) 麻酔下に放血死させた後、速やかに胸部大動脈を摘出した。

(2) 使用薬物

オウゴンは20倍量の蒸留水にて煮沸し、濾液を凍結乾燥した水エキス粉末 (抽出率20%) を使用した (以下、

*To whom correspondence should be addressed. e-mail : wakita_hiromi@mail.tsumura.co.jp

オウゴンエキスと略す)。Baicalin, indomethacin (以上和光純薬), wogonin (松浦薬業), NS398, flurbiprofen (以上フナコシ), acetylcholine (第一製薬), phenylephrine (東京化成工業), dibucaine (帝国化学産業), methoxamine, triton X-100, 牛血清アルブミン, antiform A, prazosin, propranolol, ketanserine, guanethidine, imipramine, tetrodotoxin, NG-nitro L-arginine (以上 Sigma), phentolamine (日本チバガイギー), prostaglandin E₂, prostaglandin F_{2α}, STA₂ (以上小野薬品), tyramine (ナカライテスク) を使用した。

Baicalin および wogonin は, dimethylsulfoxide (DM SO) で, indomethacin は ethanol で溶解した後, 精製水で希釈した。DMSO あるいは ethanol の濃度は最終濃度 1% 以下になるように調製した。

(3) 標本作製, 測定方法および薬物の投与方法

ラットの大動脈弓から横隔膜接点までの大動脈を負荷をかけないように摘出し, 周りの結合組織と脂肪を除去した後, らせん標本 (幅約 2mm, 長さ約 20mm), またはリング標本 (長さ約 5mm) を作製した。血管内皮は, らせん標本ではろ紙を 2~3 回押し当てることで, リング標本では血管内面を細いガラス棒で擦ることで除去した。標本を混合ガス (95% O₂, 5% CO₂) で飽和した Krebs-Henseleit 液 (37°C) の入った organ bath 内に 1g の負荷をかけて懸垂し, その張力の変化を等尺性トランスデューサー (UL-10GR, Minebea Co.), 増幅器 (NS-108, NEC-San-ei) を介してポリグラフ (RECTI-HORIZ-8K, San-ai) 上に記録した。標本の張力が安定したところで phenylephrine (10⁻⁶M) を適用した。収縮がプラトーに達したところで acetylcholine (10⁻⁷M) を適用し, 弛緩が発現せず phenylephrine 収縮が減弱されないことにより血管内皮が除去されていることを確認した。その後, phenylephrine (10⁻⁶M) 適用により一定の収縮張力が得られることを確認した後, 実験を開始した。

オウゴンエキス, baicalin, wogonin, baicalin と wogonin の混合物 (以下, これらを「被験薬物」という) は, 累積的に投与した (一部実験では単独適用した)。

Indomethacin, NS398, flurbiprofen, prostaglandin E₂, prostaglandin F_{2α}, NG-nitro L-arginine は, 被験薬物の適用 30 分前に organ bath 内に適用した。Prazosin, propranolol, ketanserine, guanethidine, imipramine, tetrodotoxin は被験薬物の適用 30 分前に適用した。標本の収縮または弛緩の割合は phenylephrine (10⁻⁶M) 適用時の収縮を 100% とし, 表した。

(4) 各種 prostanoids の測定

ラット胸部大動脈らせん標本に被験薬物等を適用した際の, organ bath 内の Krebs-Henseleit 液中に遊離さ

れる prostanoids 濃度を以下の手順で測定した。被験薬物適用前および 1, 2, 3 回目適用による大動脈標本の収縮ピーク時に, 標本を浸した Krebs-Henseleit 液を各々約 1ml 採取し, -20°C で凍結保存した。採取液中の prostaglandin E₂, prostaglandin F_{2α}, thromboxane B₂ の濃度を enzyme immunoassay kit (CAYMAN) を用いて測定した。すなわち, ヤギ抗マウス IgG 抗体をプレコートしたマイクロタイタープレートのウェルに 50 μl のサンプルおよびスタンダードを加え, 各ウェルに測定対象物質の acetylcholinesterase とモノクローナル抗体を各々 50 μl ずつ加えてインキュベートした。その後, 洗浄し, ウェルに結合したトレーサーを Ellman's 試薬で発色させ, 2 波長フライングスポットスキャンングデンシトメータ (CS9300PC, Shimadzu) により波長 412nm の吸光度を測定した。ウェル中の未知試料の濃度は, 吸光度を検量線と比較することで行った。

(5) 統計解析

測定結果は平均±標準誤差で表した。また, F 検定の後, $p \geq 0.05$ の場合は Student's t-検定法により, $p < 0.05$ の場合は Aspin-Welch's t-検定法により, $p < 0.05$ を有意とした。

