

慢性腎不全ラットの腎外性ホルモンに対する温脾湯の効果

鄭 平東, 横澤 隆子, 大浦 彦吉*

富山医科薬科大学和漢薬研究所臨床利用部門

Effect of Onpi-tô on extrarenal hormones in rats
with chronic renal failure

Ping Dong ZHENG, Takako YOKOZAWA and Hikokichi OURA*

*Department of Applied Biochemistry, Research Institute for Wakan-Yaku,
Toyama Medical and Pharmaceutical University**(Received March 17, 1986. Accepted April 24, 1986.)*

Abstract

The effect of orally administered Onpi-tô (Wen-Pi-Tang) on extrarenal hormones was determined in chronically renal failure rats induced by an adenine feeding. The results obtained were as follows. (1) Serum parathyroid hormone (C terminal) level was not changed significantly but the calcitonin level increased in uremic rats. The rats administered the Onpi-tô exhibited a significant decrease in the calcitonin level. (2) Serum thyroid stimulating hormone, triiodothyronine, and thyroxine levels in uremic rats were lower than those in normal rats. However, the findings of moderate change in thyroid stimulating hormone have led to postulate a primary thyroid disease. A significant increase in the thyroxine level 24 days after treatment of Onpi-tô was observed, whereas thyroid stimulating hormone and triiodothyronine levels were unchanged. (3) Serum testosterone level in uremic rats was significantly lower than that in normal rats, whereas luteinizing hormone level was maintained to be either normal or decreased in uremic rats. The group administered the Onpi-tô produced an increase in the serum testosterone. (4) These results might indicate that Onpi-tô has a certain beneficial effect on alleviating hormonal abnormalities in uremia.

Key words chronic renal failure, Onpi-tô, calcitonin, T_3 , testosterone, rat**Abbreviations** PTH-C; parathyroid hormone (C terminal), TSH; thyroid stimulating hormone, T_3 ; triiodothyronine, T_4 ; thyroxine, LH; luteinizing hormone, Onpi-tô (Wen-Pi-Tang); 温脾湯

緒 言

腎臓はホルモンの標的器官だけでなく、同時に種々のホルモンを産生分泌し、さらには種々のホルモンの分解ないし不活性化および尿中排泄を行なっ

ている。腎機能障害により、腎の機能が失われ、内分泌異常をきたすことは多くの研究で明らかになっている。

一般に、慢性腎不全にみられる内分泌異常として¹⁾、副甲状腺異常がもっとも古くから研究され、二次性副甲状腺機能亢進症を合併していることが多

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

い。この直接の原因として、血中カルシウムイオンの低下にあり、慢性腎不全患者では低カルシウム血症を示すことが多いにもかかわらず、血中カルシトニン²⁾は増加している。一方、血中甲状腺ホルモンは低値を示すことが多く、TRH-TSH 反応も低下遅延している。さらに下垂体-性腺系の機能異常も認められ、男性では血中テストステロン分泌の著しい低値を示すことが知られている。

先に著者らは慢性腎不全モデルラットを作製し²⁾、温脾湯の尿毒症代謝改善作用³⁾並びに延命効果⁴⁾を認め、さらに腎性ホルモンに対する効果についても検討した⁵⁾。その結果、腎不全の初期においては温脾湯がレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系を亢進し、末期では逆に一部抑制が見られ、プロスタグランジンEの増加も認められた。本論文ではさらに、PTH、カルシトニン、甲状腺ホルモン、LH、テストステロンに対する温脾湯の効果について検討したので、報告する。

材料と方法

(1) 動物：Wistar系雄性ラット(初体重250 g前後)を用い、前報²⁾同様0.75%アデニン含有18%カゼイン食(アデニン投与量約400 mg/kg体重/日)で6日、12日、24日ないし36日間飼育した。正常ラットは18%カゼイン食で飼育した。本実験で用いた動物の血清尿素窒素、クレアチニン、カルシウム、無機リン値はTable Iのごとくアデニン投与日数の経過とともに腎不全状態が進行していることを示している。

(2) 温脾湯エキスの調製法：エキス調製法は前報³⁾同様中国伝統煎出法に従い、まず炮附子、*Aconitum japonicum* THUNB., *Aconiti Japonici* Tuber (中国産) 9gを100℃、30分間水で煮沸した後、浮遊物を除き、次に薬用人参、*Panax ginseng*

