

アデニン誘発慢性腎不全ラットに対する 漢方方剤温脾湯の効果について

大浦 彦吉*, 鄭 平東, 横澤 隆子

富山医科薬科大学和漢薬研究所
臨床利用部門

Effect of Onpi-tô in Rats with Chronic Renal Failure

Hikokichi OURA*, Ping Dong ZHENG, Takako YOKOZAWA

Department of Applied Biochemistry, Research Institute for Wakan-Yaku,
Toyama Medical and Pharmaceutical University

(Received May 15, 1984)

Abstract

The effect of onpi-tô was examined in rats with chronic renal failure induced by the adenine diet. On treatment with the onpi-tô, the level of urea nitrogen and creatinine in the serum was dose-dependently decreased. The urea concentration in the liver and kidney was also decreased after the treatment. In addition, administration of the onpi-tô to rats exhibited a decrease in the serum phosphate level, indicating an improvement of hyperphosphatemia. Furthermore, onpi-tô showed a tendency to gradual decrease of the methylguanidine, guanidinosuccinic acid, guanidinobutyric acid, and taurocyamine in the serum with increasing dosage. Especially, methylguanidine of the onpi-tô treated group administered orally at a dose of 25-50 mg/rat/day was not detectable. Additionally, a significant decrease of kidney weight was observed in the onpi-tô treated group.

Keywords onpi-tô, renal failure, blood urea nitrogen, serum creatinine, liver urea, serum phosphate, guanidino compound

Abbreviation onpi-tô (Wen-Pi-Tang); 温脾湯

緒 言

先に著者らはアデニン誘発慢性腎不全ラットの作製法について報告してきたが¹⁻⁹⁾、さらにこれらのラットを用いて連日大黄エキスを腹腔投与し、血清尿素窒素及びクレアチニンの有意な低下作用並びに肝、腎中の尿素量の減少作用を認めた⁹⁾。他方、尿中への尿素及びクレアチニンが大黄投与により排泄が増加し、また尿中遊離アミノ酸パターンの改善、尿中Caの低下や尿中リン酸量の増加及び2,8-dihydroxy-adenine (DHOA)の排泄抑制、大白色腎化への抑制並びに腎重量の低下を認め¹⁰⁾アデニンによって誘

発された尿毒症状の改善作用を大黄が有する可能性が示唆された。

次いで治療薬としての可能性を追究する目的で、アデニン投与と同時に大黄エキスを連日経口投与した結果、(1)高窒素血症の改善、(2)肝・腎における尿素産生の抑制、(3)血中グアニジノ化合物、特にメチルグアニジン、グアニジノコハク酸の著明な低下あるいは消失、(4)Val, Leu, Ileu, Thr, Tyr, Orn等の血清アミノ酸の上昇、(5)低Ca, 高リン酸血症の改善、(6)大白色腎化への抑制等が用量依存的に認められ、腎不全状態の代謝改善並びに腎機能の改善を示唆することを報告した¹¹⁾。

今回、中国で腎不全患者に用いられ、有効とされ

*〒930-01 富山市杉谷2630
2630, Sugitani, Toyama, 930-01, Japan

ている大黄を主剤とする漢方方剤温脾湯¹²⁾について検討した結果、アデニン誘発腎不全ラットに対し大黄エキス同様、著明な効果が得られたので、以下報告する。

材料と方法

動物：Wistar系雄ラット（初体重約110g）を用い、前報¹⁰⁾同様0.75%アデニン含有飼料（アデニン投与量約350~400mg/kg体重/日）で24日間飼育した。

温脾湯エキスの調製法：大黄（中国産四川雅黄, *Rheum sp.*, *Rhei Rhizoma*）、薬用人参（韓国産錦山, *Panax ginseng* C.A. MEYER, *Ginseng Radix*）、甘草（中国産西北西正, *Glycyrrhiza glabra* L. var. *glandulifera* REG. et HERD., *Glycyrrhizae Radix*）、乾姜（中国産, *Zingiber officinale* ROSC., *Zingiberis Rhizoma*）、附子（日本産白河附子, *Aconitum japonicum* THUNB., *Aconiti Japonici*

Tuber) を中国伝統煎出法によって、次のごとく調製した。すなわち、“備急千金要方”¹³⁾に記載された用量*をTable Iのごとく一部変更し、まず附子9gを100℃30分間1ℓの水で加熱した後、浮遊物を除き、次に薬用人参3g、甘草5g、乾姜3gを加えてさらに100℃30分間加熱し、最後に大黄15gを加えて5分間加熱した後、濾過し、濾液を凍結乾燥し、褐色の粉末を約20%の収率で得た。

