

高血圧症ラットに対する大柴胡湯、桂枝茯苓丸の作用

織田真智子^{a)} 阿部 博子^{*b)} 有地 滋^{b)} 鈴木 有朋^{a)}^{a)}近畿大学医学部薬理学教室, ^{b)}近畿大学東洋医学研究所The effects of Dai-saiko-tô and Keisi-bukuryô-gan
on stroke-prone spontaneously hypertensive ratsMachiko ORITA^{a)}, Hiroko ABE^{*b)}, Shigeru ARICHI^{b)} and Aritomo SUZUKI^{a)}^{a)}The Department of Pharmacology, School of Medicine, Kinki-University^{b)}The Research Institute of Oriental Medicine, Kinki-University

(Received October 2, 1985)

Abstract

The effects of Dai-saiko-tô (Da-Chai-Hu-Tang) and Keisi-bukuryô-gan (Gui-Zhi-Fu-Ling-Wan) on blood pressure and erythrocyte properties were studied in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRsp) and normotensive Wistar-Kyoto rats (WKY).

A six week administrations of Dai-saiko-tô or Keisi-bukuryô-gan produced a significant decrease of blood pressure in SHRsp but no change in WKY. While a erythrocyte deformability and ATP level in SHRsp are significantly decreased compared to WKY, Dai-saiko-tô-or Keisi-bukuryo-gan-treated SHRsp showed significant increases in erythrocyte deformability and ATP level compared to control untreated SHRsp.

Key words SHRsp, Keisi-bukuryô-gan, Dai-saiko-tô, hypertension, erythrocyte, deformability

Abbreviations SHR; 自然発症高血圧ラット, SHRsp; 脳卒中易発症ラット, WKY; 正常血圧ウィスターキョウト系, Dai-saiko-tô (Da-Chai-Hu-Tang); 大柴胡湯, Keisi-bukuryô-gan (Gui-Zhi-Fu-Ling-Wan), 桂枝茯苓丸

緒 言

漢方では、高血圧症の治療薬として大柴胡湯、防風通聖散、黄連解毒湯、柴胡加竜骨牡蠣湯、桃核承気湯、桂枝茯苓丸、八味丸などが頻用される。これらの処方はいずれも、西洋薬での降圧剤のように、著明な降圧作用は示さないが、高血圧症に随伴する耳鳴り、頭痛、のぼせなどさまざまな自覚症状の改善には極めて有効であり、軽度の高血圧症の場合には、数週間の投与後に血圧が正常域に調整されることなどが臨床的に確認されている¹⁾。

一方、自然発症高血圧ラット (SHR)²⁾ や脳卒中易発症ラット (SHRsp)³⁾ は高血圧性疾患のモデル動物として広く用いられており、その高血圧性病態は交感神経機能の亢進と血管壁細胞の変化とが相互に関連してもたらされていることや、その発症には遺伝因子が重要な役割を果たしていることが知られている^{4,5)}。また、近年、SHR あるいは SHRsp における高血圧や脳卒中発症に関与する遺伝子の表現型の一つとして生体膜の異常が注目され、特に赤血球膜の機能異常についての報告が多くなされている^{6,7)}。

本研究では、臨床で高血圧症患者に頻用される大

*〒 589 大阪府南河内郡狭山町西山 380
Sayama, Osaka 589, Japan

柴胡湯、桂枝茯苓丸のSHRspへの影響について、特に血圧及び赤血球の変化を中心に検討した。

材料と方法

(1) **実験動物**：8週齢の雄性脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRsp) と対照の8週齢雄性正常血圧ラット (WKY) を用いて以下の実験を行った。

(2) **飼料の作製と投与方法**：大柴胡湯は柴胡 (6.0 g)、半夏 (4.0 g)、黄芩 (3.0 g)、芍薬 (3.0 g)、大棗 (3.0 g)、枳実 (2.0 g)、生姜 (1.0 g)、大黃 (1.0 g) の混合生薬から得られた津村順天堂社製エキス原末を日本クレア製 CE-2 の粉末飼料中に 0.5% となるように添加し、桂枝茯苓丸は桂枝、茯苓、牡丹皮、桃仁、芍薬の各生薬粉末で等量ずつ混合し、粉末飼料中に 2% の割合で添加して、自由摂取させた。飼料摂取量からの換算では、各ラット 1 匹、1 日当たりの漢方薬摂取量はほぼヒトの 10 倍量に相当する。

