

投与前 投与後
 図1 novelty P3の頭皮上電位分布パターンの変化

C. 研究結果

MMSEスコアは投与前の 25.0 ± 3.6 (mean \pm SD) から 26.7 ± 3.7 に有意に増加した ($p < 0.05$)。また語想起数も薬剤投与により 9.4 ± 3.9 から 11.1 ± 3.2 に増加の傾向を示した ($p < 0.1$)。SDSスコアには変化がなかった。事象関連電位記録中の標的刺激に対する正答率は薬剤投与後、 $81.4 \pm 12.9\%$ から $87.4 \pm 10.4\%$ に有意に増加し ($p < 0.05$)、反応時間は 666.2 ± 156.0 msから 610.5 ± 108.1 msに短縮傾向を示した ($p < 0.1$)。

事象関連電位の変化に関してまずtarget P3は、薬剤投与により振幅が $2.5 \pm 1.2 \mu V$ から $3.6 \pm 2.0 \mu V$ に増加傾向を示した ($p < 0.1$)。さらにその潜時は 496.5 ± 67.8 msから 461.7 ± 55.6 msに有意に短縮した ($p < 0.05$)。novelty P3に関しては、その潜時に有意の変化はなかったが、振幅が $3.1 \pm 1.2 \mu V$ から $4.9 \pm 1.3 \mu V$ に有意に増加した ($p < 0.005$)。

次にそれぞれの頭皮上分布を見た所、target P3は頭頂後頭部に最大電位を有し薬剤投与によりその分布に変化はなかった。一方、novelty P3は前頭頭頂部に最大電位を有し、薬剤投与により電位分布が前方に移動した。(図1)

D. 考察

今回の検討では、釣藤散の12週間投与によりMMSEスコアの短縮を認め、さらに前頭機能検査の一つである語想起課題でも改善傾向を示した。これらの結果は、すでに報告されている釣藤散の脳血管性痴呆患者での認知機能の改善効果と一致するものと考えられる。

事象関連電位は認知機能の電気生理学的指標の一つであるが、これに対する漢方薬の影響についてはまだ報告がない。今回の検討から、事象関連電位に対していくつかの影響が認められた。まずtarget P3についてはその潜時が有意に短縮された。課題の施行には注意の集中・持続、一時記憶との照合、反応の選択等の認知過程が必要であるが、target P3は一連の課程の最終部分を反映すると考えられている。潜時の短縮は課題に関連した情報の処理速度が改善した事を示している。これは反応時間の短縮傾向も説明するものと考えられる。次に、釣藤散は新奇刺激に対する定位反応の指標であるnovelty P3の電位を増大させた。Novelty P3の生成に関連する神経ネットワークは、target P3のそれとは異なることが知られている。従って、釣藤散は単一の神経部位やネットワークに影響するのではなく、多様な作動部位を有すると考えられる。特にnovelty P3の生成には前頭連合野が重要な働きをしている事が知られている。脳血管性痴呆では前頭葉機能障害を認める事が多いが、我々も脳血管性痴呆においてnovelty P3の異常を報告している。今回の検討で、釣藤散によりnovelty P3の分布がより前方に移動した事は、語想起検査の成績改善と合わせて、前頭葉機能の改善がもたらされた可能性が考えられる。

釣藤散には基礎実験により脳血流改善作用や血管内皮機能改善作用が報告されている。またセロトニンやドーパミンなどの神経伝達物質などに対する影響も確認されている。今回の事象関連電位の改善にも釣藤散による神経伝達物質の修飾が関連した可能性が考えられる。今回の研究は軽度の認知機能障害患者での検討であり、今後痴呆レベ

ルの患者での検討も必要と考えられる。

なし

E. 結論

釣藤散は軽度の認知機能障害を有する脳卒中患者において、認知機能の電気生理学的指標である事象関連電位P3を改善した。

研究協力者：島根医科大学第3内科 山口修平

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Bokura H, Yamaguchi S, Kobayashi S. Electrophysiological correlates for response inhibition in Go/No go task. *Clinical Neurophysiology*, 112: 2224-2232, 2001

2) Yamaguchi S, Toyoda G, Xu J, Kobayashi S, Henik A. Electroencephalographic activity during a flanker interference task using Japanese orthography. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 印刷中

3) Yamaguchi S, Matsubara M, Kobayashi S. Event-related brain potential changes after Choto-san administration in stroke patients with mild cognitive impairments, 投稿中

4) Matsubara M, Yamaguchi S, Xu J, Yamashita K, Kobayashi S. Left inferior frontal gyrus activation by inhibition of habitual behaviors: a functional MRI study. *ISBET proceedings*, 印刷中

5) Yamashita K, Xu J, Yamaguchi S, Takahashi K, Kobayashi S. Age difference in cortical activation during the Kana recognition test with fMRI. *ISBET proceedings*, 印刷中

6) Bokura H, Yamaguchi S, Matsubara M, Kobayashi S. Frontal lobe contribution to response inhibition process -An ERP study and aging effect-. *ISBET proceedings*, 印刷中

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

老化に対する瘀血病態の関連および駆瘀血剤の影響についての研究

分担研究者 三瀧忠道 飯塚病院漢方診療科部長

漢方医学的病態である瘀血は、血液レオロジーや血小板機能の異常など微小循環障害と関連していることが知られている。この微小循環障害は内皮障害から動脈硬化への進展に深く関わっていることが知られており、瘀血病態を改善することは意義深いものと考えられる。今回は代表的駆瘀血剤である桂枝茯苓丸の血液凝固線溶系に対する影響についてソノクロットを用いて検討した。その結果、桂枝茯苓丸は凝固因子の活性を抑え、かつクロット退縮能を抑制することが示唆された。つまり、血栓形成傾向を改善させることが推測された。

A. 研究目的

Sonoclot Analyzer (Sienco社) は、短時間にかつベットサイドで血液凝固、血小板機能、線溶系を包括的に測定しうる血液凝固機能検査機器である。このSonoclot Analyzerを用いて駆瘀血剤の効果を客観的かつ迅速に行うことが可能となり、漢方医学の臨床上有用な検査方法となりうることを期待される。そこで今回は、桂枝茯苓丸の血液凝固線溶系に対する影響についてSonoclot Analyzerで検討することにした。