試料の投与方法：温脾湯エキスを水に溶解し、0.25mg/ml, 0.5mg/ml, 1.0mg/ml及び2.0mg/mlの濃度に調整してアデニン投与と同時に最初から自由に飲水させたが、下痢症状を呈する例は見られなかった。投与量は飲水量の平均値から算出した。コントロール群には水を与えた。

分析方法：前報¹¹⁾同様、血清中の尿素窒素、クレアチニン、Ca、無機リン酸及び肝、腎中の尿素量は比色法で定量した。血清遊離アミノ酸はアミノ酸自動分析計（日立835型）、グアニジノ化合物は高速液体クロマト装置（島津LC-5A型）を用い、ニンヒドリン発色法で測定した。DHOAはBendichらの方法¹⁴⁾に従い、腎組織中から2N-HClで抽出し、304nmで定量した。

Table I Composition of onpi-tô

大 黄	15 g
人 参	3 g
甘 草	5 g
乾 姜	3 g
附 子	9 g

結 果

血清尿素窒素及びクレアチニン値に対する温脾湯の効果

Fig. 1 に示すごとく、コントロール群ではアデニンの投与日数により次第に血清尿素窒素が増加するの

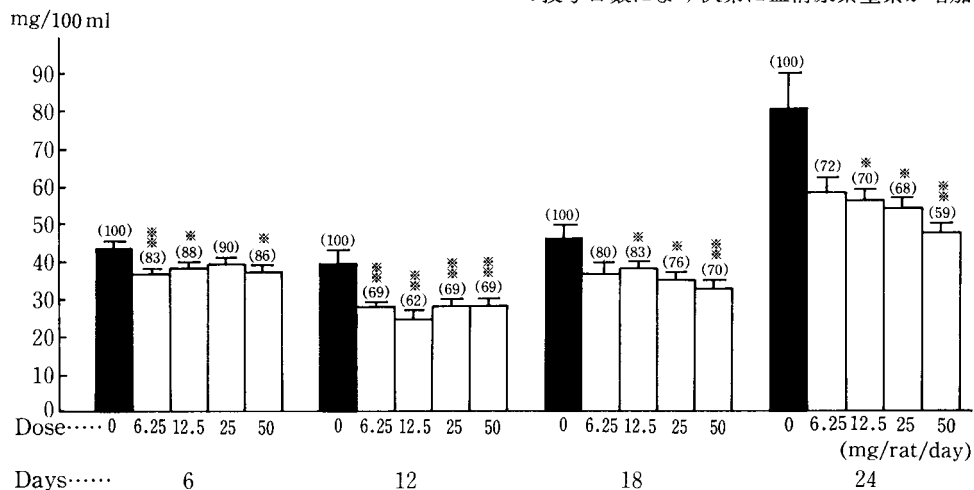


Fig. 1 Effect of onpi-tô on urea nitrogen level in the serum.

Values are mean \pm S.E. of 6 rats. Figures in parentheses are percentage of the control value. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

*注：大黄4両、人参2両、甘草2両、乾姜2両、附子1枚(大)

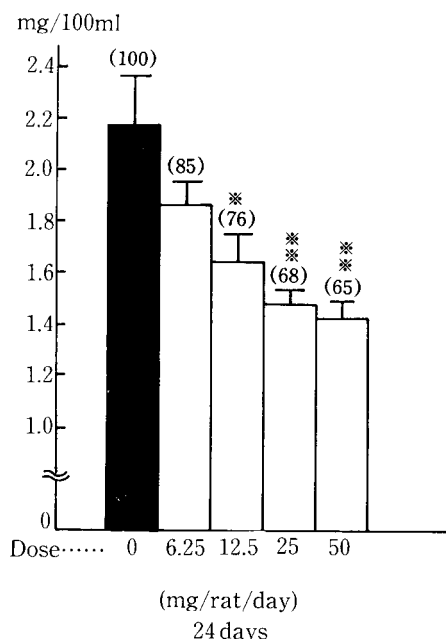


Fig. 2 Effect of onpi-tô on creatinine level in the serum.

Values are mean \pm S.E. of 6 rats.

Figures in parentheses are percentage of the control value. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

に対し、温脾湯投与群ではいずれも有意に尿素窒素値を低下させた。特に24日目では12.5mg投与群で30%、25mg投与群で32%、50mg投与群で41%と投与量に依存して著しく減少し、50mg投与群では約30mg/dlの低下量が認められた。

血清クレアチニン値は Fig.2のごとく24日間連続投与で尿素窒素同様、クレアチニン値も用量依存的に低下し、12.5mg投与群で24%、25mg投与群で32%、50mg投与群で35%と著明に低下することが明らかとなった。