(3) **実験方法**：SHRsp 及び WKY の各々を、第 1 群：対照群、第 2 群：大柴胡湯投与群、第 3 群：桂枝茯苓丸投与群の 3 群に分け、各飼料で 6 週間飼育した。その間、1 週ごとに体重、飼料摂取量、尾動脈血圧を測定し、6 週目に軽エーテル麻酔下で頸静脈より採血した血液を用いて、以下の血液学的検査を行った。

(4) **血圧の測定法**：ラットを予熱箱 (40℃) で 10 分保温し、ナツメ製ラット尾動脈圧測定装置 (KN-0090) を用いて収縮期血圧の測定を行った。

(5) **赤血球数と平均赤血球容積の測定**：東亜医用電子製、Sysmex Microcell Counter cc-150 を用いて、赤血球数、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV) を測定した。

(6) **赤血球変形能の測定**：Nagasawa^{8,9)} による capillary tube centrifugal method の変法を用いて、以下のように行った。採血直後の全血 30 μ l を 10 ml の Eagle Medium (pH 7.2) に混和し、その溶液の一部を最下層に 1% グルタルアルデヒド液を置き、中間層にリン酸緩衝液を重層した micro pipette の最上層に重層する。この micro pipette をヘマトクリット用遠心器で約 20 秒遠心して、グルタルアルデヒドで固定され最下層に集まった赤血球の位相差顕微鏡像から、変形した赤血球の長径を計測し、変形能とした。

(7) **低張溶血率の測定**：生理食塩水で洗浄した赤血球を、56 mM の NaCl を含む 10 mM リン酸緩衝

液中で 10 分間 (室温) インキュベートし、遠心後、上清の吸光度 (540 nm) を測定し、全溶血に対する百分率を算出して溶血率とした。

(8) **赤血球表層荷電の測定**：Particle Micro Electrophoresis Apparatus Mark II (Rank Brothers 社製) によって赤血球の電気泳動速度を測定し、表層荷電の算出を行った。泳動用メディアウムは、Zeiller and Hannig Medium¹⁰⁾ を改良したもの (15 mM triaminomethane, 10 mM glucose, 4 mM Potassium acetate, 240 mM glycine, 30 mM sucrose, pH 7.2, osmotic pressure 308 mOs/kg, Specific Conductance 0.122 Mho/M at 25℃) を用い、両極間電流 200 μ A、電圧 40 V の条件で測定した。

(9) **赤血球膜脂質の定量**：柴田らの方法¹¹⁾ に従い、イソプロパノール、クロロホルムで赤血球膜脂質を抽出し、酵素法 (和光純薬測定用キット) でコレステロールの定量を行った。

(10) **赤血球 ATP 含量の測定**：採血後、速やかに氷冷下で洗浄した赤血球の ATP 含量を、ベーリンガー・マンハイム社製測定用キットを用いて測定した。

結 果

1. 飼料摂取量及び体重増加率

SHRsp 及び WKY 共に、1 日の平均飼料摂取量は 17 g 前後で、大柴胡湯及び桂枝茯苓丸投与による飼料摂取量には有意の変化は認められなかった。

体重増加率は SHRsp, WKY 共に対照群に比べて大柴胡湯投与群、桂枝茯苓丸投与群でやや上昇傾向は認められたが、有意の差は得られなかった。

2. 血圧の変化 (Fig. 1)

SHRsp の血圧は実験開始時 (8 週齢で 195 ± 4 mmHg) で既に WKY (135 ± 2 mmHg) より有意に高く、その後さらに血圧は上昇し、実験開始 3 週、4 週、5 週、6 週後の SHRsp の血圧は 218 ± 6 mmHg, 233 ± 3 mmHg, 240 ± 3 mmHg, 243 ± 4 mmHg であった。

SHRsp に大柴胡湯を投与した群では、投与開始から 3 週目、4 週目の血圧が 217 ± 3 mmHg, 225 ± 2 mmHg で、対照 SHRsp の血圧に比べて有意 ($p < 0.025$) の低下を示した。桂枝茯苓丸を投与した群では、投与開始から 3, 4, 5, 6 週後の血圧は 198 ± 3 mmHg, 210 ± 5 mmHg, 216 ± 5 mmHg, 216 ± 3 mmHg で、対照群ラットの血圧に比べて有意 ($p < 0.005$) の低下が認められた。