B. 研究方法

ソノクロット分析装置は血液サンプル内で起こる物理的変化を検出する。この検出メカニズムには管状プローブが付いており、このプローブが血液サンプル内を上下に動き (oscillate)、このoscillatorの作動回路が、プローブの動き、抵抗を感知する。プローブの抵抗は、止血過程で起こる抵抗の違いにより変化する。結果的にアナログ信号が作成され、Clot Signalとしてプリントアウトされる。血液サンプルの凝固過程がリアルタイムにClot Signal値の変化として記録されたものが図1のSignatureである。グラフ開始時点からActivated Clotting Timeに相当する液相 (Liquid Phase) を経て、フィブリンが形成され始めるとClot Signalは増加し始める。グラフではFibrin Formation Phaseとして表されている部分である。Signatureのこの部分の勾配をClot Rate (Signal/min) として表される。次に血小板によるクロット退縮過程がありClot Retraction Phaseとして表現される。当初はクロットが退縮するにつれ、tighteningが起こり、Signatureは上昇し、やがて、クロットは

キュベットやプローブの表面から少しずつはがれ、プローブにかかる抵抗が減弱しSignatureは下向する。以上のような原理にもとずき、パラメータとして、Activated Clotting Time (以下ACT)、Clot Rate (以下CR)、Time to Peak (以下TP)、Peak Angle (以下PA)、Signal on Peak (SP) について測定した (図1)。

桂枝茯苓丸を服用し、凝固療法、抗血栓療法を施行しているものを除いた9例を対象とした。男性が3例、女性が6例。年齢は 73.3 ± 9.3 才。瘀血病態の診断には寺澤の瘀血スコアを用い、9例を20点未満の非瘀血群3例と20点以上の瘀血群6例に分け、両群についてACT、CR、TP、PA、SPについて群間比較を行った。

(倫理面への配慮)

本研究のために患者にいかなる負担も増えないように、臨床探血の必要があると認められた患者においてのみ一般探血の血液サンプルの一部をソノクロットの測定に用いた。また本研究の意義を説明し同意書を得たもののみを対象とし、同意しなくても、患者にはいかなる不利益も生じないことを説明した。

C. 研究結果

ACTについては、非瘀血群は投与前 140.0 ± 17.6 (sec.)、投与2週間後 143.3 ± 14.2 、投与4週間後 141.3 ± 9.0 と変化がなかった。瘀血群は投与前 113.0 ± 26.0 、投与2週間後 142.2 ± 14.2 、投与4週間後 143.8 ± 16.7 と投与前が低値であり、投与2週間後と投与4週間後には非瘀血群と同等の値となった (図2)。