肝・腎組織中の尿素量に対する温脾湯の効果

Fig.3は尿素合成を行っている肝、腎中の尿素量に対する温脾湯24日間投与の結果を示したものであるが、肝では6.25mg~50mg投与群で23~39%、腎では11~35%とそれぞれ減少しており、血清尿素窒素値の低下とほぼパラレルであった。この結果は、温脾湯による血清尿素窒素の低下作用は、肝、腎での尿素合成の減少に起因することを示唆している。

血清Ca及びリン酸に対する温脾湯の効果

Fig.4は血清中の無機リン酸とCa値の測定値を示しているが、アデニン投与により高リン酸血症が誘発されることはすでに知られており、温脾湯投与により、わずかに改善される傾向が認められた。特に

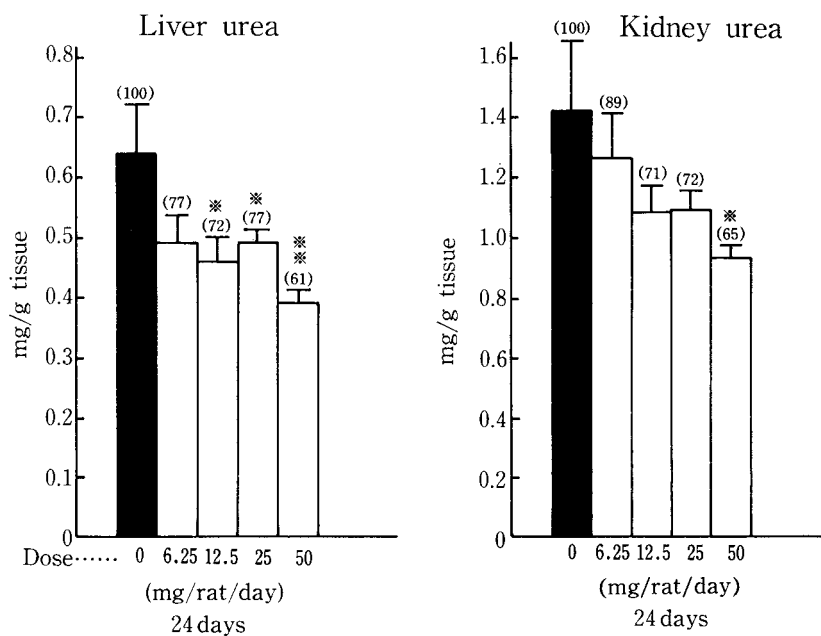


Fig. 3 Effect of onpi-tô on urea concentration in the liver and kidney.

Values are mean \pm S.E. of 6 rats. Figures in parentheses are percentage of the control value. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

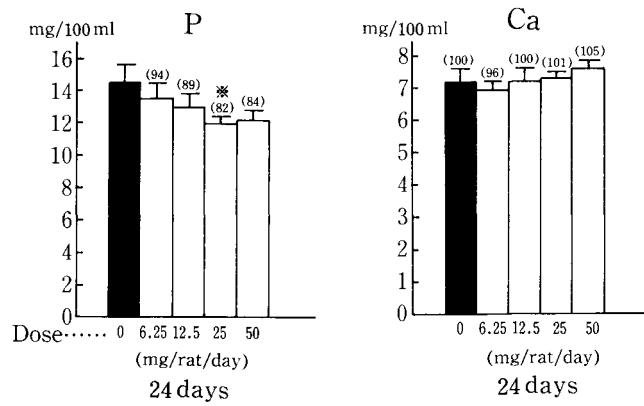


Fig. 4 Effect of onpi-tô on phosphate and calcium levels in the serum.

Values are mean \pm S.E. of 6 rats. Figures in parentheses are percentage of the control value. * $p < 0.05$.

