

図2 SNP及びSIN-1誘導神経細胞死に対する釣藤鈎エキスの保護作用の経時的変化  
細胞生存率はMTT法によって評価した。  
mean ± SD, n=4 experiments. \*p<0.05, \*\*p<0.01  
compared with control at each point.

最後に、NO donor誘導神経細胞死に対する釣藤鈎の水溶出部、フェノール画分、アルカロイド画分の保護作用を検討した。水溶出部には保護作用はみられなかった(図3 A B)。フェノール画分(10, 30 μg/ml)とアルカロイド画分(10, 30 μg/ml)は、SNP (30 μM) 24時間添加によって生ずる神経細胞死を、用量依存的に有意に抑制した(図3 A)。また、フェノール画分(3, 10 μM)とアルカロイド画分(30, 100 μg/ml)は、SIN-1 (300 μM) 24時間添加によって生ずる神経細胞死も、用量依存的に有意に抑制した(図3 B)。

#### D. 考察

今回の研究によって、培養小脳顆粒細胞において釣藤鈎エキスはNO donor誘導神経細胞死に対して保護作用を有し、その活性成分はフェノール画分とアルカロイド画分に含まれることが明らかとなった。以前、我々は、釣藤鈎エキス及びそのフェノール成分とアルカロイド成分が、培養小脳顆粒細胞においてグルタミン酸誘導神経細胞死を抑制することを報告した。

脳虚血の際には神経細胞のシナプス前部より多量のグルタミン酸が放出され、これが神経細胞のシナプス後部のNMDA受容体等のグルタミン酸受容体を過剰に刺激する。これにより、電位依存性チャンネル、さらにはグルタミン酸受容体のカルシウムチャンネルを通して多量のカルシウムイオンが細胞内流入し、nNOSが活性化され多量のNO<sup>•</sup>が発生する。従って、今回の我々の研究と以前の研究から、釣藤鈎エキスのグルタミン酸誘導神経細胞死に対する保護作用には、少なくともある部分はNOの神経毒性に対する保護作用が関与していることが示唆される。

グリア細胞もまた、脳虚血による神経細胞死の過程において重要な働きをしている。グリア細胞はグルタミン酸を取り込み、グルタミン合成酵素によりそれをグルタミンに代謝する。この働きは脳虚血の際には、神経細胞に対して保護的に作用すると考えられる。一方、脳の虚血再灌流の後期においては、ある種のサイトカインの活性化を含む様々な刺激により、グリア細胞内のiNOSの発現を強力に誘導し、これが多量のNO<sup>•</sup>の発生へとつながり遅発性神経細胞死が導かれる。培養神経細胞においては、低用量のNO donorによって遅発性神経細胞死が生じ、これはネクローシスではなくアポトーシスであると言われている。今回の我々の研究では、NO donorの添加は3時間までは

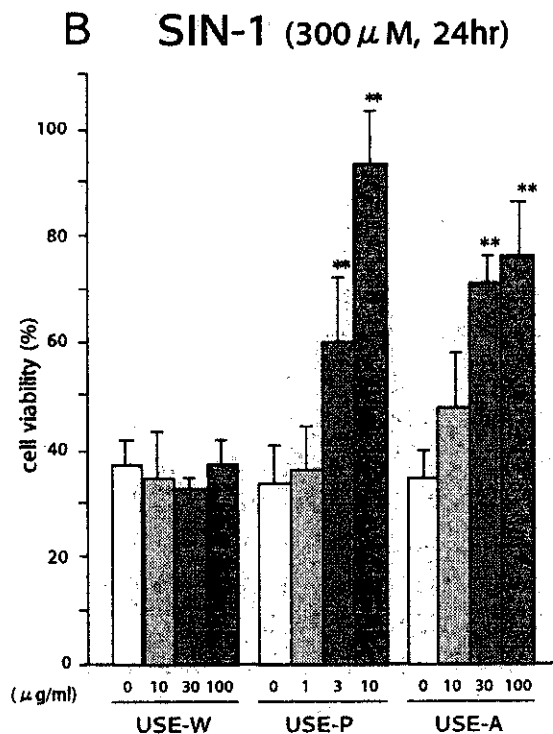
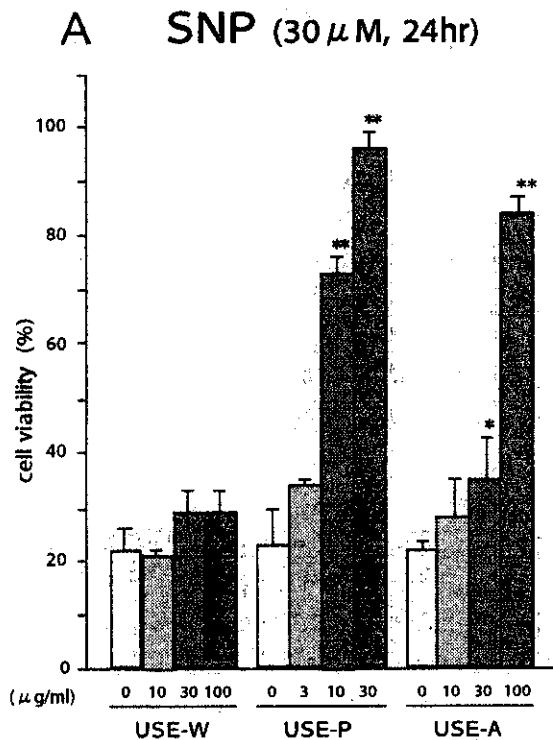


図3 SNP及びSIN-1誘導神経細胞死に対する釣藤鈎エキスの水溶出部、フェノール画分、アルカロイド画分の保護作用  
SNP及びSIN-1添加24時間後の細胞生存率をMTT法によって評価した。

mean  $\pm$  SD, n=4 experiments.

\*p<0.05, \*\*p<0.01 compared with control.

細胞生存率に大きな影響を与えなかったが、その後細胞生存率は低下し、培養小脳顆粒細胞において核の凝集や崩壊等のアポトーシスの像が見られ、これらの所見は釣藤鈎エキスを添加することにより抑制された。今回の実験においては、我々はAraCの添加によってグリア細胞の増殖を抑えて細胞培養を行ったが、釣藤鈎が神経細胞死の過程においてグリア細胞に対して何らかの影響を及ぼすか否かについてはさらに検討を要すると考える。

脳の虚血再灌流の過程において、ミトコンドリアの機能障害、hypoxanthineの蓄積、アラキドン酸の放出、白血球の活性化等によって多量の $O_2^{\cdot -}$ が発生する。in vivoの数多くの研究によって、 $NO^{\cdot}$ と $O_2^{\cdot -}$ が反応しONOO $^{\cdot -}$ を生じ、さらには $\cdot OH$ が発生することが神経毒性につながるメカニズムであることが明らかになっている。今回の研究において、我々はSNPとSIN-1という2種類のNO donorを用いた。少なくともSNP (30  $\mu$ M) 24時間添加とSIN-1 (300  $\mu$ M) 24時間添加という条件下では、フェノール画分はアルカロイド画分に比べて低用量で保護作用を認めた。