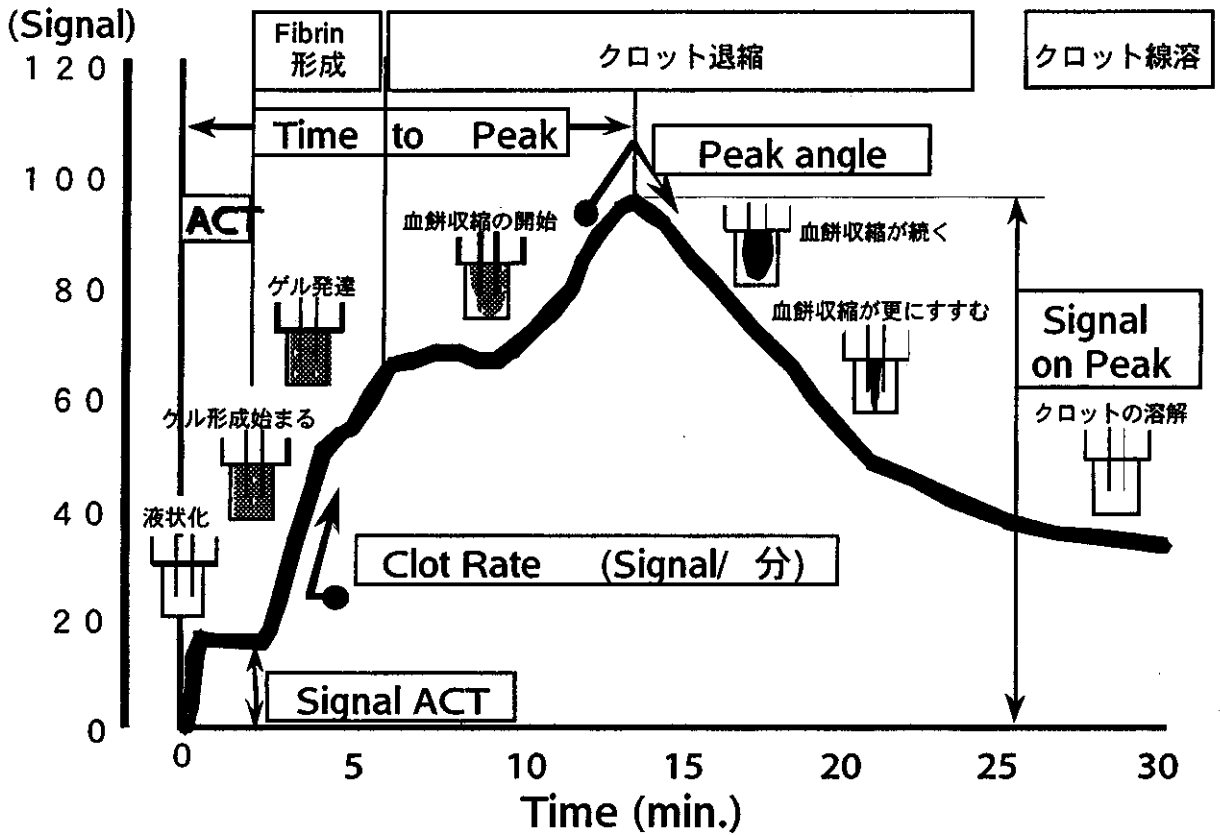


図1 Signatureとその意義

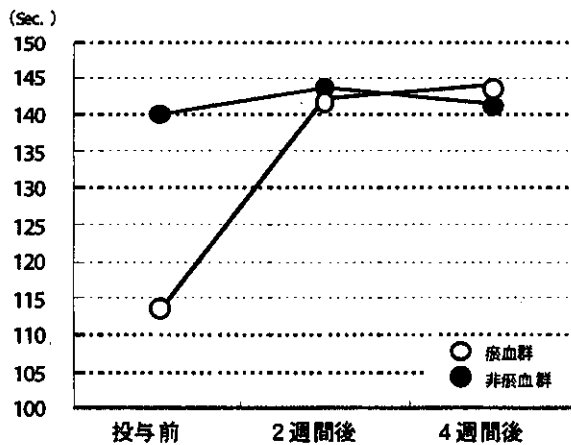


図2 Activated Clotting Timeの群間比較

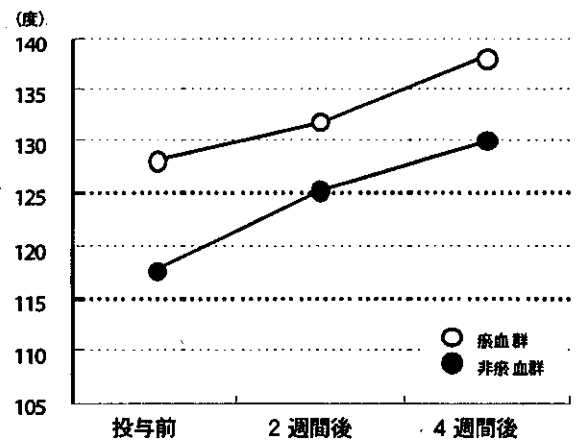


図3 Peak Angleの群間比較

また、PAについて非療血群は投与前117.7 ± 29.0 (度)、投与2週間後125.3 ± 23.2、投与4週間後130.0 ± 32.2と開大した。療血群は投与前で非療血群より128.2 ± 17.5と開大しており、投与2週間後132.0 ± 13.2、投与4週間後138.2 ± 13.2とさらに開大した(図3)。

その他のパラメーターについては、桂枝茯苓丸投与により変化がなかった。Clot Rateの変化を図4に示した。

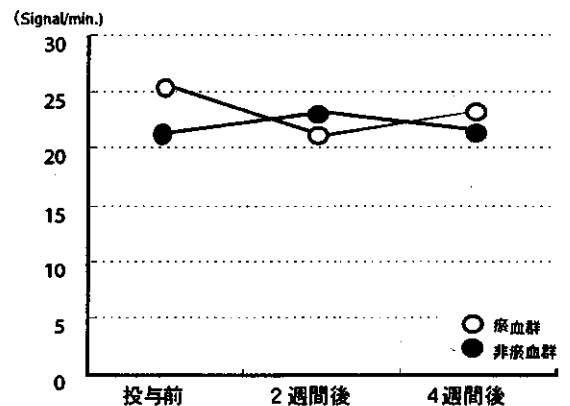


図4 Clot Rateの群間比較

D. 考察

なし

ACTは療血群では短縮されていたが、桂枝茯苓丸投与により、非療血群と同等まで回復した。このことは、療血群で凝固因子の活性が亢進しており、早期にフィブリン形成が開始されることを意味している。桂枝茯苓丸は凝固因子の活性亢進を改善させる作用があることが示唆された。また、Clot Rateには差がないことより、フィブリンの形成が開始され重合が完成される速度は療血群、非療血群との間に差がなく、桂枝茯苓丸投与に影響を受けない。Peak Angleは療血群の方が開大しているが、桂枝茯苓丸を投与することによりPeak Angleは更に開大する。これは血小板機能が低下することを意味している。血小板機能は粘着・放出・凝集があり、桂枝茯苓丸は血小板凝集能を抑制するとの報告があることより、桂枝茯苓丸の血小板凝集能抑制効果を反映しているものと考えられる。

E. 結論

今回、止血機構をリアルタイムにしかもグローバルに評価するソノクロットを用いて桂枝茯苓丸の効果について検討した。高齢者における療血病態で凝固因子の活性亢進状態があり、桂枝茯苓丸投与により凝固因子の活性亢進を抑制し、また血小板機能を抑制することが推測された。このことは、高齢者における血栓形成傾向を改善させると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 古田一史、木村豪雄、南澤潔、小尾龍右、鉄村進、三瀨忠道：Sonoclot Analyzerを用いた療血病態の検討。第52回日本東洋医学会学術総会、2001、6月、札幌。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

自然発症高血圧ラットの血管作動性に及ぼす 桂枝茯苓丸の効果に関する検討

分担研究者 後藤博三 富山医科薬科大学和漢薬研究所漢方診断学部門助教授

自然発症高血圧ラット（SHR）の血圧ならびに血管内皮機能に対する桂枝茯苓丸の効果を検討した。方法：11週齢雄性のSHR16匹を対照群と0.3%桂枝茯苓丸（KB）投与群の2群に分け14週間飼育し、血圧、オルガンバス法による血管内皮機能の評価、NO代謝物、過酸化脂質、血液レオロジー因子を測定した。結果：14週間の飼育中、KB群の収縮期血圧および平均血圧はSHR対照群より有意に低下した。また、Achによる内皮依存性弛緩反応を検討したところ、弛緩率はSHR対照群に比べてKB群において有意な増加を認めた。Xan-X.O誘発血管収縮反応では、内皮保存標本では、KB群の収縮率はSHR対照群と比較して有意に減少した。血漿NO代謝物濃度は、両群間で差がなく、血漿過酸化脂質濃度はKB群で有意に低下した。血漿粘度もKB群で有意に低値であった。結論：桂枝茯苓丸はSHRの血圧上昇および血管内皮機能低下を抑制した。作用機序として、血管内皮におけるNO作用の増強や血液レオロジー因子改善作用の関与が示唆された。このことから、桂枝茯苓丸が高血圧症に伴う血管合併症の発症ならびに進展予防に有効である可能性が示唆された。

A. 研究目的

高血圧症において血管内皮障害は、動脈硬化の初期病変として重要である。血管内皮細胞は、一酸化窒素（NO）やトロンボキサン₂（TXA₂）などのさまざまな血管作動因子を産生・分泌し血管平滑筋の緊張を維持し血圧調節に関与している。そのため、血管内皮障害は、弛緩因子減少と収縮因子増加の両面から血管のリモデリングを促し血管障害へ発展するとされている。一方、桂枝茯苓丸（KB）は、脳血管障害や糖尿病などの動脈硬化性疾患などに対して臨床の場で幅広く応用されており、微小循環改善作用や血液レオロジーの改善作用が報告されている。今回、高血圧症に伴う血管内皮障害に対する桂枝茯苓丸の効果、高血圧の病態モデルである自然発症高血圧ラット（SHR）を用いて検討した。