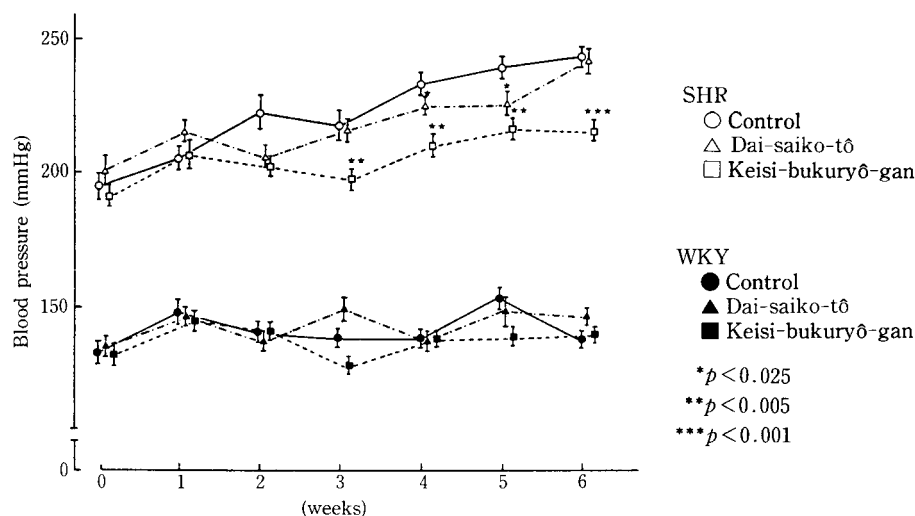


Fig. 1 Effects of Kanpo-prescriptions on blood pressure.

WKY に大柴胡湯、桂枝茯苓丸を投与しても、血圧には有意の変化は認められなかった。

3. 血液学的一般所見 (Table I)

SHRsp の赤血球数は WKY に比べて有意に多く、ヘマトクリット値も明らかな増加を示した。SHRsp に大柴胡湯、桂枝茯苓丸を投与すると、いずれも対照群の赤血球数に比べて有意の減少を示し、Ht も減少することが見出された。

SHRsp の赤血球容積 (MCV) は、大柴胡湯に比べてやや低下傾向を示しているが、有意差はなく、大柴胡湯、桂枝茯苓丸投与による影響も全く認められなかった。

4. 赤血球の諸性質 (Table II)

対照 SHRsp の赤血球変形能は、WKY の対照群に比べて有意に低下しており、SHRsp に大柴胡湯

あるいは桂枝茯苓丸を投与した群では、赤血球変形能の有意な増加が認められた。WKY でも桂枝茯苓丸投与群で変形能の増加傾向は認められたが、統計学的に有意の差は得られなかった。

低張液による溶血率は、WKY に比べて SHRsp では増加を示し、大柴胡湯や桂枝茯苓丸の投与によって溶血率は増加した。WKY に大柴胡湯、桂枝茯苓丸を投与した場合にも、低張溶血率は増加傾向を示すが、対照群に対して有意の差は認められなかった。

SHRsp の赤血球の ATP レベルは、WKY のそれに比べて明らかな低下を示し、大柴胡湯、桂枝茯苓丸の投与によっていずれも有意の増加が認められた。

SHRsp の赤血球膜コレステロール量は WKY に

Table I Hematologic data.

		RBC 数 ($10^4/\text{mm}^3$)	Ht (%)	MCV (μ^3)
SHRsp	Control	1110 ± 9^2	44.0 ± 0.3^2	39.9 ± 0.3
	Dai-saiko-tô	1062 ± 20^a	42.7 ± 0.9	40.2 ± 0.4
	Keisi-bukuryô-gan	1040 ± 28^a	41.3 ± 0.9^b	39.8 ± 0.3
WKY	Control	967 ± 16	39.7 ± 0.9	41.0 ± 0.4
	Dai-saiko-tô	1003 ± 33	42.0 ± 1.5	41.7 ± 0.9
	Keisi-bukuryô-gan	936 ± 45	38.4 ± 1.9	41.0 ± 0.6

^ap < 0.025, ^bp < 0.001 significant difference from Control in SHRsp

¹p < 0.025, ²p < 0.001 significant difference from Control in WKY

Table II Effects of Dai-saiko-tô and Keisi-bukuryô-gan on deformability, fragility, surface charge, ATP level and membrane lipids of erythrocytes.