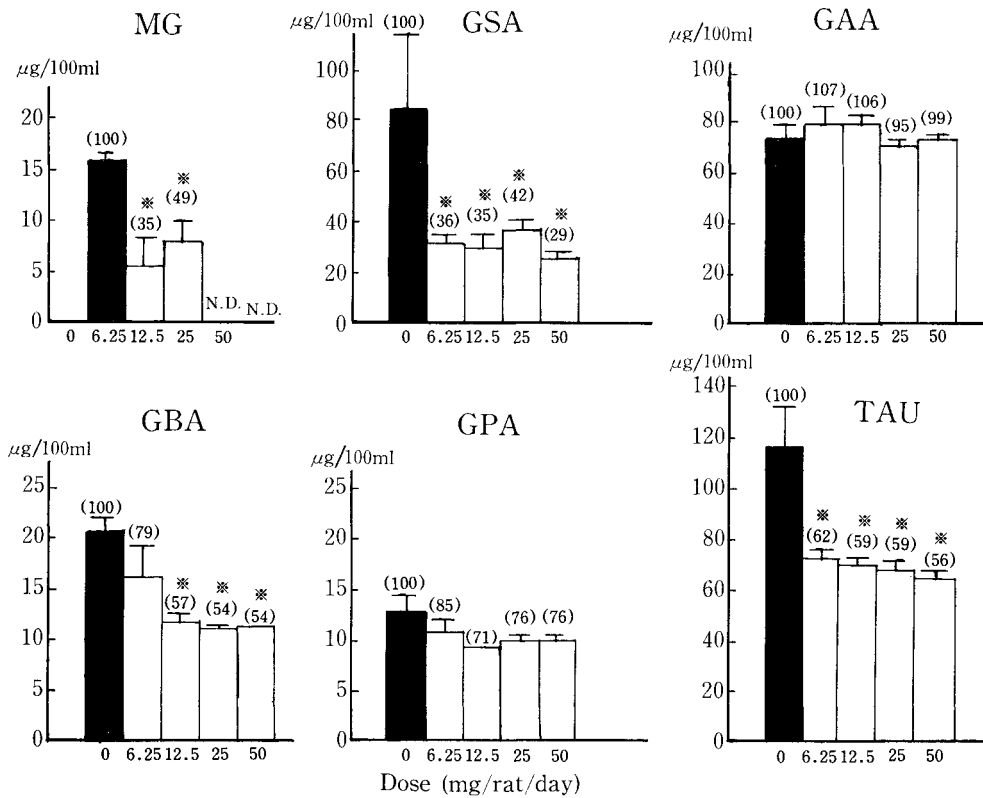


Fig. 5 Effect of onpi-tô on guanidino compounds level in the serum.

Values are mean \pm S.E. of 6 rats. Figures in parentheses are percentage of the control value. MG: methylguanidine, GSA: guanidinosuccinic acid, GAA: guanidinoacetic acid, GBA: guanidinobutyric acid, GPA: guanidinopropionic acid, TAU: taurocyamine. N.D., not detectable. * $p < 0.001$.