Uncaria属は、ESR法によって抗酸化作用あるいはラジカルスカベンジ作用を有すること、鉄誘導てんかんモデルラットにおいて脂質過酸化抑制作用を有することが知られている。さらに、Uncaria属はin vivoの実験において、グルタミン酸やカインニン酸などの興奮性アミノ酸投与によって誘導される痙攣を抑制することも知られている。この痙攣は、 $NO^{\cdot}$ や $O_2^{\cdot -}$ の発生による酸化ストレスによる神経障害によって生ずる。これらの事実は、釣藤鈎の神経細胞保護作用には、少なくともある部分フリーラジカルスカベンジ作用が関与していることを示唆している。

天然物から分離されたフェノール成分は、抗酸化作用、ラジカルスカベンジ作用があることはよく知られている。今回の我々の成績、及び他の報告者による海馬の培養神経細胞を用いた成績より、フェノール成分がNOによって生ずる酸化ストレスによる神経障害を抑制することが示唆される。フェノール成分は、培養血管内皮細胞や虚血再灌流障害においても、抗酸化作用によって酸化ストレスに対する保護作用を有することも報告されている。

Uncaria属のアルカロイド成分は、血管拡張作用、グルタミン酸誘導痙攣に対する抗痙攣作用等の多彩な薬理作用を有する。今回の研究によって、我々は釣藤鈎のフェノール成分のみならずアルカロイ

ド成分もNOが関与する神経毒性に対して保護作用を有することを明らかにした。我々は以前in vitroの実験によって、釣藤鈎エキスのアルカロイド画分が酸化ストレスによって生ずる血管収縮を抑制することを報告したが、このことは釣藤鈎のアルカロイド画分がフリーラジカスキャベンジ作用を持つことを支持している。

結論として、今回の研究によって釣藤鈎はNOが関与する神経毒性に対して保護作用を有し、その活性成分はフェノール画分とアルカロイド画分に含まれていることが示唆された。このことは、NOが関与する虚血性脳血管障害に対する釣藤鈎の有効性の作用機序の一端を説明し得ると考える。

## E. 結論

培養ラット小脳顆粒細胞を用いたin vitroの実験において、釣藤鈎及びそのフェノール画分、アルカロイド画分は、NO donor誘導神経細胞死を抑制した。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Shimada Y., Yokoyama K., Goto H., Sakakibara I., Sekiya N., Mantani N., Sakai S. and Terasawa K.: Protective effect of the hooks and stems of *Uncaria sinensis* against nitric oxide donor-induced neuronal death in cultured cerebellar granule cells. *J. Trad. Med.* 19: 15-20, 2002.

2) Goto H., Shimada Y., Mitsuma T., Shintani T., Nagasaka K., Goto S., Shibahara N. and Terasawa K.: Effect of Keishi-bukuryo-gan on asymptomatic cerebral infarction for short term. *J. Trad. Med.* 19: 46-50, 2002.

3) Sekiya N., Goto H., Shimada Y. and Terasawa K.: Inhibitory effects of Keishi-bukuryo-gan on free radical induced lysis of rat red blood cells. *Phytother. Res.* 16: 373-376, 2002.

4) Sekiya N., Goto H., Tazawa K., Oida S., Shimada Y. and Terasawa K.: Keishi-bukuryo-gan prevents the endothelium dependent relaxation of thoracic aorta in cholesterol-fed rabbit by limiting superoxide generation. *Phytother. Res.* 16: 524-528, 2002.

5) Kasahara Y., Goto H., Shimada Y., Sekiya N., Yang Q. and Terasawa K.: Inhibitory effects of

Cinnamomi cortex and cinnamaldehyde on oxygen-derived free radical-induced vasoconstriction in isolated aorta of spontaneously hypertensive rats. *J. Trad. Med.* 19: 51-57, 2002.

6) Yang Q., Goto H., Shimada Y., Kita T., Shibahara N. and Terasawa K.: Effects of Choto-san on hemorheological factors and vascular function in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Phytomedicine* 9: 93-98, 2002.

## 2. 学会発表

1) 横山浩一, 嶋田豊, 掘悦郎, 関矢信康, 後藤博三, 西条寿夫, 寺澤捷年: 釣藤鈎の一過性脳虚血モデルにおける神経細胞保護作用の検討. 第19回和漢医薬学会大会, 2002, 8月, 千葉.

2) 後藤博三, 嶋田豊, 関矢信康, 笠原裕司, 楊喬, 柴原直利, 喜多敏明, 寺澤捷年: 糖尿モデル(KBN/Kob)ラットにおける桂枝茯苓丸の血管保護作用. 第19回和漢医薬学会大会, 2002, 8月, 千葉.

3) 嶋田豊, 横山浩一, 後藤博三, 関矢信康, 引網宏彰, 酒井伸也, 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桂枝茯苓丸及びその構成生薬の保護作用. 第19回和漢医薬学会大会, 2002, 8月, 千葉.

4) 後藤博三, 柴原直利, 喜多敏明, 嶋田豊, 寺澤捷年, 小林祥泰, 松井龍吉, 三瀨忠道, 新谷卓弘, 長坂和彦: 無症候性脳梗塞に対する桂枝茯苓丸を主とした和漢薬の長期投与効果の検討. 第53回日本東洋医学会学術総会, 2002, 5月, 名古屋.

## 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

## 脳血管障害患者の高次機能に対する漢方薬の効果に関する研究

分担研究者 小林祥泰 島根医科大学第三内科学教授

脳血管障害後の脳高次機能障害に対する釣藤散の効果、事象関連電位P3の変化を指標として検討した。本年度は症例数を追加し、さらに薬物の効果をより明らかにするため、事象関連電位の再現性の検討も行った。脳卒中発症後に軽度の認知機能障害を来した10名の患者に釣藤散7.5g/日を12週間投与し、その前後で事象関連電位P3を高解像度脳波記録装置により記録した。再現性検討群では、10例の脳卒中患者で12週間の間隔をあけて繰り返し測定を行った。その結果、P3の再現性は良好であった。Target P3の潜時は薬剤投与後有意に短縮、反応時間も短縮した。一方Novelty P3の振幅が有意に増加し、その頭皮上分布がより前方に移動した。以上のことから、釣藤散は脳血管障害後の認知機能障害を改善させることが示された。また、今後新たな漢方薬の開発や治療効果を検討する上で、新奇刺激を含む事象関連電位測定が有用であることが示唆された。

### A. 研究目的

脳血管性痴呆の治療は、高齢化社会にとって重要な課題である。その治療薬の中で釣藤散は脳血管性痴呆に対する有効性が確認されている唯一の漢方薬である。しかしそれが脳の認知活動をどのように修飾するのかがまだ不明な点が多い。事象関連電位P300（以下P3）は注意、記憶、判断などの認知機能を反映する電気生理学的指標とされ臨床的にも用いられている。痴呆や加齢に伴いその振幅が低下し、潜時が延長することが報告されている。P3には少なくとも二つの種類が知られており、随意的な標的刺激の識別により出現するtarget P3と課題に依存せず新奇な刺激に対して出現するnovelty P3がある。それぞれ異なった認知機能を反映しており、痴呆性疾患でもその原因により障害のパターンが異なっている。今回、釣藤散投与前後の二つのP3の変化をみることにより、本薬剤の脳機能に及ぼす影響について検討した。

