

に比べ頭重感と肩凝りは改善傾向を認め ($p < 0.1$)、動悸は有意に改善した ($p < 0.05$) が、各群間では差を認めなかった。

3) 脳卒中発症頻度の3群間の比較

脳卒中の発症に関しては観察期間終了後 KB-A 群 1 例、KB-B 群発症無し、C 群 3 例で脳卒中の発症を経過中に認め、KB-B 群において脳卒中発症率の減少傾向 ($p = 0.088$) を認めた (図 3)。

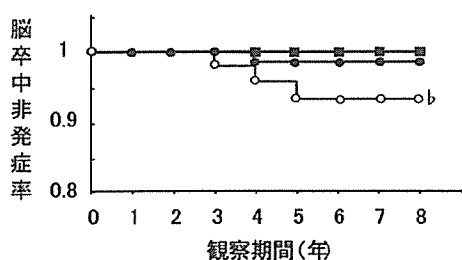


図3 無症候性脳梗塞患者の脳卒中発症頻度の3群間の比較

桂枝茯苓丸群 (KB-A群 ●)、他の漢方薬群 (KB-B群 ■)、対照群 (C群 ○)
(Kaplan-Meier法 $p < 0.1$ 対 KB-B群対C群)

D. 考察

無症候性脳梗塞は、MRI などの画像診断の進展により、罹患者の増加が報告されており 70 才以上の罹患者は 35%に達するとの報告もあり、脳血管性痴呆や脳卒中の大発作の危険因子として近年着目されている。その臨床病態として、記憶などの認知機能障害、抑うつ傾向などの情緒障害、頭重感、めまいなどの非特異的症状などが報告され、高齢者の QOL の悪化要因としても重要である。しかし、抗凝固療法や抗血小板療法は、脳出血を誘発する可能性があり、血圧のコントロール以外に有効な予防手段がないのが現状である。

そこで、無症候性脳梗塞患者に対する桂枝茯苓丸を主体とした和漢薬の長期効果を検討した。検討方法として、和漢薬治療の中でも、微小循環改善作用を有する桂枝茯苓丸エキス製剤を長期使用した群と主に他の漢方方剤を用いた群、さらに対照群として無症候性脳梗塞を

有するが漢方薬を内服していない群の3群の比較を行い無症候性脳梗塞に対する和漢薬の長期効果を検討した。

その結果、認知機能に関して、20 点以下を痴呆の疑い有り判定する改訂長谷川式簡易知能評価スケールは、3 群間で開始時に差はなく、調査終了時も差を認めなかった。これまでも無症候性脳梗塞と認知機能の関連の有無について多くの報告がある。それらを総合すると、関連の有無に関する報告の不一致の原因として、対象者の年齢、無症候性脳梗塞病変の程度、認知機能検査の種類などがあげられている。より高齢者で関連が生じやすいとの報告や脳室周囲の高信号域の程度が重要とする報告がある。また、今回の対象では改訂長谷川式簡易知能評価スケールはいずれの群も 27-28 点と認知症とは診断されない対象であった。また、対照群も平均 5 年間の観察で HDSR 上 1 点程度の低下しか認められず、漢方薬の介入の効果を検討するにはより多角的で詳細な認知機能検査を要すると考えられた。

各種の情緒障害に関して、意欲の低下の指標として Apathy Scale、うつ状態の指標として SDS を検討した。16 点以上を無気力と判定する Apathy Scale に関しては、3 群間において開始時に差はなかった。しかし、調査終了時には対照群は悪化傾向を示したが、桂枝茯苓丸投与群と他の漢方薬投与群はいずれも変化を認めなかった。本スケールのような意欲の低下は、認知症やうつ症状のように現代医学的な治療対象とはみなされない。しかし、変性疾患や脳卒中後に低下が認められ、うつ状態とは独立した症候で前頭葉の機能・血流量の低下と関連することが報告されている。今後、高齢化社会において高齢者の意欲を改善することは社会全体の活性化にもつながり重要な要素である。また、中高年の生活習慣病に対して闘病意欲を改善することは、食事療法や運動療法などの一般療法を維持していく上で不可欠な要素である。桂枝茯苓丸のみならず漢方薬に、高齢者の意欲低下抑制作用が有る可能性が今回示唆された。

一方、40点以上をうつ状態と判定する SDS に関しては、これまでも無症候性脳梗塞患者で高い値を示すことが報告されている。実際今回の検討でも、3群間とも37-38点と開始時から正常高値を示したが終了時いずれの群も有意な変化を認めなかった。これまで我々の検討では、12週間や3年間の比較では、桂枝茯苓丸の内服により SDS の改善を認めていたが、今回の検討では差を認めなかった。そこで、SDS 40点以上のうつ状態と考えられる症例について検討したところ、桂枝茯苓丸投与群で開始時に比べ有意なうつ症状の改善を認め、対照群と比較しても改善を認めた。桂枝茯苓丸は東洋医学的には駆瘀血薬に分類され、瘀血は、精神症状を意味する概念も含有することから、うつ症状のような精神症状にも有効である可能性が示唆される。一方現代医学的には、無症候性脳梗塞における脳血流量の低下とうつ状態の発症に関する報告も多くみられることから、桂枝茯苓丸の血流改善作用との関連が示唆される。

自覚症状に関しては、無症候性脳梗塞患者に非特異的な自覚症状として頭重感、頭痛、めまいなどを有することが報告されている。今回の症例も約50%で同様の自覚症状を有していた。桂枝茯苓丸の内服の有無による比較では、開始時に比べると頭重感、肩凝り、動悸で開始時に比べ改善傾向あるいは改善を認めたが、群間では差は認められなかった。漢方薬は種々の不定愁訴などに対して頻用されており、自覚症状の改善には有用な薬剤であることを考慮すると今回の結果に関してはさらに検討を要すると思われた。

無症候性脳梗塞は、脳卒中の発症率が高いことが報告されている。今回も対照群で3例(年間発症率1.1%)の脳卒中発症を認めており。これまでの報告とほぼ同様の頻度であった。一方、漢方薬内服群では発症率は低く、対照群に比較し脳卒中発症率の減少傾向を認められた。これまでに、漢方薬に関してこのような長期にわたり脳卒中発症を検討した報告は認められない。しかし、海外では α トコフェロールや β

カロチンによる大規模臨床試験が実施され、脳卒中のタイプにより有効性の報告されているものもある。漢方薬は、これら種々の成分を含有することから、その有効性の評価は容易ではない。今後、さらに症例の蓄積と長期経過観察を行い脳卒中の発症や脳血管性痴呆への進展予防効果を検討していく必要があると考えられた。

E. 結論

無症候性脳梗塞の臨床病態として、漢方薬の内服は加齢に伴う意欲低下の抑制に有用であることが示唆された。また、桂枝茯苓丸はうつ状態を有する患者のうつ症状を有意に改善した。また、頭重感などの自覚症状にも有用であることが示唆された。脳卒中の発症予防に関しては今後さらなる検討を要するが、無症候性脳梗塞の種々の症状に対して有用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) Hussein G., Goto H., Oda S., Sankawa U., Matsumoto K and Watanabe H.: Antihypertensive Potential and Mechanism of Action of Astaxanthin: III. Antioxidant and Histopathological Effects in Spontaneously Hypertensive Rats. *Biol. Pharm. Bull.*, 29(4), 684-688, 2006.
- 2) Minamizawa K., Goto H., Shimada Y., Terasawa K. and Haji A.: Effects of Eppikahangeto, a Kampo Formula, and Ephedrae herba Against Citric Acid-Induced Laryngeal Cough in Guinea Pigs. *J Pharmacol Sci* 101, 118-125, 2006.
- 3) Nozaki K., Hikiami H., Goto H., Nakagawa T., Shibahara N., and Shimada Y.: Keishibukuryogan (Gui-Zhi-Fu-Ling-Wan), a

Kampo Formula, Decreases Disease Activity and Soluble Vascular Adhesion Molecule-1 in Patients with Rheumatoid Arthritis . eCAM 3: 359-364, 2006.