	Deformability (μ)	Hypotonic hemolysis (%)	ATP (μ mole/ 10^{10} RBC)	RBC membrane cholesterol (mg/ 10^{10} RBC)	Electrophoretic mobility (μ m/sec/v/cm)
SHRsp					
Control	6.80 $\pm$ 0.07 ²	27.7 $\pm$ 1.6	0.255 $\pm$ 0.007 ¹	0.804 $\pm$ 0.040	1.94 $\pm$ 0.02
Dai-saiko-tô	7.15 $\pm$ 0.08 ^b	32.5 $\pm$ 1.6	0.281 $\pm$ 0.010 ^a	0.793 $\pm$ 0.012	1.96 $\pm$ 0.01
Keisi-bukuryô-gan	7.03 $\pm$ 0.06 ^a	37.0 $\pm$ 2.8 ^b	0.283 $\pm$ 0.006 ^b	0.775 $\pm$ 0.013	1.93 $\pm$ 0.02
WKY					
Control	7.15 $\pm$ 0.08	21.7 $\pm$ 2.3	0.312 $\pm$ 0.018	0.822 $\pm$ 0.018	2.00 $\pm$ 0.03
Dai-saiko-tô	6.94 $\pm$ 0.17	26.6 $\pm$ 0.6	0.329 $\pm$ 0.004	0.835 $\pm$ 0.019	2.03 $\pm$ 0.02
Keisi-bukuryô-gan	7.34 $\pm$ 0.07	28.9 $\pm$ 2.5	0.367 $\pm$ 0.012	0.814 $\pm$ 0.032	2.03 $\pm$ 0.01

^a p <0.05, ^b p <0.01 significant difference from Control in SHRsp¹ p <0.05, ² p <0.01 significant difference from Control in WKY

比べて低下傾向を示すが、大柴胡湯、桂枝茯苓丸の投与による変化は認められなかった。

SHRspの赤血球泳動速度はWKYに比べてやや遅い傾向が見られ、表層の負荷電の減少が認められたが、大柴胡湯、桂枝茯苓丸投与による影響はSHRsp, WKY共に見られなかった。

考 察

高血圧症に有効な漢方薬についての臨床報告はしばしば見られるが、それらの薬理効果やその作用のメカニズムについての基礎的研究はほとんどなされていない。

本研究の結果は、桂枝茯苓丸や大柴胡湯の投与がSHRspの血圧上昇を明らかに抑制することを示している。これらの処方薬の降圧作用のメカニズムについてはまだ明らかでないが、桂枝茯苓丸も大柴胡湯もWKYの血圧に対しては全く作用せず、SHRspにおける血圧上昇の有意な抑制効果が3週間以上の投与によって得られていること、またこれらの投与を6週間継続しても200 mmHg以下には低下していないことなどから、これらの漢方薬の降圧作用には明らかな限界があり、降圧利尿剤や β 遮断剤のような西洋医学での高血圧治療薬とは異なる作用機作によって血圧上昇が抑制されている可能性が推測される。

一方、SHRspにおける赤血球数及びヘマトクリット値の増加や赤血球膜の異常については、血圧上昇のメカニズムとの関連性において注目され、さまざまな角度から検討されている。^{12,13)}本研究でも、

SHRspではヘマトクリット値はWKYに比べて著しく上昇しており、また赤血球変形能も明らかな低下を示している。ヘマトクリット値や赤血球変形能は血液粘度を支配する極めて重要な因子であり、末梢血流抵抗を介して血圧にも直接関連する可能性が指摘されている。¹³⁾大柴胡湯、桂枝茯苓丸の投与は、SHRspの赤血球数、ヘマトクリット値の上昇を抑制し、赤血球変形能の明らかな改善をもたらしており、これらの変化は血圧上昇の抑制に重要な役割を果たしていると思われる。SHRspの赤血球では、ATPレベルがWKYに比べて有意に減少しており、大柴胡湯、桂枝茯苓丸はATPレベルの増加をもたらしている。桂枝茯苓丸による赤血球変形能の改善作用に関する私どもの研究結果¹⁴⁾では、変形能の改善は必ずしもATPレベルの上昇にはよらないことを確認しているが、本研究におけるSHRspラットの赤血球変形能の改善は、ATPレベルの上昇による可能性が大きいと思われる。