### B. 研究方法

島根医科大学第三内科の外来患者の中で、脳卒中発作後に認知機能障害を来した10例を対象とした。患者の年齢は52-85歳（平均71歳）である。薬剤投与は釣藤散7.5g/日を12週間行った。その投与前後で以下の検査を行った。神経心理検査はMini Mental State Examination (MMSE)と語想起検査を行い、情動機能はZungの抑うつ尺度(SDS)

で評価した。事象関連電位は聴覚刺激による新奇刺激を混えたオッドボール課題を用いた。脳波記録には128チャンネルの高解像度脳波記録装置を用いた。事象関連電位の再現性の検討のため、薬剤投与を行った例と同様の病変を有する脳卒中患者10例（平均68歳）を対象に、12週間の間隔をあけて脳波測定を行った。

（倫理面への配慮）全例に研究目的を説明し、文書によるインフォームドコンセントを得た。

### C. 研究結果

MMSEスコアと語想起数はそれぞれ、投与前の $23.8 \pm 3.6$  (mean  $\pm$  SD)から $25.2 \pm 4.0$ 、 $8.3 \pm 3.8$ から $10.0 \pm 3.7$ に共に有意の増加を示した( $p < 0.05$ )。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 $666.2 \pm 156.0$  msから $610.5 \pm 108.1$  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 $2.4 \pm 1.1 \mu V$ から $3.3 \pm 1.8 \mu V$ に増加傾向を示した( $p < 0.1$ )。さらにその潜時は $494.6 \pm 58.8$  msから $465.4 \pm 46.7$  msに有意に短縮した( $p < 0.02$ )。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 $3.3 \pm 1.2 \mu V$ から $4.9 \pm 1.4 \mu V$ に有意に増加した( $p < 0.02$ )。

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。

一方、事象関連電位の再現性の検討では、targetおよびnovelty P3の潜時、振幅とも繰り返し測定による有意の変化は認められなかった。一回目と二回目の測定結果の相関は $r = 0.71 \sim 0.97$ と良好であった。このことから、今回の研究における事象関連電位の変化は釣藤散の薬効に基づくものであると考えられる。

#### D. 考察

これまでtarget P3の再現性についてはいくつかの報告があり、月あるいは年の間隔で測定しても、その再現性と相関性は比較的良好である事が示されている。novelty P3についてはまだ報告がないが、新奇情報の処理には慣れの現象が知られており、繰り返し測定で変化する可能性も考えられた。しかし今回の結果からは数ヶ月間隔での再現性は良好で、振幅の減少も認められなかった。これには新奇刺激として常に新しい刺激を用いたことが寄与していると思われる。また今回の結果から、認知機能や脳神経活動に対する種々の薬剤の影響を見る上で、新奇刺激を含む事象関連電位測定が有用であることが示唆される。

今回の検討では、昨年度に比し対象者数を増やしたがその結果はほぼ同様で、釣藤散の12週間投与によりMMSEスコアの短縮および語想起課題の改善を認めた。また事象関連電位にも改善効果が認められ、釣藤散の有用性が確認された。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。

さら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く、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。

#### E. 結論

事象関連電位P3の長期（数ヶ月）再現性は良好であり、その変化は薬剤の効果判定に使用可能である。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) 山口修平：釣藤散の前頭葉機能改善効果。漢方医学 27(1): 12-14, 2003

##### 2. 学会発表

1) 山口修平、松原美和、小林祥泰：脳血管障害後の認知機能障害に対する釣藤散の効果。第28回日本脳卒中学会総会、東京、2003、3

#### 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

## 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長期の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、かつ線溶系を活性化することが示唆された。つまり、長期間血栓形成傾向を改善させると考えられた。

### 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、線溶系を包括的にかつ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長期投与の影響についてSonoclot Analyzerで検討することにした。また、同時にQOLに対する効果についても検討した。

### 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。

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6例（全例女性）を対象とした。年齢は $64.7 \pm 5.6$ 才。瘀血病態の診断には寺澤の瘀血スコアを用い判定した。瘀血スコアでは $36.1 \pm 3.6$ （ $32.0 \sim 40.5$ ）点と全例瘀血病態と診断された。桂枝茯苓丸を12週間投与し、前、4週後、8週後、12週後にACT、CR、TP、PA、SPについて測定した。また、プロトロンビン時間、フィブリノーゲン値、プラスミノーゲン値についても測定した。

さらに、SF-36を用いてQOLに対する効果についても検討した。

（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、臨床上採血の必要があると認められた患者においてのみ一般採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