4) Kato A., Higuchi Y., Goto H., Kizu H., Okamoto T., Asano N., Hollinshead J., Nash R. J., and Adachi I.: Inhibitory Effects of *Zingiber officinale* Roscoe Derived Components on Aldose Reductase Activity in Vitro and in Vivo. J. Agric. Food Chem. 54, 6640-6644, 2006.

5) Minamizawa K., Goto H., Ohi Y., Shimada Y., Terasawa K, and Haji K.: Effect of *d*-Pseudoephedrine on Cough Reflex and Its Mode of Action in Guinea Pigs. J Pharmacol Sci 102, 136-142, 2006.

6) Takaya Y., Shintani T., Tahara E., Tsukioka Y., Moriyama K., Nakao K., Matsuda H., Niizawa A., Ninomiya H., Goto H., Shimada Y. and Terasawa K. : Association of remnant-like lipoprotein particles cholesterol with “oketsu” syndrome. Journal of Traditional Medicine 23: 147-150, 2006.

7) Yanaga A., Goto H., Nakagawa T. Hikiami H., Shibahara N. and Shimada Y.: Cinnamaldehyde Induces Endothelium-dependent and -independent Vasorelaxant Action on Isolated Rat Aorta. Biol. Pharm. Bull. 29, 2415-2418, 2006.

8) Hussein G., Nakagawa T., Goto H., Shimada Y., Matsumoto K., Sankawa U., Watanabe H.: Astaxanthin ameliorates features of metabolic syndrome in SHR/NDmcr-cp. 80, 522-529, 2007.

2. 学会発表

1) 後藤博三, 木我千鶴, 中川孝子, 小泉桂一, 櫻井宏明, 引網宏彰, 嶋田 豊, 済木育夫: 脳卒中易発症高血圧ラットの血漿プロテオミクス解析と黄連解毒湯の効果に関する検討. 第23

回和漢医薬学会大会, 2006, 8, 岐阜.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

出願番号/特願 2006-204296

Cinnamaldehyde とテオフィリンの配合剤

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

脳血管障害後遺症患者の機能低下と自立度低下に対する 当帰芍薬散の効果

分担研究者 嶋田 豊 富山大学大学院医学薬学研究部（医学）
和漢診療学講座 教授

研究要旨

長期療養型病床群に入院中の脳卒中後遺症患者で中等度の要介護度を有する患者を対象に、機能低下と自立度低下に対する当帰芍薬散の効果を一年間の経過で検討した。対象は、2005年10月から2006年1月に当科関連施設に入院中の要介護度3程度の脳血管障害後遺症患者31例で、無作為に当帰芍薬散投与群（当帰芍薬散エキス製剤7.5g/日、1日3回食間投与）16例（男性4名、女性12名、平均年齢81.0±2.35才）と漢方薬を投与しない対照群15例（男性5名、女性10名、平均年齢81.9±1.84才）の2群に分けた。両群に対して投与前ならびに3ヶ月毎に脳卒中機能評価（SIAS）と機能的自立度評価（FIM）を実施し、体重の経過と種々の漢方医学的所見を検討した。結果は、当帰芍薬散投与群15例、対照群15例が解析対象となった。12ヶ月後には、SIASは当帰芍薬散投与群で43.6±5.3から43.4±5.3と変化を認めず、対照群では43.6±4.1から36.9±4.3と有意に悪化し（ $p<0.05$ ）両群間で有意差を認めた（ $p<0.01$ ）。FIMも当帰芍薬散投与群で66.1±7.6から66.2±8.1と変化を認めず、対照群では60.8±5.5から49.2±5.4と有意に悪化し（ $p<0.05$ ）両群間で有意差を認めた（ $p<0.01$ ）。漢方医学的所見の経過では、当帰芍薬散投与群で瘀血と腎虚の改善を認めた。以上の結果から中等度の要介護度と認定された脳血管障害後遺症患者において、駆瘀血薬で補血作用を有する当帰芍薬散は後遺症による機能低下と自立度低下に有効であると考えられた。

A. 研究目的

近年、脳血管障害による死亡率は減少傾向にあるが、平均寿命の伸びなどにより脳血管障害の有病率は増加している。さらに脳血管障害後遺症は、脳卒中の再発や機能低下の進行により寝たきりや痴呆へ進展することから高齢化社会を迎えた本邦において大きな医療問題となっている。一方、当帰芍薬散は、古来から婦人科疾患に頻用されてきた漢方薬であるが、近年はアルツハイマー型痴呆や脳血管性痴呆に対する効果が報告されており臨床の場でもしば

しば使用されている。また、昨年我々の検討においても無症候性脳梗塞患者の微小循環改善作用を有することを明らかにした。しかし、臨床的に当帰芍薬散の脳血管障害後遺症患者に対する長期効果を検討した報告はない。そこで、今回、長期療養型病床群に入院中の中等度の要介護度を有する患者を対象に、機能低下と自立度低下に対する当帰芍薬散の効果を一年間の経過で検討したので報告する。

B. 研究方法

2005年10月から2006年1月に当科関連施設

に入院中の要介護度3程度の脳血管障害後遺症患者31例を対象とした。対象を無作為に当帰芍薬散投与群（TJ-23を7.5g/日、1日3回食間投与）16例と漢方薬を投与しない対照群15例の2群に分けた。両群に関して投与前ならびに3ヶ月毎に脳卒中機能評価（SIAS：Stroke Impairment Assessment Set）と機能的自立度評価（FIM：Functional Independence Measure）を実施し、体重を測定した。また、瘀血・気虚・気鬱・腎虚の漢方医学的所見を各々1.なし、2.ややあり、3.あり、4.やや著明、5.著明の五段階で評価し経過を検討した（資料：S/F調査表参照）。

統計解析は、測定値を平均値±標準誤差により表した。解析にはANOVA分散分析を用い、危険率5%未満をもって有意差ありと判定した。（倫理面への配慮）

本研究で用いる当帰芍薬散はすでに医薬品として使用され、重篤な副作用の報告はない。

また、経験的に脳血管障害に頻用されており、研究対象者に利益はあっても不利益が生ずる可能性は少ない。仮に投与中に副作用が生じた際には、直ちに投与を中止し適切な処理を行う。この点に関して対象患者にはインフォームドコンセントを行い承諾を得た。なお、この臨床研究は富山大学倫理委員会から承認済みである。

C. 研究結果

対象患者は当帰芍薬散投与群16例（男性4名、女性12名、平均年齢81.0±2.35才）、対照群15例（男性5名、女性10名、平均年齢81.9±1.84才）であった。当帰芍薬散投与群のうち1例が、内服開始6週間後に当帰芍薬散あるいは同時に内服していた塩酸アマンタジン、カプトプリルのいずれかで手足にしびれ感を自覚するという事象で、いずれの薬物も内服を中止した。このため解析対象は当帰芍薬散投与

表1 脳血管障害後遺症患者の患者背景

群		対照群	当帰芍薬散群
性別	男性	5	4
	女性	10	12
年齢（年：平均値±標準誤差）		81.9±1.84	81.0±2.35
罹患期間（月：平均値±標準誤差）		58.6±16.1	77.3±21.7
原疾患	脳梗塞	12	11
	脳出血	3	4
	くも膜下出血	0	1
合併症	高血圧症	9	11
	糖尿病	5	4
	虚血性心疾患	3	1