C.A. MEYER, *Ginseng Radix* (韓国産錦山) 3g, 甘草, *Glycyrrhiza glabra* L.var. *glandulifera* REG. et HERD., *Glycyrrhizae Radix* (中国産西北西正) 5g, 乾姜, *Zingiber officinale* ROSC., *Zingiberis Rhizoma* 3gを加えてさらに100℃、30分間加熱し、最後に大黃, *Rheum* sp., *Rhei Rhizoma* (中国産四川雅黄) 15gを加えて5分間加熱した後、濾液を凍結乾燥し、褐色の粉末を乾燥和漢薬当たり約20%の収率で得た。

(3) 試料の投与方法：温脾湯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自由に飲水させた。投与量は飲水量から算出し、約30 mg/ラット/日であった。対照群には水を与えた。

(4) 測定方法：可及的に無刺激に保ったラットをギロチン法にて屠殺し、軀幹血を冷却試験管内に採取し、1群5-6匹の血清を同量ずつ混合し、測定した。血清PTH C末端ペプチド(PTH-C)⁶⁾、カルシトニン⁷⁾、TSH⁸⁾、LH⁹⁾、テストステロン¹⁰⁾はRIA二抗体法、総T₃¹¹⁾はRIA固相法、総T₄¹²⁾はRIA PEG法でそれぞれ測定した。

結 果

1. 非下垂体系ホルモン

血清PTH-Cとカルシトニン値の測定結果をFig. 1に示した。腎不全ラット(対照群)のPTH-Cは正常ラットに比し、6日目では20%低下し、12日目では逆に20%増加したが、その後24日目では再び低下し、36日目では正常値に回復するパターンが得られた。次に温脾湯投与群では対照群と比較した場合、著しい変化を認めなかったが、6日、24日目では8%増加、12日目では逆に11%低下し、PTH-Cの低い時期(6日、24日目)ではわずかの上昇、PTH-Cの高い時期(12日目)では逆にわずかの低

Table I Biochemical feature.

Adenine feeding period (day)	Urea-N (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	P (mg/dl)	Ca (mg/dl)
0	17.8 (100)	0.63 (100)	9.14 (100)	8.86 (100)
6	41.6 (234)	0.99 (157)	9.36 (102)	9.30 (105)
12	53.4 (300)	0.95 (151)	7.96 (87)	8.73 (99)
24	204.1 (1147)	2.32 (368)	13.21 (145)	7.50 (85)
36	231.9 (1303)	2.80 (444)	17.65 (193)	8.05 (91)

Figures in parentheses are percentages of the control value.

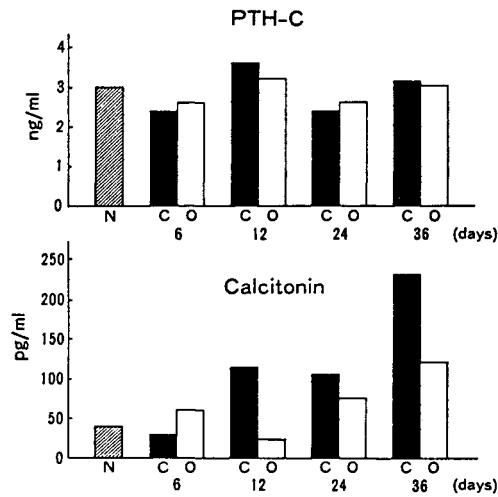


Fig. 1 PTH-C and calcitonin levels in blood.
N, normal rat; C, CRF rat (control group);
O, CRF rat (Onpi-t6-treated group).

下を示した。

一方、腎不全ラットのカルシトニン値は正常ラットと比較した場合、6日目では25%低下の後、12日目から著明に上昇し、12日、24日、36日目ですれぞれ3.1倍、2.9倍、6.2倍と異常高値を示した。温脾湯投与群では対照群に比し6日目では逆に約2倍上昇していたが、12日、24日、36日目ではそれぞれ79%、29%、48%低下し、特に12日では約1/2にまで著しく低下した。したがって温脾湯はカルシトニンをPTH-Cと同様に血中濃度の低いときは上昇させ、高いときは低下させる結果が得られた。

2. 下垂体-甲状腺系ホルモン

Fig. 2 に示すごとく、腎不全ラットの血清TSHは6日目より低下し、正常群より21%低い値を示した。24日目でも正常群より26%低下したが、36日目では逆に35%上昇していた。温脾湯投与により6日、12日、24日目ですれぞれ対照群に比し13%、32%、33%増加し、正常値への回復傾向を示したが、36日ではほとんど変化しなかった。

一方、 T_3 値は腎不全の進行とともに低下し、12日、24日、36日目ではそれぞれ正常群に比し35%、46%、46%低下した。 T_4 は6日、12日ではほとんど正常値と差異が認められないのに対し、 T_3 より遅れて24日より著しく（正常値の約1/2）、36日

