

五苓散変方および柴苓湯の脳卒中易発症性高血圧 自然発症ラット (SHRSP) における水代謝調節作用

織田真智子,*^{a)} 前田 佳奈,^{a)} 東野 英明,^{a)} 平野 治男,^{a)} 山本由紀子^{b)}

^{a)}近畿大学医学部薬理学教室, ^{b)}近畿大学ライフサイエンス研究所

The control effects of body water metabolism by Gorei-san analogue (Wu-Ling-San analogue) or Sairei-to (Chai-Ling-Tang) on stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP)

Machiko ORITA,*^{a)} Kana MAEDA,^{a)} Hideaki HIGASHINO,^{a)} Haruo HIRANO,^{a)} Yukiko YAMAMOTO^{b)}

^{a)}Department of Pharmacology, Kinki University School of Medicine

^{b)}Life Science Research Institute, Kinki University

(Received January 14, 2000. Accepted June 9, 2000.)

Abstract

We studied chronic and sub chronic effects of Gorei-san analogue, Sairei-to or furosemide on the survival time and other physiological parameters in stroke prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) and normotensive Wistar Kyoto rats (WKY). Total body water content and circulating plasma volume were extremely increased in SHRSP than WKY. But the effect of normalization on the body water distribution was found in the group given Gorei-san analogue or furosemide in SHRSP. Vasopressin level in urine was decreased in the group given Gorei-san analogue, but there was no effect in the group given furosemide in SHRSP. On the other hand, vasopressin level was reversed in WKY. Atrial natriuretic peptide (ANP) level in the plasma was increased in the group given Gorei-san analogue, but the same effect could not be found in the groups given Sairei-to or furosemide in SHRSP and WKY. Kampo medicines such as Gorei-san analogue and Sairei-to had no effect of survival time on the prolongation in SHRSP, but Gorei-san analogue might have the effect of body water distribution on the normalization in SHRSP.

Key words SHRSP, Gorei-san (Wu-Ling-San) 五苓散, Sairei-to (Chai-Ling-Tang) 柴苓湯.

Abbreviations CPV, circulating plasma volume; TBW, total body water.

緒 言

脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) は、岡本らにより高血圧自然発症ラット (SHR) から脳卒中を高率に発症する系統として分離され、ヒト本態性高血圧症や脳卒中の病理および治療の研究目的で、様々な基礎実験に用いられてきた。^{1,2)}

SHRSP の高血圧症の発症因子として、1) 交感神経系の亢進、³⁾ 2) 細胞内での Ca 代謝調節障害による末梢血管収縮亢進、⁴⁾ 3) Na⁺ や水の再吸収能異常からくる循環血漿量の増加、⁵⁾ 4) 内皮細胞由来の収縮性因子 (endothelium-derived contracting factors) の亢進または弛緩因子 (endothelium-derived relaxing factors) の減弱、⁶⁾ 5) 昇圧物質に対する血管反応性の亢進 ⁶⁾ などが指摘され、これらがあいまって悪性高血圧をひき起こすと考え

*〒589-8511 大阪府大阪狭山市大野東377-2
377-2 Onohigashi, Osakasayama, Osaka 589-8511, Japan

られている。

一方、漢方では病態発症時に起る生体内の水代謝異常を重要視して、様々な症状を改善する目的で、「利尿剤」が幅広く臨床応用されている。しかしながら、「利尿剤」の薬理作用の本質は明らかにされていない。今回、SHRSPの病態発症要因 3) に着目し、SHRSPを腎臓のNa⁺や水の再吸収障害からくる水代謝異常のモデル動物と考え、漢方の「利尿剤」を投与した時の水代謝調節作用について検討した。

「利尿剤」としては、代表的処方の一つである五苓散と、五苓散の関連処方でも常用されている柴苓湯の2剤について薬理作用の検討を行った。またこれら漢方処方と、作用機序が明らかになっているループ利尿剤のフロセミドの作用についてもあわせて比較検討した。

実験方法

(1) 実験動物

脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) および正常血圧の対照ラット (WKY) は、近畿大学医学部動物実験施設において自家繁殖した16週齢の雄性ラットを用いた。被検動物は、室温23±1°C、湿度50±5%にコントロールされた飼育室で飼育し、飼料 (SP-船橋農場製) と水 (水道水) を自由に与えた。

(2) 使用薬物および薬物投与方法

五苓散変方 (Gorei-san analogue ; Wu-Ling-San analogue) : 沢瀉 (Ze-Xie, *Alisma orientale* JUZEPCZUK, 中国・四川省産)・桂皮 (Gui-Pi, *Cinnamomum cassia* BLUME, 中国・広西省産)・茯苓 (Fu-Ling, *Poria cocos* WOLF, 中国・雲南省産)・猪苓 (Zhu-Ling, *Polyporus umbellatus* FRIES, 中国・江蘇省産)・白朮 (Bai-Zhu, *Atractylodes japonica* KOIDZUMI et. KITAMURA, 中国・吉林省産) の粉末 (日本粉末薬品 (株) 製) を1:1:1:1:1の比率で混和し、粉末飼料 (SP-船橋農場製) に4%の割合で混和した。今回実験に用いた五苓散の生薬組成比は、現在臨床で用いられているものと多少異なるため、「五苓散変方」と称した。

柴苓湯 (Sairei-to ; Chai-Ling-Tang) : 柴胡 (Chai-hu, *Bupleurum falcatum* LINNE, 中国・湖北省産) 7.0 g・黄芩 (Huang-qin, *Scutellaria baicalensis* GEORGI, 中国・河北省産) 3.0 g・半夏 (Ban-xia, *Pinellia ternata* BREITENBACH, 中国・甘粛省産) 5.0 g・生姜 (Sheng-jiang, *Zingiber officinale* ROSCOE, 中国・雲南省産) 1.0 g・人參 (Ren-shen, *Panax ginseng* C.A. MEYER, 中国・黒龍江省産) 3.0 g・大棗 (Da-Zao, *Zizyphus jujuba* MILLER var. *inermis* REHDER, 中国・河南省産) 3.0 g・

