

実験的腎不全ラットの血清成分に及ぼす各種和漢薬の影響

大浦 彦吉*, 横澤 隆子, 鄭 海泳

富山医科薬科大学和漢薬研究所臨床利用部門

Effect of crude drugs on serum constituents in rats
with chronic renal failure

Hikokichi OURA*, Takako YOKOZAWA and Hae Young CHUNG

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

(Received August 27, 1985)

Abstract

The uremia-preventive effect of extracts from 15 varieties of crude drugs was investigated in rats with chronic renal failure induced by an adenine diet. The decoction of each crude drug was administered orally to rats for 24 days. Findings suggestive of metabolic improvement in uremia were observed only in the tanzin-treated group. That is, the level of urea nitrogen in the serum was decreased significantly by the administration of tanzin. A significant decrease in the serum creatinine was also observed after the treatment. In addition, a significant decrease in guanidino compound, methylguanidine and guanidino-succinic acid, was observed in the serum, while a marked increase in the level of guanidino-acetic acid was exhibited. These results suggest that tanzin extract may be useful as a conservative treatment for uremia.

Keywords chronic renal failure, tanzin, serum, urea nitrogen, creatinine, methylguanidine, guanidinosuccinic acid, guanidinoacetic acid, rat

Abbreviation BUN; blood urea nitrogen

緒 言

先にアデニン誘発慢性腎不全ラットに対し、大黄並びに温脾湯（大黄、人参、附子、甘草、乾姜）は uremic toxin と言われている血清尿素窒素 (BUN)、クレアチニン、メチルグアニジン、グアニジノコハク酸等を著明に低下させることを報告した^{1,2)}さらに温脾湯構成和漢薬としての人参はクレアチニン、メチルグアニジンを、附子はグアニジノコハク酸をそれぞれ有意に低下させることを見出した³⁾。

今回、腎疾患並びに瘀血改善を目的として用いられている八味丸、猪苓湯、真武湯、五苓散、小柴胡

湯、三黄瀉心湯の主構成和漢薬（猪苓、茯苓を除く）と川芎、当帰、党参及び中国において腎不全の尿毒症改善効果が報告されている丹参⁴⁾を含め、合計 15 種を選び、腎不全ラットに対する影響についてスクリーニング試験を行なった。その結果、丹参に BUN、血清クレアチニン、グアニジノ化合物低下作用を認める所見を得たので報告する。

材料と方法

(1) 動物: Wistar 系雄ラット (初体重約 110 g) を用い、前報⁵⁾同様 0.75% アデニン含有飼料 (アデニン投与量約 350~400 mg/kg 体重/日) で 24 日間飼育した。

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

Table I Crude drugs used in this experiment.

Crude drugs	Japanese name	Species	Location produced
Paeoniae radix	Shakuyaku (芍薬)	<i>Paeonia albiflora</i> PALLAS <i>var. trichocarpa</i> BUNGE	Yamato
Bupleuri radix	Saiko (柴胡)	<i>Bupleurum falcatum</i> L.	China
Salviae miltiorrhizae radix	Tanzin (丹参)	<i>Salvia miltiorrhiza</i> BUNGE	China
Atractylodis rhizoma	Byakuziyutu (白朮)	<i>Atractylodes japonica</i> KOIDZUMI	China
Moutan cortex	Botanpi (牡丹皮)	<i>Paeonia moutan</i> SIMS	Yamato
Scutellariae radix	Ohgon (黄芩)	<i>Scutellaria baicalensis</i> GEORGI	China
Cnidii rhizoma	Senkyu (川芎)	<i>Cnidium officinale</i> MAKINO	Hokkaido
Angelicae radix	Tohki (当归)	<i>Angelica acutiloba</i> KITAGAWA	Yamato
Coptidis rhizoma	Ohren (黄连)	<i>Coptis japonica</i> MAKINO	Tanba
Alismatis rhizoma	Takusha (沢瀉)	<i>Alisma orientale</i> JUZEPCZUK	China
Dioscoreae rhizoma	Sanyaku (山薬)	<i>Dioscorea japonica</i> THUNBERG	Nagano
Codonopsis radix	Tojin (党参)	<i>Codonopsis tangshen</i> OLIV. tangshen Oliver	China
Cinnamomi cortex	Keihi (桂皮)	<i>Cinnamomum cassia</i> BLUME	China
Corni fructus	Sanshuyu (山茱萸)	<i>Cornus officinalis</i> SIEBOLD et ZUCCARINI	Korea
Rehmanniae radix	Dioh (地黄)	<i>Rehmania glutinosa</i> LIBOSCHITZ <i>var. purpurea</i> MAKINO	China

(2) 和漢薬エキスの調製法：各種和漢薬は Table I のごときものを用い、それぞれの粗切片を 10 倍量の熱水で 100℃、40 分間抽出し、濾液を凍結乾燥した。なお各種和漢薬は栃本天海堂より購入した。