結 果

1. 血管平滑筋に対するオウゴンエキスおよびその成分 (baicalin, wogonin) の作用

a. 静止時張力下にある血管標本に対する作用

静止時胸部大動脈リング標本の張力に与える影響を検討した。オウゴンエキス (10⁻⁷~10⁻⁴g/ml) は, 1 回目の適用で濃度依存的に血管を収縮させ, 10⁻⁴g/ml では phenylephrine (10⁻⁶M) 収縮の約 30% 程度の収縮を起こした。しかし, オウゴンエキスの適用を 2 回, 3 回と繰り返すと, 発生する収縮張力は回を追って低下した (Fig. 1A)。Baicalin (10⁻⁵~10⁻⁴M) も濃度依存的に収縮を惹起したが, 累積適用を繰り返すと, 2 回目, 3 回目では, それぞれ前回よりも収縮が減弱した (Fig. 1B)。Wogonin (10⁻⁸~10⁻⁵M) は収縮作用を示さなかった。

b. Phenylephrine により収縮した血管標本に対する作用

胸部大動脈リング標本に phenylephrine (10⁻⁶M) を投与し, その収縮が安定したところで, 被験薬物を累積適用した。オウゴンエキス (10⁻⁷~10⁻⁴g/ml) は, 1 回目および 2 回目の適用では 10⁻⁷~10⁻⁵g/ml の範囲で, 3 回目の適用では 10⁻⁷~10⁻⁴g/ml の範囲で濃度依存的に収縮が増加する傾向がみられ, また, 3 回目の適用 10⁻⁴g/ml では投与直後にわずかに弛緩した後, 収縮が生じる二相性の反応を示した。10⁻⁷~10⁻⁵g/ml の濃度範囲の反応は,

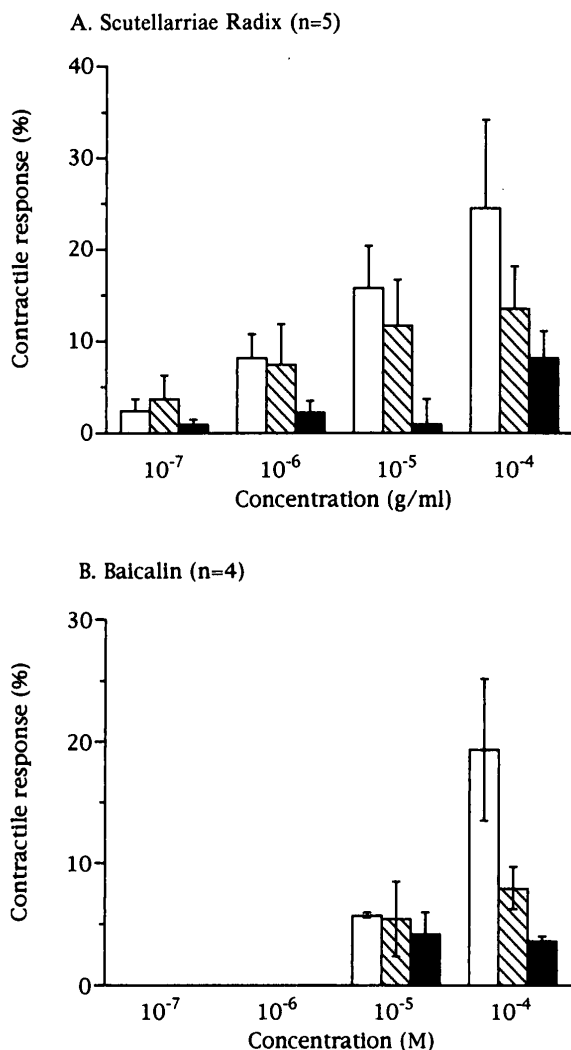


Fig. 1 Contractile effects of *Scutellarriae Radix* (A, n=5) and baicalin (B, n=4) on isolated rat aorta. Contractions on the first (open columns), second (hatched columns) and third (closed columns) applications were expressed as % of the contraction induced by phenylephrine (10^{-6} M). Data are means \pm S.E..

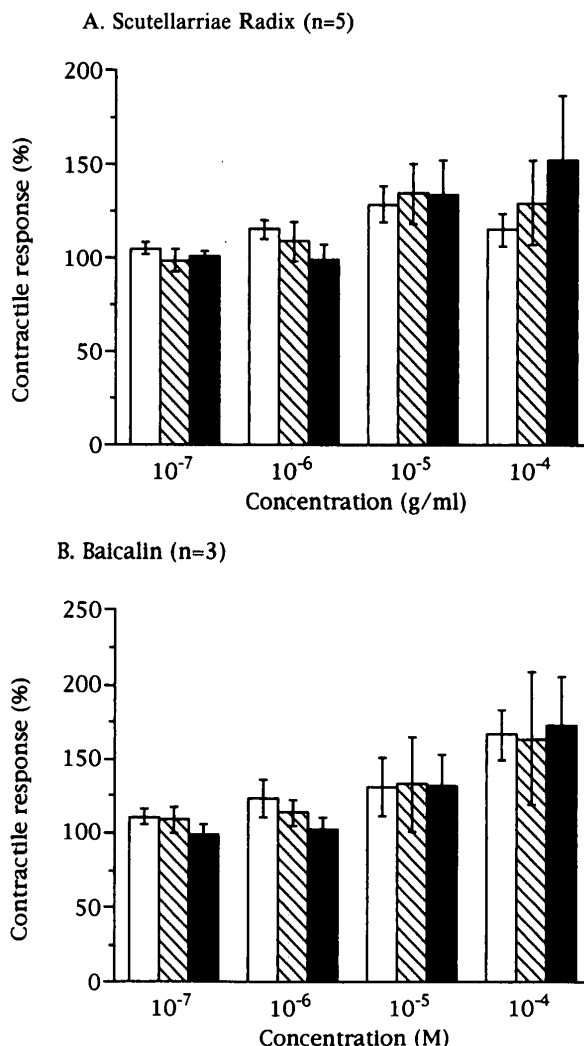


Fig. 2 Contractile effects of *Scutellarriae Radix* (A, n=5) and baicalin (B, n=3) on isolate rat aorta precontracted with phenylephrine. Contractions on the first (open columns), second (hatched columns) and third (closed columns) applications were expressed as % of the contraction induced by phenylephrine (10^{-6} M). Data are means \pm S.E..