表2 体重と東洋医学的所見の経過

		開始時	3ヶ月後	6ヶ月後	9ヶ月後	12ヶ月後	群間比較
体重 (kg)	対照群	44.6±2.0	44.3±2.0	43.9±2.0	42.6±2.0 ^a	41.9±1.9 ^a	P=0.6446
	当帰芍薬散群	41.6±1.8	41.7±2.0	41.8±1.9	40.5±1.9	40.1±1.9 ^b	
お血	対照群	3.5±0.22	3.3±0.19	3.4±0.16	3.4±0.19	3.4±0.19	P<0.05
	当帰芍薬散群	3.2±0.18	3.1±0.15	2.8±0.15 ^a	2.7±0.15 ^a	2.7±0.15 ^a	
気虚	対照群	2.8±0.26	2.8±0.28	3.1±0.23	3.0±0.24	3.5±0.31 ^a	P=0.0883
	当帰芍薬散群	2.7±0.27	2.8±0.24	2.6±0.24	2.7±0.23	2.8±0.28	
気鬱	対照群	2.7±0.28	2.7±0.28	2.9±0.27	2.9±0.27	3.2±0.30	P=0.3959
	当帰芍薬散群	2.3±0.32	2.4±0.31	2.3±0.29	2.3±0.27	2.4±0.32	
腎虚	対照群	2.5±0.29	2.5±0.29	2.7±0.25	2.7±0.29	2.9±0.25 ^a	P<0.01
	当帰芍薬散群	2.7±0.23	2.6±0.21	2.4±0.24 ^a	2.4±0.25 ^a	2.3±0.25 ^a	

mean ± S.E ^a p<0.01 and ^bp<0.05 vs. corresponding beginning point.

群 15 例、対照群 15 例となった。

投与開始時、両群間において性差、年齢、罹患期間、原疾患、合併症に差を認めなかった(表 1)。また、SIAS、FIM、体重と各漢方医学的所見において両群間で差を認めなかった(図 1、表 2)。開始時から 12ヶ月後には、SIAS は当帰芍薬散投与群で 43.6±5.3 から 43.4±5.3 と変化を認めず、対照群では 43.6±4.1 から

36.9±4.3 と有意に悪化し (p<0.05) 両群間で有意差を認めた (p<0.01)。FIM も当帰芍薬散投与群で 66.1±7.6 から 66.2±8.1 と変化を認めず、対照群では 60.8±5.5 から 49.2±5.4 と有意に悪化し (p<0.05) 両群間で有意差を認めた (p<0.01) (図 1)。体重は両群で有意に低下したが両群間で差を認めなかった。漢方医学的所見の経過では、瘀血は当帰芍薬散投与群で有意

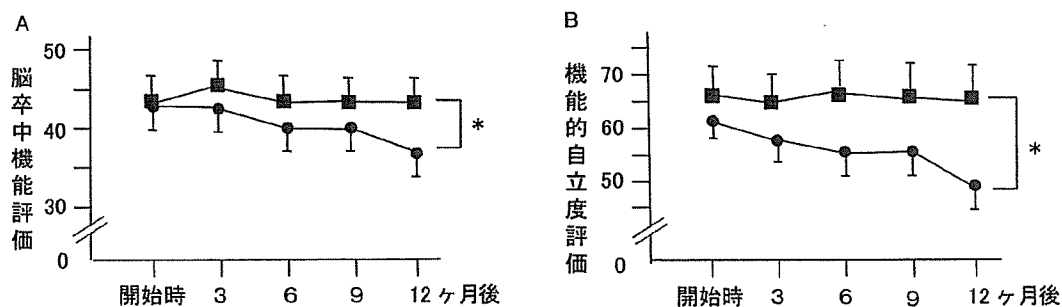


図1 脳卒中患者の機能低下と自立度低下に対する当帰芍薬散の効果

A)脳卒中機能評価(SIAS) B)機能的自立度評価(FIM)
当帰芍薬散群(■)と対照群(●)の比較(*p<0.01)

に改善し、対照群では変化を認めず両群間で有意差を認めた ($p < 0.05$)。気虚、気鬱は両群間で有意な差を認めず、腎虚は当帰芍薬散群で改善を認め、対照群で悪化し両群間で有意差を認めた ($p < 0.01$)。経過中対照群で9ヶ月から12ヶ月の間で2名の明らかな脳卒中の再発を認めた。

D. 考察

近年、脳血管障害は死亡率において悪性腫瘍、心疾患について3位であるが、寝たきりの原因疾患としては約40%と1位を占めており、高齢化社会を迎えた本邦において対策に急務を要する疾患である。しかし、一度脳卒中を発症し、片麻痺などの後遺症を生じた場合、西洋医学的には抗血小板薬や抗凝固療法により再発を予防する以外に治療法はなく、適切なりハビリテーションを実施しても高齢者では徐々にADLが悪化し、しばしば脳卒中を再発し著しく機能低下が進行していくのが現状である。

一方、東洋医学には瘀血や血虚という病理概念がある。瘀血は、生理不順などの婦人科疾患のみでなく血流障害など現代医学的には動脈硬化症に起因する循環器障害も含有する概念である。また、血虚は貧血のみでなく身体の構造物の障害を意味し、筋力低下や感覚異常なども含有する概念である。今回対象とした脳血管障害後遺症患者は、東洋医学的には、瘀血と血虚の双方の治療を要すると考えられる。そこで、我々は、瘀血と血虚の治療薬で、これまでも脳卒中患者に用いられている当帰芍薬散を用いて無作為化比較対照試験を実施した。

当帰芍薬散は、当帰、芍薬、川芎、白朮、茯苓、沢瀉の6つの生薬から構成された漢方薬である。近年はアルツハイマー型痴呆や脳血管性痴呆に対する効果が報告されており、臨床の場でもしばしば使用されている。その作用機序として、Ach レセプターの合成促進作用やカテコラミンの増加作用などの神経分泌作用が報告されている。また、昨年度の我々の報告においても無症候性脳梗塞患者の眼球結膜微小循

環と血液レオロジー因子の改善作用を有することを明らかにした。しかし、脳血管障害患者に対する臨床研究の報告は、散見する程度である。また、脳血管障害の機能低下と自立度低下という調査項目を1年にわたり検討したが、漢方薬でこのような長期にわたる比較臨床試験の報告はなかった。その結果、両群のいずれの患者も明らかな脳卒中の再発を認めていない9ヶ月経過の段階においてもSIASとFIMは当帰芍薬散投与群でほぼ変化なく経過し、対照群では機能低下と自立度低下傾向が認められた。さらに、9-12ヶ月経過した段階で対照群において明らかな脳卒中発作を2例認め、12ヶ月経過後には当帰芍薬散投与群で有意に機能低下と自立度低下の抑制が認められた。

今回の検討では、対象患者を無作為化し2群に分け、SIASとFIMという比較的簡易に機能と自立度を評価できる方法を用い、理学療法士や看護師により、客観的に患者の機能低下と自立度を評価するように試みた。しかし、対照薬を用いていないことから十分な盲検化はなされていない。今後、プラセボや対照薬を用い、より多数例を対象とした比較臨床試験を実施していくことが望まれた。

E. 結論

脳血管障害後遺症患者で中等度の介護度を有する患者を無作為に当帰芍薬散エキス製剤投与群と非投与群の2群に分け12ヶ月間経過観察したところ、当帰芍薬散投与群において機能低下と自立度低下の抑制を認めた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Yanaga A., Goto H., Nakagawa T., Hikiami H., Shibahara N., Shimada Y.: Cinnamaldehyde induces endothelium-dependent and-independent vasorelaxant action on