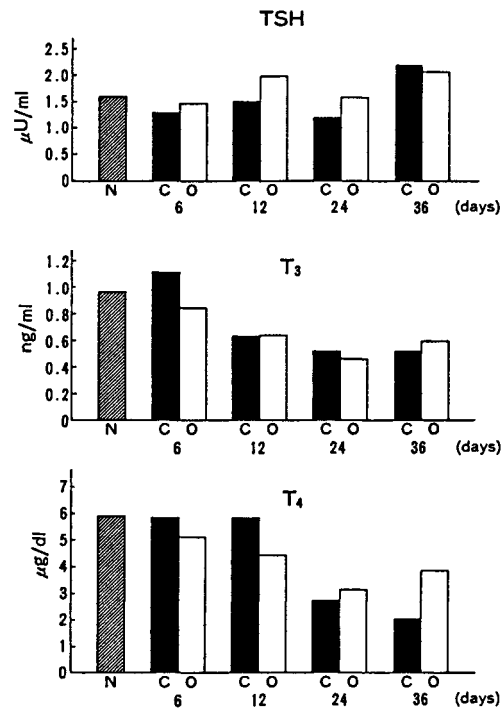


Fig. 2 TSH, T_3 and T_4 levels in blood.
N, normal rat; C, CRF rat (control group);
O, CRF rat (Onpi-t6-treated group).

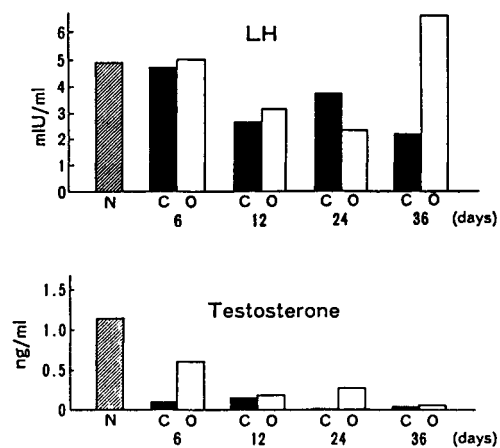


Fig. 3 LH and testosterone levels in blood.
N, normal rat; C, CRF rat (control group);
O, CRF rat (Onpi-t6-treated group).

目では約 $\frac{1}{2}$ にまで低下した。他方、温脾湯投与により T_3 は対照群に比し6日目で26%，12日目で差なく、24日目で12%低下、36日目では逆に15%上昇した。 T_4 は6日、12日目でそれぞれ12%，24%低下し、24日、36日目では逆にそれぞれ15%，90%上昇する結果を得た。また温脾湯投与36日目ではTSHはさしたる変化を認めないのに対し、 T_4 が約2倍に上昇していることから、下垂体と甲状腺との間には相関性を認めなかった。

3. 下垂体-性腺系ホルモン

LH値はFig. 3に示すごとく、腎不全ラットでは正常ラットに比し、6日目ではほとんど変化が見られなかったのに対し、12日では47%低下、24日ではやや緩和したけれども24%低下、36日では再び低下し、正常値より57%低い値を示した。これに対し、温脾湯投与群では12日で対照群に比し19%上昇したが、24日では逆に38%低下した。しかし36日目では逆に約3.1倍と著しく上昇し、正常値より高い値を示した。

一方、テストステロン値はFig. 3に示すごとく、腎不全ラットでは6日目で激的に減少し(90%)、この傾向は12日目でも同様であったが、24日、36日目ではさらに低下し、正常値のそれぞれ1%，3%の低値を示し、睾丸の間質細胞数の減少を認める結果も得られている(未発表データ)。しかし温脾湯投与によってテストステロン値は6日目では対照群に比し約5.5倍と回復し、12日目では20%の増加、さらに24日目では対照群の23倍高い値を示したが、36日目では温脾湯の作用はもはや認められなかった。

以上の実験結果から、TSHと T_3 、 T_4 およびLHとテストステロンとの相関関係は認められなかった。

考 察

慢性腎不全患者の血中PTH並びにカルシトニン濃度が増加しているとの報告は数多くみられ^{13,14)}低カルシウム、高リン酸血症発症機序因子として、ビタミン D_3 とともにこれらホルモンの動態が注目されている。

一方、実験的慢性腎不全ラット(Platt変法)では血清カルシウム、無機リン値が正常ラットとほとんど変化が見られないのに、血漿PTHの著明な上昇とカルシトニンの増加をOnishiら¹⁵⁾は報告している。本実験で用いたアデニン誘発慢性腎不全ラットはTable Iに示すごとく24日以降高リン酸、低カ