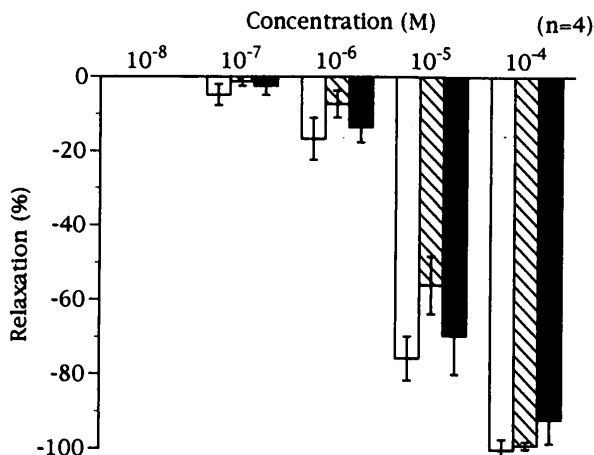


Fig. 3 Relaxing effects of wogonin on isolated rat aorta precontracted with phenylephrine. Relaxations on the first (open columns), second (hatched columns) and third (closed columns) applications of wogonin (10^{-8} - 10^{-4} M) were expressed as % of the contraction induced by phenylephrine (10^{-6} M). Data are means \pm S.E.(n=4).

3回のオウゴンエキスの繰り返し投与で減弱する傾向があった (Fig. 2A)。なお、オウゴンエキス 10^{-3} g/ml の適用は1, 2, 3回とも phenylephrine 収縮を完全に抑制した。

Baicalin (10^{-7} ~ 10^{-4} M) は、1~3回目の適用の全てで濃度依存的な収縮を引き起こした (Fig. 2B)。

Wogonin (10^{-8} ~ 10^{-4} M) は、累積適用により濃度依存的な弛緩が生じ、 10^{-4} Mで phenylephrine 収縮がほぼ完全に抑制された。Wogonin による弛緩反応には1, 2, 3回目の適用間で差が見られなかった (Fig. 3)。

2. 血管平滑筋に対する baicalin と wogonin 混合物の作用

Baicalin と wogonin を、オウゴン中での含有比率の割合で混合したものを血管平滑筋に適用し、その影響を検討した。なお、オウゴン中には、baicalin 4.3%, wogonin 0.5% がそれぞれ含有されており²⁾、オウゴンエキス

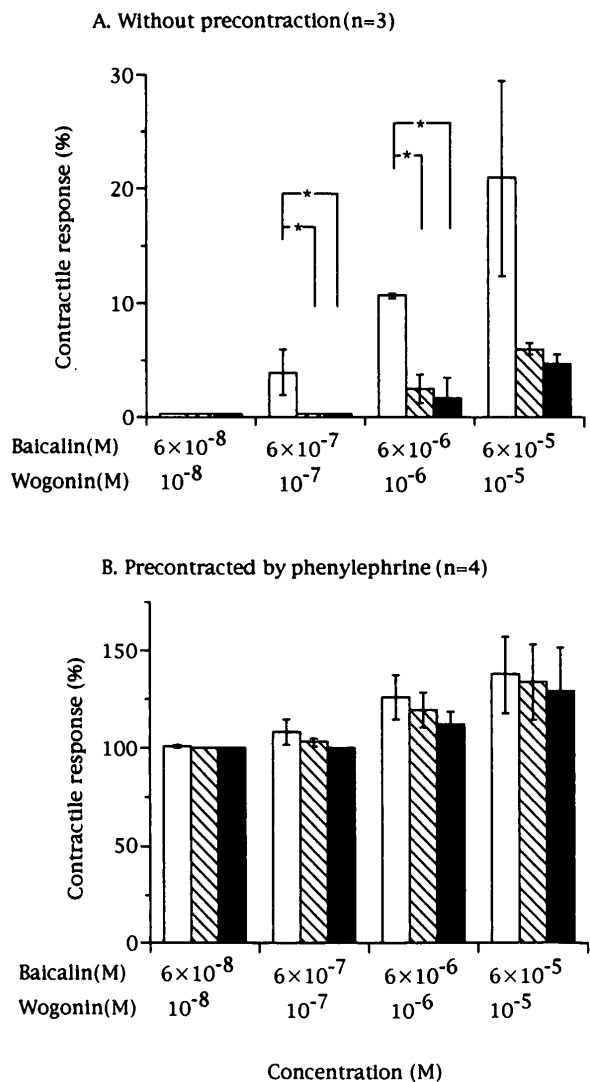


Fig. 4 Contractile effects of baicalin plus wogonin on isolated rat aorta without (A, n=3) and with (B, n=4) precontraction induced by phenylephrine.

Contractions on the first (open columns), second (hatched columns) and third (closed columns) applications of [baicalin 6×10^{-8} M + wogonin 10^{-8} M] ~ [baicalin 6×10^{-5} M + wogonin 10^{-5} M] were expressed as % of the contraction induced by phenylephrine (10^{-6} M). Data are means \pm S.E. *:Significantly different from the first application ($p < 0.05$).