甘草 (Gan-Cao, *Glycyrrhiza uralensis* FISHER, 中国・内モンゴル省産) 2.0 g・白朮 (Bai-Zhu, *Atractylodes japonica* KOIDZUMI et. KITAMURA, 中国・東三省産) 4.5 g・茯苓 (Fu-Ling, *Poria cocos* WOLF, 中国・雲南省産) 4.5 g・猪苓 (Zhu-Ling, *Polyporus umbellatus* FRIES, 中国・陝西省産) 4.5 g・沢瀉 (Ze-Xie, *Alisma orientale* JUZEPCZUK, 中国・四川省産) 6.0 g・桂皮 (Gui-Pi, *Cinnamomum cassia* BLUME, 中国・広東省産) 3.0 gを一括混和し、10倍量の水を加えて1時間沸騰抽出した。抽出液を遠心分離してその濾液を減圧濃縮した後、噴霧乾燥 (スプレードライ) して乾燥エキスパウダーとしたもの (収率15.2% : 大峰堂薬品工業 (株) 製) を粉末飼料 (SP-船橋農場製) に4%の割合で混和した。

フロセミド (furosemide) 含有飼料の調整法 : フロセミド (Sigma 社製, USA) の原末を、粉末飼料 (SP-船橋農場製) に0.2%の割合で混和した。

(3) 実験方法

実験は (A) と (B) に分けて行った。

実験 (A)

SHRSPを1群8匹とし、第1群は対照群、第2群は五苓散変方投与群、第3群は柴苓湯投与群、第4群はフロセミド投与群とし、各々の薬物含有飼料を投与した。対照群には粉末飼料 (SP-船橋農場製) のみを与え、各々の飼料は自由に摂取させた。16週齢時より大半の被検動物が自然死に至るまでの217日間飼育し、個々の被検動物の生存日数を算出した。実験期間中に自然死に至った被検動物は解剖し、大脳の出血斑の有無を肉眼的に観察した。実験 (B)

SHRSPとWKYの各々を1群10匹とし、第1群は対照群、第2群は五苓散変方投与群、第3群は柴苓湯投与群、第4群はフロセミド投与群とし、各々の薬物含有飼料を自由摂取させた。対照群には粉末飼料 (SP-船橋農場製) のみを投与した。実験開始時より8週間、週1回の頻度で血圧、体重、飼料摂取量を測定するとともに、個別代謝ケージで24時間尿量を測定した。実験期間中に死亡した被検動物は解剖し、大脳の出血斑の有無を肉眼的に観察した。また、実験開始2週目に、生体内総水分量、循環血漿量、血漿ナトリウム利尿ホルモン (ANP)、尿中アルギニンバゾプレッシン (AVP) の測定を以下の方法により行った。

(4) 測定項目および方法

生体内総水分量 (TBW) の測定 : 重水 (D₂O) を1.0 ml/100 g BW量腹腔内注射し、投与後90分目の血漿中D₂O量を核磁気共鳴装置 (FT-NMR JNM-EX270, 日本電子 (株) 製) で定量して、D₂Oの希釈率より以下の式でラット体重100 gあたりのTBW (ml) を求めた。

$$TBW(ml/100g BW) = \frac{\frac{D_2O \text{ 投与量}(ml)}{\text{血漿中 } D_2O \text{ 量}(\%)} \times 100}{\text{ラット体重}(g)} \times 100$$

循環血漿量 (CPV) の測定: 0.2 % エバンスブルー (EB) の生理食塩水水溶液を 0.10 ml/100 g BW 量頸静脈内に投与し、投与 5 分後に採血して (抗凝固剤としてヘパリン添加)、分離した血漿中の EB 量を分光光度計 (OD620 nm, U-2000 Spectrophotometer, 日立製作所 (株) 製) で測定した。EB の希釈率より以下の式でラット体重 100 g あたりの CPV (ml) を求めた。

$$CPV(ml/100g BW) = \frac{\frac{EB \text{ 注射量}(ml) \times \text{Standard OD}}{\text{Sample OD}}}{\text{ラット体重}(g)} \times 100$$

血漿ナトリウム利尿ホルモン (ANP) の測定: 頸静脈より採血して得られた血漿中の ANP を、RIA-AT-ANF アッセイキット (PENINSURA LABORATORIES EUROPE, LTD 製, England) を用いて測定した。

尿中アルギニンバゾプレッシン (AVP) の測定: 尿中のアルギニンバゾプレッシンを RIA-AVP キット (三菱化学 (株) 製) を用いて測定した。

(5) 統計処理方法

それぞれの実験において、実験群と対照群の間の有意差検定は、Scheffe の多群間検定または Wilcoxon の 2 群間検定を用いた。

結 果

1. 被検動物の生存日数におよぼす五苓散変方、柴苓湯、フロセミドの作用【実験 (A)】

実験開始日からの平均生存日数は、五苓散変方投与群 131±11 日、柴苓湯投与群 125±9 日といずれの群においても対照群の 106±13 日より延長傾向を示した。1~3 群が全例死亡した後、2週間実験を継続したが、この時点でフロセミド投与群は 62.5 % のラットが生存しており、平均生存日数は 181±14 日以上となり、対照群に比べて有意 ($p < 0.01$) に生存日数が延長した (Fig. 1)。実験期間中に自然死に至った被検動物の解剖所見では、全例において大脳に出血斑が認められ、脳卒中による死亡と確認された。