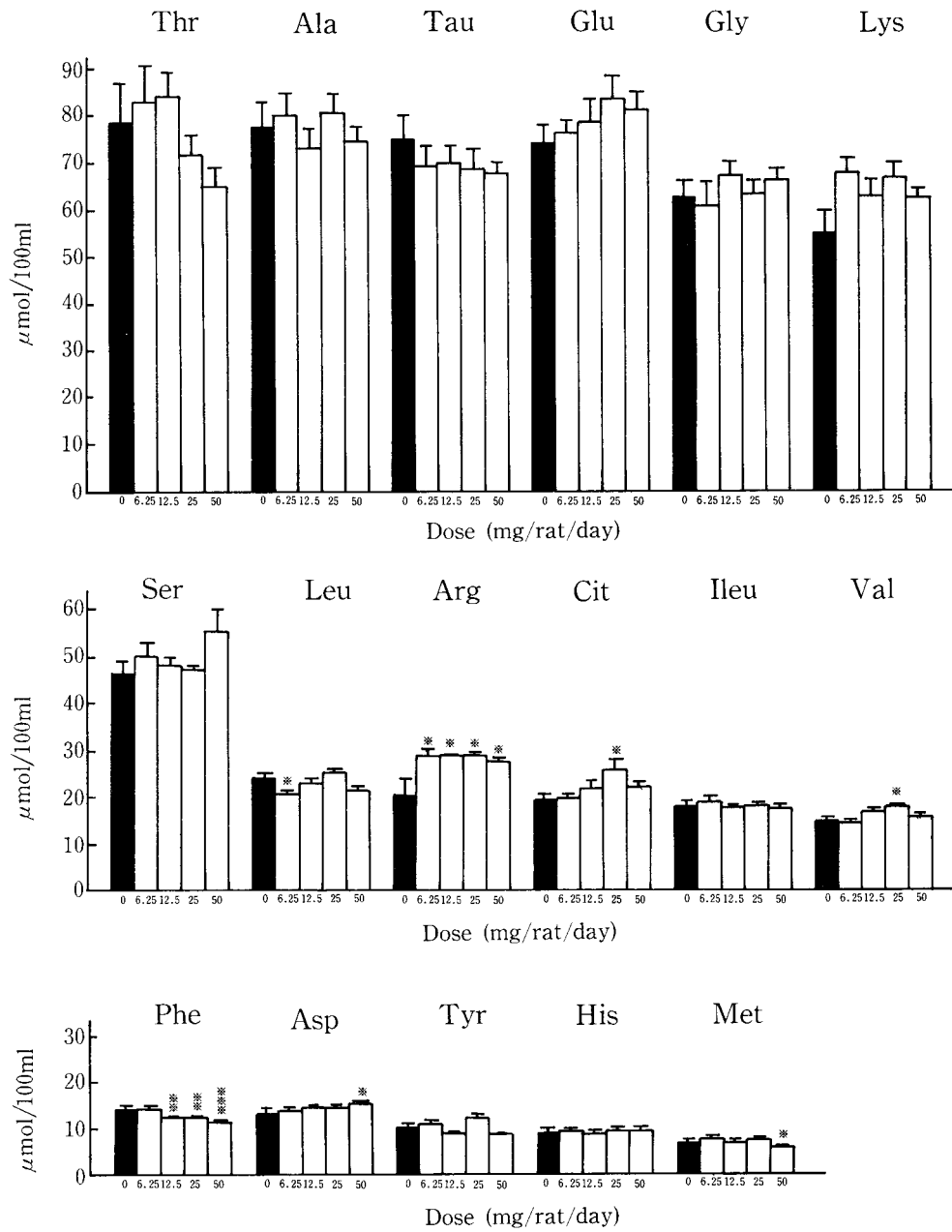


Fig. 6 Free amino acid in the serum of rats of the control and onpi-tô administered groups.

Values are mean \pm S.E. of 6 rats. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

25mg 投与群では18%の有意な低下を示したが、前報¹¹⁾で示された大黄エキスによる効果よりも弱く、また低 Ca血症改善効果も全く認められなかった。

血清中のグアニジノ化合物に対する温脾湯の効果

血中グアニジノ化合物の測定結果をFig. 5に示したが、温脾湯24日間投与によりグアニジノ化合物の著明な低下が観察された。特にメチルグアニジン (MG) は6.25mg 投与群ですでに65%、12.5mg 投与群で51%の有意な低下を認め、25mg、50mg 投与群では完全に血中から消失し、正常ラット同様、測定することは出来なかった。またグアニジノコハク酸 (GSA) はいずれの投与群においても60~70%低下し、極めて興味ある結果が得られた。タウロシアン (TAU)、グアニジノ酪酸 (GBA) も著しく減少し、グアニジノプロピオン酸 (GPA) も減少傾向を示した。他方、アデニン投与により減少するグアニジノ酢酸 (GAA)⁶⁾ は温脾湯投与によりほとんど変動を示さなかった。以上、各種グアニジノ化合物の低下作用は前述の血清尿素窒素、クレアチニン、肝・腎の尿素量で認められた用量依存性はGBAを除いてほとんど認められなかった。

血清遊離アミノ酸に対する温脾湯の効果

Fig. 6に血清中の遊離アミノ酸の測定結果を示したが、温脾湯投与群においては、Argの有意な上昇とPheの有意な低下が観察された。この他に25mg 投与群でVal, Citの上昇、50mg 投与群でAspの増加、Metの減少以外ほとんど著明な変化は認められず、

前報¹¹⁾で観察された大黄によるアミノ酸パターンの著明な改善作用は見られなかった。

腎重量とDHOA量に対する温脾湯の効果

Table IIは腎重量と腎組織中のDHOA量に対する温脾湯24日間投与の結果を示している。腎重量の低下は用量依存的に認められ、12.5mg 投与群で14%、25mgで20%、50mgで30%の抑制を示し、明らかに大白色腎化の軽減が観察された。他方、DHOA量は6.25mg、12.5mg投与群でいずれも変化なく、25mg 投与群で16%、50mg投与で23%減少した。

腎重量の減少は6.25mg投与で0.55g、12.5mg投与で0.99g、25mg投与で1.35g、50mg投与で2.10gと用量依存的に減少するのに反し、DHOA量は6.25mg、12.5mg投与群でいずれも変化なく、25mg 投与群で23mg、50mg投与群で32mgと減少し、用量依存性は認められず、腎重量の低下はDHOA量の減少によるものではないことが判明した。

考 察

ヒトの慢性腎不全における代謝異常として(1)高窒素血症、(2)urea cycleの異常、(3)血中、尿中遊離アミノ酸パターンの異常、(4)電解質代謝異常、(5)高脂血症、(6)耐糖能の低下、(7)低栄養状態 (低アルブミン、低トランスフェリン)、(8)ホルモン異常等が挙げられている¹⁵⁾。さらにこれらの一部は実験的慢性腎不全ラット (Platt法)においても認められている¹⁶⁾。

Table II Effect of onpi-tô on kidney weight and renal 2,8-dihydroxyadenine content

Dose (mg/rat/day)	Kidneys			
	Weight(g)	△(g)	2,8-DHOA(g)	△(g)
0	6.91±0.45 (100)		0.142 (100)	
6.25	6.36±0.41 (92)	-0.55	0.143 (100)	+0.001
12.5	5.92±0.21* (86)	-0.99	0.143 (100)	+0.001
25	5.56±0.18** (80)	-1.35	0.119 (84)	-0.023
50	4.81±0.24*** (70)	-2.10	0.110 (77)	-0.032