ルシウム血症を呈したが、血中PTH-C及びカルシトニンの測定値(Fig. 1)から明らかなごとく、PTH-Cは著明な変化を示さないのに反し、カルシトニンは12日以後、36日で正常値に比し3.1~6.2倍に上昇した。高リン酸血症の成因については尿細管におけるリン酸の再吸収機構が関与しているか否かは不明である。しかしながら温脾湯の作用はPTH-Cに対してわずかな変動しか示さないのに対し、カルシトニンは12日以後血中濃度を著しく低下させ、正常化傾向を示した。温脾湯は24日、36日投与でそれぞれ21%，24%低下し、先に報告した結果と同様に高リン酸血症の改善作用を有することから、高リン酸血症の改善にカルシトニンが関与している可能性が示唆された。

腎不全患者の下垂体-甲状腺系ホルモンは一般に T_3 は有意に低下し、 T_4 は低下傾向、TSHは一部で上昇し、TRHに対する反応も低下し、遅延型を呈することが多い¹⁾。これらの結果より、慢性腎不全での下垂体-甲状腺系の異常は、1) 間脳-下垂体機能異常、2) 甲状腺機能異常、3) 末梢での T_4 から T_3 への転換障害などが考えられている¹⁶⁾。

Limら¹⁷⁾はPlatt法を用いて腎摘出後4、5、6週で血清TSH、 T_4 は正常ラットに比し、有意に低下し、 T_3 は6週のみ低下することを報告している。他方、本実験で用いた腎不全ラットの場合は、 T_3 は12日以後著明に低下し、 T_4 は24日以後著明に低下するのに反し、TSHは24日で低下し、36日では逆に正常値以上に増加する結果が得られ(Fig. 2)、TSHと T_3 、 T_4 との相関性は認められなかった。また T_3 は T_4 に先んじて12日から低下することから、 T_4 から T_3 への転換障害が示唆された。これに対し、温脾湯は36日の T_4 値を著しく増加させ、わずかではあるが T_3 値も増加させた。しかし本実験で用いたラットは低アルブミン血症で T_3 、 T_4 値が、真の甲状腺機能を表わしているか否かについてはいまだ不確定要素が多いので、遊離の T_3 、 T_4 について検討しなければならない。

腎不全患者の下垂体-性腺系異常として、男性では女性化乳房、睾丸萎縮、インポテンツ、女性では無月経、異常出血などがみられる。血中FSH、LHは上昇傾向がみられ、その程度が高いほど血清テストステロン値は低下し、男性では精細胞形成不全が出現すると言われている¹⁾。

実験的腎不全雄性ラットでは腎切除後13週及び17週のLHは正常ラットに比し、有意な変化を示さないのに反し、テストステロンは13週で約 $\frac{1}{2}$ 、17週で約 $\frac{1}{3}$ に有意に低下することがSilvaら¹⁸⁾により報

告されている。

本実験で用いた腎不全ラットのテストステロン値は6日、12日で正常ラットに比し約90%低下し、24日、36日ではわずか1~3%しか認められなかった (Fig. 3)。他方、LHは12日、36日で正常群に比し約1/2に低下、24日では約25%低下した。しかしLHのこのような変化とはほとんど無関係に6~36日いずれの日数においても、テストステロン値の著明な低下を認めた。したがって、アデニン投与により原発性性腺機能低下が先行し、次いで下垂体の障害が認められた。温脾湯投与により6日でLHの著明な上昇が認められないのに対し、テストステロン値は対照群に比し5.5倍に上昇し、24日ではLHが約40%低下しているのに、テストステロン値は23倍上昇し、いずれも改善傾向を示した。しかし36日ではLHは温脾湯により約3倍増加し、代償的な反応が認められたが、もはやテストステロン値の回復は認められなかった (Fig. 3)。以上の実験結果から、TSHと T_3 、 T_4 においても下垂体-末梢組織の相関関係は認められず、温脾湯は下垂体を介さないで末梢組織に直接作用するものと考えられる。

本実験で用いた腎不全ラットの内分泌動態は、アデニン投与とともにカルシトニンの異常高値、12日以後における T_3 の低値、24日以後における T_4 の低値及びテストステロンの異常低値を示す特徴が明らかとなった。これに対し温脾湯はカルシトニンの異常高値の抑制、24日以後における T_4 値の上昇、6日以後24日までのテストステロン値の上昇などが認められ、いずれも腎不全状態におけるホルモン異常の一部改善が明らかとなった。このことは先に報告した腎不全の高窒素血症の代謝改善^{3,4)}ひいては延命効果⁴⁾の一因になっているものと考えられる。