2. 体重変化におよぼす五苓散変方、柴苓湯、フロセミドの作用【実験 (B)】

WKY のフロセミド投与群では、実験開始後 1 週目より対照群と比べて有意に体重の増加が抑制され、実験終了時まで低値を持続した。五苓散変方、柴苓湯投与群では対照群との差はみられなかった。一方、SHRSP ではフロセミド投与群で体重増加の抑制はみられず、他の各群間でも体重変化に差はみられなかった (Fig. 2)。実験期間中に SHRSP の対照群 3 匹、五苓散変方投与群 1 匹が死亡した。頭部を解剖して観察したところ、大脳に出血斑が確認され、脳卒中による死亡と認められた。

3. 血圧変化におよぼす五苓散変方、柴苓湯、フロセミドの作用【実験 (B)】

実験開始時の 16 週齢の SHRSP では、最高血圧の平

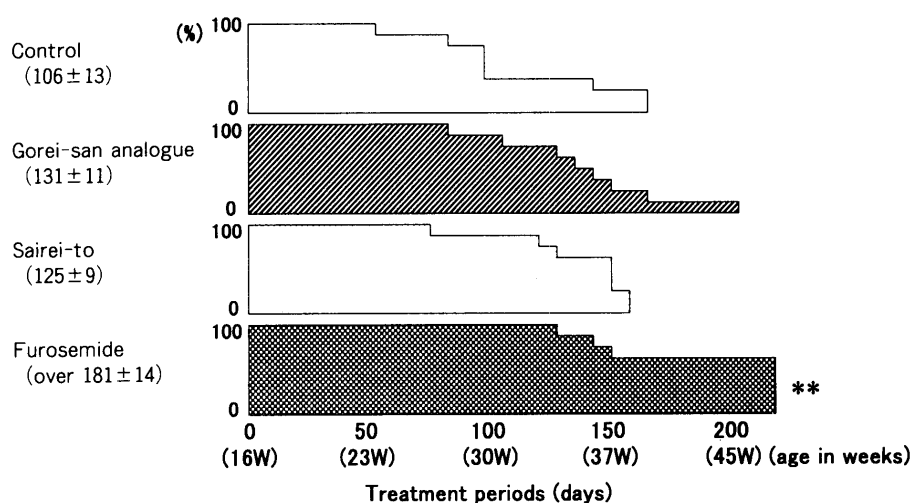


Fig. 1 Effects of Gorei-san analogue, Sairei-to or furosemide administrations on the survival ratios of SHRSP. The numbers in parentheses represent the average of life-span after the start of experiment. ** $p < 0.01$: Significantly different from the control group.

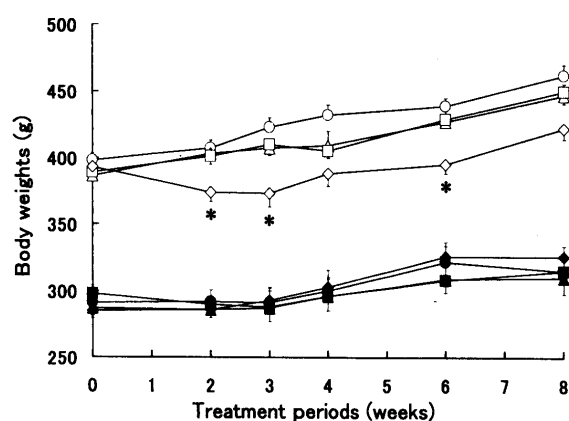


Fig. 2 Effects of Gorei-san analogue, Sairei-to or furosemide administrations on the body weight of rats. ●: control of SHRSP; ▲: Gorei-san analogue to SHRSP; ■: Sairei-to to SHRSP; ◆: furosemide to SHRSP; ○: control of WKY; △: Gorei-san analogue to WKY; □: Sairei-to to WKY; and ◇: furosemide to WKY. Values are mean $\pm$ S.E. * $p < 0.05$: Significantly different from the control group of WKY.

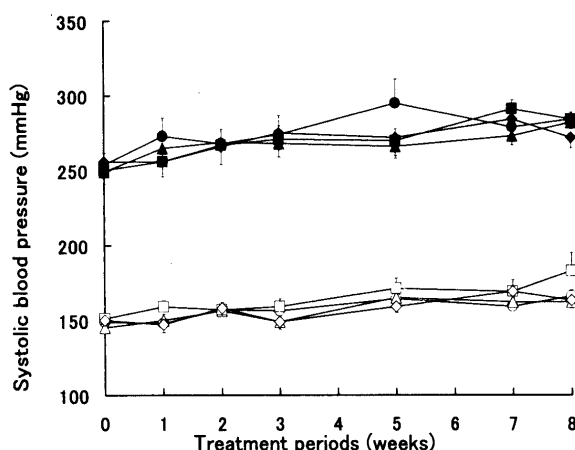


Fig. 3 Effects of Gorei-san analogue, Sairei-to or furosemide administrations on the systolic blood pressure of rats. ●: control of SHRSP; ▲: Gorei-san analogue to SHRSP; ■: Sairei-to to SHRSP; ◆: furosemide to SHRSP; ○: control of WKY; △: Gorei-san analogue to WKY; □: Sairei-to to WKY; and ◇: furosemide to WKY. Values are mean $\pm$ S.E.