$10^{-7} \sim 10^{-4}$ g/ml は (baicalin 6×10^{-8} M + wogonin 10^{-8} M) ~ (baicalin 6×10^{-5} M + wogonin 10^{-5} M) に相当することとなる。

a. 静止時張力下にある血管標本に対する作用

baicalin 6×10^{-8} M + wogonin 10^{-8} M では 1, 2, 3 回目ともに血管張力に影響を与えず, baicalin 6×10^{-7} M + wogonin 10^{-7} M は 1 回目ではわずかに収縮を生じたが, 2, 3 回目では生じなかった。Baicalin 6×10^{-6} M + wogonin 10^{-6} M と baicalin 6×10^{-5} M + wogonin 10^{-5} M は濃度依存的な収縮を引き起こし, 適用を繰り返すと収縮は有意に減弱した (Fig. 4A)。

b. Phenylephrine により収縮した血管標本に対する作用

Baicalin + wogonin の累積的適用により, 高濃度側で

わずかな濃度依存的収縮が生じた (Fig. 4B)。

3. オウゴンエキスおよび baicalin の血管収縮作用に対する各種抑制薬の影響

a. オウゴンエキスの作用に対する影響

Phentolamine (10^{-5} M), ketanserine (10^{-6} M), dibucaine (10^{-6} M) は, 胸部大動脈リング標本に前処理しても, オウゴンエキス ($100 \mu\text{g/ml}$) による収縮に影響を及ぼさなかった (データは示さない)。

b. Baicalin の作用に対する影響

Prazosin (10^{-5} M), propranolol (10^{-7} M), ketanserine (10^{-6} M), guanethidine (10^{-6} M), imipramine (10^{-7} M), tetrodotoxin (10^{-6} M), NG-nitro L-arginine (10^{-5} M) のいずれも, 胸部大動脈リング標本に前処理しても, baicalin (10^{-4} M) による収縮に影響を及ぼさなかった (データは示さない)。

4. Baicalin の血管収縮作用に対する, cyclooxygenase 阻害薬の影響

a. Indomethacin

Cyclooxygenase (COX)-1,2 両方の阻害薬である indomethacin (10^{-5} M) を 30 分間前処理すると, baicalin (10^{-4} M) 適用時 (1 回目) の収縮は顕著に減弱した。2, 3 回目も同様の傾向を示したが, 収縮は対象群, 処置群とも適用回数に依存して減弱した (Fig. 5A)。

b. Flurbiprofen

COX-1 選択的阻害薬である flurbiprofen (10^{-5} M) の前処理では, indomethacin 前処理時と同様に抑制傾向が認められた。1 回目の baicalin 収縮抑制率は, indomethacin では 79.4% であったのに対して flurbiprofen は 48.1% だった (Fig. 5B)。

c. NS398

COX-2 選択的阻害薬である NS398 (10^{-5} M) の前処理では, indomethacin および flurbiprofen 前処理時と同様に抑制傾向が認められた。1 回目の baicalin 収縮抑制率は, 67.7% だった (Fig. 5C)。

5. Baicalin 収縮に及ぼす COX 生成物 analogue の影響

a. Prostaglandin $F_{2\alpha}$

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ を, 大動脈リング標本にそれ自身では収縮を起こさせないような低濃度 (10^{-8} M) で前処理し, その後 10^{-4} M baicalin を適用したところ, control 群に比べて 1~3 回目とも収縮が増大した (Fig. 6A)。

b. STA_2

Thromboxane A_2 の analogue である STA_2 を, 大動脈リング標本にそれ自身では収縮を起こさせないような低濃度 (10^{-10} M) で前処理し, その後 10^{-4} M baicalin を適用したところ, control 群に比べて 1~3 回目とも収縮が増大した。また, 1, 2 回目に比べて 3 回目の baicalin