B. 研究方法

11週齢雄性のSHR16匹および正常血圧のWistar-Kyotoラット（WKY）8匹を用いた。1週間環境適応飼育し、12週齢からKB投与実験を開始した。桂枝茯苓丸は中国産桂皮、日本産芍薬、中国産牡丹皮、中国産桃仁、北朝鮮産茯苓各々

20gの計100gを蒸留水で50分間一緒に煎じ、煎じ液を濾過し、12000rpmで30分間遠心して上清を取り、凍結乾燥によって7.5gの熱水抽出エキスを作成した。作成したエキスを蒸留水に溶解し、自由飲水により経口投与した。

実験方法として、SHR16匹を2群に分け、蒸留水を投与したSHR対照群と、0.3%KB含有水（400 mg/kg/day、ヒト1日内服量の約10倍量）を投与したKB群を作成した。WKY 8匹は蒸留水を投与しWKY対照群とし14週間飼育後、以下の項目について検討した。

1. 体重と血圧：実験開始時から屠殺時まで2週間毎に体重と血圧を測定した。血圧は、33℃の恒温チャンバー内で、ラットを無麻酔下で固定し、ラット用非観血式血圧測定装置（MK-100；ニューロサイエンス、東京）を用いて、尾動脈の収縮期血圧と平均血圧を測定した。

2. 血管弛緩作用の検討：14週間飼育したのち、ラットはペントバルビタールの腹腔内投与（50mg/kg）にて麻酔し、心臓採血によって脱血死させた。胸部大動脈は脂肪と結合組織を取り除き、3mm幅の輪状標本を作成し、マグヌス槽に固定した。輪状標本の一端はトランスデューサー

	Start (SHR)	Control (SHR)	KB (SHR)	WKY
Body weight (g)	279.3±2.6	390.9±6.6	377.0±5.6	406.3±2.9
Systolic pressure (mmHg)	192.5±2.4	213.3±2.4	204.5±2.0*	124.9±4.1
Mean pressure (mmHg)	150.2±2.6	172.6±2.8	163.5±1.4**	98.9±4.8
Plasma NO ₂ ⁻ /NO ₃ ⁻ (μM)	8.01±0.70	9.82±1.29	10.65±1.88	10.91±1.37
Plasma lipid peroxide (nmol/ml)	—	2.68±0.12	2.29±0.99*	2.09±0.11
Plasma fibrinogen (mg/dl)	—	46.1±10.6	25.6±2.8*	21.4±1.8
Plasma viscosity (cp)	—	1.42±0.015	1.33±0.016*	1.32±0.011

The experimental group (control and KB) consisted of 12-week-old SHR.

Asteriks indicate significant differences from SHR control (*: p < 0.05, **: p < 0.01). mean ± S.E., n=8 each.

表 SHR, Wistar各群における体重、血圧、血漿NO代謝物、過酸化脂質、フィブリノーゲン濃度、血漿粘度の比較

を介した等尺性張力測定装置に接続し、ペン記録計により張力変化を記録した。マグナス槽は以下の組成 (mM) のクレブス-リンガー溶液5 mlで満たした: NaCl 120, KCl 4.7, NaHCO₃ 25.0, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄·7H₂O 1.2, CaCl₂ 2.5とブドウ糖10.0。溶液は37℃、pH7.4に維持し、95% O₂ + 5% CO₂混合ガスで連続的に通気した。輪状標本はまず1gの停止張力で40分間安定させた。次に5×10⁻⁷Mのノルエピネフリンで前収縮し、安定した段階でアセチルコリン (Ach) を累積投与 (10⁻⁹~10⁻⁴M) した。また、内皮非依存性血管弛緩反応を検討するために、別の輪状標本にニトロプルシドナトリウム (SNP) を累積投与 (10⁻⁹~10⁻⁴M) した。弛緩率は、ノルエピネフリン誘発最大収縮を100%として測定した。

3. 血管収縮反応の検討: 輪状標本は、内皮保存標本と内皮除去標本を作成した。弛緩実験と同様の前処理後、10⁻⁴M キサンチン (Xan) で前処置し、6×10⁻⁶M プロスタグランディンF₂α (PGF₂α) で前収縮後、キサンチンオキシダーゼ (X.O.) を1~9 mU/ml累積投与し、収縮反応を観察した。収縮率は、PGF₂α 誘発収縮を100%として測定した。

4. 血漿NO代謝物、過酸化脂質、フィブリノーゲン濃度測定法: NOは非常に不安定な分子であり、急速に酸化分解を起こすことから、NO₂⁻/NO₃⁻を生体内でのNO生成の指標として測定した。血漿NO₂⁻/NO₃⁻はグリース反応を利用したNO測定器 (ENO-10; EICOM社、京都) で測定した。血漿過酸化脂質濃度はTBA法で、血漿フィブリノーゲン濃度はトロンビン凝固時間法で測定した。

5. 粘度測定法: 全血および血漿粘度は、Cone-Plate Rotational Viscometer (Bio-Rheolizer, 東京計器 (株)、東京) を用い測定した。

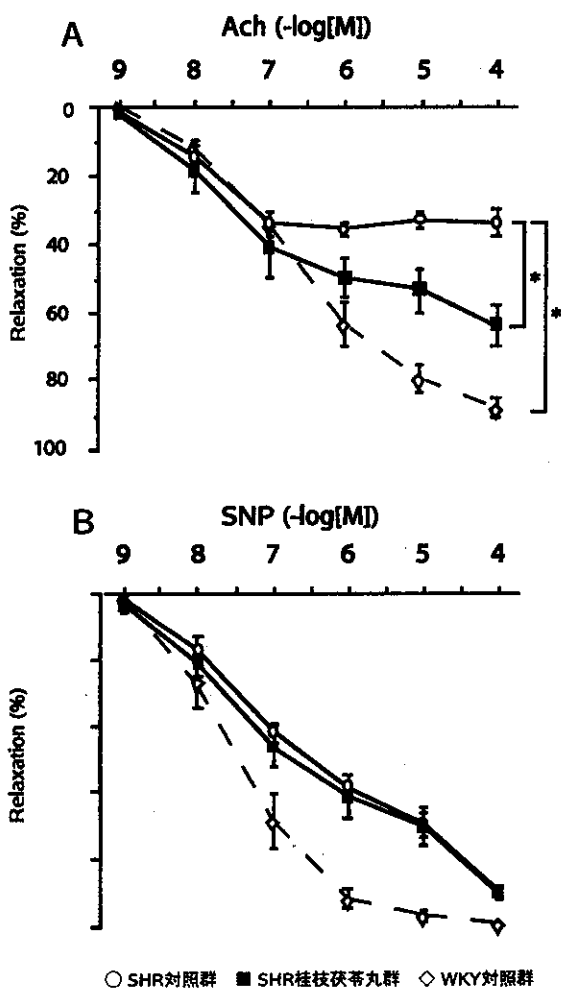
数値はすべて平均値±標準誤差で示した。統計学的解析には two-way repeated-measures ANOVAおよびMann-Whitney検定を用いた。有意水準はいずれもp < 0.05とした。