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

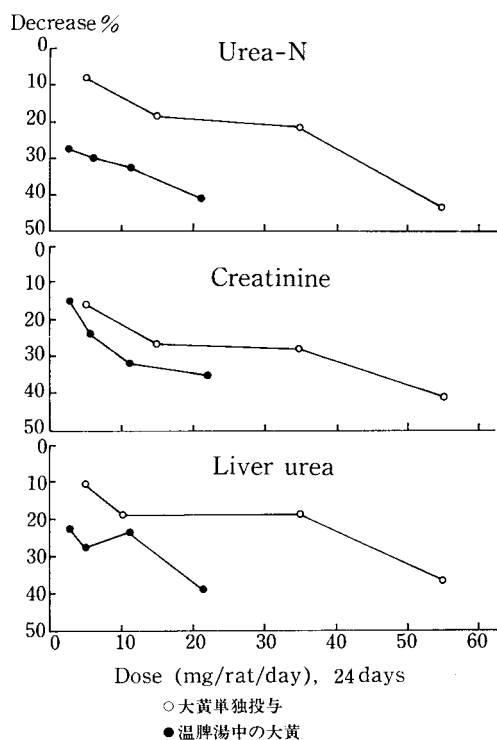


Fig. 7

最近、これらに加えて肝及び筋肉組織における蛋白質の合成と分解の異常も報告され¹⁷⁾、窒素バランスの負の原因と考えられている。

著者らは先に正常ラットに対し、漢方方剤^{18,19)}、大黄エキス²⁰⁾さらに大黄エキスから精製単離し、化学構造を明らかにした *rhatannin*^{21,22)} が著しく血清尿素窒素を低下させることを見出した。次にその作用機序を追究し、肝・腎における尿素合成の低下、*urea cycle*に關するアミノ酸の低下、グルタミン合成酵素活性の上昇、門脈血中アンモニアの減少等から、生体内での窒素の再利用系の充進を示唆する結果を報告した²³⁾さらに絶食ラットに対しても検討し、血清尿素窒素の低下や尿中3-メチルヒスチジン排泄量の減少を認め、筋蛋白質の分解の抑制の可能性についても報告した²⁴⁾。

他方、アデニン投与により慢性腎不全を発症させることを見出し、高窒素血症、*urea cycle*の異常、アミノ酸パターンの異常、電解質代謝異常を報告し³⁻⁸⁾さらに低アルブミン血症、高コレステロール血症を呈することを認めている。

次いでこれらアデニン誘発腎不全ラットに対して連日大黄エキスの腹腔、経口投与により、高窒素血症の改善、大白色腎化への抑制、*urea cycle*系の改

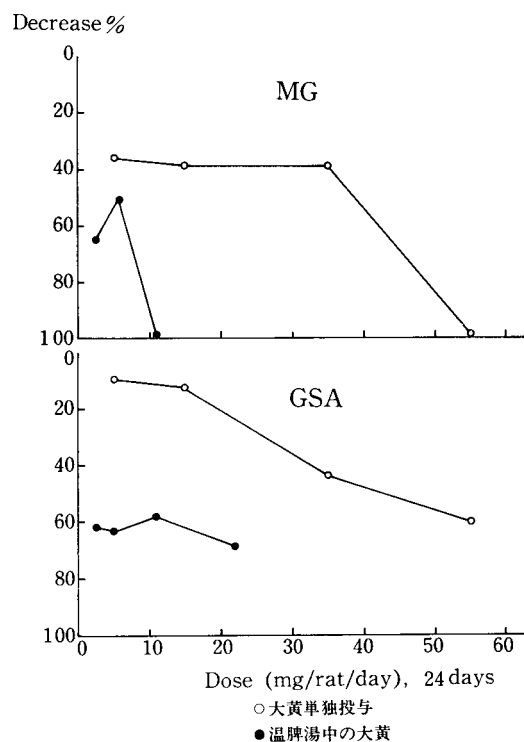


Fig. 8

善、アミノ酸パターンの改善、肝・腎における尿素合成の低下、電解質代謝の改善等について報告した^{9,11)}。以上の実験結果から、大黄は腎不全の進行を遅延させ、各種の代謝異常を改善し、一部は腎機能を修復するものと推定している。

さらに高窒素血症の患者に大黄粉末を投与し、血中尿素窒素及びクレアチニンの低下、A/G比の改善を認め、食欲の充進、一般症状の改善を認めた1例を報告した²⁵⁾。

今回実験に用いた温脾湯は、Table Iのごとく大黄を主剤とするものであり、古くから“備急千金要方”に記載されている処方¹³⁾、現在中国医学で中程度の腎不全患者の治療に経験的に用いられている¹²⁾。