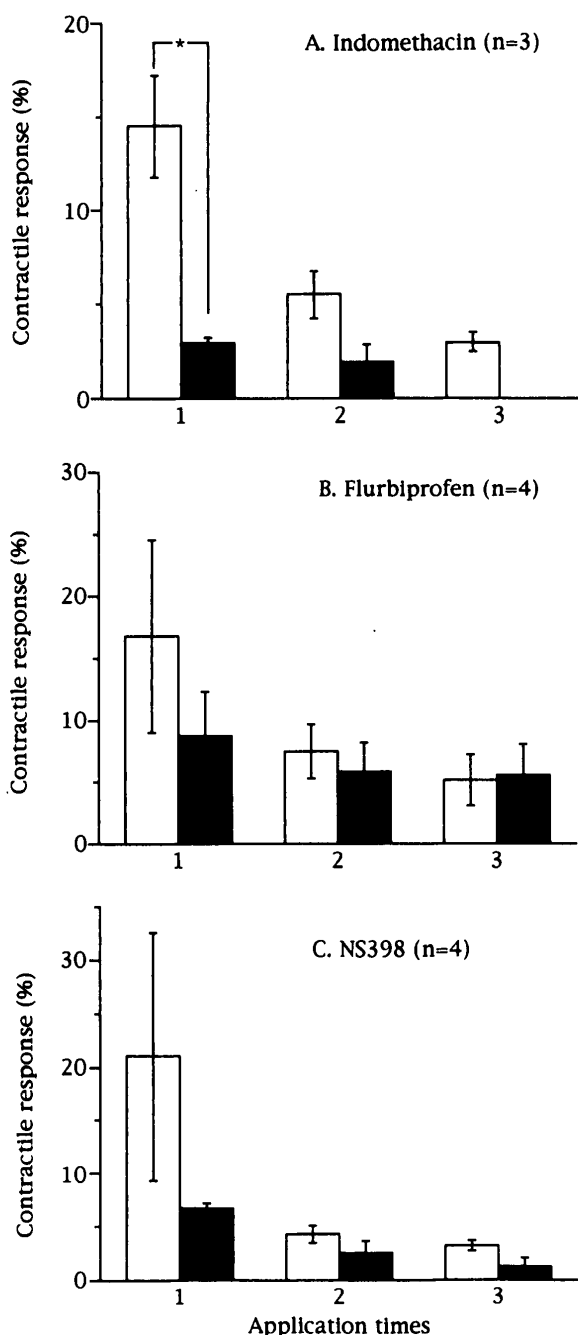


Fig. 5 Effects of indomethacin (A, n=3), flurbiprofen (B, n=4) and NS398 (C, n=4) on the contraction by baicalin (10^{-4} M) of the isolated rat aorta. Contractions by baicalin in the absence (open columns) or presence (closed columns) of indomethacin, flurbiprofen or NS398 were expressed as % of the contraction induced by phenylephrine (10^{-6} M). Data are means \pm S.E.. *: Significantly different ($p < 0.05$).

適用時に最も大きな収縮を引き起こした (Fig. 6B)。

6. 遊離prostanoid量の測定

a. Prostaglandin E₂

Indomethacin (10^{-5} M) 適用ラット大動脈らせん標本および indomethacin 非適用標本 (対照群) に baicalin (10^{-4} M) を繰り返し 3 回適用し, 最大収縮時に organ bath 内の Krebs-Hensereite 液を採取して, 液中に遊離

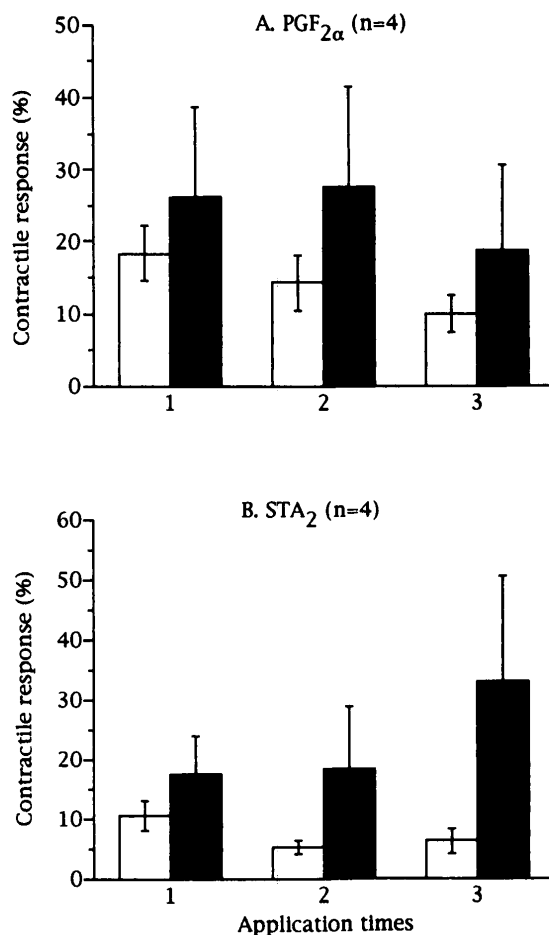


Fig. 6 Effects of prostaglandin F_{2α} (A, n=4) and STA₂ (B, n=4) on the contraction by baicalin (10^{-4} M) of the isolated rat aorta. Contractions by baicalin in the absence (open columns) or presence (closed columns) of prostaglandin F_{2α} (10^{-8} M) or STA₂ (10^{-10} M) were expressed as % of the contraction induced by phenylephrine (10^{-6} M). Data are means \pm S.E..

される prostaglandin E₂ 量を baicalin 適用前と比較した。

対照群では, baicalin 適用 1 回目でも, 適用前と比較して遊離 prostaglandin E₂ 量が約 3 倍増加した。2, 3 回目も適用前と比較して増加していたが, その程度は適用回数依存的に減少した。Indomethacin 処置群では, 対照群に比べて遊離 prostaglandin E₂ 量は少なく, baicalin 適用 1 回目においても, 遊離量の増加は約 2 倍であった (Fig.7A)。また, 遊離 prostaglandin E₂ 量とラット大動脈らせん標本の収縮率との関係には有意な直線関係は認められなかった ($p=0.4673$)。

b. Prostaglandin F_{2α}

対照群では, baicalin 適用 1 回目でも, 適用前と比較して遊離 prostaglandin F_{2α} 量が約 13 倍増加した。2, 3 回目も適用前と比較して増加していたが, その程度は 1 回目より減少した。一方, indomethacin 処置によって, prostaglandin F_{2α} 遊離は著しく抑制された (Fig. 7 B)。遊離 prostaglandin F_{2α} 量とラット大動脈らせん標