1. ソノクロットの各パラメータの経時的変化

# Sonoclot Signature

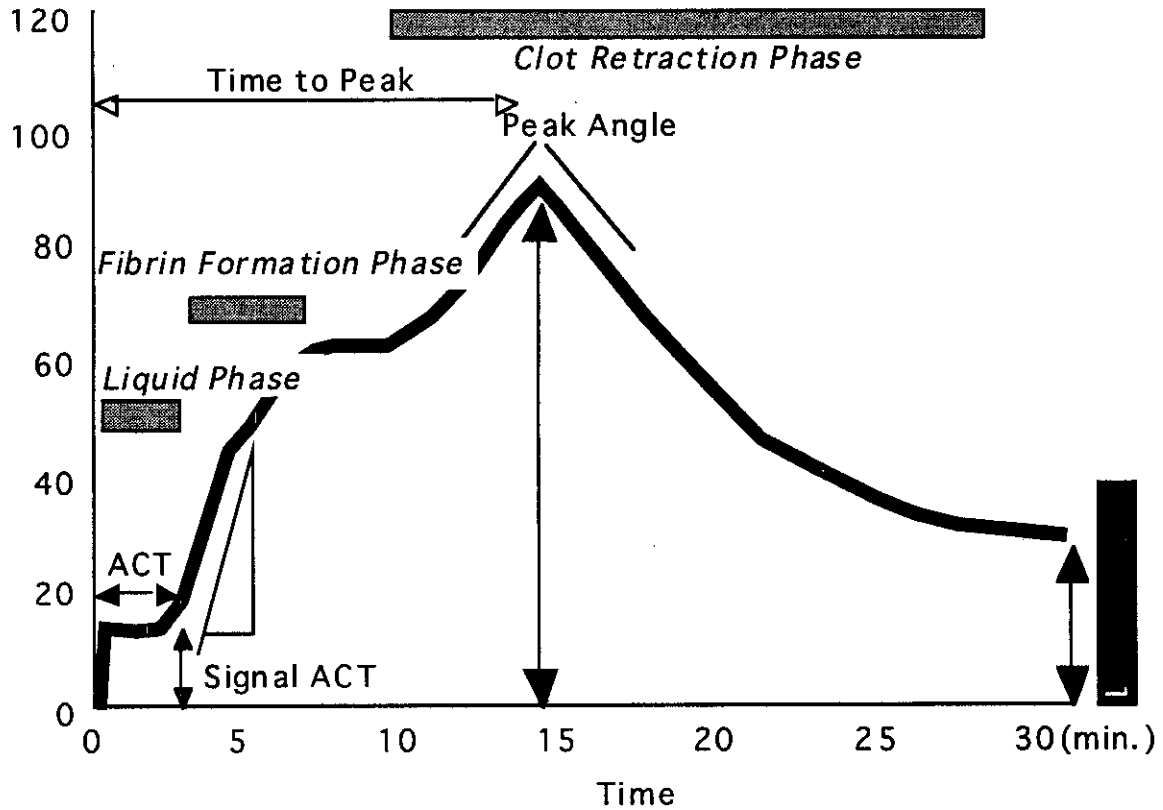


図1 Sonoclot Signature

ACTは、投与前の $163.7 \pm 15.7$ sec.から投与4週後には $180.8 \pm 17.5$  sec.と有意 ( $p < 0.05$ ) に延長した。投与8週後 $184.3 \pm 20.1$  sec.、投与後12週後 $184.3 \pm 19.2$ sec.と有意な延長は持続した (図2)。しかし、その他のACT、CR、TP、PA、SPについては有意な変化はなかった。

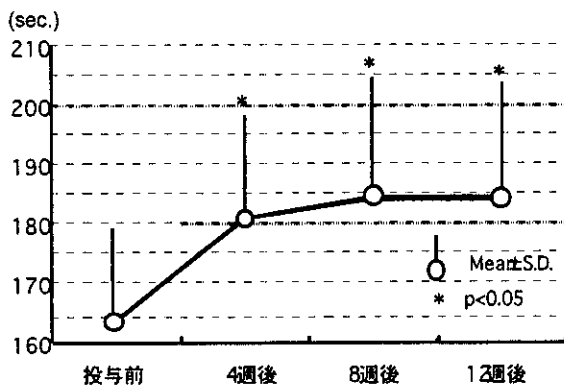


図2 ACTの経時的変化

0.7mg/dlから投与4週後には $11.9 \pm 0.7$  mg/dlと有意な上昇を示し、以後、8週後 $12.2 \pm 1.1$  mg/dl、12週後 $11.9 \pm 1.3$  mg/dlと持続した (図3)。しかし、プロトロンビン時間、フィブリノーゲン値には有意な変化はなかった。

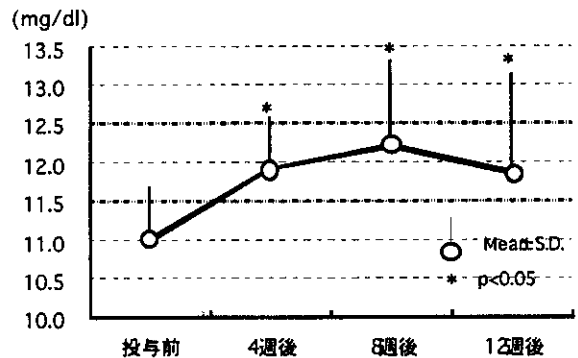


図3 プラスミノーゲン値の経時的変化

## 2. プロトロンビン時間、フィブリノーゲン値、プラスミノーゲン値の経時的変化

プラスミノーゲン値について、投与前の $11.0 \pm$

## 3. SF-36を用いたQOLに対する効果

8つの尺度、すなわち身体機能、心の健康、日常役割機能(身体)、日常役割機能(精神)、体の痛み、全体的健康感、活力、社会生活機能について

有意な効果は認められなかった。

#### D. 考察

ACTは桂枝茯苓丸投与により、4週以降有意な延長を認めた。このことは、桂枝茯苓丸は凝固因子の活性抑制し、ヘパリン類似の効果を発揮することが示唆された。また、プラスミノゲン値が4週後より有意な上昇を示し、線溶系の活性を抑制する方向にはたらき微小循環の改善に関与していることが示された。QOLに対する効果については、今回の12週間の投与では有意な改善が認められなかったが、さらに症例の蓄積とより長い期間での評価が必要であると考えられた。

#### 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長期効果について検討した。高齢者に対して桂枝茯苓丸投与により凝固因子の活性を抑制し、また線溶系を活性化することが示唆された。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

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



## 自然発症高血圧ラット摘出胸部大動脈のフリーラジカル誘発収縮反応 に対する桂皮エキスおよびケイヒアルデヒドの血管収縮抑制効果

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）摘出胸部大動脈におけるキサンチンキサンチンオキシダーゼ（X/XO）誘発血管収縮反応に対する桂皮エキスおよびケイヒアルデヒド（CA）の収縮抑制作用についてオルガンバス法を用いて検討した。X/XO誘発血管収縮反応は、SHR対照群と比較して、桂皮エキス（ $10^{-4}$ g/ml）前処置群、CA（ $10^{-4}$ M）前処置群で、有意に抑制された。X/XO収縮反応時のトロンボキサンB2（TXB2）産生量は、SHR対照群と比較して、桂皮エキス（ $10^{-4}$ g/ml）群、CA（ $10^{-4}$ M）群で、有意に抑制された。CAのTX産生抑制作用の機序を検討するため、フォスホリパーゼA2（PLA2）誘発血管収縮反応に対する収縮抑制作用について検討したところ、PLA2誘発血管収縮反応はSHR対照群と比較して、CA（ $10^{-4}$ M）群で、有意に抑制されていた。PLA2収縮反応時のTXB2産生量は、SHR対照群と比較してCA（ $10^{-4}$ M）群で、有意に抑制されていた。以上のことから、桂皮は血管収縮因子であるTXA2抑制作用を有する可能性が示唆された。

### A. 研究目的

昨年度の本研究において、自然発症高血圧ラット（SHR）における血管内皮障害に対する桂枝茯苓丸（KB）の内皮保護作用が明らかになった。その際、KB投与がXanthine/Xanthine oxidase（X/XO）による血管収縮反応を有意に抑制することを明らかにした。X/XO誘発血管収縮反応は、動脈硬化形成時の障害血管モデルと考えられ、血管内皮でのフリーラジカル産生増加と、それに伴う収縮因子の一つであるTXA2が関与していることが、すでに報告されている。そこで、KBの構成生薬5種類について、SHR摘出胸部大動脈のX/XO血管収縮に対する作用を検討したところ、桂皮に強い血管収縮抑制効果を認めた。今回の研究では、KBの主要構成生薬である桂皮について、摘出血管におけるX/XO誘発収縮に及ぼす影響と、収縮時のTXA2産生に対する影響について検討した。

### B. 研究方法

15～20週齢雄性のSHRおよびWKYラットの胸部大動脈を使用した。被検薬剤は100gの中国産桂皮を蒸留水で50分間煎じ、煎じ液を濾過し12,000rpmで30分間遠心し、上清を取り凍結乾燥によって3.0gの熱水抽出桂皮エキスを得た。作成

