

高血圧ラット MHR あるいは SHR の血圧に及ぼす 二種の漢方方剤とドパミン作動薬の効果

荒川 和男*, 蒲谷 浩司, 丁 宗鉄, 大塚 恭男

北里研究所附属東洋医学総合研究所

A study about two Kampo prescriptions and dopamine agonists on the hypertension of MHR or SHR

Kazuo ARAKAWA*, Kouji KABAYA, Jong-chol CYONG and Yasuo OTSUKA

Oriental Medicine Research Center of the Kitasato Institute

(Received December 26, 1986. Accepted February 12, 1987.)

Abstract

SHR and a new hypertensive model rat, MHR which we have previously described, were used in this study. The treatment of Ôren-gedoku-tô (OG) in drinking water or dopamine agonists made the hypertensive level of MHR fell significantly but not of SHR. And the treatment of Sitimotu-kôka-tô (SK) tended to inhibit the hypertension of SHR but not of MHR. The metyrapone treatment made the sensitivity of SHR to dopamine agonist increase and to SK decrease, which came to resemble MHR. It is suggested that MHR is appreciable for the analysis of the hypotensive effect of OG, while SHR will be appreciable for SK.

Key words hypertensive model, MHR, SHR, Ôren-gedoku-tô (Huang-Lian-Jie-Du-Tang), Sitimotu-kôka-tô (Qi-Wu-Jiang-Xia-Tang), antihypertensive activity, dopamine agonist

Abbreviations MHR, metyrapone and heat-stress induced mild hypertensive rat ; OG, Ôren-gedoku-tô (Huang-Lian-Jie-Du-Tang), 黄連解毒湯 ; SK, Sitimotu-kôka-tô (Qi-Wu-Jiang-Xia-Tang), 七物降下湯 ; DA, dopamine

緒 言

MHR (メチラポンと加熱ストレス処置による血圧上昇ラット) はステロイドの生合成阻害剤であるメチラポンと加熱ストレス (heat-stress) の約1カ月の処置により、緩和な高血圧状態 (150-170 mmHg) にしたラットであり、我々の開発した新しいモデルである¹⁾。MHR は従来の高血圧モデルでは証明することが難しいとされていた propranolol の抗高血圧作用を証明したほか、ドパミン作動薬に強い感受性を示してその投与により血圧は著しく下降した。そしてこの高血圧発症機構には中枢ドパミ

ン作動性ニウロンのドパミン放出に不全のあることが示唆されている¹⁾。

本態性高血圧症には高プロラクチン血症を伴うものがあり、これにはドパミン作動薬の投与により高プロラクチン血症が改善されるとともに、高血圧の改善される例²⁻³⁾のあることが知られている。それゆえこの高血圧の機構にはドパミン作動性神経系の関与が推定されるが、動物に適当なモデルのないことから十分な検討はなされていなかった。MHR はドパミン作動薬に感受性を示し、血圧調節機構におけるドパミン作動性神経系の関与を示すことから、高血圧症におけるドパミンの役割を検討するモデルとして期待される。

*〒108 東京都港区白金 5-9-1
9-1, Shirokane 5, Minato-ku, Tokyo 108, Japan

さて高血圧の臨床に用いられる漢方方剤で基礎的検討により抗高血圧作用の明らかにされたものは数少なく、⁴⁻⁶⁾作用機序にまで言及しているものは更に少ない。⁷⁾そこで今回高血圧に頻用される漢方方剤のうち黄連解毒湯と七物降下湯を MHR および自然発症高血圧ラット SHR に与えて両者の血圧に及ぼす効果を検討した。さらに両高血圧モデルラットに対するドパミン作動薬の効果を検討したところ興味深い知見が得られたので併せて報告する。

材料と方法

(1) 動物：Wistar 系雄性ラット (Shizuoka Laboratory Animal Center, SPF) および自然発症高血圧ラット SHR (Charles River, SPF) あるいは SHRSP (岡本より供与された) を使用した。6～7 週齢で購入し、恒温恒湿 (25℃, 50%) の動物室で 1 週間予備飼育の後 8 週齢から実験に用いた。このときラットの体重は Wistar で 200 g, SHR で 300 g, SHRSP で 200 g 程度であった。飼料 (日本