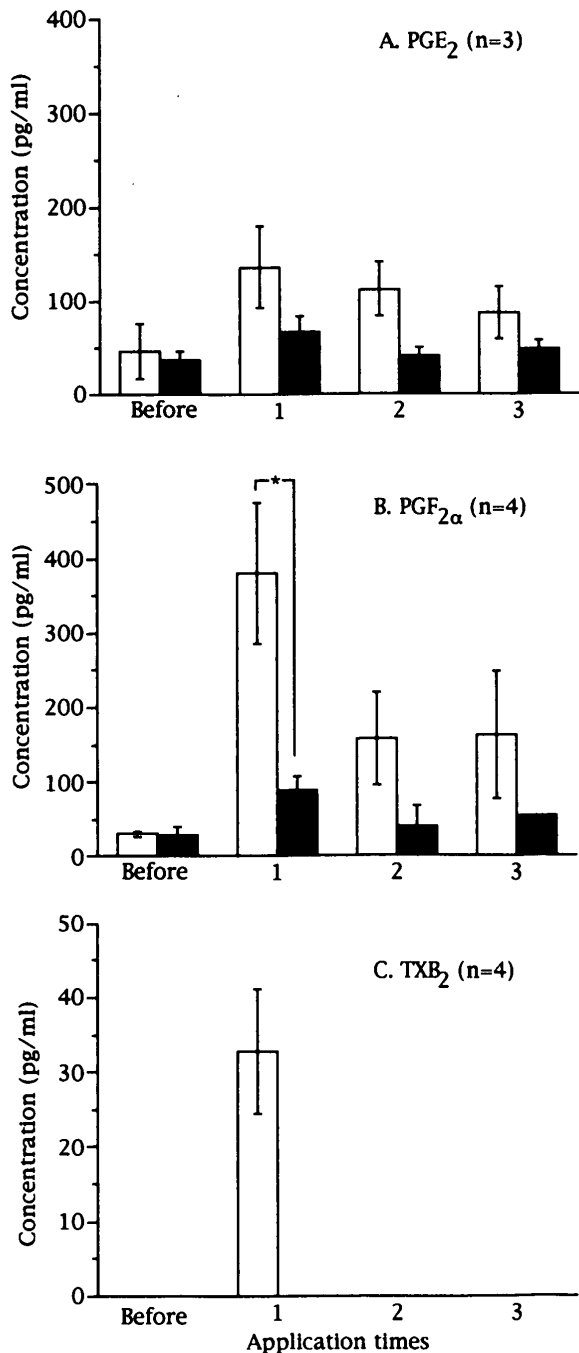


Fig. 7 Effects of baicalin (10^{-4} M) on the releases of PGE₂ (A, n=3), PGF_{2α} (B, n=4) and TXB₂ (C, n=4) from the isolated rat aorta. PGE₂, PGF_{2α} and TXB₂ in the bath media were measured before and after the first, second and third applications of baicalin. Open and closed columns represent the data in the absence and presence of indomethacin (10^{-5} M). Data are means \pm S.E..

本の収縮率との関係には有意な直線関係が認められ ($p=0.0153$), 相関性を認めた。

c. Thromboxane B₂

対照群では, baicalin 適用 1 回目で遊離 thromboxane B₂ 量の増加が認められた。2, 3 回目適用時に遊離される thromboxane B₂ 量は検出限界以下であった。一方, indomethacin 処置によって, thromboxane B₂ の遊離

は抑制された (いずれも検出限界以下) (Fig. 7C)。遊離 thromboxane B₂ 量とラット大動脈らせん標本の収縮率との関係には有意な直線関係が認められ, ($p=0.0004$), 相関性を認めた。

考 察

1. 繰り返し適用による作用の減弱

既報¹⁾の通り, tyramine 反復適用によりタキフィラキー様の状態になった血管平滑筋においては, オウゴンエキスの血管収縮作用は失われていた。そこで, オウゴンエキス自身あるいは baicalin 自身を繰り返し適用することによっても, 何らかの物質が枯渇し, やがて血管収縮作用が失われるのではないだろうかと考え, 平滑筋血管標本に対して, オウゴンエキスおよび baicalin を繰り返し適用 (3 回) した。その結果, オウゴンエキスおよび baicalin のいずれも, 濃度依存的な血管収縮作用を発現する一方, 繰り返し適用により, 血管収縮作用が減弱した (Fig. 1)。このことから, オウゴンエキスおよび baicalin の血管平滑筋収縮作用には, 何らかの物質の放出が関与している可能性が考えられた。

一方, phenylephrine を前適用した血管標本に対しては, オウゴンエキス, baicalin とも, 濃度依存的な血管収縮作用を発現したものの弱いものであり, 累積適用による減弱は, オウゴンエキスの 10^{-7} ~ 10^{-6} g/ml の濃度範囲においてのみ確認された。この理由は明らかにすることは行わなかったが, 血管平滑筋が phenylephrine によってすでに十分収縮し, 最大収縮に近かったことに関係があるかもしれない。