した熱水抽出桂皮エキスを蒸留水に溶解し使用した。実験方法として、ラットはペントバルビタールの腹腔内投与（50 mg/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、3 mm幅の輪状標本を作成し、マグナス槽に固定した。輪状標本の一端はトランスデューサ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、NaHCO<sub>3</sub> 25.0、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1.2、CaCl<sub>2</sub> 2.5とブドウ糖10.0）。溶液は37℃、pH 7.4に維持し、95%O<sub>2</sub>+5%CO<sub>2</sub>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60分間安定させた。その間、リンガー液を15分毎に4回交換した。その際、NO作用を除去するために、リンガー液交換毎に、NO合成阻害薬であるN<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (l-NAME； $10^{-4}$ M)を加え、以下の項目について検討した。

#### 1. Xanthine/Xanthine oxidase（X/XO）誘発収縮実験

摘出血管を桂皮エキスまたは、桂皮の主成分であるケイヒアルデヒド、対照薬である $10^{-5}$ Mインドメタシンで前処置した。前処置薬添加10分後、xanthine（ $10^{-4}$ M）で前処置し、さらにその10分後、

表 TXB2濃度の変化

Vasoconstriction inducer	X(10 <sup>-4</sup> M)-XO(10 mU/ml)		PLA2(1 U/ml)	
	before	after	before	after
Control(SHR)	9.84±1.63	91.1±11.9*	17.6±7.61	77.6±14.9*
CCE(10 <sup>-4</sup> g/ml)	12.5±1.19	34.1±3.73*#	—	—
CA(10 <sup>-4</sup> M)	9.76±2.45	47.2±6.98*#	7.80±1.96	29.0±3.94*#

CCE：桂皮エキス；CA：ケイヒアルデヒド。内皮保存血管にI-NAMEを添加し、mean±SE, n=4~7. \*p<0.05 compared with before contraction. #p<0.05 compared with SHR control.

xanthine oxidase (10 mU/ml) を投与した。それにより一過性の収縮が誘発された。収縮率は、60 mM KCl誘発収縮によって得られた最大収縮に対する割合(%)で表現した。

### 2. Phospholipase A2 (PLA2) 誘発収縮実験

TXA2の関与による血管収縮に対する桂皮エキスおよびケイヒアルデヒドの効果を検討するため、前処置薬(桂皮エキスまたはケイヒアルデヒド)添加10分後、PLA2 (1 U/ml) を投与し、一過性の収縮を誘発した。収縮率は、1. と同様に60 mM KCl誘発収縮に対する割合(%)として表現した。

### 3. トロンボキサンB2 (TXB2) 測定法

Xanthine 前処置直前とxanthine oxidase 処置30分後、あるいは、PLA2投与直前と、投与30分後に、それぞれ、マグナス槽内のリンガー液2 mlを採取し、TXB2濃度を測定した。TXA2は非常に不安定な分子であり、急速に加水分解を起こして安定性があるTXB2になってしまうことから、TXB2をリンガー液内でのTXA2生成の指標として用いた。TXB2濃度は、RIA PEG法で測定した。

### 4. 統計学的解析

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Mann-Whitney testとrepeated measures ANOVAを用い、post hoc testとして、Fisher'sPLSDを用いた。それぞれの値は、SHR対照群と比較した。有意水準はいずれもp<0.05とした。

## C. 研究結果

### 1. SHRおよびWKYにおけるX/XO誘発血管収縮反応

1) SHRおよびWKYの大動脈輪状標本において、X/XOによる血管収縮反応は、I-NAME処理SHR群が73.7±3.19% (n=10)であったのに対し

て、I-NAME処理WKY群は11.4±3.58% (n=4)であり、SHR群で有意に収縮の増強を認めた(図1)。一方、薬物前処置群では、桂皮エキス(10<sup>-4</sup>g/ml)群で25.8±5.19%、ケイヒアルデヒド(10<sup>-4</sup>M)群で31.3±7.63%と有意に血管収縮反応が抑制された。桂皮エキスおよびケイヒアルデヒドは、それぞれ濃度依存性に血管収縮反応を抑制した(n=6~10; 図1)。

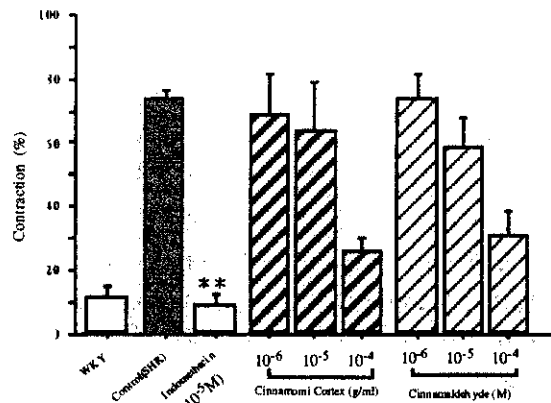


図1 SHRのX/XO誘発血管収縮反応に対する桂皮エキス(CCE)、ケイヒアルデヒド(CA)の抑制効果

内皮保存血管にI-NAMEを添加し、60mM KClによる最大収縮に対する収縮率で表示。xanthine : 10<sup>-4</sup>M ; xanthine oxidase : 10 mU/ml. mean ± SE, n=6~10.

\*p<0.05, \*\*p<0.01 compared with SHR control.

2) 桂皮エキスおよびケイヒアルデヒドのX/XO誘発血管収縮反応時のTXA2生成に与える影響として、I-NAME処理したSHR輪状標本のX/XOによる血管収縮反応30分後のマグナス槽内リンガー液のTXB2濃度は、SHR対照群と比較し

て、桂皮エキス ( $10^4$ g/ml) 群、ケイヒアルデヒド ( $10^4$ M) 群で、有意に増加の抑制を認めた ( $n=6\sim7$ ; 表)。

## 2. ケイヒアルデヒドのPLA2誘発血管収縮反応に与える影響

1) 1-NAME処理したSHR輪状標本のPLA2による血管収縮反応は、SHR対照群が $75.1 \pm 5.03\%$ であったのに対して、ケイヒアルデヒド ( $10^4$ M) 群は $23.2 \pm 8.61\%$ で、有意に血管収縮反応が抑制された。ケイヒアルデヒドは、濃度依存性に血管収縮反応を抑制した (各群  $n=6\sim9$ ; 図2)。

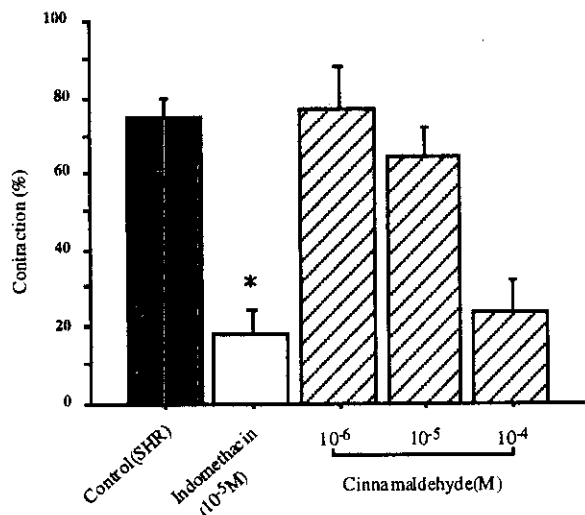


図2 SHRのPLA2誘発血管収縮反応に対するケイヒアルデヒド (CA) の抑制効果

内皮保存血管に1-NAMEを添加し、60mM KClによる最大収縮に対する収縮率で表示。PLA2: 1 U/ml. mean  $\pm$  SE,  $n=6\sim10$ .

\* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$  compared with SHR control.

2) ケイヒアルデヒドのPLA2誘発血管収縮反応時のTXA2生成に与える影響として、1-NAME処理したSHR輪状標本のPLA2による血管収縮反応後のマグヌス槽内リンガー液のTXB2濃度は、SHR対照群と比較して、ケイヒアルデヒド ( $10^4$ M) 群で、有意に増加が抑制されていた (各群  $n=4\sim5$ ; 表)。

## D. 考察

桂皮は桂枝茯苓丸の主要構成生薬であり、臨床的に血流改善目的で使われる重要な生薬である。その機序として桂皮含有タンニンが内皮依存性弛緩作用を有することが報告されているので、本研

究では、収縮作用に及ぼす影響について検討した。動脈硬化などによる障害血管において、フリーラジカルの産生が亢進し、TXA2産生が増加し、血管収縮を生じることが報告されている。その収縮に及ぼす桂皮エキスの効果を検討したところ、X/XOによる血管収縮反応が抑制された。同時に、TXB2増加率が抑制される結果が得られた。TXA2は血小板だけではなく、血管壁を構成している血管平滑筋や血管内皮細胞でも産生されていることから、桂皮エキスが血管壁におけるTXA2産生抑制作用を有していると考えられた。さらに、桂皮の主要成分であるケイヒアルデヒドの作用を検討したところ、桂皮エキスと同様にX/XOによる血管収縮反応を抑制し、TXA2産生も抑制された。このことから、ケイヒアルデヒドが、桂皮エキスのX/XOによる血管収縮反応抑制作用の活性主体である可能性が示唆された。

その作用機序として、TXA2産生抑制あるいはフリーラジカルの作用に対する影響が示唆されたので、ケイヒアルデヒドのPLA2誘発血管収縮反応に対する効果を検討した。その結果、ケイヒアルデヒドの前処置により、PLA2誘発血管収縮反応が濃度依存的に抑制されるという結果が得られた。このことから、ケイヒアルデヒドが、PLA2のアラキドン酸遊離作用を阻害することによってTXA2産生を抑制していること可能性が示唆された。TXA2は強力な血管収縮物質であり、高血圧と密接に関連していることから、自然発症高血圧ラットにおける降圧作用発現や血管内皮機能保護作用に作用している可能性が示唆された。

## E. 結論

SHR摘出胸部大動脈に桂皮エキスおよびケイヒアルデヒドを前処置したところ、Xanthine/Xanthineoxidase 誘発血管収縮反応を有意に抑制し、血管収縮因子であるTXA2産生も有意に抑制した。ケイヒアルデヒドの前処置はPLA2誘発血管収縮反応を有意に抑制し、TXA2産生も有意に抑制した。ケイヒアルデヒドに、血管壁におけるTXA2産生をPLA2阻害作用を介して抑制することが明らかになった。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

1. 論文発表

1) Goto H.: A report of three cases of diabetic nephropathy satisfactorily treated with traditional herbal medicine- Clinical evaluation of the effect of traditional herbal medicines containing Daio (Rhei Rhizoma) on the progression of diabetic nephropathy with overt proteinuria - Journal of Traditional Medicine 19: 37-45, 2002.

2) Goto H., Shimada Y., Mitsuma T., Shintani T., Nagasaka K., Goto S., Shibahara N. and Terasawa K.: Effect of Keishi-Bukuryo-gan on asymptomatic cerebral infarction for short term. Journal of Traditional Medicine 19: 46-50, 2002.

3) Shimada Y., Yokoyama Y., Goto H., Sakakibara I., Sekiya N., Mantani N., Sakai S., and Terasawa K.: Protective effect of the hooks and stems of *Uncaria sinensis* against nitric oxide donor-induced neuronal death in cultured cerebellar granule cells. Journal of Traditional Medicine 19: 15-20, 2002.

4) Yang Q., Goto H., Shimada Y., Kita T., Shibahara S. and Terasawa K.: Effect of Choto-san on hemorheological factors and vascular function in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Phytomedicine 9: 93-98, 2002.

5) Kasahara Y., Goto H., Shimada Y., Sekiya N., Yang Q. and Terasawa K.: Inhibitory effects of cinnamomi Cortex and cinnamaldehyde on oxygen-derived free radical-induced vasoconstriction in isolated aorta of spontaneously hypertensive rats. Journal of Traditional Medicine 19: 51-57, 2002.

6) Sekiya N., Goto H., Shimada Y., Terasawa K.: Inhibitory effects of Keishi-bukuryo-gan on free radical induced lysis of rat red blood cells. Phytotherapy Research 16: 373-376, 2002.

7) Shibahara N., Sekiya N., Sakai S., Goto H., Kita T., Shimada Y., Shintani T. and Terasawa K.: Correlation between "oketsu" syndrome and autonomic nervous activity - a diachronic study on the same subjects - Journal of Traditional Medicine 19: 81-86, 2002.

8) Sekiya N., Kogure T., Kita T., Kasahara Y., Sakakibara I., Goto H., Shibahara N., Shimada Y. and Terasawa K.: Reduction of plasma triglyceride level and enhancement of plasma albumin concentration by Oren-gedoku-to administration. Phytomedicine 9: 455-460, 2002.

9) Sekiya N., Goto H., Tazawa K., Oida S., Shimada Y., Terasawa K.: Keishi-bukuryo-gan preserves

the endothelium dependent relaxation of thoracic aorta in cholesterol-fed rabbit by limiting superoxide generation. Phytotherapy Research. 16: 524-528, 2002.

## 2. 学会発表

1) Goto H.: Past, present and future of studies on Oketsu in Japan. Proceeding of 2002 International Symposium of Traditional Korean Medicine. 2002, 5, Seoul, Korea.

2) 後藤博三、嶋田豊、小林祥泰、松井龍吉、柴原直利、喜多敏明、三瀨忠道、新谷卓弘、長坂和彦、寺澤捷年: 無症候性脳梗塞に対する桂枝茯苓丸を主とした和漢薬治療の長期投与における検討. 第52回東洋医学会総会, 2002, 6, 名古屋.

3) 後藤博三、嶋田豊、笠原裕司、楊喬、柴原直利、喜多敏明、寺澤捷年: 糖尿モデル(WBN/Kob)ラットにおける桂枝茯苓丸の血管保護作用. 第19回和漢医薬学会大会. 2002, 8, 千葉.