均値はすでに 250 mmHg となり、同週齢の WKY に比べ著しく高値であった。実験期間中の血圧上昇ならびに変動はほとんどなかった。生存日数の延長と延長傾向が認められたフロセミド、五苓散変方、柴苓湯投与群においても、実験期間中の血圧には影響を及ぼさなかった。

WKYでは、実験開始時の血圧は 150 mmHg 前後で各群間に差はなく、実験期間中もほとんど変化は観られなかった (Fig. 3)。

4. 飼料摂取量変化によぼす五苓散変方、柴苓湯、フ

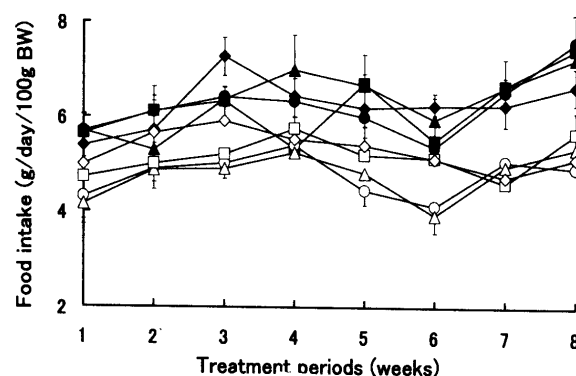


Fig. 4 Effects of Gorei-san analogue, Sairei-to or furosemide administrations on the food intake of rats. ●: control of SHRSP; ▲: Gorei-san analogue to SHRSP; ■: Sairei-to to SHRSP; ◆: furosemide to SHRSP; ○: control of WKY; △: Gorei-san analogue to WKY; □: Sairei-to to WKY; and ◇: furosemide to WKY. Values are mean $\pm$ S.E.

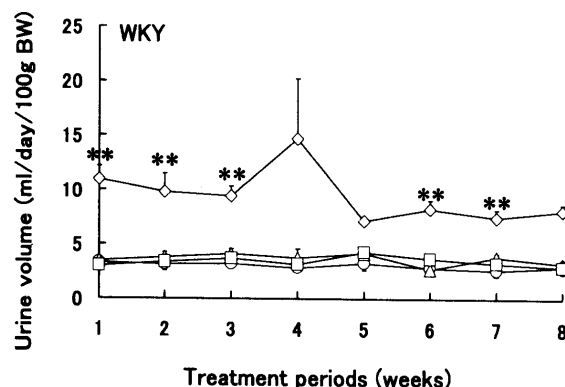
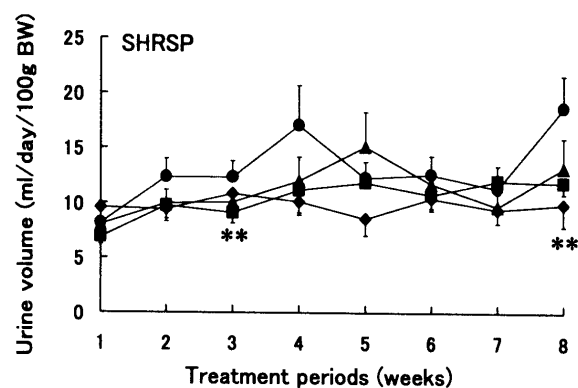


Fig. 5 Effects of Gorei-san analogue, Sairei-to or furosemide administrations on the urine volume of rats. ●: control of SHRSP; ▲: Gorei-san analogue to SHRSP; ■: Sairei-to to SHRSP; ◆: furosemide to SHRSP; ○: control of WKY; △: Gorei-san analogue to WKY; □: Sairei-to to WKY; and ◇: furosemide to WKY. Values are mean $\pm$ S.E. ** $p < 0.01$: Significantly different from each control group of rats.

ロセミドの作用【実験 (B)】

SHRSP と WKY の実験期間中の各群飼料摂取量を、ラット体重 100 g あたり 24 時間で摂取した飼料のグラム数で比較すると、WKY に比して SHRSP で多い傾向にあったが、各群間に差は無かった (Fig. 4)。

5. 24 時間尿量変化におよぼす五苓散変方、柴苓湯、フロセミドの作用【実験 (B)】

個別代謝ケージで採取した SHRSP と WKY の尿を、ラット体重 100 g あたり 24 時間の尿量として比較すると、SHRSP 各群の尿量は WKY に比べ実験期間中を通して有意に高値であった。SHRSP では、3 週目に柴苓湯投与群で、また 8 週目にフロセミド投与群で SHRSP の対照群より尿量が低下した ($p < 0.01$) が、他の週では各群間に差が無かった。WKY ではフロセミド投与群でのみ対照群に比して有意 ($p < 0.01$) に尿量は増加した (Fig. 5)。

6. 実験開始 2 週目の生体内総水分量 (TBW) におよぼす五苓散変方、柴苓湯、フロセミドの作用【実験 (B)】

実験開始 2 週目 (18 週齢) のラット体重 100 g あたりに占める TBW 値を比較すると、WKY に比べ SHRSP で有意 ($p < 0.01$) に高値であった。WKY においては、五苓散変方、柴苓湯、フロセミドのいずれの投与群においても対照群より TBW 値の増加傾向がみられたが、SHRSP では逆に減少傾向がみられた (Fig. 6)。

7. 実験開始 2 週目の循環血漿量 (CPV) におよぼす五苓散変方、柴苓湯、フロセミドの作用【実験 (B)】

実験開始 2 週目 (18 週齢) のラット体重 100 g あたりに占める CPV 値は、WKY に比べ SHRSP で著しく ($p < 0.01$) 高値であった。WKY においては、五苓散変方、柴苓湯、フロセミドのいずれの投与群においても対照群

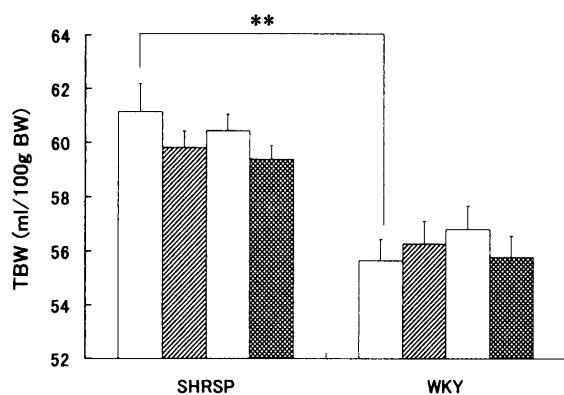


Fig. 6 Effects of Gorei-san analogue, Sairei to or furosemide administrations on the total body water contents (TBW) of rats. □: control; ▨: Gorei-san analogue; ▩: Sairei to; ▩: furosemide. Values are mean $\pm$ S.E. ** $p < 0.01$: Significantly different from the control group of WKY.