(3) 試料の投与法：各種和漢薬エキスを水に溶解し、1.0 mg/ml の濃度に調整してアデニン投与と同時に最初から飲水として投与した。投与量は飲水量から算出し、約 30 mg/rat/day の値を得た。対照群には水を与えた。

(4) 分析方法：血清中の尿素窒素は市販のキット“Urea NB-Test Wako”（和光純薬）を用い、urease indophenol 法⁶⁾にて測定した。クレアチニン、メチルグアニジン、グアニジノコハク酸、グアニジノ酢酸は島津 LC-5A 型クロマト装置を用い、カラム ISC-05/S 0504、移動相第 1 液：0.15 N クエン酸 Na, pH 3.5；第 2 液：0.35 N クエン酸 Na, pH 5.0；第 3 液：0.35 N クエン酸 Na, pH 6.0；

第 4 液：0.35 N クエン酸 Na, 0.3 N NaCl, 0.2 N リン酸 Na, pH 12.0；第 5 液：0.2 N NaOH；第 6 液：H₂O、流速 0.7 ml/min、カラム温度 50℃の条件下で分離溶出させ、溶出液を 1 N NaOH と 1 %ニンヒドリン溶液を用いた蛍光分析法（Ex=395 nm, Em=500 nm）で行なった。なお除蛋白は TCA（終濃度 10 %）で行なった。

結 果

1. 血清尿素窒素 (BUN)、クレアチニンに対する影響

BUN 低下作用については Table II に示すごとく、丹参のみが 12 日、18 日、24 日間投与でそれぞれ 21 %, 30 %, 31 % 有意に低下した。その他の和漢薬はいずれも有意な変動を示さなかったが、当帰は低下傾向、山茱萸と地黄は上昇傾向を示した。血

Table II Urea nitrogen and creatinine in the serum of rats of the control and crude drug-treated groups for 6 to 24 days.

Expt. No.	Material	BUN (mg/dl)				Creatinine (mg/dl)
		Days after treatment				Days after treatment
		6	12	18	24	24
1	Control	45.8±2.9 (100)	53.1±2.6 (100)	82.5±6.6 (100)	122.7±6.1 (100)	4.15±0.14 (100)
	Shakuyaku (芍薬)	50.0±3.5 (109)	59.8±5.2 (113)	70.8±4.6 (86)	110.4±6.6 (90)	3.81±0.20 (92)
	Saiko (柴胡)	45.7±4.4 (100)	50.6±5.1 (95)	76.7±3.8 (93)	111.6±10.2 (91)	3.62±0.09 ^{a)} (87)
	Tanzin (丹参)	46.9±5.0 (102)	42.2±3.3 ^{a)} (79)	57.6±2.4 ^{b)} (70)	85.1±6.6 ^{b)} (69)	3.28±0.26 ^{a)} (79)
	Byakuzuyu (白朮)	46.0±3.1 (100)	50.6±3.4 (95)	69.0±3.7 (84)	122.4±9.2 (100)	4.24±0.26 (102)
	Botanpi (牡丹皮)	45.6±5.1 (100)	55.8±6.1 (105)	82.9±8.4 (100)	137.5±7.4 (112)	4.29±0.16 (103)
2	Control	37.8±3.3 (100)	37.2±1.4 (100)	51.8±4.8 (100)	85.9±12.7 (100)	2.00±0.11 (100)
	Ohgon (黄芩)	32.8±4.2 (87)	33.3±3.4 (90)	51.4±4.8 (99)	86.4±7.7 (101)	2.56±0.06 ^{b)} (128)
	Senkyu (川芎)	33.5±1.8 (89)	32.3±4.6 (87)	47.7±7.0 (92)	83.8±13.7 (98)	2.77±0.18 ^{b)} (139)
	Tohki (当归)	30.7±2.9 (81)	32.3±3.9 (87)	44.8±4.5 (86)	80.1±11.0 (93)	2.46±0.08 ^{b)} (123)
	Ohren (黄連)	46.6±5.6 (123)	46.4±4.6 (125)	66.0±11.2 (127)	90.2±16.0 (105)	2.73±0.41 (137)
3	Control	34.5±2.4 (100)	35.2±2.4 (100)	81.2±10.5 (100)	109.5±11.8 (100)	1.94±0.10 (100)
	Takusha (沢瀉)	31.5±0.9 (91)	38.1±1.9 (108)	83.9±6.1 (103)	104.3±8.5 (95)	2.43±0.17 ^{a)} (125)
	Sanyaku (山薬)	28.7±0.6 (83)	39.3±2.4 (112)	64.0±2.1 (79)	113.5±8.4 (104)	2.09±0.31 (108)
	Tojin (党参)	30.9±0.4 (90)	42.7±3.6 (121)	67.1±10.0 (83)	91.6±8.6 (84)	1.97±0.15 (102)
	Keihi (桂皮)	31.2±1.0 (90)	37.5±2.2 (107)	70.4±4.9 (86)	103.2±12.6 (94)	1.91±0.93 (98)
	Sanshuyu (山茱萸)	33.1±1.8 (96)	41.8±3.1 (119)	89.2±14.5 (110)	126.6±11.7 (116)	1.92±0.51 (99)
	Dioh (地黄)	30.1±1.1 (87)	62.0±10.3 (176)	82.6±7.1 (102)	123.9±13.1 (113)	2.47±0.24 (127)