4) 後藤博三、柴原直利、喜多敏明、嶋田豊、関矢信康、寺澤捷年: 生薬・釣藤鈎の血管弛緩作用機序と自然発症高血圧ラット (SHR) に対する効果に関する検討. 第23回グアニジン化合物研究会. 2002, 9, 富山.

5) 後藤博三: 無症候性脳梗塞に対する桂枝茯苓丸の効果. 第28回日本東洋医学会北陸支部例会北陸支部奨励賞受賞講演. 2002, 10, 金沢.

## 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

## 脳卒中易発症自然発症高血圧ラットの血液レオロジー因子 及び血管機能に対する釣藤散の効果

分担研究者 長坂和彦 諏訪中央病院東洋医学センター長

脳卒中易発症自然発症高血圧ラット（SHR-SP）を用いて、釣藤散の8週間経口投与の血液レオロジー因子、血管機能に及ぼす影響を検討した。その結果、釣藤散投与によって、血圧上昇抑制、赤血球変形能改善、血清過酸化脂質低下作用、さらには摘出血管を用いたオーガンバス法による検討によって、アセチルコリン添加による内皮依存性血管弛緩反応を保護する作用がみられた。以上より、釣藤散は脳血管障害に対して有用な薬剤であることが示唆された。

### A. 研究目的

釣藤散は、古来、中国や日本において頭痛やめまいに対して用いられてきた漢方方剤である。また、我々は、二重盲検試験によって脳血管性痴呆に対する釣藤散の有用性を報告した。このことより、釣藤散の薬理作用の一つとして脳血流改善作用が考えられる。釣藤散の主要構成生薬である釣藤鈎については、降圧作用や内皮依存性及び非依存性血管弛緩作用が報告されている。我々は、以前、無症候性脳梗塞症例を対象とした研究で、釣藤散の眼球結膜微小循環及び血液レオロジー因子改善作用を報告した。そして、その機序として血管拡張作用や赤血球及び白血球変形能改善作用があることを報告した。今回は、脳卒中易発症自然発症高血圧ラット（SHR-SP）を用いて、釣藤散の血液レオロジー因子、血管内皮機能に及ぼす効果を検討した。

### B. 研究方法

16匹の6週齢、雄性SHR-SPを購入し、1週間動物室で保育した後、実験を開始した。今回用いた釣藤散エキスは、次に示す比率の11種類の生薬から作成した。釣藤鈎（3g）、石膏（5g）、陳皮（3g）、麦門冬（3g）、半夏（3g）、茯苓（3g）、人參（2g）、防風（2g）、甘草（1g）、生姜（1g）、菊花（2g）。このエキスをラットに飲料水に溶解し、自由飲水させた。

ラットをランダムに8匹ずつ、蒸留水を与えたコントロール群と0.3%釣藤散エキスを溶解した水（450 mg/kg/day）を与えた釣藤散群の2群に分

けた。今回の実験で投与した釣藤散は、臨床で使用する量の約5倍に相当する。血液は、投与前と投与8週後の屠殺時に採取した。体重と血圧（tail-cuff法）は2週毎に測定した。

NOは不安定な分子であり、直ちに安定なNO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>に酸化分解するため、今回はNO産生の指標としてNO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>をGriess法に基づいてENO-10（EICOM Co.）を用いて測定した。血清過酸化脂質の測定はYagi等の方法を用いた。

ヘマトクリット45%に補正した全血粘度は、血液粘度計（Bio-rheolizer、東京計器）を用いてlow shear stress（19.2 sec<sup>-1</sup>）とhigh shear stress（384.0 sec<sup>-1</sup>）の2つの条件下で測定した。同じく、high shear stress（384.0 sec<sup>-1</sup>）の条件下で血漿粘度を測定した。赤血球変形能は、血球濾過法によって測定した。

血管弛緩反応の測定にはマグヌス法を用いた。ラットの胸部大動脈を摘出し、3 mmのリング状にした大動脈をクレブス液で満たされたチャンパーに入れ、大動脈を掛けた針金に加わる張力を測定した。大動脈リングはnoradrenaline（NA；5×10<sup>-7</sup>M）で前収縮させ、内皮依存性血管弛緩反応にはacetylcholine（Ach）を、直接血管平滑筋に作用する内皮非依存性血管弛緩反応にはsodium nitroprusside（SNP）を添加して測定した。弛緩率はNAによる最大収縮に対する減少率で示した。

データは平均±SEで示した。統計学的処理には、Mann-Whitney testとrepeated ANOVAを用いた。p<0.05を有意差有りと判定した。

表1 SHR-SPの体重、血圧、血清NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、血清過酸化脂質

群	0週		8週	
	コントロール群	釣藤散群	コントロール群	釣藤散群
体重 (g)	144.5±3.9	146.0±4.1	259.5±8.9	265.5±6.8
収縮期血圧 (mm Hg)	152.8±6.2	154.6±4.8	243.1±4.7	214.9±4.7*
平均血圧 (mm Hg)	128.2±5.6	126.4±7.2	202.5±6.6	179.6±7.2*
血清NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (×10 <sup>-5</sup> M)	—	—	16.5±0.9	17.9±2.1
血清過酸化脂質 (×10 <sup>-6</sup> M)	—	—	2.36±0.07	2.23±0.05*

Mean±SE, n = 8, \*p < 0.05 vs control group.

### C. 研究結果

8週間の釣藤散投与期間中、コントロール群と釣藤散群の間に体重に変化の差はみられなかった。しかし、8週後の収縮期血圧と平均血圧に関しては、釣藤散群はコントロール群に比べて有意に低かった (p < 0.05)。また、8週後の血清NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>は釣藤散群の方が高い傾向がみられ、血清過酸化脂質に関しては釣藤散群の方がコントロール群に比べて有意に低かった (p < 0.05) (表1)。

コントロール群と釣藤散群の間に、全血粘度 (low shear stress, high shear stress) 及び血漿粘度ともに差はなかったが、赤血球変形能は釣藤散群がコントロール群に比べて有意に改善した (p < 0.01) (表2)。

Achによる内皮依存性血管弛緩反応は、釣藤散群がコントロール群に比べて有意に大きかった (p < 0.05) (図1 A)。SNPによる内皮非依存性血管弛緩反応は、両群間に差はなかった (図1 B)。

8週までに、コントロール群のうち2匹が麻痺

を生じ、それらの脳には脳出血の所見が見られた。釣藤散群は1匹も麻痺や脳出血の所見は見られなかった。

### D. 考察

SHR-SPは、高血圧と脳卒中のモデル動物として知られている。脳卒中を生ずる原因の一つとしては、高血圧と脳循環障害による血管壊死による血管内皮細胞の機能障害が考えられている。このことから、我々はこのモデルを用いて釣藤散の血管保護作用を検討した。

今回の成績では、釣藤散群はコントロール群に比べて、血圧の上昇を有意に抑制した。釣藤散の主要構成生薬である釣藤鈎のアルカロイド成分にはカルシウム拮抗作用が知られており、この作用が降圧効果に関与していた可能性が考えられた。高血圧と血液レオロジーの障害の関連が知られているため、今回の研究では、我々は血液レオロジー因子も測定した。釣藤散の投与によって、赤血球変形能は有意に改善した。

NOラジカルは血管内皮から放出され血管拡張

表2 SHR-SPの血液レオロジー因子

群		コントロール群	釣藤散群	
全血粘度	low shear stress (19.2 sec <sup>-1</sup> )	(cp)	9.11±0.80	8.83±0.50
	high shear stress (384.0 sec <sup>-1</sup> )	(cp)	4.32±0.25	4.13±0.14
血漿粘度	(cp)	1.04±0.23	1.37±0.03	
赤血球変形	(msec)	6.16±0.29	5.28±0.14**	

Mean±SE, n = 8, \*\*p < 0.01 vs control group.