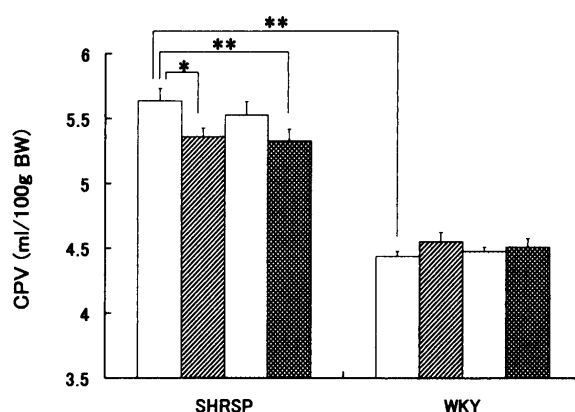


Fig. 7 Effects of Gorei-san analogue, Sairei-to or furosemide administrations on the circulating plasma volume (CPV) of rats. □: control; ▨: Gorei-san analogue; ▩: Sairei-to; and ▩: furosemide. Values are mean $\pm$ S.E. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: Significantly different from the control group of SHRSP.

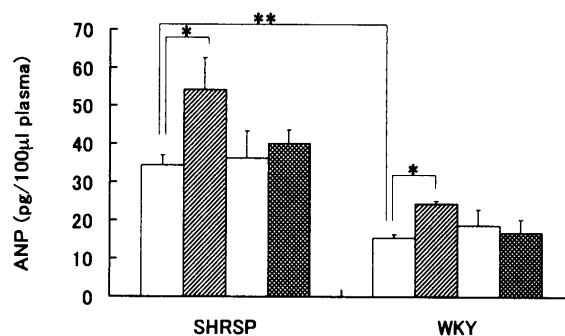


Fig. 8 Effects of Gorei-san analogue, Sairei to or furosemide administrations on the plasma ANP level of rats. □: control; ▨: Gorei-san analogue; ▩: Sairei to; and ▩: furosemide. Values are mean $\pm$ S.E. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: Significantly different from each control group of rats.

と比べて CPV 値に増加傾向が見られたが、SHRSP では五苓散変方、フロセミド投与群において、CPV 値は有意に低値であった (Fig. 7)。

8. 血漿ナトリウム利尿ホルモン (ANP) におよぼす五苓散変方、柴苓湯、フロセミドの作用【実験 (B)】

実験開始 2 週目 (18 週齢) のラット血漿 ANP 値は、WKY に比べ SHRSP で著しく高値であったが、五苓散変方投与により SHRSP, WKY のいずれのラットにおいても対照群よりさらに増加した ($p < 0.05$) (Fig. 8)。

9. 尿中アルギニンバゾプレッシン (AVP) におよぼす五苓散変方、柴苓湯、フロセミドの作用【実験 (B)】

実験開始 2 週目 (18 週齢) のラット 24 時間尿中 AVP 値は、WKY と SHRSP の対照群間で差は無かった。

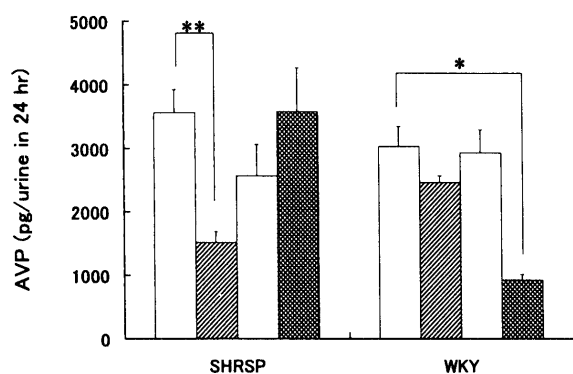


Fig. 9 Effects of Gorei-san analogue, Saiei-to or furosemide administrations on the AVP contents in urine of the rats. □: control; ▨: Gorei-san analogue; ▤: Saiei-to; and ▩: furosemide. Values are mean $\pm$ S.E.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$: Significantly different from each control group of rats.

SHRSP においては、五苓散変方投与群で尿中 AVP 値は著明に減少した ($p < 0.01$) が、WKY においては低下傾向は示したが有意な差はなかった。また、WKY においてはフロセミド投与群で尿中 AVP 値は有意 ($p < 0.05$) に減少したが、SHRSP では変化が無かった (Fig. 9)。

考 察

漢方薬の五苓散は、臨床で各種病態発症時に伴う生体内水代謝異常を正常化する目的で投薬される漢方処方である。一方、柴苓湯は、腎障害改善作用⁷⁾、ステロイドの増強作用^{8, 10)} 等が基礎実験において報告されていることより、臨床面ではステロイドの副作用を軽減する目的で繁用される。また、気管支喘息に対し柴朴湯を投薬し、治療中に血圧上昇を認める場合などにも柴苓湯を使用する場合があるが、一般に五苓散も柴苓湯も高血圧改善を目的として選択される漢方処方ではない。今回、SHRSP に両処方を与えると、中でも五苓散変方により高血圧に伴う生体内水分分布異常に対して改善作用が見られたことは興味深い。