- isolated rat aorta. *Biol. Pharm. Bull.*, 29: 2415-2418, 2006.
- 2) Takaya Y., Shintani T., Tahara E., Tsukioka Y., Moriyama K., Nakao K., Matsuda H., Niizawa A., Ninomiya H., Goto H., Shimada Y., Terasawa K.: Association of remnant-like lipoprotein particles cholesterol with "oketsu" syndrome. *J. Trad. Med.*, 23: 147-150, 2006.
- 3) Minamizawa K., Goto H., Shimada Y., Terasawa K., Haji A: Effects of eppikahangeto, a Kampo formula, and ephedrae herba against citric acid-induced laryngeal cough in guinea pigs. *J. Pharmacol. Sci.*, 101: 118-125, 2006.
- 4) Minamizawa K., Goto H., Ohi Y., Shimada Y., Terasawa K., Haji A: Effect of d-pseudoephedrine on cough reflex and its mode of action in guinea pigs. *J. Pharmacol. Sci.*, 102: 136-142, 2006.
- 5) Nozaki K., Hikiami H., Goto H., Nakagawa T., Shibahara N., Shimada Y.: Keishibukuryogan (Gui-Zhi-Fu-Ling-Wan), a Kampo formula, decreases disease activity and soluble vascular adhesion molecule-1 in patients with rheumatoid arthritis. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 3: 359-364, 2006.
- 6) Imanishi N., Andoh T., Mantani N., Sakai S., Terasawa K., Shimada Y., Sato M., Katada Y., Ueda K., Ochiai H.: Macrophage-mediated inhibitory effect of zingiber officinale rosc, a traditional oriental herbal medicine, on the growth of influenza a/aichi/2/68 virus. *Am. J. Chin. Med.*, 34: 157-169, 2006.
- 7) Hayasaka S., Zhang X. Y., Cui H. S., Yanagisawa S., Chi Z. L., Hayasaka Y., Shimada Y.: Vitreous chemokines and sho (Zheng in Chinese) of Chinese-Korean-Japanese medicine in patients with diabetic vitreoretinopathy. *Am. J. Chin. Med.*, 34: 537-543, 2006.
- 8) Mori A., Sakurai H., Choo M. K., Obi R., Koizumi K., Yoshida C., Shimada Y., Saiki I.: Severe pulmonary metastasis in obese and diabetic mice. *Int. J. Cancer*, 119: 2760-2767, 2006.
- 9) Kainuma M., Fujimoto M., Sekiya N., Tsuneyama K., Cheng C., Takano Y., Terasawa K., Shimada Y.: Cholesterol-fed rabbit as a unique model of nonalcoholic, nonobese, non-insulin-resistant fatty liver disease with characteristic fibrosis. *J. Gastroenterol.*, 41: 971-980, 2006.
2. 学会発表
- 1) Shimada Y.: Clinical and pharmacological effects of chotosan (diaoteng-san) on cerebrovascular disorder. China-Japan Jointed Symposium on Natural Medicine. Recent Trends of Natural Medicine Researches, 2006, 4, Nanjing.
- 2) 嶋田 豊: パナルワンの生活習慣病予防作用. フォーラム富山「創薬」第18回研究会, 2006, 2, 富山.
- 3) 嶋田 豊: ランチョンレクチャー. 漢方医学の歴史と現在. そしてエビデンスへの取組み. 第28回日本アーユルヴェーダ学会富山研究総会, 2006, 9, 富山.
- 4) 嶋田 豊: 脳血管障害に対する釣藤散の有効性. 静岡県立大学 21世紀 COE プログラム・富山大学 21世紀 COE プログラムジョイントシンポジウム, 2006, 12, 東京.
- 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

資料 S/F調査表(1)



患者背景

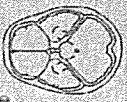

性別	1.男 2.女	生年月日	19 年 月 日	年齢	才	身長	cm	体重	kg
入院	年月日	年月日	脳卒中の発症から約 年 ヶ月経過						
投薬開始	年月日	年月日	投薬終了年月日 年 月 日						
疾患名	1.脳梗塞 2.脳出血 3.くも膜下出血 4.その他 ()								
投薬	1.なし (対照群) 2.当帰芍薬散 3.加味帰脾湯 4.八味地黄丸								
合併症	0.なし 1.あり 1.2.高血圧 3.糖尿病 4.高脂血症 5.虚血性心疾患 6.その他 ()								

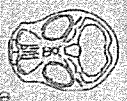

CT・MRI所見

検査日 年 月 日 CT・MRI コメント

(検査部位も記入する。文字で補足してもよい。)

S/F調査表

データ No.	
カルテ No.	
氏 名	
施設 名	
担当医師名	

図表調査票の記入
 1. 記入にあたっては黒のインクまたはボールペンを使用する。
 2. 担当医師欄を自署で署名する。
 3. 訂正の必要がある場合、訂正前の文字が判読できるように二重線または×印で訂正し、捺印する。なお、大層ないし重要な訂正があった場合には訂正理由を記入する。

資料 S/F調査表(2)

併用薬剤 (主要な薬剤について可能な記載)

併用薬剤名 (一日量)						
開始時	3ヶ月	6ヶ月	9ヶ月	12ヶ月		

疾病・気虚・気鬱・腎虚に関して (先生の印象を記入)
 (1:なし, 2:ややあり, 3:あり, 4:やや重篤, 5:重篤)

	開始時	3ヶ月	6ヶ月	9ヶ月	12ヶ月
	年月日	年月日	年月日	年月日	年月日
瘀血	点	点	点	点	点
気虚	点	点	点	点	点
気鬱	点	点	点	点	点
腎虚	点	点	点	点	点

体重・SIAS・FIMの経過 (記入日が上記と同様の場合記入不用)

	開始時	3ヶ月	6ヶ月	9ヶ月	12ヶ月
	年月日	年月日	年月日	年月日	年月日
体重	点	点	点	点	点
SIAS	点	点	点	点	点
FIM	点	点	点	点	点

介護度・日常生活の自立度について (開始時と前年・翌年の比較)

	前年	開始時	1年後
	年月日	年月日	年月日
介護度 (1~5)			
寝たきり度 (正常~C2)			
日常生活自立度 (正常~M)			

開始時 SIAS chart

氏名 _____ 年 月 日 / / 科 _____ 棟 _____
 (右:左/麻痺)

	U/E	L/E				
Knee-Mouth			0:全く動かす 1:関節可動域を50%以上 2:中等度 3:軽度 4:軽度 5:なし	Pain		0:痛感を感じない 1:痛感を感じない程度 2:痛感を感じない程度
Finger-Function			1A:5手指も握固 1B:5手指も握固 1C:5手指も握固 2:5手指も握固 3:5手指も握固 4:5手指も握固 5:なし	Abdom. MMT		45度屈曲 0:屈曲をしない 1:軽度 2:中程度 3:重度
Hip-Flexion			2:足関節が屈曲する	Vertically		0:直立不能 1:軽度 2:中程度 3:重度
Knee-Extension			2:足関節が伸張する	(Visuo-spat1)	cm	20cm 10cm
Foot-Pat				(Visuo-spat2)	cm	20cm 10cm 5cm 0cm
DTR			0:正常 1A:中等度 1B:軽度 2:正常 3:正常	Visuo-spat score		100 50 0
Tone			0:正常 1A:中等度 1B:軽度 2:正常 3:正常	Speech		1A:正常 1B:正常 2:正常 3:正常
Touch			0:正常 1:正常 2:正常 3:正常	Unaffected Quad.		0:正常 1:正常 2:正常 3:正常
Position			0:正常 1:正常 2:正常 3:正常	(Unaffected GP)		50 25 0
(ROM (sh/ank.))			0:正常 1:正常 2:正常 3:正常	Unaffected GP score		100 50 0
ROM (sh/ank. score)				(Affected GP)		100 50 0

資料 S/F調査表(3)

臨床検査 (副作用、著明改善データなどがあれば記載)