C. 研究結果

1. 体重と血圧 (表): 14週間の飼育中、KB群とSHR対照群の間で体重に有意な差を認めなかった。KB群の収縮期血圧および平均血圧はSHR対照群より有意に低下した。

2. 血管弛緩反応 (図1): Achによる内皮依存性弛緩反応を検討したところ、累積投与した濃度の範囲内 (10⁻⁹~10⁻⁴M) では、KB群とWKY対照群では10⁻⁴Mで、SHR対照群では10⁻⁶Mで最大弛緩に達した。最大弛緩率はKB群においては63.6±5.9%であったのに対してSHR対照群では36.0±5.9%であり、Achによる血管弛緩率はSHR対照群と比較してKB群は有意な増加を認めた (p < 0.05)。WKY対照群の最大弛緩率は88.0±2.6%であった。内皮非依存性弛緩反応であるSNPによる血管弛緩率は両群間に有意差を認めなかった。最大弛緩率はSNP10⁻⁴MのときKB群90.9±1.9%、SHR対照群88.2±1.4%で、WKY対照群は99.4±0.4%であった。

3. Xan-X.O.誘発血管収縮反応 (図2): PGF₂α 誘発収縮下で、Xan (10⁻⁴M) およびX.O. (1~9 mU/ml) 投与により、輪状標本の濃度依存性収縮を惹起した。内皮保存標本では、KB群の収縮率はSHR対照群と比較して有意に減少した (p <

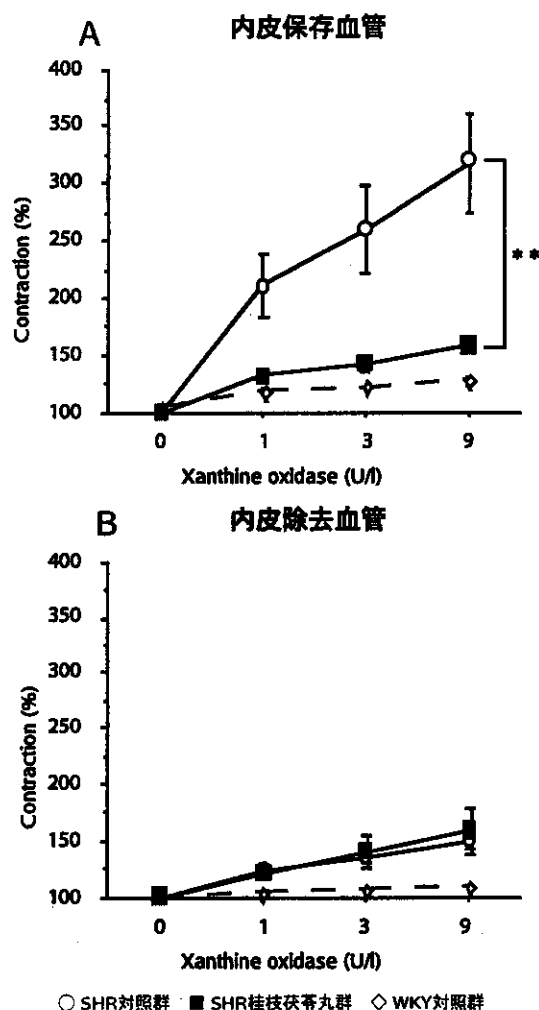


○ SHR对照群 ■ SHR桂枝茯苓丸群 ◇ WKY对照群
 図1 Achによる内皮依存性血管弛緩作用 (A) とSNPによる内皮非依存性血管弛緩作用 (B)

0.001)。9 mU/ml X.O.投与時の収縮率は、KB群とSHR对照群で、それぞれ159 ± 6.2%と319 ± 43.6%で、WKY对照群は126.1 ± 3.9%であった。内皮除去により3群とも収縮は減少し、KB群とSHR对照群の2群間の収縮の差は消失した。9 mU/ml X.O.投与時の収縮率は、KB群とSHR对照群で、それぞれ159 ± 21.0%と150 ± 8.5%で、WKY对照群は108.0 ± 1.9%であった。

4. 血漿NO代謝物濃度、過酸化脂質濃度、フィブリノーゲン濃度 (表) : 14週間飼育後の血漿NO₂/NO₃濃度はKB群とSHR对照群の2群間で有意差を認めなかった。血漿過酸化脂質はKB群2.29 ± 0.09nmol/ml、SHR对照群2.68 ± 0.12nmol/mlであり、KB群で有意に低下していた (p < 0.05)。血漿フィブリノーゲン濃度はKB群 (25.6 ± 2.8mg/dl) でSHR对照群 (46.1 ± 10.6mg/dl) に比し有意に低値を示した (p < 0.05)。

5. 血液粘度 (表) : 血液粘度はKB群 (1.33 ± 0.016cp) の方が、SHR对照群 (1.42 ±



○ SHR对照群 ■ SHR桂枝茯苓丸群 ◇ WKY对照群
 図2 Xanthine/Xanthine Oxidaseによる血管収縮反応
 内皮保存血管 (A) 内皮除去血管 (B)

0.015cp) より有意に低値であり (p < 0.05)、全血粘度はKB群とSHR对照群の2群間で有意差を認めなかった。

D. 考察

今回の検討で、SHR对照群のAchによる内皮依存性血管弛緩反応の最大弛緩率は、WKY对照群と比較して有意に低下していたが、SNPによる内皮非依存性血管弛緩反応の最大弛緩率は、2群間で有意差は認めなかった。このことから、SHR对照群において、内皮機能低下を生じていることが示唆された。それに対し、KB群では、SHR对照群に比してAchによる血管弛緩反応の有意な低下抑制を認めたことから、桂枝茯苓丸が血管内皮機能の保護作用を有する可能性が示唆された。血管内皮機能低下は動脈硬化の初期病変と考えられることから、桂枝茯苓丸は高血圧症における動脈硬化の発症・進展抑制作用を有する可能性が示唆さ