クレア, CE-2) および自動給水による水道水は自由に摂取させた。なお、飲料を 1% 食塩水とするときは給水瓶を用い、自動給水を停止した。

(2) 血圧測定と MHR の作成法：非観血的血圧測定法を用いた。すなわち 50℃ の温熱箱 (28 cm×43 cm×24 cm) にラットを 3 匹ずつ入れて 20 分間温熱負荷 (heat-stress) を与えた後、プレチスモ式血圧記録計 (植田製作所; USM-105) により最高血圧を測定した。この操作は毎日 1 回行い、血圧値が安定してからメチラポン投与と 1% 食塩水の摂取を開始した。Fig. 1 に heat-stress 処置、メチラポン投与並びに食塩水摂取により生ずるラットの血圧変化を示した。ラットは heat-stress 処置のみによつては高血圧状態を維持しないが、メチラポン投与と食塩水摂取により 20 日以上を要して高血圧状態となった (MHR)。¹⁾一方 SHR には 45℃, 8 分の緩和な温熱を与えたのち血圧を測定し、メチラポン投与を行なう場合にも食塩水は摂取させなかった。

メチラポンは用時蒸留水に溶解し、午後 5 時頃 200 μ g/200 μ l/rat を毎日皮下投与した。

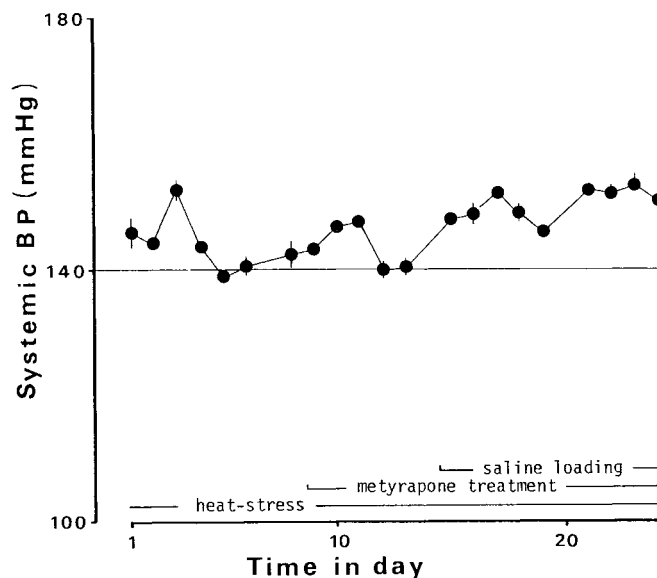


Fig. 1 The development of hypertension of MHR.

Rats were given heat-stress (50℃, 30 min/day) every day. When only this treatment was given, the level of systemic blood pressure (BP) decreased in order to become accustomed to the stress. Then metyrapone (200 μ g/rat/day) was started to treat subcutaneously every day. And saline was loaded for making the hypertensive level of MHR high.

(3) 黄連解毒湯および七物降下湯エキスの作成と投与方法：黄連解毒湯は10日分を1単位として煎出した。すなわち黄連15 g, 黄芩30 g, 黄柏15 g, 梔子20 g 計80 gを2 lの水で3回煎出し, 100 meshの篩で濾過した後凍結乾燥し, エキス約24 gを得た。MHRに給水瓶で与える場合はエキス10 mg/mlの水溶液を作成した。摂取量は約100 ml/kg/dayであったのでエキス投与量は約1 g/kg/dayとなった。七物降下湯は同様に5日分(当帰, 川芎, 芍薬, 地黄, 黄耆各15 g, 釣藤20 g, 黄柏10 g)の熱水抽出液を凍結乾燥し, 得られたエキスを10 mg/mlの溶液とし給水瓶にて動物に与えた。このときラットの摂取量は約90 ml/kg/dayであったのでエキスとしては約0.9 g/kg/dayの投与量に相当した。