今回、投薬方法は等しいにもかかわらず実験 (A) と (B) に分けた理由として、SHRSP では、実験期間中、採血などの処置や血圧測定時のストレスにより脳卒中を発症する可能性が高いため、実験期間中に被検動物にストレスを与える処置を施すことなく自然死に至るまでの生存日数を算出する目的で実験 (A) を、また、投与薬物の血圧に及ぼす作用や脳卒中発症期における各種パラメーターの測定を目的とし実験 (B) を行った。また、実験 (B) の実験期間は 8 週間であるが、各種の測定を薬物投与後 2 週目に行った理由として、実験開始後週齢がす

すむにつれ SHRSP は脳卒中をおこし死亡したり、状態が良好でない個体が増加するため、各群のデータを統計処理する際に不都合が生じるためである。

実験 (A) で、フロセミド、五苓散変方、柴苓湯投与群において、SHRSP の生存日数の延長または延長傾向が認められたが、実験 (B) の結果より、これら薬剤の延命効果が血圧上昇を抑制することを介して得られたのではないことは明らかである。

上野らは SHRSP に食塩水を負荷し、同様に五苓散の効果を観察しているが、その際には、五苓散投与群で血圧上昇の抑制と延命効果が得られたと報告している^{11, 12)} このことより、SHRSP に食塩水を負荷することで短期間で著明な血圧上昇を計り、脳卒中を発症しやすい条件を与えると、五苓散の作用がより明確に発現する可能性が考えられる。

SHRSP では対照群より飼料を 20 % 制限することにより著明に生存日数が延長したという報告がある¹¹⁾ が、飼料に薬剤を添加することにより飼料摂取量が減少することの無い薬物投与量を予備実験の結果より設定したため、実験期間中の飼料摂取量に各群間で差はみられなかった。このことより、薬物投与群の延命効果は、飼料摂取量の影響とは考えられない。

今回用いた五苓散変方と柴苓湯の投与量は、ヒトに対して臨床で用いられる投与量の各々 20 倍量に相当する。通常の実験動物に投与する薬剤の量としては大量ではあるが、予備実験で体重増加率や飼料摂取量から五苓散変方の投薬量を検討したところ、ラットに対して行った強制経口投与法によるヒトの 10 倍量と、飼料に添加して自由摂取させた場合のヒトの 20 倍量が、ほぼ同等の作用を発現することがわかった。フロセミドにおいても投与方法の違いで作用が異なることが報告されている¹³⁾ が、五苓散変方においても強制経口投与で 1 日量を 1 回投与する場合と飼料に混和して少しずつ経口摂取するのでは、効果に違いが生じることは興味深い。

今回の結果より、SHRSP は TBW 値および CPV 値が対照の正常血圧ラット (WKY) に比べ有意に高値を示すことから、生体内の水の分布や代謝に異常をきたしていると考えられる。この SHRSP に、五苓散変方、柴苓湯、フロセミドを投与したところ、生体内の水含量及び分布に様々な影響をもたらした。すなわち、五苓散変方やフロセミドの投与により、SHRSP においては高値となっている TBW 値および CPV 値を低下させたが、WKY に対しては、同様の作用は示さなかった。今回用いた漢方処方のこのような生体内水分分布の正常化作用により、生体内の様々な生理機能を調整し、延命効果をもたらしたものと推測される。

生体内の水分量は、尿の生成量によりコントロールされているが、尿生成に大きな影響を与えているホルモンの、脳下垂体後葉から分泌される抗利尿ホルモン (AVP) や心房や心室から放出される心房性利尿ホルモン (ANP) があげられる。AVP は、集合管において尿細管細胞の水に対する透過性を増加させて水の再吸収を促進し、水の排泄を抑制する尿濃縮機構に重要なものであり、大量では血管平滑筋 V_1 受容体に作用し、血圧を上昇させる。一方、ANP は、水電解質バランスの維持にかかわるホルモンであるばかりではなく、副腎におけるアルドステロン分泌抑制作用^{14,15)}や、epinephrine, angiotensin II および vasopressin の昇圧作用を慢性的に抑制する¹⁶⁾。また、ANP 受容体は、小腸、目、脳室にも分布しており¹⁷⁾ Na^+ と水の小腸からの吸収や眼房水圧、脳圧などの調節にも関与している¹⁸⁾ことから、血液循環系の恒常性に重要な役割を担っていると考えられている。^{19,20)}

尿中 AVP 値は、WKY においてフロセミド投与群で著しく減少したが、SHRSP では同様の作用は認められなかった。この時の尿量を比較してみると、フロセミドを WKY に投与した時は対照群の約 3 倍と尿量は著増したが、SHRSP では逆に減少傾向を示した。Jang SH²¹⁾ らによると、SHR は肝臓でのフロセミドの代謝系が亢進しているため、SHR に対してフロセミドの利尿作用の発現は減弱するという報告より、SHRSP と WKY ではフロセミドに対する薬物感受性が異なるものと推測される。この結果より、一般的に知られているフロセミドの薬理作用であるナトリウム利尿作用が、SHRSP の延命効果をもたらした主要因とは考えられない。

一方、SHRSP に対して五苓散変方投与群で AVP 値は減少し、WKY に対しては同様の作用が認められず、フロセミドと逆の結果が得られた。

SHRSP では血漿中の ANP 値が上昇しているという報告がある²²⁾が、今回の結果でも WKY に比べ SHRSP の血漿 ANP 値は有意に上昇していた。五苓散変方投与群では、SHRSP, WKY のいずれにおいても血漿 ANP 値を増加させたが、柴苓湯、フロセミド投与群では、SHRSP, WKY の両者に何ら影響を及ぼさなかった。この点に関しても、五苓散変方とフロセミドの作用は明らかに異なることが分かった。