れた。Achによる内皮依存性血管弛緩反応は、主にNOの関与で生じることから、桂枝茯苓丸の投与によりNOの産生が増加した可能性が考えられた。そこで、血漿NO代謝物濃度を検討したが、KB群とSHR対照群で有意な差を認めなかった。一方、血管内皮においてフリーラジカルはNOを速やかに不活化するとの報告があることから、血漿過酸化脂質濃度を測定したところ、KB群においてSHR対照群より有意な低下を認めた。この二つの結果と血漿過酸化脂質産生には血管内のフリーラジカルが関与することを考え合わせると、桂枝茯苓丸がフリーラジカルのスカベンジ作用を生じ、NO作用を増強した可能性が示唆された。これまでの報告から、NOは血管拡張作用のみでなく、白血球接着抑制作用、血小板凝集抑制作用なども有することが報告されている。このことから、NO作用増強が桂枝茯苓丸の血管内皮保護作用の機序の一つとして関与していると考えられる。一方、血液レオロジー学的検討では、KB群で血漿粘度の改善と血漿フィブリノーゲンの低下を認めた。このことは、これまでの報告と一致する結果であり、KBが血液レオロジー面から血管内皮に好影響を与えたと考えられる。血液粘度の上昇は、ずり応力の増加を来し、ずり応力の増加は内皮障害の一因との報告がある。この点から桂枝茯苓丸の血管内皮保護作用機序の一つに血漿粘度の改善作用が関与している可能性も示唆された。

E. 結論

SHRに桂枝茯苓丸水溶性エキスを14週間経口投与したところ、対照群に比し収縮期血圧および平均血圧の低下を認めた。同時に内皮依存性血管弛緩反応の低下が桂枝茯苓丸の投与により抑制された。その作用機序として、血管内皮におけるNO作用の増強や血液レオロジー因子改善作用の関与が示唆された。このことから、桂枝茯苓丸が高血圧症に伴う血管合併症の発症ならびに進展予防に有効である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Goto H., Yang Q., Kita T., Hikiami H., Shimada Y. and Terasawa K.: Effects of Choto-san on microcirculation, serum nitric oxide and lipid peroxides

in patients with asymptomatic cerebral infarction. Am. J. Chin. Med. 29:83-89,2001.

2) Shimada Y., Goto H., Kogure T., Shibahara N., Sakakibara I., Sasaki H. and Terasawa K.: Protective effect of phenolic compounds isolated from the hooks and stems of *Uncaria sinensis* on glutamate-induced neuronal death. Am. J. Chin. Med. 29:173-180,2001.

3) Kasahara Y., Goto H., Shimada Y., Sekiya N., Yang Q. and Terasawa K.: Effect of Keishi-bukuryo-gan on endothelial function in spontaneously hypertensive rats. J. Trad. Med. 18:113-117,2001.

2. 学会発表

1) Goto H.: Evaluation of Herbal Extracts in Japan. The 2001 Periodical Spring Conference of The Korea Society for Oriental Internal Medicine. 2001, May, Gwang-Ju, Korea.

2) 後藤博三, 嶋田豊, 寺澤捷年, 三瀧忠道, 新谷卓弘, 長坂和彦, 後藤壮一郎: 無症候性脳血管障害に対する桂枝茯苓丸の短期効果の検討. 第52回東洋医学会総会, 2001, 6月, 札幌.

3) 曹基湖, 後藤博三, 嶋田豊, 寺澤捷年: 脳卒中発症初期患者に対する星香正気散の有用性の検討. 第52回東洋医学会総会, 2001, 6月, 札幌.

4) 嶋田豊, 横山浩一, 後藤博三, 榊原巖, 酒井伸也, 萬谷直樹, 関矢信康, 寺澤捷年: 培養ラット小脳顆粒細胞におけるNO-donor誘導神経細胞死に対する釣藤鈎の保護作用. 第18回和漢医薬学会大会, 2001, 8月, 富山.

5) 笠原裕司, 後藤博三, 嶋田豊, 関矢信康, 楊喬, 寺澤捷年: 自然発症高血圧ラット摘出血管のラジカル誘発収縮に対する桂枝茯苓丸の収縮抑制効果. 第18回和漢医薬学会大会, 2001, 8月, 富山.

6) Tanikawa, K., Goto, H., Tatsuno, Y. and Terasawa, K.: Endothelium-dependent vasodilator effect of tannin extract from *Cinnamomum Cortex* on isolated rat aorta. The 11th International Congress of Oriental Medicine, 2001, Oct., Seoul, Korea.

7) Shimada, Y., Goto, H., Kogure, T., Sakai, S., Mantani, N., Sekiya, N. and Terasawa K.: Protective effect of extract prepared from the Bark of *Cinnamomum Cassia Blume* on glutamate-induced neuronal death in cultured cerebellar granule cells. The 11th International Congress of Oriental Medicine, 2001, Oct., Seoul, Korea.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

無症候性脳梗塞患者の血漿NO代謝物、過酸化脂質に及ぼす釣藤散の効果

分担研究者 長坂和彦 諏訪中央病院東洋医学センター長

無症候性脳梗塞患者を対象に、釣藤散4週間投与の眼球結膜微小循環、血漿一酸化窒素（NO）代謝物・過酸化脂質に及ぼす効果を検討した。その結果、眼球結膜微小血管の血管内径、血流速度、血流量の増加、血漿NO₂/NO₃の増加傾向、過酸化脂質の低下、総コレステロール及びLDL-コレステロールの低下を認めた。以上より、釣藤散は血管内皮機能及び脂質代謝を改善することにより微小循環を改善する可能性が示唆された。

A. 研究目的

釣藤散は、古来より慢性の頭痛やめまいに対して用いられてきた漢方方剤である。近年の研究では、寺澤らにより脳血管性痴呆に対する有効性も示されている。また、長年の使用にも拘わらず、副作用出現の報告もみられない。釣藤散は微小循環に対して好ましい影響を及ぼすと考えられているが、我々はその血流改善作用を報告した。釣藤散は11種類の構成生薬から成り立っており、それらが血球のみならず血管機能にも作用することが考えられる。実際、釣藤散の主要構成生薬である釣藤鈎には、内皮依存性と内皮非依存性の血管弛緩作用があることが報告されている。さらに以前我々は、釣藤鈎は自然発症高血圧ラット（SHR）に対して血圧上昇抑制作用、血管内皮機能改善作用を有し、その作用機序として一酸化窒素（NO）を介する血管弛緩作用が関与することを報告した。従って、釣藤散も血管作動性に作用することが考えられる。