(4) ドパミン作動薬の作用：MHRあるいは自然発症高血圧ラット SHRの血圧に及ぼすドパミン作動薬の影響を調べた。

l-dopa 20 ng/kgはdopa脱炭酸酵素阻害剤 carbidopa 100 mg/kg経口投与の140分後に腹腔内投与してその60分後に血圧を測定した。また bromocriptine 5-10 mg/kgは経口投与の180分後に血圧を測定した。測定は6日間行ない, その間メチラポンと heat-stress 処置を継続して行ない, ドパミン作動薬の投与は毎日行なった。1群を5-6匹とした。

使用薬物：黄連 *Coptis japonica* (Thumb.) MAKINO var. *dissecta* (和産新潟), 黄芩 *Scutellaria*

baicalensis GEORGI (中国河北省産尖芩), 梔子 *Gardenia jasminoides* (台湾産水梔子), 当帰 *Angelica acutiloba* KITAGAWA (大和当帰), 芍薬 *Paeonia lactiflora* PALL. (和産赤芍), (乾)地黄 *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) LIBOSCH. var. *hueichingensis* CHAO et SCHIH (中国産懷慶地黄), 黄耆 *Hedysarum polybotrys* HAND. -MAZZ. (中国甘肅省南部産晋耆), 川芎 *Cnidium officinale* MAKINO (和産北海道), 釣藤 *Uncaria sinensis* (OLIV.) HAVIL. (中国産)(以上内田和漢薬), 黄柏 *Phellodendron amurense* RUPRECHT (九州産)(栃本天海堂), metyrapone(2-methyl-1, 2-di-3-pyridyl-1-propanone), *l*-dopa, 6-hydroxydopamine, bromocriptine (以上Sigma), haloperidol (大日本製薬), methylatropine (東京化成), carbidopaは三共株式会社から供与された。また carbidopa, bromocriptineは0.5% CMC-Naに用時懸濁して使用した。

結 果

1. メチラポンのSHRの血圧に及ぼす影響

18週齢のSHRにメチラポンを16日間連日投与(200 μ g/rat/day, s.c.)し, 緩和な温熱を与え(45°C, 8分)て血圧を測定したところ, SHRの血圧上昇曲線の度合いは強められた(Fig. 2)。そこでこのメチラポンを投与したSHRを以下M・SHRと呼んで区別する。なおこのとき食塩水は摂取させ

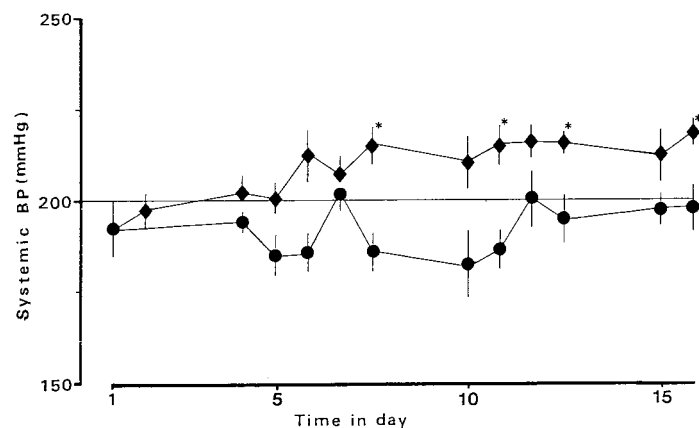


Fig. 2 The effect of metyrapone treatment on the development of hypertension of spontaneously hypertensive rats (SHR).

Systemic blood pressure (BP) was measured after warming (45°C, 8 min). Metyrapone was given by 200 μ g/rat/day subcutaneously from the day 1. And saline was not loaded to them. ●: control, ◆: metyrapone treated SHR, *: $p < 0.01$, Significantly different from control. (n=5)

なかった。

2. ドパミン作動薬の作用

方法(5)に従い carbidopa (100 mg/kg, p.o.) 処置下生理学的用量 (20 ng/kg, i.p.) の *l*-dopa の投与, あるいは bromocriptine (10 mg/kg, p.o.) の