漢方の利水剤は、生体内の水の出入りを単に腎臓を介してコントロールするだけでなく、汗、涙、消化液など、生体内のすべての水の分配を調節することにより病態を正常化する²³⁾ことから考え、五苓散の利水作用と ANP の作用の類似性に興味をもたれる。しかし、現在のところ五苓散の作用と ANP の関係についての詳細は明らか

にされていない。

ANP の分泌量は、CPV に左右される血管内圧によりコントロールされている^{24,25)}が、五苓散変方の短期投与により有意に CPV 値が増加することを前報で報告した。²⁶⁾この五苓散変方によりもたらされた CPV 値の変化が、ANP の分泌亢進の引き金となっている可能性も考えられるが、今回の実験では SHRSP の五苓散変方投与群で CPV 値が逆に低下した。この五苓散変方による CPV に対する作用は、使用動物の系統、正常動物か病態モデル動物かの違い、投与方法 (強制経口投与か飼料混和自由摂取)、投与期間等の相違により異なるものと考えられる。五苓散の CPV 値におよぼす作用のメカニズムについても五苓散の投与期間、投与量、投与方法などの条件をかえて、詳細に検討する必要があると思われる。

SHRSP にフロセミドを投与すると著明な延命効果が得られたが、これは脳卒中の発症を抑制したというよりも、心臓に対する作用が重要であると報告されている。²⁷⁾即ち、フロセミドは SHR の心臓の収縮性蛋白の遺伝子発現に影響を及ぼして、心臓の肥大を抑制し、心機能を正常に維持することにより寿命が延長したと考えられる。しかし、今回のデータとは逆に SHRSP にフロセミドを投与しても延命効果が得られなかったという報告²⁸⁾やフロセミドの投与時間、^{29,30)}投与方法¹³⁾の違いにより作用が異なるという報告もあり、SHRSP に対するフロセミドの作用については現在のところ一致した見解が得られておらず、今後さらに検討が必要であろう。

今回用いた五苓散の生薬組成比に関して、「傷寒論」に記載された五苓散の生薬組成比の換算には諸説があるが、おおむね、沢瀉が桂皮の約倍量と指示されている。本実験では、基礎実験的に単味生薬の作用およびその力価を比較検討する目的で、あえて混合比を 1:1:1:1:1 とした五苓散変方を使用した。今後、五苓散に配剤される 5 種生薬の個々の作用について研究し、同時に各々の生薬の相互作用について合わせて検討してゆきたい。

References

- 1) Okamoto, K., Yamori, Y. and Nagaoka, A.: Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR). *Circ. Res.* **34** 35 (Suppl.1), 143-153, 1974.
- 2) Okamoto, K. and Aoki, K.: Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn. Circ. J.* **30**, 283-293, 1963.
- 3) Matsuda, K., Sekiguchi, F., Miyake, Y., Inoue, S., Shimamura, K. and Sunano, S.: Influences of endothelium on the time course of noradrenaline-, 5-HT-, prostaglandin F₂α- and high K⁺-induced contractions in aortae of WKY and SHRSP. *J. Smooth. Muscle. Res.* **34**, 207-219, 1998.
- 4) Wen, Y.Y.: Effect of antihypertensive factor on Ca²⁺ influx in