今回は、釣藤散の効果を臨床的に調べる目的で、脳血流の低下を伴うことが知られている無症候性脳梗塞患者を対象とした研究を行なった。そして、これらの患者の釣藤散投与前後の眼球結膜微小循環、血漿NO₂/NO₃、過酸化脂質に及ぼす影響を検討した。さらに、脂質代謝は血管機能に影響を及ぼすため、釣藤散の脂質代謝に及ぼす影響も検討した。

B. 研究方法

対象は無症候性脳梗塞患者15例（男性4例、女性11例、平均年齢63.7±7.8歳）であった。無症候性脳梗塞の診断は、神経学的診察とMRIによって

行なわれた。患者にはインフォームドコンセントにより了承を得た。既に西洋薬等を服用している患者については、3ヶ月前から終了に至るまで処方継続し変更は行なわなかった。

今回用いた釣藤散には煎剤を用いた。構成は、釣藤鈎3g、陳皮3g、半夏3g、麦門冬3g、茯苓3g、人参3g、菊花3g、防風3g、石膏5g、甘草1g、生姜1gであり、これらの生薬を600mlの水で40分間煎じ、得られた300mlの煎液を100mlずつ1日3回、4週間投与した。

血圧、ビデオ顕微鏡システムによる眼球結膜微小循環の撮影を、釣藤散投与前と4週間投与後の午前9時頃の空腹時に施行した。同時に、肘静脈から血液を採取し、血漿NO₂/NO₃、過酸化脂質、総コレステロール、中性脂肪、HDL-コレステロールを測定した。

眼球結膜の小静脈のうち、蛇行していない内径20μmの部分ビデオ顕微鏡に記録し、血管内径（ID：μm）を計測した。赤血球の移動速度（血流速度、FVe：μm/sec）は一定の距離を移動する時間から計測した。血流量（FVo：μm³/sec）は、 $(1/2ID)^2 \times \pi \times FVe$ によって算出した。

NOは非常に不安定な分子であり、直ちに酸化され安定なNO₂/NO₃となるため、今回はNO₂/NO₃をNO産生の指標として用いた。血漿NO₂/NO₃はGriess法に基づくENO-10（EICOM Co.）を用いて測定した。

過酸化脂質は八木法を用いて測定した。血清総コレステロール、中性脂肪、HDL-コレステロールは標準的方法で測定した。

データは平均±標準誤差で表示し、統計学的処理にはWilcoxon's t-testを用いた。有意差水準は、

p<0.05とした。

C. 研究結果

4週間の釣藤散の服用前後で、血圧には有意の変化はみられなかった。眼球結膜微小循環に関しては、血流速度は $327 \pm 28 \mu\text{m}/\text{sec}$ から $390 \pm 36 \mu\text{m}/\text{sec}$ へ、血流量は $1.11 \pm 0.09 \times 10^5 \mu\text{m}^3/\text{sec}$ から $1.52 \pm 0.14 \times 10^5 \mu\text{m}^3/\text{sec}$ へ、血管内径は $21.0 \pm 0.8 \mu\text{m}$ から $22.4 \pm 0.7 \mu\text{m}$ へと各々有意に増加した(表1)。

表1 釣藤散投与前後の血圧、眼球結膜微小循環の変化

	投与前	4週後
血圧		
最高(mmHg)	141.1 ± 4.3	137.0 ± 4.0
最低(mmHg)	85.0 ± 3.3	82.6 ± 2.9
眼球結膜微小循環		
血流速度($\mu\text{m}/\text{sec}$)	327 ± 28	$390 \pm 36^*$
血流量($\times 10^5 \mu\text{m}^3/\text{sec}$)	1.11 ± 0.09	$1.52 \pm 0.14^*$
血管内径(μm)	21.0 ± 0.8	$22.4 \pm 0.7^*$

平均 \pm SE. *P<0.05, 対投与前.

図1に、釣藤散4週間投与前後の血漿 NO_2/NO_3 を変化を示した。 NO_2/NO_3 は、 $36.9 \pm 3.5 \times 10^{-5}\text{M}$ から $44.9 \pm 6.3 \times 10^{-5}\text{M}$ へと増加傾向を示した。

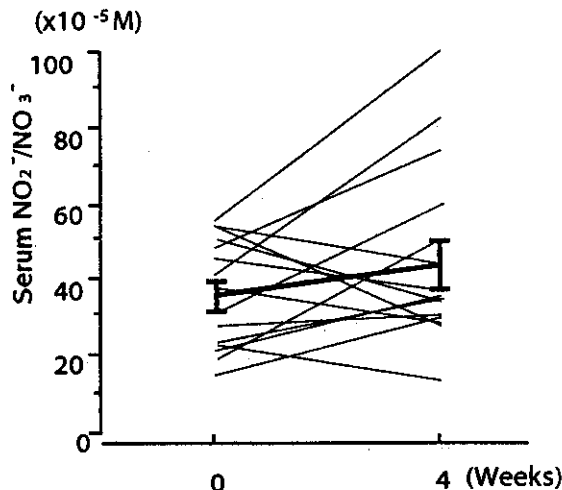


図1 釣藤散投与前後の血漿 NO_2/NO_3 の変化

釣藤散4週間服用前後の血漿過酸化脂質の変化を図2に示した。過酸化脂質は、 $2.59 \pm 0.12 \times 10^{-6}\text{M}$ から $2.35 \pm 0.09 \times 10^{-6}\text{M}$ へと有意に低下した。