Values are means±S.E. of 6 to 7 rats. Figures are percentages of the control value. a) Significantly different from the control value, $p<0.05$, b) $p<0.01$.

清クレアチニン値は24日目では丹参、柴胡がそれぞれ21%、13%有意に低下するのに対し、黄芩(28%)、川芎(39%)、当归(23%)、沢瀉(25%)はいずれも有意に増加し、黄連、地黄も増加傾向を認めた。

2. 血清グアニジノ化合物に対する影響

メチルグアニジン低下作用はTable IIIに示すごとく、丹参(51%)、当归(36%)、柴胡(30%)、

芍薬(28%)に認められ、特に丹参において強い低下作用を示した。他方、沢瀉は50%有意に増加した。グアニジノコハク酸は丹参のみが僅かに13%有意に低下し、白朮(33%)、牡丹皮(19%)は逆に有意に増加した。腎機能のマーカーとされているグアニジノ酢酸は丹参が最も強く増加することが判明し133%上昇した。次いで川芎(65%)、白朮(59%)、芍薬(42%)がいずれも有意に増加した。

Table III Guanidino compounds in the serum of rats of the control and crude drug-treated groups for 24 days.

Expt. No.	Material	MG ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	GSA ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	GAA ($\mu\text{g}/\text{dl}$)
1	Control	11.35 $\pm$ 1.05 (100)	53.87 $\pm$ 1.74 (100)	16.18 $\pm$ 1.32 (100)
	Shakuyaku (芍薬)	8.14 $\pm$ 0.85 ^{a)} (72)	55.48 $\pm$ 1.88 (103)	23.00 $\pm$ 2.32 ^{a)} (142)
	Saiko (柴胡)	7.99 $\pm$ 0.39 ^{a)} (70)	55.02 $\pm$ 1.56 (102)	18.91 $\pm$ 3.05 (117)
	Tanzin (丹参)	5.54 $\pm$ 0.38 ^{b)} (49)	47.08 $\pm$ 1.67 ^{a)} (87)	37.68 $\pm$ 1.09 ^{b)} (233)
	Byakuzyutu (白朮)	11.20 $\pm$ 1.33 (99)	71.48 $\pm$ 5.76 ^{a)} (133)	25.78 $\pm$ 2.95 ^{a)} (159)
	Botanpi (牡丹皮)	9.54 $\pm$ 0.63 (84)	63.93 $\pm$ 3.89 ^{a)} (119)	17.86 $\pm$ 1.60 (110)
2	Control	8.24 $\pm$ 1.08 (100)	65.83 $\pm$ 6.02 (100)	23.16 $\pm$ 3.04 (100)
	Ohgon (黄芩)	9.14 $\pm$ 1.10 (111)	77.58 $\pm$ 5.93 (118)	27.04 $\pm$ 2.45 (117)
	Senkyu (川芎)	8.41 $\pm$ 0.73 (102)	75.13 $\pm$ 16.79 (114)	38.24 $\pm$ 5.75 ^{a)} (165)
	Tohki (当归)	5.28 $\pm$ 0.56 ^{a)} (64)	73.34 $\pm$ 13.74 (111)	38.58 $\pm$ 8.39 (166)
	Ohren (黄连)	9.45 $\pm$ 1.78 (115)	71.63 $\pm$ 8.90 (109)	24.29 $\pm$ 4.11 (105)
3	Control	7.47 $\pm$ 0.81 (100)	80.42 $\pm$ 12.10 (100)	65.88 $\pm$ 7.25 (100)
	Takusha (沢瀉)	11.23 $\pm$ 0.81 ^{a)} (150)	72.41 $\pm$ 6.72 (90)	57.30 $\pm$ 10.19 (87)
	Sanyaku (山薬)	7.90 $\pm$ 1.10 (106)	61.56 $\pm$ 4.80 (77)	50.62 $\pm$ 4.99 (77)
	Tojin (党参)	6.89 $\pm$ 0.92 (92)	65.37 $\pm$ 8.44 (81)	74.38 $\pm$ 4.36 (113)
	Keihi (桂皮)	6.29 $\pm$ 0.81 (84)	63.87 $\pm$ 10.12 (79)	67.14 $\pm$ 5.18 (102)
	Sanshuyu (山茱萸)	8.52 $\pm$ 1.20 (114)	68.78 $\pm$ 6.44 (86)	56.81 $\pm$ 9.36 (86)
	Dioh (地黄)	8.23 $\pm$ 0.98 (110)	74.01 $\pm$ 3.95 (92)	93.41 $\pm$ 25.43 (142)

MG, methylguanidine; GSA, guanidinosuccinic acid; GAA, guanidinoacetic acid.