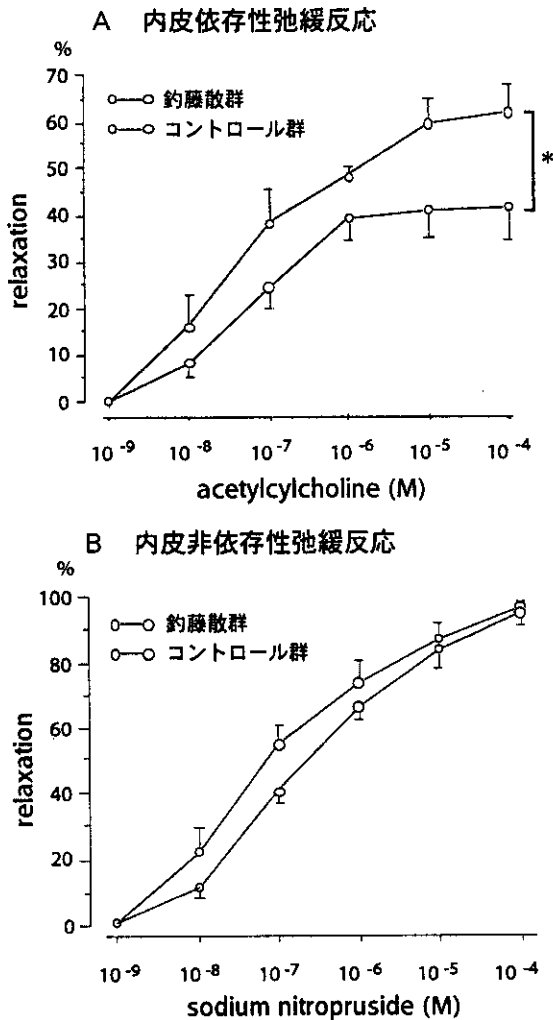


図1 Achによる内皮依存性血管弛緩反応 (A) とSNPによる内皮非依存性血管弛緩反応 (B) mean ± SE, n=8, \*p<0.05, compared with control.

に關与することが知られているため、我々は、釣藤散の血管内皮機能とNO産生に及ぼす影響も検討した。我々は、以前、釣藤散が内皮依存性血管弛緩作用を有し、またフリーラジカルによる血管収縮に対し抑制作用を有することを報告した。血管内皮由来のNOは、血管拡張のみならず、血小板や白血球の内皮への接着を阻害し血管平滑筋の増殖を抑制することが知られている。そこで、我々はNOの代謝物である血清中のNO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>を測定した。また、フリーラジカルの指標として血清過酸化脂質を測定した。その結果、釣藤散投与によって、血清NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>は増加傾向を認め、血清過酸化脂質は有意に低下した。

加えて、我々は、SHR-SPの摘出胸部大動脈の内皮依存性血管弛緩反応に対する釣藤散経口投与の効果を検討したが、釣藤散群はコントロール群

に比べて弛緩反応が大きかった。もちろん、胸部大動脈は脳血管とは異なるが、釣藤散の血圧降下作用、血液レオロジー因子改善作用、NO産生に及ぼす影響等を考慮すると、脳血管に対しても保護作用があるものと考えられる。実際、今回の実験でも、コントロール群では8匹中2匹の脳出血の所見が見られたのに対し、釣藤散群では1匹もそのような所見は見られなかった。今後、釣藤散のさらに長期の投与の脳卒中発症に及ぼす効果に関する検討が必要と考えるが、今回の成績は、SHR-SPに対して釣藤散の長期投与が脳卒中発症に対して予防効果がある可能性を示している。

ヒトにおいても、高血圧と加齢が多発性脳梗塞の危険因子であることが示されている。この点において、SHR-SPは脳血管障害の有用なモデルと考えられ、釣藤散が脳血管障害の予防に対して有用な薬剤である可能性が考えられる。

#### E. 結論

SHR-SPラットを用いたin vivoの実験において、釣藤散の経口投与は、血圧上昇抑制、赤血球変形能改善、血清過酸化脂質低下、血管内皮機能保護作用を示した。

#### 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
<u>Yutaka Shimada</u> , Koichi Yokoyama, <u>Hirozo Goto</u> , Iwao Sakakibara, Nobuyasu Sekiya, Naoki Mantani, Shinya Sakai and Katsutoshi Terasawa	Protective effect of the hooks and stems of Uncaria sinensis against nitric oxide donor-induced neuronal death in cultured cerebellar granule cells.	Journal of Traditional Medicines	19	15-20	2002



<u>Hirozo Goto, Yutaka Shimada, Tadamichi Mitsuma, Takahiro Shintani, Kazuhiko Nagasaka, Soichiro Goto, Naotoshi Shibahara and Katsutoshi Terasawa</u>	Effect of Keishi-bukuryo-gan on asymptomatic cerebral infarction for short term.	Journal of Traditional Medicines	19	46-50	2002
Yuji Kasahara, <u>Hirozo Goto, Yutaka Shimada, Nobuyasu Sekiya, Qiao Yang and Katsutoshi Terasawa</u>	Inhibitory effects of Cinnamomi cortex and cinnamaldehyde on oxygen-derived free radical-induced vasocontraction in isolated aorta of spontaneously hypertensive rats.	Journal of Traditional Medicines	19	51-57	2002
Qiao Yang, <u>Hirozo Goto, Yutaka Shimada, Toshiaki Kita, Naotoshi Shibahara and Katsutoshi Terasawa</u>	Effects of Choto-san on hemorheological factors and vascular function in stroke-prone spontaneously hypertensive rats.	Phytomedicine	9	93-98	2002
Nobuyasu Sekiya, <u>Hirozo Goto, Yutaka Shimada and Katsutoshi Terasawa</u>	Inhibitory effects of Keishi-bukuryo-gan on free radical induced lysis of rat red blood cells.	Phytotherapy Research	16	373-376	2002
Nobuyasu Sekiya, <u>Hirozo Goto, Kenji Tazawa, Shoko Oida, Yutaka Shimada and Katsutoshi Terasawa</u>	Keishi-bukuryo-gan prevents the endothelium dependent relaxation of thoracic aorta in cholesterol-fed rabbit by limiting superoxide generation.	Phytotherapy Research	16	524-528	2002

20020287

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、  
P.34-P.35の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。