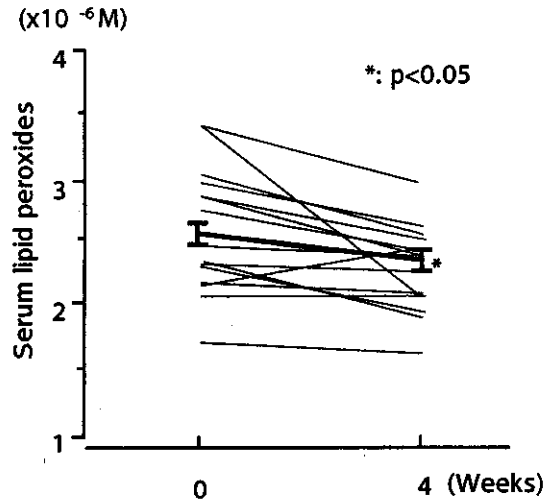


図2 釣藤散投与前後の血漿過酸化脂質の変化

表2に、釣藤散4週間投与前後の血漿総コレステロール、中性脂肪、HDL-コレステロール、LDL-コレステロールの変化を示した。LDL-コレステロールはFriedewaldの式に従い、総コレステロール-HDL-コレステロール-中性脂肪/5によって算出した。総コレステロールは $193.5 \pm 8.4 \text{mg}/\text{dl}$ から $181.7 \pm 7.5 \text{mg}/\text{dl}$ へ、LDL-コレステロールは $112.2 \pm 7.6 \text{mg}/\text{dl}$ から $102.8 \pm 6.1 \text{mg}/\text{dl}$ へと、各々有意に低下したが、HDL-コレステロール及び中性脂肪には変化はみられなかった。

表2 釣藤散投与前後の血漿脂質の変化

	投与前	4週後
総コレステロール(mg/dl)	193.5 ± 8.4	$181.7 \pm 7.5^*$
中性脂肪(mg/dl)	127.05 ± 21.6	119.7 ± 17.4
HDL-コレステロール(mg/dl)	56.1 ± 4.0	55.0 ± 3.9
LDL-コレステロール(mg/dl)	112.2 ± 7.6	$102.8 \pm 6.1^*$

平均 \pm SE. *P<0.05, 対投与前.

D. 考察

無症候性脳梗塞患者は、健康人に比べて脳血流が低下していることが知られており、その原因として加齢と高血圧による血管内皮機能の低下が関与していることが報告されている。また、無症候性脳梗塞は脳梗塞や脳血管性痴呆に進展することも報告されている。従って、その予防が非常に重要となってくる。釣藤散の脳血流改善効果は報告されているが、その作用機序は不明のままであった。今回の研究結果より、釣藤散の4週間投与によって眼球結膜微小循環が改善することが明らか

になった。その作用機序を検討するため、我々は血管内皮のNO機能について検討した。血管内皮機能の不全によって生ずる血流障害には、内皮からのNO産生低下が関与することが報告されている。そこで我々は、NO産生の指標として血漿NO₂/NO₃を測定した。NOラジカルは内皮においてフリーラジカルによって不活化されることが知られている。さらに、過酸化脂質は血中のフリーラジカルの有用な指標となることが報告されているため、我々は血漿NO₂/NO₃と過酸化脂質を同時に測定した。結果として、釣藤散服用前後でNO₂/NO₃は増加傾向を示したのに対して、過酸化脂質は有意に低下したことより、釣藤散投与により血管内皮のNO機能が改善した可能性が示唆される。

釣藤散の主要構成生薬である釣藤鈎の内皮依存性血管弛緩作用が報告されている。さらに、釣藤鈎含有アルカロイドはカルシウム拮抗作用を有することも知られている。釣藤散はフリーラジカル除去作用を有することが報告されており、今回の研究でみられた有意な過酸化脂質低下作用は釣藤散服用によるものと考えられる。また、今回の研究で釣藤散の4週間の服用により、血清コレステロールとLDL-コレステロールの有意な低下がみられた。他の研究者も、釣藤散がコレステロールを低下し、HDL-コレステロールを増加させたと報告している。高コレステロール血症は血管収縮、内皮機能の低下を招くことが知られている。釣藤散は脂質代謝を改善することによっても血流を改善している可能性が示唆されるので、今後は釣藤散の脂質代謝に対する作用を詳細に検討する必要がある。

他の漢方方剤である桂枝茯苓丸も血流改善作用があることが知られている。我々は、桂枝茯苓丸が血清フィブリノーゲン及び血液粘度を低下させることを報告した。データは示さないが、釣藤散にはこのような作用はみられなかった。従って、釣藤散は桂枝茯苓丸と異なった作用機序をもって、血流を改善することが考えられる。

E. 結論

無症候性脳梗塞患者に、釣藤散を4週間投与したところ、眼球結膜微小血管の血管内径、血流速度、血流量の増加、血漿NO₂/NO₃の増加傾向、過酸化脂質の低下、総コレステロール及びLDL-コレステロールの低下を認めた。釣藤散は血管内皮機能及び脂質代謝を改善することにより微小

循環を改善する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Yutaka Shimada</u> , <u>Hirozo Goto</u> , Toshiaki Kogure, Kazufumi Kohta, Takahiro Shintani, Takashi Itoh and Katsutoshi Terasawa	Extract prepared from the bark of Cinnamomum cassia Blume prevents glutamate-induced neuronal death in cultured cerebellar granule cells.	Phytotherapy Research	14	466-468	2000
<u>Hirozo Goto</u> , Iwao Sakakibara, <u>Yutaka Shimada</u> , Yuji Kasahara and Katsutoshi Terasawa	Vasodilator effect of extract prepared from Uncariae ramulus on isolated rat aorta.	American Journal of Chinese Medicine	28	197-203	2000
<u>Hirozo Goto</u> , Qiao Yang, Toshiaki Kita, Hiroaki Hikiami, <u>Yutaka Shimada</u> and Katsutoshi Terasawa	Effects of Choto-san on microcirculation, serum nitric oxide and lipid peroxides in patients with asymptomatic cerebral infarction.	American Journal of Chinese Medicine	29	83-89	2001
<u>Yutaka Shimada</u> , <u>Hirozo Goto</u> , Toshiaki Kogure, Naotoshi Shibahara, Iwao Sakakibara, Hiroshi Sasaki and Katsutoshi Terasawa	Protective effect of phenolic compounds isolated from the hooks and stems of Uncaria sinensis on glutamate-induced neuronal death.	American Journal of Chinese Medicine	29	173-180	2001
Yuji Kasahara, <u>Hirozo Goto</u> , <u>Yutaka Shimada</u> , Nobuyasu Sekiya, Qiao Yang and Katsutoshi Terasawa	Effects of Keishi-bukuryo-gan (Gui-Zhi-Fu-Ling-Wan) on endothelial function in spontaneously hypertensive rats.	Journal of Traditional Medicines	18	113-118	2001

20010265

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。