	開始時			中止時			検査終了の経過時間		
	年	月	日	年	月	日	年	月	日
血液検査	三血球数 (mm ³)	正	正	正	正	正	正	正	正
	赤血球数 (RBC) (mm ³)	正	正	正	正	正	正	正	正
	Hb (g/dl)	正	正	正	正	正	正	正	正
	Ht (%)	正	正	正	正	正	正	正	正
	血小体積 (RV) (%)	正	正	正	正	正	正	正	正
生化学検査	T-Bil (mg/dl)	正	正	正	正	正	正	正	正
	GOT (IU/L)	正	正	正	正	正	正	正	正
	GPT (IU/L)	正	正	正	正	正	正	正	正
	LDH (IU/L)	正	正	正	正	正	正	正	正
	Alp (IU/L)	正	正	正	正	正	正	正	正
	γ-GTP (IU/L)	正	正	正	正	正	正	正	正
	T-Chol (mg/dl)	正	正	正	正	正	正	正	正
	HDL-Chol (mg/dl)	正	正	正	正	正	正	正	正
	BUN (mg/dl)	正	正	正	正	正	正	正	正
	クレアチニン (mg/dl)	正	正	正	正	正	正	正	正
	尿酸 (mg/dl)	正	正	正	正	正	正	正	正
	空腹時血糖 (mg/dl)	正	正	正	正	正	正	正	正
電解質検査	Na (mEq/l)	正	正	正	正	正	正	正	正
	K (mEq/l)	正	正	正	正	正	正	正	正
	Cl (mEq/l)	正	正	正	正	正	正	正	正
	蛋白 (g/dl)	正	正	正	正	正	正	正	正
尿検査	糖	正	正	正	正	正	正	正	正
	ウロビリノゲン	正	正	正	正	正	正	正	正
尿沈渣	血圧 (mmHg)	正	正	正	正	正	正	正	正
	尿沈	正	正	正	正	正	正	正	正

1 尿中に蛋白あり 2 尿中に血球あり 3 尿中の白血球あり
 4 尿中細菌あり 5 尿中血球あり

6

FIM評価表

氏名 _____

日付・評価者	開始時 11	3月11	6月11
評価項目	点 コムト	点 コムト	点 コムト
食事	自立	自立	自立
排泄	自立	自立	自立
歩行	歩行	歩行	歩行
移動	歩行	歩行	歩行
コミュニケーション	自立	自立	自立
社会生活	自立	自立	自立
合計点			
5項目評価	歩行	歩行	歩行
4項目評価	歩行	歩行	歩行
3項目評価	歩行	歩行	歩行
2項目評価	歩行	歩行	歩行
1項目評価	歩行	歩行	歩行

1 歩行 2 歩行補助 3 歩行補助あり 4 歩行補助なし 5 歩行なし
 6 歩行補助なし 7 歩行補助あり 8 歩行補助あり
 9 歩行補助あり 10 歩行補助あり 11 歩行補助あり 12 歩行補助あり

5

資料 S/F調査表(4)

副作用の種類	発現日	発現時間	程度	処置	以後薬剤との投与関係
	月 日	時間 日時	1=軽度 2=中等度 3=重度	1=不必要 2=必要	1.2.3.4.5.
	月 日	時間 日時	1=軽度 2=中等度 3=重度	1=不必要 2=必要	1.2.3.4.5.
経過および処置	月 日	時間 日時	1=軽度 2=中等度 3=重度	1=不必要 2=必要	1.2.3.4.5.

※副作用の種類は、薬剤の投与開始後、投与中止後、投与再開後、投与中止後、投与再開後の経過を記載する。投与再開後の経過は、投与再開後、投与中止後、投与再開後の経過を記載する。

※副作用の種類は、薬剤の投与開始後、投与中止後、投与再開後、投与中止後、投与再開後の経過を記載する。投与再開後の経過は、投与再開後、投与中止後、投与再開後の経過を記載する。

中止・脱落 (/ /)

1. 服用中止 2. 未除せず (理由:)
 3. 悪化 4. 重篤な副作用の発生 5. その他 ()

安全性 (副作用および臨床検査成績より判定して下さい)

1. 安全である (全く副作用はなかった)。
 2. ほぼ安全である (軽微な副作用が出現したが、治療に影響はなかった)。
 3. 安全性に問題がある (副作用がみられたが、加療により改善可能)。
 4. 安全でない (副作用により投与を中止した、または中止すべきであった)。

有用度

1. 極めて有用 2. 有用 3. やや有用
 4. とくに有用とは置えない 5. 好ましくない

コメント (副作用出現期間、重症度など参考事項を記載すること)。

高齢者の認知機能障害の進展予防を目的とした漢方薬医療の確立

分担研究者 小林祥泰 島根大学医学部附属病院長

研究要旨

高齢者の認知機能障害の進展予防に対する漢方医療の効果を客観的に検討するために、当帰芍薬散をアルツハイマー型認知症の患者に3ヶ月投与し、その効果を事象関連電位および神経心理検査により検討した。薬剤投与により神経心理検査のうち選択的注意課題で改善傾向を見たが、事象関連電位では有意な変化が認められなかった。まだ少数例での検討であり、今後さらに併用薬も考慮した検討が必要であると考えられる。

A. 研究目的

アルツハイマー型認知症(AD)は脳血管性認知症と並んで、老年期認知症の主たる原因である。ADの治療に関して、現在我が国で認可されている治療薬はアセチルコリンエステラーゼ阻害薬であるドネペジル(アリセプト[®])のみである。ドネペジルは軽度・中等度ADの認知機能を有意に改善することが報告されているが、消化器症状が副作用として問題になることがある。一方、我が国では未だ承認されていないが海外で有効性が示されている薬剤に、ガラントミン、MAO-B阻害薬、グルタミン酸受容体作動薬、エストロゲン補充療法、メラトニン、銀杏の葉などがある。

当帰芍薬散は、芍薬(シャクヤク)、蒼朮(ソウジュツ)、沢瀉(タクシャ)、茯苓(ブクリョウ)、川きゅう(センキュウ)、当帰(トウキ)の6種類の生薬を熱水抽出し、乾燥、混合した漢方薬である。本剤はエストロジェンの分泌を促進することから、卵巣機能不全、不妊症、生理不順、更年期障害といった婦人科領域で広く使われている。このエストロジェンの分泌促進作用によりADに対して有効な薬剤である可能性が指摘されている。実際にADを含む老年期認知障害に対する本薬剤の治療効果が、多施設

共同研究で報告されている。しかし客観的な指標を用いてその治療効果を検討した報告は未だなされていない。本研究では、当帰芍薬散をAD患者に3ヶ月間投与し、脳波を用いた事象関連電位および詳細な神経心理学的検査によりその効果を検討した。

B. 研究方法

島根大学医学部附属病院神経内科の外来患者の中で、軽症AD患者7例を対象とした。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同伴の家族より得た。患者の年齢は52-83歳(平均74.9±10.5歳)である。アルツハイマー型認知症の診断は、National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) work groupの提案した基準に従い、probableとpossible Alzheimer's Diseaseを含めた。全例に頭部MRI撮影を行い、脳血管性認知症は否定した。またパーキンソン症候群を示す例も含まれていない。

薬剤投与は当帰芍薬散7.5g/日(食間)を12週間行った。なお全例においてドネペジル5mg/日の投与が行われており、それに上乗せを行う

形で投与を行い、試験期間中の薬剤量の変更は行っていない。その投与前後で以下の検査を行った。神経心理検査は長谷川式簡易知能評価スケール (HS)、Mini Mental State Examination (MMSE)、語想起検査 (音韻性およびカテゴリー性)、Frontal Assessment Battery (FAB)、仮名ひろいテスト、Stroop テスト、三宅式対語記憶力検査を行い、情動機能は Zung の抑うつ度尺度 (SDS) 及びアパシースケールで評価した。事象関連電位は、視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。すなわち標準刺激 (頻度 65%) として上向き三角形 (Δ) を、標的刺激 (頻度 20%) として下向き三角形 (∇) を、新奇刺激 (頻度 15%) として様々な写真画像をランダムな順序で被験者の正面に置いたモニター上に呈示した。刺激の提示時間は 300msec で、刺激間隔は 1.3~1.5 秒とした。被験者は標的刺激に対して右手でボタン押しを行い、標的および新奇刺激に対する誘発電位を測定した。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、0.1~50Hz のフィルターを使用して、250Hz/秒でサンプリングを行った。アーチファクトを含む施行を除外して、