みの連日投与を行なったところ, MHR の高血圧は著しく抑制された (Fig. 3)。一方, bromocriptine (5 mg/kg, p.o.) を SHR および M・SHR に連日投与したとき, 前者の高血圧は少しく抑制され, 後者の高血圧は著しく抑制された (Fig. 4)。

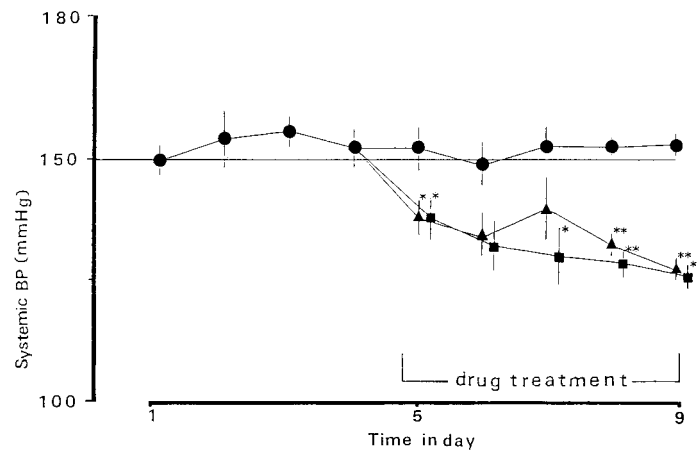


Fig. 3 The effect of dopamine agonists on systemic blood pressure (BP) in MHR.

At this stage MHR has been given all the metyrapone, heat-stress and saline treatment. BP was measured 60 min after *l*-dopa (▲ : 20 ng/kg/day, i.p.) treatment which was given 140 min after carbidopa (100 mg/kg/day, p.o.) treatment, or measured 180 min after bromocriptine (■ : 10 mg/kg/day, p.o.) treatment. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, Significantly different from control (●). (n=5)

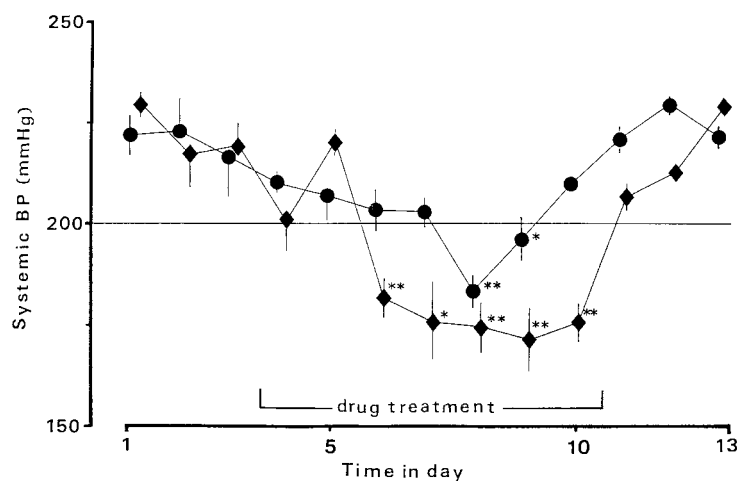


Fig. 4 The effect of bromocriptine on systemic blood pressure in SHR or metyrapone treated SHR (M・SHR).

M・SHR is the SHR treated metyrapone over 15 days and continued its treatment in this experiment. BP was measured 180 min after bromocriptine (5 mg/kg, p.o.) treatment. ● : SHR, ◆ : M・SHR, * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, Significantly different from the value before bromocriptine treatment. (n=5)

3. 黄連解毒湯の血圧に及ぼす影響

方法(3)に従い黄連解毒湯の連日投与を行なったところ、MHRの高血圧は著しく抑制された (Fig. 5)。一方、SHRSPに対しては高血圧発症前の7週齢から黄連解毒湯を0.5 g/kg/dayとなるように給水瓶で与え、予防および治療効果を検討した。対照

には水を与えた。37週齢まで観察し、血圧上昇曲線に及ぼす影響を調べたところ、27週齢において黄連解毒湯群の血圧値に抑制がみられたものの、SHRSPの成長に伴う血圧上昇曲線には黄連解毒湯投与群と水投与群との間で大きな差異が見られなかった (Fig. 6)。