結 論

アデニン誘発慢性腎不全ラットでは、(1)血中PTH-Cは著しい変化を認めなかったが、血中カルシトニンの著しい増加が認められ、温脾湯投与によりPTH-Cは変化しなかったが、カルシトニンは著明に低下した。(2)TSH、 T_3 、 T_4 は低値を示したが、TSHの変化は緩やかであったので、原発性甲状腺機能障害の存在が示唆された。温脾湯投与によりTSH、 T_3 は著しい変化を認めなかったが、 T_4 は24日以後増加した。(3)LHの変化に比し、血中テストステロン値は著しく低下し、温脾湯投与により血中テストステロン値は対照群に比し著しい増加が

観察された。(4)温脾湯によって腎不全状態におけるホルモン異常の一部改善作用が明らかとなった。

文 献

- 1) 浅野 泰：慢性腎不全，“新臨床腎臓病学”（武内重五郎編），南江堂，東京，p123-125，1985
- 2) Yokozawa, T., Zheng, P.D., Oura, H. and Koizumi, F.: Animal model of adenine-induced chronic renal failure in rats. *Nephron*, in press
- 3) 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
- 4) 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
- 5) 鄭 平東，横澤隆子，大浦彦吉，中田瑛浩：慢性腎不全ラットの腎組織血流量，血圧，並びにホルモンに対する温脾湯の効果。和漢医薬学会誌3，37-44，1986
- 6) Mallette, L.E., Tuma, S.N., Berger, R.E. and Kirkland, J.L.: Radioimmunoassay for the middle region of human parathyroid hormone using an homologous antiserum with a carboxy-terminal fragment of bovine parathyroid hormone as radioligand. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 54, 1017-1024, 1982
- 7) Okada, Y., Morimoto, S., Onishi, T., Tanaka, K., Tsuji, M., Kumahara, Y., Tsushima, S., Nakazawa, N., Ogawa, H. and Sakakibara, S.: Radioimmunoassay of human calcitonin using labeled (Asu^{1,7})-human calcitonin analogue. *Endocrinol. Japon.* 25, 617-622, 1978
- 8) 伴 良雄，渡辺恭行，長島則夫，飯野史郎：Radioimmunoassayによる血中TSH測定法の基礎的・臨床的検討。ホルモンと臨床21，1289-1292，1973
- 9) 楠田雅彦，中村正彦，尾上敏一：二抗体法Radioimmunoassayによる血中FSH，LHの測定。産婦人科の世界25，543-551，1973
- 10) 関 克義，加藤宏一：¹²⁵I-testosteroneを標識ホルモンとしたtestosterone radioimmunoassayの臨床応用。ホルモンと臨床31，463-465，1983
- 11) 満間照典：甲状腺ホルモンTriiodothyronine (T_3)のRadioimmunoassay。最新医学28，1983-1989，1973
- 12) 増岡忠道，増田由美，三本重治： T_3 RIA (PEG)・キットの基礎的検討。臨床と研究54，1027-1029，1977
- 13) Silva, O.L., Becker, K.L., Shalhoub, R.J., Snider, R.H., Bivins, L.E. and Moore, C.F.: Calcitonin levels in chronic renal disease. *Nephron* 19, 12-18, 1977
- 14) Nielsen, H.E., Christensen, C.K. and Olsen, K.J.: Serum calcitonin in patients with chronic renal disease. *Acta Med. Scand.* 205, 615-618, 1979
- 15) Onishi, T., Bone III, H.G., Catherwood, B.D. and Deftos, L.J.: A rat model for hormone and mineral changes in chronic renal failure. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 174, 193-197, 1983
- 16) 浅野 泰：腎と甲状腺ホルモン。腎と透析6，679-687，

- 1979
- 17) Lim, V.S., Fang, V.S., Katz, A.I. and Refetoff, S. : Thyroid dysfunction in chronic renal failure. A study of the pituitary-thyroid axis and peripheral turnover kinetics of thyroxine and triiodothyronine. *J. Clin. Invest.* **60**, 522-534, 1977
- 18) Silva, A. C., Ribeiro, R. C. J., Albuquerque, R. H., Beraldo, P.S.S., Neves, F.A.R., Martinelli, J.G. and Campos, G.P. : Effect of experimentally induced renal failure upon the fertility in rats. *Nephron.* **36**, 252-256, 1984