2. Wogonin の作用とオウゴンエキスの作用の関係

Wogonin は, baicalin と同様に, オウゴンに含有される主要な flavonoids の一つである。しかし, wogonin を phenylephrine を前適用した血管標本に対して適用したところ, Fig. 3 に示す通り濃度依存的な収縮抑制作用, すなわちオウゴンエキスと正反対の作用を示した。これは, wogonin のオウゴン中の含有率は 0.5% であり, 一方 baicalin の含有率が 4.3% (すなわちオウゴン中の wogonin の含有量は baicalin の約 1/9) である²⁾ことから, その低含量ゆえに wogonin の作用が baicalin の作用に覆い隠されていることが考えられる。このことを確認するべく, baicalin と wogonin を, オウゴン中での含有比率の割合で混合した検体を用意し, 血管平滑筋に対する作用を検討した。その結果, 血管平滑筋は濃度依存的に収縮し, さらに, 繰り返し適用によりその作用は減弱した。Phenylephrine を前適用した血管標本に対しても, 同様に, 濃度依存的な収縮と, 繰り返し適用によ

る作用の減弱が確認された。これは、オウゴンエキスおよびbaicalin単独と同様の結果であり、wogonin単独とは正反対の結果だった。このことからwogoninは、その低含量ゆえに作用発現に至らないと考えられる。なお、wogoninの血管平滑筋弛緩の機序については、日笠³⁾によると、methylene blueおよびindomethacinで抑制されないことからguanylate cyclaseやprostanoidsを介したものでないこと、および β 受容体抑制薬も無効であったことから、それを介したものでないとしている。また、日笠³⁾は、wogoninにより Ca^{2+} free溶液中でのnorepinephrine収縮が影響を受けなかったこと、wogoninはnorepinephrine添加 Ca^{2+} free溶液中での $CaCl_2$ 収縮に対して有意な抑制を示したことにより、wogoninは細胞外から細胞内への Ca^{2+} の流入を抑制すると推測している。

3. 種々の抑制薬による検討

オウゴンエキスおよびbaicalinの血管平滑筋収縮作用の機序を検討するため、種々の抑制薬を用いて検討を行った。

まず、オウゴンエキスによる収縮に対しては、 α 受容体拮抗薬 phentolamine, 5-HT₂受容体拮抗薬 ketanserin および局所麻酔薬 dibucaine のいずれも影響しなかった。このことから、オウゴンエキスの血管平滑筋収縮作用は、 α 受容体および5-HT₂受容体を介したのではなく、また、オウゴンエキスが直接神経を刺激したり、あるいは K^+ の透過性を変化させることにより神経の興奮性を高めているのではないと考えられた。

また、baicalinによる収縮についても、 α 受容体拮抗薬 prazosin, β 受容体拮抗薬 propranolol の影響を受けなかったことから、 α および β 受容体を介したのではなく、ketanserinの影響を受けなかったことから5-HT₂受容体を介したのではなく、ニューロン遮断薬 guanethidine およびnorepinephrine 取り込み抑制薬 imipramine の影響を受けなかったことから、カテコールアミンの遊離を介するものでもなく、tetrodotoxinも影響しなかったことから、直接神経を刺激したり、神経の興奮性を高めているものでもなく、さらにNO synthesis 阻害薬 NG-nitro L-arginine にも影響を受けず、またその作用が内皮の存在の有無にも依存しなかったことから、内皮細胞由来弛緩因子などの弛緩性物質の関与はないと考えられた。

4. Baicalinによる血管収縮とprostanoidsの関係

オウゴンには、baicalin以外にも、その aglycone であるbaicaleinが含有されている。しかし、baicaleinの血管平滑筋収縮作用が、baicalinと比較して、非常に弱かったことは既報¹⁾にて報告した通りである。

一方、baicaleinについては、抗炎症作用についての報告が数多く存在する。Butenkoら⁴⁾は、baicaleinの抗炎症作用は5-lipoxygenaseを阻害することによってleukotriene C₄の生合成が抑制されることに関係していると報告している。また、Kimuraら⁵⁾は、ラット腹腔内多核白血球ホモジネートにおける5-hydroxy-6,8,11,14-eicosatetraenoic acid (5-HETE)産生に対するIC₅₀値として、baicalein 7.13±0.767 μ M, baicalin 180.00±17.80 μ M, cyclooxygenase生成物である12-hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoic acid (HHT)に対するIC₅₀値としてbaicalein 55.30±16.90 μ M, またbaicalinは何ら影響を与えなかったと報告している。さらに、Iijimaら⁶⁾は、baicaleinはprostaglandin E₂の代謝酵素である15-hydroxyprostaglandin-dehydrogenase (15-OH-PGDH)阻害作用を持つことを報告している。このようなことから、baicaleinのglycosideであるbaicalinの血管収縮作用の発現には、アラキドン酸代謝系に何らかの関与があるかもしれないと考え、baicalinの血管収縮作用に対する、cyclooxygenase (COX)阻害薬の影響を検討した。その結果、非特異的COX阻害薬であるindomethacin, COX-1選択的阻害薬とされるflurbiprofen, そしてCOX-2選択的阻害薬とされるNS398のいずれを前処理した場合も、baicalinによる血管収縮は顕著に減弱した。このことから、baicalinの血管収縮作用には、COXによって産生される血管平滑筋収縮性のprostanoidsが関与していることが示唆された。本研究結果では、COX-1阻害薬とCOX-2阻害薬のbaicalinに対する作用には、顕著な違いは見られなかった。