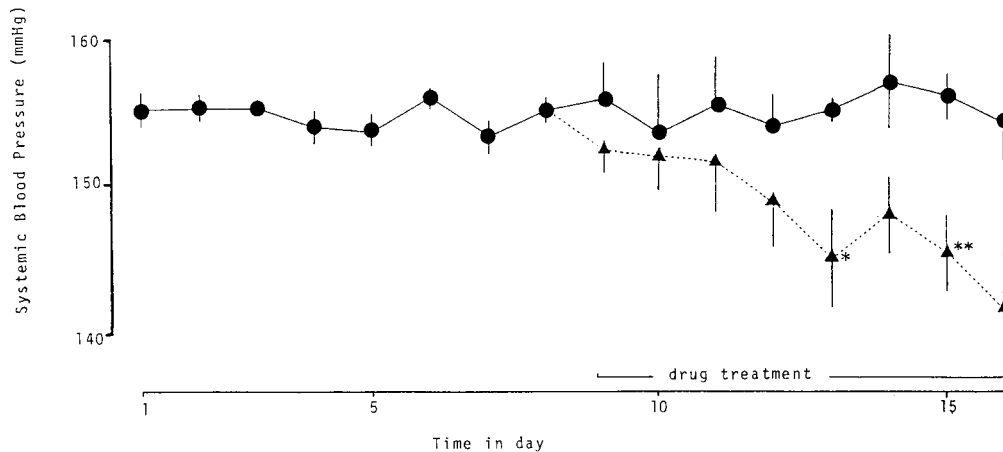


Fig. 5 The effect of Ôren-gedoku-tô treatment on systemic blood pressure in MHR.

At this stage MHR has been given all the metyrapone, heat-stress and saline treatment. Ôren-gedoku-tô dissolved in drinking water was given per os by 1 g/kg/day. ● : control, ▲ : Ôren-gedoku-tô, * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, Significantly different from control. (n=6)

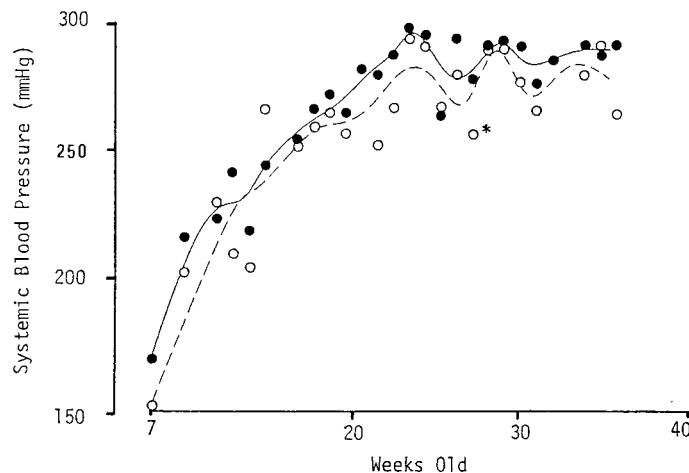


Fig. 6 The effect of Ôren-gedoku-tô on the development of hypertension of SHRSP.

Ôren-gedoku-tô dissolved in drinking water was given per os by 0.5 g/kg/day. ● and the solid line indicates a value of systemic BP of SHRSP control and the approximation curve of their points, and ○ and the interrupted line indicates the same as those for Ôren-gedoku-tô treated SHRSP. * : $p < 0.05$, Significantly different from control. (n=10)

