

分担研究報告書

フリーラジカル由来腎障害における地榆の評価

分担研究者 横澤 隆子 富山医科薬科大学和漢薬研究所 助教授

研究要旨 我が国ではほとんど用いられていない地榆の抗酸化能を O_2 , NO が関与する腎障害モデルを用い検討した結果, これらラジカル消去作用を介して腎機能に好影響をもたらしていた。このことは, 酸素代謝制御を有する新たな治療薬開発の可能性を示唆するものである。

A. 研究目的

活性酸素群を含むフリーラジカルは生体の内外で産生され, 生体機能に影響を及ぼしているが, 近年, 寿命を決定する老化, 各種炎症性疾患, 発癌, 原因不明のいわゆる難治性疾患などとの関連に注目が集まっている。フリーラジカルは一般的には半減期が短くて実体として捉えがたいが, 最近ではフリーラジカルを直接測定する方法も開発され, 身近な存在になってきている。

一方, 活性酸素やフリーラジカルの攻撃とそれにより生ずる障害, 疾病に対して生物はすぐれた防御機構を備え, 自らを防御しているが, 過剰な酸化ストレスが生じると生体防御機構では対応できなくなるので, 抗酸化物質の役割が重要となってくる。このような背景から, 抗酸化物質が注目されているが, 安全性や効果の点から新しいタイプの天然抗酸化物質の検索に注目が集められてきた。和漢薬も種々のタイプの抗酸化性化合物が広範囲に含まれて

おり, 脂質過酸化をはじめとする活性酸素の各種疾患への関わりに対する説明がなされている。

地榆はバラ科植物ワレモコウ *Sanguisorba officinalis* L. の根で, 我が国ではほとんど用いられていない生薬であり, また現在, 臨床に使われている漢方方剤にも含まれていない珍しい漢薬である。しかし中国では止血, 吐血, 咯血, 下血, 月経過多の内服に, あるいは皮膚炎, 湿疹, 切傷などの外用に用いられている。一方, 実験薬理学的研究はウサギやハトを用いた熱傷, 止血, 制吐に対する効果, 黄色ブドウ球菌や緑膿菌に対する抗菌作用が散見される程度である。我々はこれまで *in vitro* の実験系で, DPPH, O_2 , NO などのフリーラジカルに対し, 地榆エキスが消去活性を示すことを明らかにしてきた。本年度は, フリーラジカルが関与する腎障害モデルを用い, 地榆の影響を検討した。

B. 実験方法

エキスの調製：水 1 L に地榆 100 g を加え、100℃で 60 分間煮沸し、濾液を凍結乾燥した。収率は約 17% であった。

腎虚血-再灌流モデル：Wistar 系雄性ラット (6 週齢、体重 150 g 前後) に地榆エキスを 100 あるいは 200 mg/kg 体重/日を 30 日間連日経口投与し、次いで腎動静脈を 60 分間結紮、その後 24 時間再灌流し、血液、腎臓を採取した。

LPS 誘発腎不全モデル：Wistar 系雄性ラット (6 週齢、体重 150 g 前後) に地榆エキスを 50 あるいは 100 mg/kg 体重/日を 30 日間経口投与した。次いで LPS (5 mg/kg 体重) を尾静脈内注射し、6 時間後に血液、腎臓を採取した。

測定法：腎組織中の DNA は Katoh の方法に従い抽出し、断片化の程度をアガロースゲル電気泳動、デンシトメーターで評価した。また尿素窒素、Cr は比色法、NOx は Griess 法、iNOS は Vodovotz らの方法で測定した。

C. 研究結果

腎虚血-再灌流モデル：虚血-再灌流を施したラット腎の DNA にラダーが出現し、腎虚血-再灌流障害にアポトーシスが関与していることが示唆された。このような DNA の断片化は、地榆エキスを前もって 30 日間経口投与した場合、有意に抑制され、腎機能の指標の血中尿素窒素と Cr レベルも地榆エキス処理群で著しく低下していた。このことから、地榆はアポトーシスが関与した腎虚血-再灌流障害を軽減し

て、腎機能の回復をはかっているものと推測された。

LPS 誘発腎不全モデル：LPS 投与によって血中尿素窒素、Cr レベルが著しく上昇し、NOx も著しく上昇していた。これに対し、地榆エキスを前もって 30 日間経口投与した場合、これら値が有意に低下し、また腎組織中の iNOS 活性も地榆エキス投与群で抑制する結果が得られた。

D. 考察

虚血性腎傷害にかぎらず、中毒性あるいは免疫が関与する腎傷害では、活性酸素種が病因となることが報告されているが、生体内における O_2^- と NO の生成と O_2^- と NO の反応による ONOO⁻ 生成に対する防御システムあるいは生成したラジカルの捕捉、除去が疾患や病態への進行を抑制する重要なポイントと考えられている。一方、抗酸化物が抗酸化作用を発現する機序としては、1 つには活性酸素ラジカルの発生を未然に防ぐシステムと、いま 1 つは生成したラジカルを捕捉、除去するシステムがあるが、地榆エキスが後者に対しいかなる影響を及ぼしているかについて、フリーラジカル由来腎障害モデルラットを用い検討し、 O_2^- と NO の両ラジカルの消去に関与している結果が得られた。一方、NO は EDRF としてのみならず、その殺菌作用や神経伝達作用など、さまざまな生理活性が注目されているが、他のフリーラジカル分子ともよく反応し、なかでも O_2^- との反応性は高く、NO の作用を消失させる因子でもあり、さらに

NO と O₂ の反応産物の ONOO⁻ は強い細胞毒性を示すことが Shi らにより報告されている。このことから NO と O₂ の消去とともに ONOO⁻ 生成の抑制が酸化ストレスを是正する必須条件と考えられるが、地榆に ONOO⁻ 消去作用を有することを予試験的に認めており、酸素代謝制御を介した新たな治療薬開発の可能性が示唆された。

E. 結論

地榆エキスは O₂⁻, NO などのフリーラジカル消去作用を介して、腎機能障害の改善に寄与していることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Chen, CP., Yokozawa, T. and Tanaka, T. Protective effect of Sanguisorbae Radix against apoptosis and function of renal tissues subjected to ischemia-reperfusion, *J. Trad. Med.*, 16, 97-101, 1999.

Chen, CP., Yokozawa, T. and Kitani, K. Beneficial effects of Sanguisorbae Radix in renal dysfunction caused by endotoxin *in vivo*, *Biol. Pharm. Bull.*, 22, 1327-1330, 1999.

Yokozawa, T., Chen, CP. and Tanaka, T. Direct scavenging of nitric oxide by traditional crude drugs, *Phytomedicine*, 6, 453-463, 1999.

Yokozawa, T., Chen, CP., Tanaka, T. and Kitani, K. A study on the nitric oxide production-suppressing activity of Sanguisorbae Radix components, *Biol. Pharm. Bull.*, in press.

2. 学会発表

陳 翠萍, 横澤隆子, 田中 隆, 服部征雄: フリーラジカル由来腎障害モデルを用いた地榆の検討, 第16回和漢医薬学会大会, 1999, 8, 千葉.

横澤隆子: 抗老化薬開発への手掛かりを和漢薬に求めて, 第21回日本基礎老化学会シンポジウム, 1999, 10, 東京.

G. 知的所有権の取得状況

なし

平成11年度厚生科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

研究報告書

平成12年3月31日発行

発行所 愛知県大府市森岡町源吾36-3
国立療養所中部病院・長寿医療研究センター
編集発行人 木谷 健一
印刷所 社会福祉法人 仁至会