そこで前報¹¹⁾で得られた大黄エキス単独の経口投与実験と大黄を約43%含有する温脾湯の実験結果とを比較した。Fig. 7に示すごとく温脾湯による血清尿素窒素、クレアチニン、肝尿素量の最大低下率は、いずれも大黄単独投与量の約 $\frac{2}{5}$ 量で同程度の低下作用を示した。メチルグアニジン、グアニジノコハク酸はFig. 8のごとく、最大低下率の傾向は同様であるが、投与量の少ない域値では温脾湯投与群の方が大黄単独投与群の低下率より顕著であった。しかし前述のごとく温脾湯ではアミノ酸パターンの改善や低

Ca血症改善作用は大黃単独投与に比し、ほとんど作用は認められなかった。

漢方(中国医学)では大黃は寒薬として分類され、附子、人參、乾姜は温薬として分類され、甘草とともに漢方方剂として四逆加入參湯(附子、乾姜、甘草、人參)や四逆湯(附子、乾姜、甘草)が用いられ、生体の寒症を改善するものと考えられている。大黃の薬理作用として従来、瀉下、抗菌、収斂、健胃、利胆作用等が知られているが、²⁶⁾著者らによって窒素代謝改善作用が明らかにされている。附子については古くから強心作用が認められ、全身の循環機能を促進し、心血管機能を改善する。²⁶⁾その有効成分としてhigenamine,²⁷⁾coryneine²⁸⁾が知られている。乾姜は血液循環を促進すると言われている。²⁶⁾また甘草は解毒作用、コルチコイド様作用、抗炎症作用、抗アレルギー作用等を有し、glycyrrhizinがこれらの作用の有効成分であることは広く知られている。^{26,29)}薬用人參は近年、広汎に研究され、神経系の興奮、糖・脂質代謝改善、DNA, RNA, 蛋白質合成の亢進、貧血の改善、強心作用、末梢血管の拡張、消化吸収、新陳代謝の亢進等が知られ、その作用物質としてginsenoside類があげられている。^{26,30)}

以上の知見から、温脾湯の腎不全改善作用は大黃の窒素代謝改善作用を基盤として、附子、乾姜、甘草、人參による総合作用と考えられる。最近、中国において数多くの大黃含有方剂が腎不全患者の治療に用いられ、その有効性が臨床的に認められているが、^{31,32)}その科学的根拠の一端が実験的に明らかになったものと考えられる。

結 論

以上の実験結果から、温脾湯投与により(1)高空素血症の改善、(2)肝、腎における尿素産生の抑制、(3)グアニジノ化合物の低下、あるいは消失、(4)高リン酸血症の改善、(5)大白色腎化への抑制等が観察され、腎不全状態の代謝改善を示唆する知見が得られた。

文 献

- 1) 横澤隆子, 大浦彦吉, 中川 晔, 竹本佳代子: 食餌性ブリンの血中および尿中尿酸レベルに与える影響について, 栄養と食糧 34, 35-41, 1981
- 2) 横澤隆子, 大浦彦吉, 中川 晔, 福田裕子: アデニン投与がラットの体内代謝系に与える影響について, 日本農芸化学会誌 55, 811-816, 1981
- 3) 横澤隆子, 大浦彦吉, 中川 晔, 岡田敏夫: アデニン長