- arterial smooth muscle from normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Chung. Kuo. I. Hsueh. Yuan. Hsueh. Pao.* **13**, 129-132, 1991.
- 5) Mullins, M.M. : Body fluid volumes in prehypertensive spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* **244**, H652-655, 1983.
 - 6) Sunano, S., Watanabe, H., Tanaka, S., Sekiguchi, F. and Shimamura, K. : Endothelium-derived relaxing, contracting and hyperpolarizing factors of mesenteric arteries of hypertensive and normotensive rats. *Br. J. Pharmacol.* **126**, 709-716, 1999.
 - 7) Abe, H., Orita, M., Konishi, H. and Arichi, S. : Effects of Sairei-to on aminonucleoside nephrosis in the rats. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKU* **3**, 24-30, 1986.
 - 8) Watanabe, M., Kaitani, M., Kobayashi, Y., Taki, M., Minematsu, S., Maemura, S., Fujii, Y., Onoyama, T. and Takeda, K. : Toushitsu fukujin hishitsu horumon zai nitaishuru tsumura saireito (TJ-114) no heiyoku kouka. *Folia pharmacol. japon.* **101**, 39-51, 1993.
渡辺正比古, 蟹谷昌高, 小林勇二郎, 滝昌之, 峰松澄穂, 前村俊一, 藤井祐一, 尾山力, 武田克之 : 糖質副腎皮質ホルモン剤に対するツムラ柴苓湯 (TJ-114) の併用効果. 日薬理誌 **101**, 39-51, 1993.
 - 9) Abe, H., Konishi, Y. and Arichi, S. : Saikozai no yakurigakutei-kenkyu (dai 3 pou) —toushitsu suteroidozai no kouensyousayou nitaishuru saireito no eikyou. *Folia pharmacol. japon.* **78**, 465-470, 1981.
阿部博子, 小西裕紀子, 有地滋 : 柴胡剤の薬理学的研究 (第3報) —糖質ステロイド剤の抗炎症作用に対する柴苓湯の影響. 日薬理誌 **78**, 465-470, 1981.
 - 10) Abe, H., Sakaguchi, M. and Arichi, S. : Saikozai no yakurigakutei-kenkyu (dai 4 pou) —toushitsu suteroidozai no kouensyousayou nitaishuru saikosaponin no eikyou. *Folia pharmacol. japon.* **80**, 155-161, 1982.
阿部博子, 阪口真智子, 有地滋 : 柴胡剤の薬理学的研究 (第4報) —糖質ステロイド剤の抗炎症作用に対するサイコサポニンの影響. 日薬理誌 **80**, 155-161, 1982.
 - 11) Ueno, M. and Matsubara, T. : Preventive effects of some drugs on cerebral apoplexy in salt-loaded stroke prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) (Part VI)—long term oral administration of Gorei-san—富山薬研年報 **19**, 56-65, 1992.
 - 12) Ueno, M. and Matsubara, T. : Preventive effects of some drugs on cerebral apoplexy in salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) (Part VIII)—long-term oral administration of Gorei-san excluding one of the component herbs—富山薬研年報 **20**, 38-45, 1993.
 - 13) Haugan, K., Petersen, J.S., Spannow, J., Shalmi, M. and Christensen, S. : Antihypertensive action of non-natriuretic doses of furosemide in Dahl salt-sensitive rats. *J. Hypertens.* **15**, 775-782, 1997.
 - 14) Vari, R.C., Freeman, R.H., Davis, J.O., Villarreal, D. and Verburg, K.M. : Effect of synthetic atrial natriuretic factor on aldosterone secretion in the rat. *Am. J. Physiol.* **251** (1 Pt 2), R48-52, 1986.
 - 15) Yasujima, M., Abe, K., Kanazawa, M., Kohzuki, M., Yoshida, K., Hiwatari, M., Saito, T., Saso, S. and Yoshinaga, K. : Effects of chronically administered atrial natriuretic factor in aldosterone-infused hypertensive rats. *Jpn. Circ. J.* **52** (12), 1446-1449, 1988.
 - 16) Obana, K., Naruse, M., Inagami, T., Brown, A. B., Naruse, K., Kurimoto, F., Sakurai, H., Demura, H. and Shizume, K. : Atrial natriuretic factor inhibits vasopressin secretion from rat posterior pituitary. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **15**; **132** (3), 1088-1094, 1985.
 - 17) Bianchi, C., Gutkowska, J., Thibault, G., Garcia, R., Genest, J. and Cantin, M. : Radioautographic localization of ¹²⁵I-atrial natriuretic factor (ANF) in rat tissues. *Histochemistry* **82** (5), 441-452, 1985.
 - 18) Von, Schroeder, H.P., Nishimura, E., McIntosh, C.H., Buchan, A. M., Wilson, N. and Ledsome, J.R. : Autoradiographic localization of binding sites for atrial natriuretic factor. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **63**, 1373-1377, 1985.
 - 19) Nakao, K., Sugawara, A., Morii, N., Sakamoto, M., Yamada, T., Itoh, H., Shino, S., Saito, Y., Nishimura, K. and Ban, T. : The pharmacokinetics of alpha-human atrial natriuretic polypeptide in healthy subjects. *European. J. Clin. Pharmacol.* **31** (1), 101-103, 1986.
 - 20) Itoh, H., et al. : Central action of atrial natriuretic polypeptide on blood pressure in conscious rats. *Brain. Res. Bull.* **16**, 745-749, 1986.
 - 21) Jang, S.H., Lee, M.G. and Kim, N.D. : Pharmacokinetics and pharmacodynamics of furosemide after intravenous and oral administration to spontaneously hypertensive rats and DOCA-salt-induced hypertensive rats. *Biopharm. Drug. Dispos.* **15** (3), 185-206, 1994.
 - 22) Morii, N., Nakao, K., Kihara, M., Sugawara, A., Sakamoto, M., Yamori, Y. and Imura, H. : Decreased content in left atrium and plasma concentration of atrial natriuretic polypeptide in spontaneously hypertensive rats (SHR) and SHR stroke-prone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **135**, 74-81, 1986.
 - 23) Abe, H. : Risuizai no kiso to rinsyou; genzairyou ni okeru kanpouyaku no atarashii ouyou to kanousei o motomete—sono yuukouseibun to sayoukijyou o chuushin ni— *Prog. Med.* **16**, 219-222, 1996.
阿部博子 : 利尿剤の基礎と臨床 : 現在医療における漢方薬の新しい応用と可能性を求めて—その有効成分を中心に— *Prog. Med.* **16**, 219-222, 1996.
 - 24) Lang, R.E., Tholken, H., Ganten, D., Luft, F.C., Ruskoaho, H. and Unger, T. : Atrial natriuretic factor—a circulating hormone stimulated by volume loading. *Nature* **314**, 264-266, 1985.
 - 25) Eskay, R., Zukowska-Grojec, Z., Haass, M., Dave, J.R. and Zamir, N. : Circulating atrial natriuretic peptides in conscious rats : regulation of release by multiple factors. *Science* **232**, 636-639, 1986.
 - 26) Orita, M., Nakanishi, U., Tang, F., Hirano, H. and Abe, H. : The effects of Gorei-san on water distribution in the body (long term administration of Gorei-san compared to short term administration). *Journal of Traditional Medicines* **16**, 32-37, 1999.
 - 27) Kim, S., Hamaguchi, A., Shinkawa, T., Kato, Y., Tsuchiya, N., Miura, K. and Iwao, H. : Molecular effects of M17055, furosemide and thiazide on cardiac hypertrophy of spontaneously hypertensive rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **279**, 983-990, 1996.
 - 28) Smeda, J.S. and Tkachenko, O. : Effects of diuretics on stroke development in Kyoto-Wistar stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin. Sci.* **81** (3), 335-340, 1991.
 - 29) Fujimura, A. and Ebihara, A. : Chronopharmacological study of furosemide in rats : (III). Examination in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Life Sci.* **45**, 2459-2464, 1989.
 - 30) Fujimura, A., Sudoh, T., Ohashi, K. and Ebihara, A. : Influence of DOCA treatment on administration-time dependent changes in the effects of furosemide in saline-loaded rats. *Jpn. J. Pharmacol.* **59**, 209-212, 1992.