刺激に同期した平均加算を行った。

統計解析では、標的に対する P3 と新奇刺激に対する P3 をそれぞれ個々に検討した。いずれも 300~700msec の潜時中の最大の陽性電位と定義し、その最大振幅と潜時を計測した。薬剤投与前後の P3 計測値および心理検査データの比較には分散分析を用いた。有意水準は危険率 5%未満とした。

(倫理面への配慮)

検査に際しては全員から文書による同意を得た。

C. 研究結果

まず神経心理学的検査結果について表 1 にまとめた。Stroop テストを除いていずれの検査に関しても、当帰芍薬散の投与前後で有意の差を認めなかった。Stroop テストに関しては、干渉効果の程度を示す時間差が 64 秒から 48 秒に低下傾向 ($P < 0.1$) を示し、選択的注意能力の向上あるいは前頭葉抑制機能の改善傾向が示された。

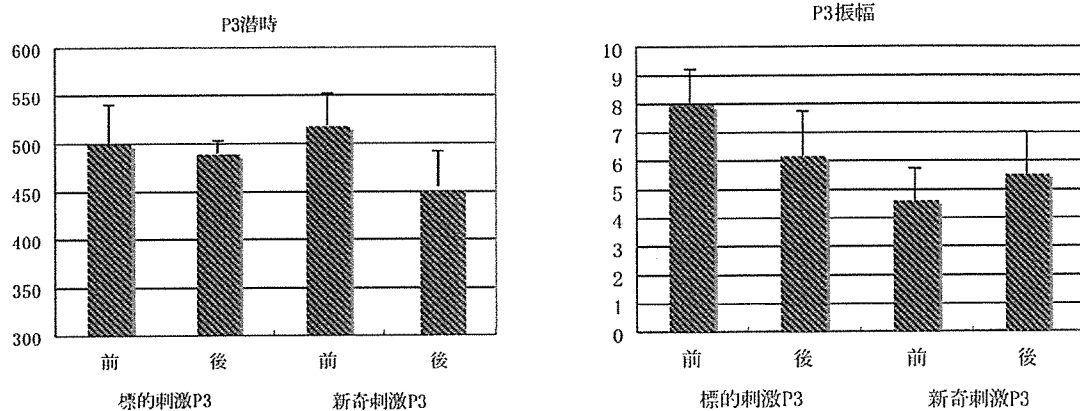
事象関連電位の当帰芍薬散投与前後での変化は図 1 に示した。標的 P3、新奇 P3

表 1 : 当帰芍薬散投与前後の認知機能変化

	前		後		P 値
	mean	SD	mean	SD	
HS	17.3	5.4	17.3	7.1	n. s.
MMSE	20.0	4.8	20.1	6.0	n. s.
語想起 (カテゴリー)	8.7	3.3	8.0	2.8	n. s.
語想起 (音韻)	3.6	3.4	3.4	1.9	n. s.
FAB	11.7	2.0	11.1	2.1	n. s.
仮名ひろいテスト	14.1	12.3	14.0	10.3	n. s.
Stroop テスト	64.1	40.1	48.3	17.0	0.08
三宅式記憶力検査	11.1	3.1	12.4	5.1	n. s.
SDS	31.3	9.6	32.0	6.4	n. s.
アパシースケール	14.3	7.3	13.4	5.7	n. s.

n. s.: not significant

図1：当帰芍薬散投与前後の事象関連電位 P300 の変化



の潜時はそれぞれ平均 499msec から 488msec、517msec から 453msec へそれぞれ短縮したが、有意差は認めなかった。また振幅に関しては、 $7.9\mu V$ から $6.1\mu V$ 、および $4.6\mu V$ から $5.5\mu V$ と変化した、やはり有意差は認めなかった。

なお本剤投与による副作用は認められなかった。

D. 考察

今回の検討では、ADに対する当帰芍薬散12週間投与による認知機能改善効果は有意なものではなかった。今回の検討で有意な変化が認められなかった理由としていくつかの点を考慮する必要がある。一つは漢方薬の投与に際して重要とされる証を考慮しなかった点が考えられる。実際の臨床においては証を統一することは必ずしも容易ではなく、今後漢方薬の臨床エビデンスを集積する上で留意すべき点である。また別の理由として、今回の症例はすべてドネペジルの投与を受けていた点も重要である。もし当帰芍薬散の中樞神経系への作用機序でドネペジルと共通の点があれば、併用した際にはその効果が十分に発揮されなかった可能性がある。事実、当帰芍薬散のラットへの投与実験により大脳皮質のニコチン性アセチルコリン

レセプター結合能の増加や脳内のコリンアセチルトランスフェラーゼ活性の増加が報告されている。今後は併用治療を行わない例での試験の集積が必要である。

一方で、今回の事象関連電位測定の前値での変化で示されるように、明らかに改善を示す症例の中には認められた。特に新奇刺激に対する反応は潜時や振幅においていずれも改善の方向に変化している。Stroop テストで改善傾向を示した点も、前頭葉機能や注意力に好影響を及ぼした可能性が考えられる。今回は7例と少数例での検討であり、今後さらなる症例の集積が必要と考えられる。

E. 結語

当帰芍薬散をAD患者7例に3ヶ月投与し、その認知機能障害への効果を検討した。その結果、選択的注意課題において改善傾向を示したが、電気生理学的には有意の変化は認められなかった。今後さらに多数例での検討が必要である。

研究協力者：島根大学医学部内科学講座第三教授 山口修平

F. 健康危険情報

なし

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 山口修平:神経年齢 (特集 アンチエイジングでは何を検査するのか?), アンチ・エイジング医学(日本抗加齢医学会雑誌), 2:32-37, 2006
- 2) 山口修平:認知機能と事象関連電位, 認知神経科学, 8:50-55, 2006
- 3) Shuhei Yamaguchi: Novelty-related brain response and its clinical applications, Functional Neuroscience: Evoked Potentials and Related Techniques (Supplements to Clinical Neurophysiology), 59:67-74, 2006
- 4) 種村 純, 伊藤元信, 大槻美佳, 河村 満, 熊倉勇美, 小島善次, 小林祥泰:高次脳機能障害全国実態調査報告, 高次脳機能究, 26:89-98, 2006
- 5) Hiroaki Oguro, Shuhei Yamaguchi, Satoshi Abe, Yuri Ishida, Hirokazu Bokura, Shotai Kobayashi:Differentiating Alzheimer's disease from subcortical vascular dementia with the FAB test, Journal of Neurology, 253:1490-1494, 2006
- 6) 山口修平, 松原美和:釣藤散 (XI. 治療動向 治療薬の概要 漢方薬), 日本臨牀 増刊号, 64:612-616, 2006
- 7) 小林祥泰:アパシー (意欲低下) と認知機能, 認知神経科学, 8:165-168, 2006
- 8) 卜蔵浩和:前頭葉機能と事象関連電位, 認知神経科学, 8:216-221, 2006
- 9) 卜蔵浩和, 山口修平:事象関連電位による前頭葉抑制機能研究, 臨床脳波, 49:90-96, 2007