つぎに、血管平滑筋収縮性のprostanoidsであるprostaglandin F_{2 α} およびthromboxane A₂のanalogueであるSTA₂を、それ自身では収縮を起こさせないような低濃度で前処理し、その後baicalinを適用したところ、いずれもcontrol群に比べて血管収縮が増大した。このことから、血管平滑筋収縮性のprostanoidsの関与が示唆された。Baicalinの繰り返し適用による収縮作用の減弱はこの実験系では観察することができず、特にSTA₂を前処理した場合は、1, 2回目に比べて3回目のbaicalin適用時に最も大きな収縮を引き起こした。これは、1) 添加したprostanoidsが何らかの生成物の基質であり、それを添加したことにより、その生成に必要な材料が十分供給されたため、2) アラキドン酸代謝経路において、添加したprostanoidsの(十分な)存在により、その代謝経路の活性が低下し、その結果、本来そこで使われるべき基質が、それ以外の経路に供給されたことにより、添加したprostanoidsとは別の、なんらかの生成物の発現が持続した、などによることが考えられる。

以上の結果を踏まえ、どの prostanoid が baicalin による血管収縮への関与が高いかを検討するべく、indomethacin 適用および非適用の血管標本に baicalin を適用し、その時の遊離 prostanoids (prostaglandin F_{2α}, thromboxane B₂ および prostaglandin E₂) の量を測定した。その結果、indomethacin 非適用の血管標本においては、適用標本と比較し、いずれの prostanoids も増加し、特に prostaglandin F_{2α} は有意に増加した。また、indomethacin 非適用の血管標本においては、baicalin の繰り返し適用により、いずれの prostanoids も減少傾向を示した。以上のことから、prostanoids 量と血管収縮率との間に何らかの相関性があることが考えられ、遊離 prostanoids の量と、血管収縮率の関係を調べた。Baicalin による血管収縮と prostaglandin E₂ には相関性が認められなかったが、prostaglandin F_{2α} および thromboxane B₂ においては有意な相関関係が認められた。このことから、baicalin による血管収縮への関与が高い prostanoid として、prostaglandin F_{2α} あるいは thromboxane B₂ が考えられる。

また、baicalin を繰り返し適用することにより、その血管収縮作用が減弱する原因としては、作用の減弱に伴って prostanoids 量の減少が確認されたことから、prostanoids を産生するのに必要な基質が繰り返し適用により減少したものと考えられる。

結 論

- 1) オウゴンエキスおよびその主要含有成分である baicalin は、濃度依存的にラット血管平滑筋を収縮させた。適用を繰り返す毎に、その収縮強度は減少し、タキフィタキシーが存在した。
- 2) Wogonin もオウゴンの含有成分の一つであるが、その作用はオウゴンエキスおよび baicalin とは正反対に、phenylephrine により収縮した血管標本に対して濃度依存的に弛緩を生じさせ、繰り返し適用しても、その作用は減弱しなかった。
- 3) Baicalin と wogonin をオウゴン中の含量比で混合した検体を作成したところ、その作用はオウゴンエキスおよび baicalin 単独のそれと一致し、血管平滑筋を収縮させた。このことから、オウゴンエキスの

作用は baicalin の作用が反映され、wogonin の作用は、その低含量ゆえにマスクされていると考えられた。

- 4) オウゴンエキスおよび baicalin の血管平滑筋収縮作用の機序を検討するため、種々の抑制薬により検討を行った。その血管平滑筋収縮作用は、カテコールアミンやセロトニン遊離、神経の直接刺激および内皮細胞由来弛緩因子のいずれも介在していないことが示唆された。
- 5) Baicalin の血管平滑筋収縮作用は、COX 阻害薬により顕著に減弱されること、prostaglandin F_{2α} および thromboxane B₂ 量と baicalin による血管収縮率において有意な相関関係が認められたことから、baicalin の血管収縮作用には、prostanoids が関与していることが示唆された。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、懇篤なる御指導と御校閲を賜りました東邦大学医学部薬理学教室 内山利満教授に深甚なる謝意を表します。

*〒102-8422 東京都千代田区二番町 12-7

株式会社ツムラ開発本部 脇田広美

References

- 1) Wakita, H., Suzuki, N.: Effects of Oren-gedoku-to and its constituents on the cardiovascular system : Investigation of its efficacy in hotflush. *J. Trad. Med.* **19**, 230-237, 2002.
- 2) Kitagawa, K., Sankawa, U.: Shouyukugaku. Hirokawashoten, Tokyo, pp.31, 1979.
- 3) Higasa, K.: Vasorelaxant effects of ogon and wogonin on isolated rat thoracic aorta., *Myakkangaku.* **32**, 349-356, 1992.
- 4) Butenko, I. G., Gladchenko, S. V. and Galushko, S.V.: Anti-inflammatory properties and inhibition of leukotriene C₄ biosynthesis in vitro by flavonoid baicalein from *Scutellaria baicalensis georgy roots.*, *Agents & Actions*, **39**, C49-51, 1993.
- 5) Kimura, Y., Okuda, H. and Arichi, S.: Studies on *Scutellariae radix XIII*; Effects of various flavonoids on arachidonate metabolism in leukocytes., *Planta Medica*, **51**, 132-136, 1985.
- 6) Iijima, Y., Kawakita, N. and Yamazaki, M.: Inhibition of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase by antiallergic agents., *Jpn. J. Inflammation*, **1**, 101-104, 1980.