期投与による血清尿酸レベルの上昇と腎機能障害, 日本農芸化学会誌 56, 655-663, 1982

- 4) Yokozawa, T., Oura, H., Okada, T.: Metabolic Effects of Dietary Purine in Rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 28, 519-526, 1982
- 5) Yokozawa, T., Oura, H., Zheng, P.D., Fukase, M., Koizumi, F., Kanaoka, M.: Metabolic Effects of Purine and Pyrimidine Bases in Rats. *Agric. Biol. Chem.* 47, 1297-1304, 1983
- 6) Yokozawa, T., Zheng, P.D., Oura, H.: Experimental Renal Failure Rats Induced by Adenine. Evaluation of Free Amine Acid, Ammonia Nitrogen and Guanidino Compound Levels-. *Agric. Biol. Chem.* 47, 2341-2348, 1983
- 7) Yokozawa, T., Zheng, P.D., Oura, H.: Biochemical Features Induced by the Adenine Feeding in Rats. -Polyuria, Electrolyte Disorders, and 2,8-Dihydroxy-adenine Deposits-. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 30, 245-254, 1984
- 8) 大浦彦吉, 横澤隆子, 鄭 平東, 小泉富美朝: アデニン誘発慢性腎不全モデルラットの作製. 医学のあゆみ 130, 729-730, 1984
- 9) Yokozawa, T., Zheng, P.D., Oura, H., Fukase, M., Koizumi, F., Nishioka, I.: Effect of Extract from Rhei Rhizoma on Adenine-Induced Renal Failure in Rats. *Chem. Pharm. Bull.* 31, 2762-2768, 1983
- 10) Yokozawa, T., Zheng, P.D., Oura, H., Nishioka, I.: Urine Composition in Rats with Adenine-Induced Renal Failure during Treatment with Rhubarb Extract. *Chem. Pharm. Bull.* 32, 205-212, 1984
- 11) Yokozawa, T., Suzuki, N., Zheng, P.D., Oura, H., Nishioka, I.: Effect of Orally Administered Rhubarb Extract in Rats with Chronic Renal Failure. *Chem. Pharm. Bull.* 32, 4506-4513, 1984
- 12) 上海中医学院編 "中医方剂臨床手冊" p.60 (1973年, 上海人民出版社)
- 13) 孫 思邈著 "備急千金要方" p.281 (1955年, 人民衛生出版社)
- 14) Bendich, A., Brown, G.B., Philips, F.S., Thiersch, J.B.: The Direct Oxidation of Adenine *In Vivo*. *J. Biol. Chem.* 183, 267-277, 1950
- 15) 藤見 惺: 腎不全 (内科学書9 腎・尿路疾患, 中尾喜久, 山形敬一, 山村雄一, 吉利 和監著, 中山書店, 1983年)
- 16) Platt, R., Roscoe, M.H., Smith, F.W.: Experimental Renal Failure. *Clin. Sci.* 11, 217-231, 1952
- 17) 三上裕司: 慢性腎不全ラットの肝および筋蛋白合成活性について. 日腎誌 25, 1267-1276, 1983
- 18) 長澤哲郎, 渋谷真也, 大浦彦吉: ラット血清成分に及ぼす漢方方剂の影響 (第1報). 薬学雑誌 98, 1642-1650, 1978
- 19) 長澤哲郎, 渋谷真也, 大浦彦吉: ラット血清成分に及ぼす和漢薬の影響 (第2報). 薬学雑誌 99, 71-77, 1979
- 20) 渋谷真也, 長澤哲郎, 横澤隆子, 大浦彦吉: 大黃の尿素窒素代謝ならびにアミノ酸代謝に及ぼす影響. 薬学雑誌 100, 434-442, 1980
- 21) Nagasawa, T., Shibutani, S., Oura, H., Shoyama, Y.,

- Nishioka, I.: Effect of Extract from Rhei Rhizoma on Urea-nitrogen Concentration in Rat Serum. *Chem. Pharm. Bull.* **28**, 1736-1739, 1980
- 22) Nonaka, G., Nishioka, I., Nagasawa, T., Oura, H.: Tannins and Related Compounds. I. Rhubarb (I). *Chem. Pharm. Bull.* **29**, 2862-2870, 1981
- 23) Shibutani, S., Nagasawa, T., Oura, H., Nonaka, G., Nishioka, I.: Mechanism of the Blood Urea Nitrogen-decreasing Activity of Rhatannin from Rhei Rhizoma in the Rat. I. *Chem. Pharm. Bull.* **31**, 2378-2385, 1983
- 24) 大浦彦吉, 渋谷真也, 長澤哲郎, 西岡五夫: 絶食ラットにおける大黃ならびにrhatanninの血中尿素窒素および尿中 3-methylhistidine量に及ぼす影響. *医学のあゆみ* **126**, 837-839, 1983
- 25) 大浦彦吉, 長澤哲郎, 渋谷真也, 西岡五夫, 野中源一郎, 原 敬二郎: 大黃の窒素代謝に対する基礎的臨床的研究. *和漢薬シンポジウム* **16**, 19-24, 1983
- 26) 中山医学院編 "漢薬の臨床応用" (1980年, 医歯薬出版) 神戸中医学研究会訳・編
- 27) 小菅卓夫, 横田正実, 長沢道男: トリカプト根中の強心成分に関する研究 (第1報) Higenamineの単離およびその構造. *薬学雑誌* **98**, 1370-1375, 1978
- 28) Konno, C., Shirasaka, M., Hikino, H.: Cardioactive Principle of Aconitum Carmichaeli Roots. *Planta Medica* **35**, 150-155, 1979
- 29) 熊谷 朗: カンゾウの生理化学. *代謝* **10**, 632-645, 1973
- 30) 大浦彦吉, 熊谷 朗, 柴田承二, 高木敬次郎編 "薬用人参" (1981年, 共立出版)
- 31) 時 振声, 轟 莉芳, 房 定坤: 慢性腎不全の中医治療進展. *中医雑誌* 1983年第4期, 総315-317
- 32) 刘 恒志: 大黃による尿毒症の治療経験及び知見. *浙江中医雑誌* 1982年第17巻第5期, 総212-213