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

脳卒中易発症高血圧ラットにおける脳卒中発症関連蛋白の 検索と黄連解毒湯の効果

分担研究者 済木 育夫 富山大学和漢医薬学総合研究所
病態生化学部門 教授

研究要旨

脳卒中易発症高血圧ラット (SHRSP) における脳卒中発症前後の血漿プロテオーム解析と漢方剤黄連解毒湯投与による血圧、蛋白成分に及ぼす影響を検討した。方法は、7 週齢雄の Wistar rat、SHR、SHRSP を用い血漿蛋白の経時的変化を比較し、同時に SHRSP に 0.1%ベラパミル、0.3 %黄連解毒湯エキスを経口投与し 16 週間飼育した。結果は、SHRSP 対照群と SHRSP+黄連解毒湯群で脳卒中発症後の体重減少時に消失するピーク A (pH5.0-5.5) を認めた。また、黄連解毒湯の投与により収縮期血圧は低下し (n=8、 $p<0.05$)、脳卒中発症ならびにピーク A の発現が遅延した。以上のことから、脳卒中発症前後で SHRSP 特有の血漿蛋白の変動が認められ、黄連解毒湯がそのピークに影響を及ぼす可能性が示唆された。今後ピーク A の解析により、SHRSP における脳卒中発症関連因子と黄連解毒湯の作用機序を明らかにできる可能性が示唆された。

A. 研究目的

脳卒中易発症自然発症高血圧ラット (SHRSP) は自然発症高血圧ラット (SHR) より確立されたモデル動物で SHR より著しい高血圧を認め、病理学的にヒトと極めて類似した脳卒中を発症する。脳卒中の発症要因として、高血圧を生じる遺伝子とは独立したいくつかの脳卒中素因遺伝子の存在する染色体領域が報告されている。しかし、いずれも遺伝子自体は同定されておらず、脳卒中の成因も明らかでない。

昨年度我々は本研究事業において、SHRSP における脳卒中発症前後の血漿プロテオーム解析と黄連解毒湯投与による血圧、死亡率、蛋白成分に及ぼす影響を検討した。その結果、脳卒中発症前後で SHRSP 特有の血漿蛋白の変動が認められ、黄連解毒湯がそのピークに影響を及ぼす可能性が示唆された。そこで、本年度は SHRSP 通常飼育群 (SHRSP 対照群)、SHRSP にカルシウ

ム拮抗薬であるベラパミルを投与した群 (SHRSP+ベラパミル群)、SHRSP に黄連解毒湯を投与した群 (SHRSP+黄連解毒湯群) の 3 群を用いて、脳卒中発症関連蛋白の検索と黄連解毒湯の効果を検討した。

B. 研究方法

7 週齢雄の Wistar rat、SHR 各々 4 匹と同週齢の SHRSP20 匹を用い 1 週間の試験飼育の後、下記の検討を行った。

1. Wistar rat、SHR、SHRSP における血漿蛋白の経時的変化の比較

脳卒中発症前後の SHRSP の血液検体とそれと同週齢の Wistar rat、SHR の 12-17 週の血液検体を用い、3 群の蛋白発現を比較検討した。測定には Cationic CM10 Chip Array (Ciphergen Biosystems Fremont, CA) を用い、Buffer は多くのタンパク質が CM10 に吸着しやすい pH4

に設定し SELDI-TOF/MS で測定した。解析は主に分子量 3000-30000 Da の蛋白質において実施した。

2. SHRSP の血圧と脳卒中発症に対するベラパミルならびに黄連解毒湯の効果と血漿蛋白発現に及ぼす影響

前述した SHRSP20 匹は、入荷時体重と血圧を測定し群間で差が生じないように、SHRSP 対照群、SHRSP+ベラパミル群、SHRSP+黄連解毒湯群の 3 群に分けて飼育した。1 週間の試験飼育の後、対照群 4 匹は蒸留水を自由飲水とし、SHRSP+ベラパミル群 8 匹には 0.1%ベラパミル混合餌を投与し、SHRSP+黄連解毒湯群 8 匹には 0.3 %黄連解毒湯エキス混合水を自由飲水で投与した。投与開始後 1 週間ごとに体重を測定し、8、12、14 週に血圧（非観血的尾動脈測定法）を測定した。また、各群の各々 4 匹から 1 週毎に尾静脈から採血しプロテミクス解析に使用した。

（倫理面への配慮）

本研究に関しては、national animal welfare committee のガイドラインを遵守して行った。

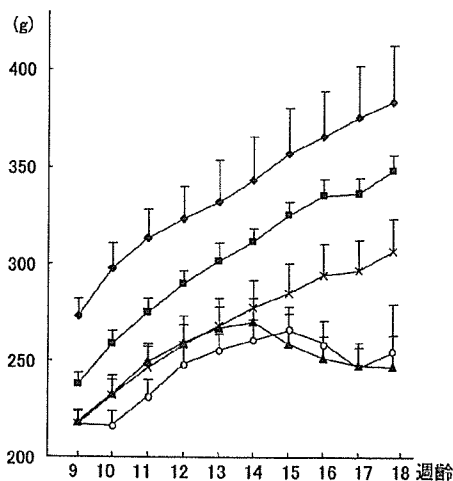


図1 Wistar rat、SHR、SHRSP各群の体重の経時的変化

Wistar rat (◆)、SHR(■)、SHRSP(▲)、SHRSP+ベラパミル(×)、SHRSP+黄連解毒湯(O)

C. 研究結果

1. Wistar rat、SHR、SHRSP 各群における体重の経時的変化（図 1）

Wistar rat 群、SHR 群、SHRSP+ベラパミル群は 18 週齢まで体重増加したが、SHRSP 対照群は 15 週齢以降から体重が減少した。一方 SHRSP+黄連解毒湯群は 16 週齢以降から体重減少が見られ、SHRSP 対照群に比べ体重減少が 1 週遅延した。

2. Wistar rat、SHR、SHRSP 各群における収縮期血圧の経時的変化（図 2）

SHR 群と SHRSP 群は、Wistar 群に比べ 8 週齢以降有意に血圧が上昇した。

SHRSP 対照群、SHRSP+ベラパミル群、SHRSP+黄連解毒湯群は、12 週齢では有意差がなかったが、14 週齢では SHRSP 対照群に対して SHRSP+ベラパミル群と SHRSP+黄連解毒湯群はともに有意に収縮期血圧の低下を認めた。また、SHRSP+ベラパミル群は SHRSP+黄連解毒湯群に対しても有意に収縮期血圧の低下を認めた。

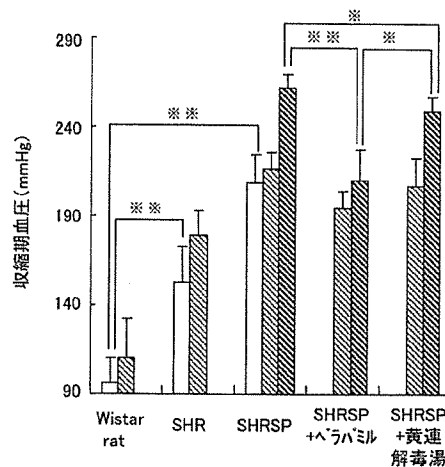


図2 Wistar rat、SHR、SHRSP各群の収縮期血圧の経時的変化

8週齢(□)、12週齢(▨)、14週齢(■)、**p<0.05、***p<0.01

3. Wistar rat, SHR, SHRSP 各群における血漿蛋白発現の経時的変化

SHRSP 対照群と SHRSP+黄連解毒湯群において、脳卒中発症後の体重減少で変化するピーク A を認めた。ピーク A のピーク強度の経時的変化を図 3 に示す。ピーク A は、SHRSP の脳卒中発症に伴う体重減少とともに、著しい低下を認めた。また、SHRSP+黄連解毒湯群では、ピーク A の減少が SHRSP 対照群に比べて遅延して生じた。