また、本研究で得られたSHRspの赤血球膜コレステロールの低下や低張溶血率の亢進などの結果は家森らの既報^{6,7)}と良い一致を示している。このSHRspの低張溶血率の亢進は、赤血球膜コレステロール量の減少による可能性が指摘されているが、桂枝茯苓丸を投与したSHRspの低張溶血率が対照SHRspに比べて有意に亢進しているのに対して、赤血球膜コレステロール量は有意の低下を示しておらず、また、他の群の溶血率と赤血球膜コレステロール量との間にも相関性は認められていない。したがって、低張溶血率の亢進を赤血球膜コレステロール量の変化のみで説明することはできないように思

われる。

大柴胡湯、桂枝茯苓丸によるこれらの赤血球に対する作用がどのようなメカニズムによって得られるかについては現在まだ明らかではなく、また降圧作用の力価も reserpine や hydralazine のような西洋薬¹⁵⁾ほど強いものではないが、赤血球変形能の改善など赤血球側の変化による末梢循環の血流改善などを介して、高血圧症に伴うさまざまな愁訴の改善をもたらすことが推測される。

結 論

1) SHRsp に大柴胡湯あるいは桂枝茯苓丸を投与すると、投与開始3週目から有意の血圧低下が認められた。

2) SHRsp の赤血球数は WKY に比べて著明な増加を示すが、大柴胡湯あるいは桂枝茯苓丸の投与によって、赤血球数の有意な減少が見られた。

3) SHRsp の赤血球変形能は WKY に比べて明らかな低下を示すが、大柴胡湯あるいは桂枝茯苓丸の投与によって赤血球変形能の有意な増加が認められた。

4) SHRsp の赤血球 ATP レベルは、WKY に比べて低下を示すが、大柴胡湯あるいは桂枝茯苓丸の投与によって有意の増加が認められた。

文 献

- 1) 荻原俊男, 檜垣実男, 熊原雄一: 各科領域における漢方剤の使い方. 臨床医薬情報, 臨時増刊, 46-48, 1983
- 2) Okamoto, K. and Aoki, K.: Developmental of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jap. Circulat. J.* **27**, 282-293, 1963
- 3) Yamori, Y., Nagaoka, A. and Okamoto, K.: Importance of genetic factors in stroke. An evidence obtained by selective breeding of stroke-prone and resistant SHR. *Jap. Circulat. J.* **38**, 1095-1100, 1974
- 4) Jones, A.W.: Altered ion transport in vascular smooth muscle from spontaneously hypertensive rats. *Circulat. Res.* **33**, 563-572, 1973
- 5) Friedman, S.M. and Friedman, C.L.: Cell permeability, sodium transport, and the hypertensive process in the rat. *Circulat. Res.* **39**, 433-441, 1976
- 6) Yamori, Y., Nara, Y., Horie, R. and Ohtaka, M.: Ion permeability of erythrocyte membrane in SHR. *Jap. Heart J.* **18**, 604-605, 1978
- 7) Yamori, Y., Horie, R., Handa, H., Akiguchi, I. and Nara, Y.: Further studies on the mechanism of stroke in stroke-prone SHR. Decrease in regional cerebral blood flow and catecholamine depletion. *Jap. Heart J.* **18**, 539-540, 1978
- 8) Nagasawa, T., Sarashi, A. and Kojima, S.: A capillary tube centrifugal method for the measurement of cellular deformability. *Osaka city Med. J.* **26**, 1-6, 1980
- 9) Nagasawa, T.: Deformation of transforming red cells in various PH solutions. *Experientia* **37**, 977-978, 1981
- 10) Zeiller, K. and Hannig, K.: Evidence for specific organ distributions of lymphoid cells. *Hoppe-seyler's Z. Physiol. chem.* **352**, 1162-1167, 1971
- 11) 柴田 進, 武元良整, 柴田和子: Iatrosan の赤血球膜脂質分析への応用. *Clinical Laboratory* **21**, 837-844, 1980
- 12) Iritani, N., Fukuoka, E., Nara, Y. and Yamori, Y.: *Atherosclerosis*. **28**, 217-222, 1977
- 13) Susik, D., Mandal, A. K. and Kentera, D.: Hemodynamic effects of chronic in hematocrit in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* **6**, 262-266, 1984
- 14) 織田真智子, 阿部博子, 有地 滋: 赤血球変形能に対する桂枝茯苓丸の作用. 和漢医薬学会誌 **1**, 243-248, 1984
- 15) Feld, L.G., Van Liew, J.B. and Boylan, J.W.: Long-term effects of antihypertensive therapy on mortality, renal function and morphology in the spontaneously hypertensive rat.