Values are means $\pm$ S.E. of 6 to 7 rats. Figures are percentages of the control value. a) Significantly different from the control value, $p<0.05$, b) $p<0.001$.

考 察

従来、丹参の薬理作用として血管拡張、血圧下降作用、抗菌作用等が成書に挙げられているが⁷⁾、近年、中国においては冠不全による疼痛に、また瘀血を除去し、血管拡張を促進させるために用いられている。さらに心筋梗塞の救急治療に丹参注射液の点滴静注を施し、心筋虚血所見が急速に改善され、血中

脂質も低下する症例が報告されている。その他、気滞血瘀による月経困難症、月経痛、産後の悪露停滞、瘀血による疼痛、神経衰弱で動悸、不眠、煩躁、不安などの心血虚の症状があるときなどに経験的に用いられている⁷⁾。

今回、スクリーニングした15種和漢薬の中で丹参のみが実験的腎不全ラットに対し、BUN、クレアチニン、メチルグアニジン、グアニジノコハク酸の有意な低下、グアニジノ酢酸の著しい上昇など、

共通した尿毒症症状の改善作用を示した。

グアニジノ酢酸はアルギニンとグリシンを基質として transamidinase により生成されるが、大部分は腎で生成され则认为られており、腎機能障害が進行すると、グアニジノ酢酸生成の減少することが認められている。⁸⁾すでに報告した大黄、^{1,9)}温脾湯^{2,10)}の作用とは異なり、丹参によって血中グアニジノ酢酸が著しく上昇したことは、一部に腎機能の修復作用を有するものと考えられ、興味ある所見である。

最近、慢性腎不全患者の尿毒症治療に丹参の静脈点滴を行ない、BUN、クレアチニン、クレアチニンクリアランスを指標として検討し、53例中8例に著効、27例に有効であったという成績が張らにより報告されている。⁴⁾したがって、本実験で得られた結果は臨床所見の一部を実験的に裏付けたものと考えられ、さらに詳細については検討中である。

結 論

アデニン誘発慢性腎不全ラットに15種和漢薬をそれぞれ24日間経口投与し、uremiaに関連する血液化学成分について分析した結果、丹参のみが血清尿素窒素、クレアチニン、メチルグアニジン、グアニジノコハク酸の有意な低下、グアニジノ酢酸の著しい上昇など、共通した尿毒症症状に認められる血液所見の改善作用を示し、他の和漢薬では認められなかった。

文 献

- 1) 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
- 2) 大浦彦吉, 鄭 平東, 横澤隆子: 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, 和漢医薬学会誌 **1**, 209-217, 1984
- 3) 大浦彦吉, 鄭 海泳, 横澤隆子: 実験的腎不全ラットに対する温脾湯構成和漢薬の効果, 和漢医薬学会誌 **2**, 351-356, 1985
- 4) 張 鏡人, 鄭 秀春, 楊 虎天, 嚴 佩貞, 陳 懷紅: 丹参治療慢性腎機能不全48例臨床分析, 上海中醫藥雜誌 1981年第1期, 17-18
- 5) 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
- 6) 佐々木禎一: 尿素, “臨床化学分析II” (斎藤正行, 北村元仕, 丹羽正治編), 東京化学同人, 東京, p 1-33, 1979
- 7) 中山医学院編: 丹参, “漢薬の臨床応用” (神戸中医学研究会訳・編), 医歯薬出版, 東京, p 257-258, 1980
- 8) Sasaki, M., Takahara, K., Natelson, S.: Urinary guanidinoacetate/guanidinosuccinate ratio: An indicator of kidney dysfunction. *Clin. Chem.* **19**, 315-321, 1973
- 9) Yokozawa, T., Suzuki, N., Okuda, I., Oura, H., Nishioka, I.: Uremia-preventive effect of rhubarb extract in rats. *J. Med. Pharm. Soc. for WAKAN-YAKU* **2**, 344-350, 1985
- 10) 大浦彦吉, 鄭 海泳, 鄭 平東, 横澤隆子, 若木邦彦, 小泉富美朝: 実験的腎不全ラットに対する温脾湯の長期投与による効果, 和漢医薬学会誌 **2**, 365-371, 1985