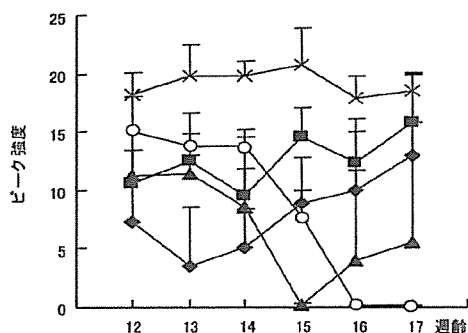


図3 Wistar rat, SHR, SHRSP各群のピークAのピーク強度の経時的変化

Wistar rat(◆), SHR(■), SHRSP(▲), SHRSP+ベラパミル(×), SHRSP+黄連解毒湯(○)

4. ピーク A の解析

ピーク A の pI 値を陽イオン交換性の Chip を用いて検討したところ、pH5-5.5 であることが明らかとなった。(図 4)。

D. 考察

SHRSP は SHR より確立されたモデル動物で SHR より著しい高血圧を認め、病理学的にヒトと極めて類似した脳卒中を発症する。脳卒中の発症要因として、高血圧を生じる遺伝子とは独立したいくつかの脳卒中素因遺伝子の存在する染色体領域が報告されている。昨年度我々は本研究事業において、SHRSP における脳卒中発症前後の血漿プロテオーム解析と漢方方剤黄連解毒湯投与による血圧、死亡率、蛋白成分に及ぼす影響を検討した。その結果、脳卒中発症前後で SHRSP 特有の血漿蛋白の変動が認められ、黄連解毒湯がそのピークに影響を及ぼす可能性が示唆された。そこで、本年度は SHRSP 通常

飼育群、SHRSP にベラパミルを投与した群、SHRSP に黄連解毒湯を投与した群の 3 群を用いて、脳卒中発症関連蛋白の検索と黄連解毒湯の効果を検討した。その結果、脳卒中発症後の体重減少に伴い消失するピーク A を SHRSP 対照群と SHRSP+黄連解毒湯群において認めた。本ピークは脳卒中を発症しなかった SHRSP+ベラパミル群では変化しなかったことから、脳卒中発症と関連があるピークであると考えられた。また、本ピークの pI 値は pH 5.0-5.5 の間にあり、分子量も含め既存の蛋白質であるか、新規物質であるか現在引き続き解析中である。

黄連解毒湯は、黄連、黄芩、黄柏、山梔子の 4 つの生薬から構成される漢方方剤で、古来から吐血、のぼせ、めまい、蕁麻疹など多彩な疾患に用いられてきた。近年では多施設症例集積研究で血圧降下作用が報告されており、二重盲検ランダム化比較試験では、高血圧症の随伴症状に対する有効性が明らかにされている。また脳血管障害後遺症患者に対する有効性も多数報告されている。基礎研究では SHR に対する血圧降下作用や SHRSP に対する脳卒中発症抑制効果が報告されている。昨年度ならびに本年度の我々の検討でも黄連解毒湯により SHRSP の血圧上昇は抑制された。その作用機序に関しては構成生薬の平滑筋弛緩作用、血小板凝集抑制作用による血流改善作用、脂質過酸化抑制作用が報告されているが、詳細が解明されているとはいえない。今回、脳卒中発症後に蛋白解析により減少消失したピーク A は、黄連解毒湯の投与により影響をうけていることから、黄連解毒湯の作用機序の解明の上でもその解析は有用であると考えられる。

E. 結論

SHRSP 群、SHRSP+ベラパミル群、SHRSP+黄連解毒湯群の血中蛋白解析により、脳卒中発症後の体重減少により消失するピーク A を明らかにした。また、黄連解毒湯投与により SHRSP の血圧の有意な低下と脳卒中発症の遅延作用が認められた。今後のピーク A の解析により、

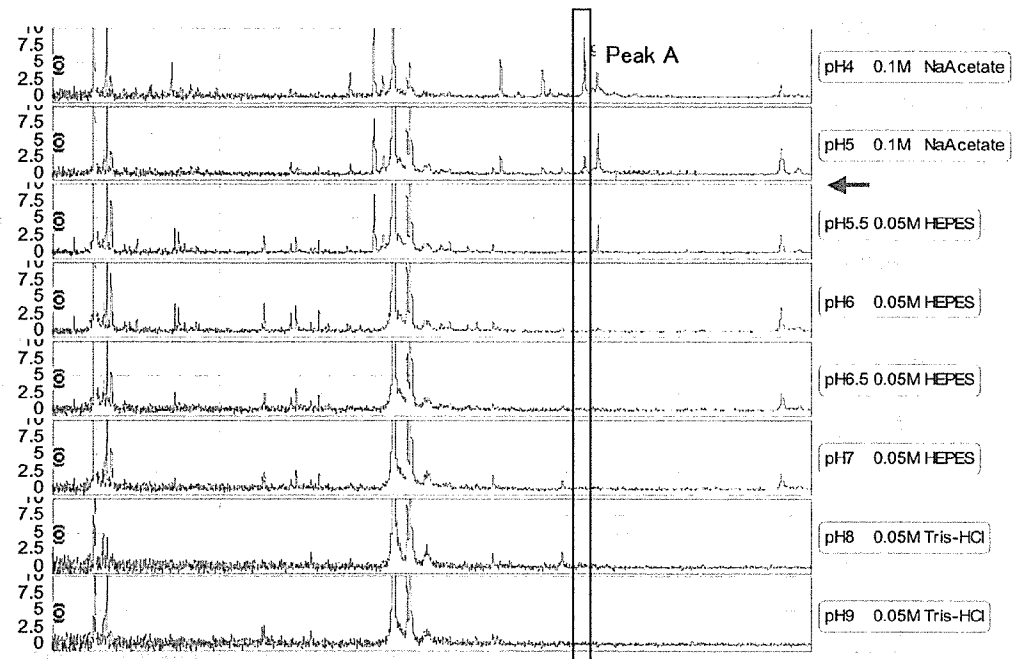


図 4 SHRSP群のPeak Aの解析 Peak AのpI値はpH5～pH5.5の間と考えられる。

SHRSP における脳卒中発症関連因子と黄連解毒湯の作用機序解明への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) Matsuo M., Sakurai H., Ueno Y., Ohtani O., and Saiki I.: Activation of ERK and PI3K/Akt pathways by fibronectin requires integrin α -mediated ADAM activity in hepatocellular carcinoma: a novel functional target for gefitinib. *Cancer Sci.*, 97: 155-162, 2006.
- 2) Lee S-J., Sakurai H., Koizumi K., Song G.Y., Bae Y.S., Kim H-M., Kang K-S., Surh Y-J., Saiki I., and Kim S.H.: MAPK regulation and caspase activation are required in DMNQ S-52 induced apoptosis in Lewis lung carcinoma cells. *Cancer Lett.*, 233: 57-67, 2006.
- 3) Yasumoto K., Koizumi K., Kawashima A.,

Saitoh Y., Arita Y., Shinohara K., Minami T., Nakayama T., Takahashi Y., Yoshie O., and Saiki I.: Role of CXCL12 in peritoneal carcinomatosis of gastric cancer. *Cancer Res.*, 66: 2181-2187, 2006.

4) Fukasawa K., Fujii H., Saitoh Y., Koizumi K., Aozuka Y., Sekine K., Yamada M., Saiki I., and Nishikawa K.: Aminopeptidase N (APN/CD13) is selectively expressed in vascular endothelial cells and plays multiple role in angiogenesis. *Cancer Lett.*, 243: 135-143, 2006.

5) Choo M-K., Sakurai H., Koizumi K., and Saiki I.: TAK1-mediated stress signaling pathways are essential for TNF- α -promoted pulmonary metastasis of murine colon cancer cells. *Int. J. Cancer*, 118: 2758-2764, 2006.

6) Saitoh Y., Koizumi K., Minami T., Sekine K., Sakurai H., and Saiki I.: A derivative of aminopeptidase inhibitor (BE15) has a dual inhibitory effect of invasion and motility on tumor and endothelial cells. *Biol. Pharm. Bull.*, 29: 709-712, 2006.