4. 七物降下湯の血圧に及ぼす影響

同様に方法(3)に従い七物降下湯の連日投与を行なったところ、MHRの高血圧は影響を受けなかった (Fig. 7)。また25週齢の SHR に七物降下湯の連日

投与を行なったところ、高血圧を抑制する傾向が認められた。しかし M・SHR の高血圧に対しては影響がなかった (Fig. 8)。

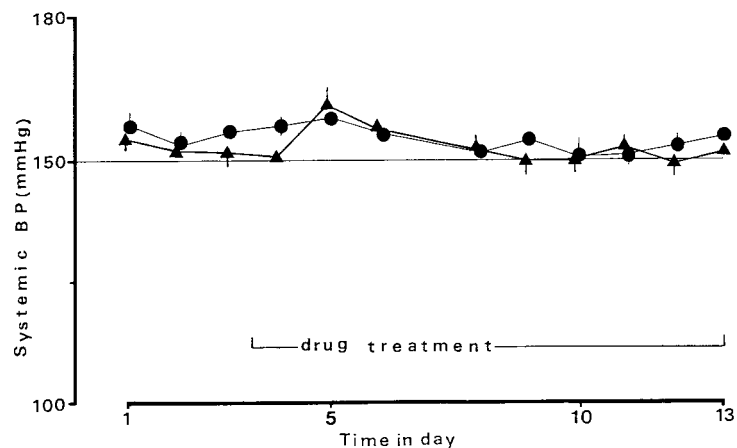


Fig. 7 The effect of Sitimotu-kôka-tô on systemic blood pressure in MHR.

At this stage MHR has been given all the metyrapone, heat-stress and saline treatment. Sitimotu-kôka-tô dissolved in drinking water was given per os by 0.9 g/kg/day. ● : control, ▲ : Sitimotu-kôka-tô. (n=5)

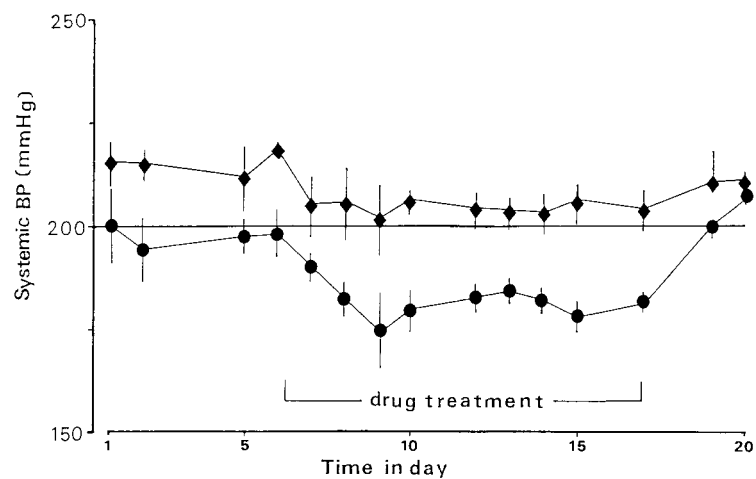


Fig. 8 The effect of Sitimotu-kôka-tô on systemic blood pressure (BP) in SHR (●) or M・SHR (◆).

M・SHR is the SHR treated metyrapone over 15 days and continued its treatment in this experiment. Sitimotu-kôka-tô dissolved in drinking water was given per os by 0.9 g/kg/day. (n=5)

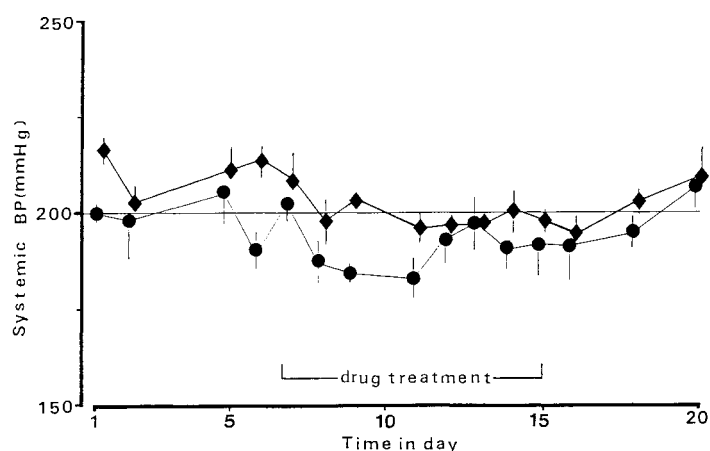


Fig. 9 The effect of Sitimotu-Kōka-tō without Tyōtō (*U. sinensis*) on systemic blood pressure in SHR (●) or M·SHR (◆).

M·SHR is the SHR treated metyrapone over 15 days and continued its treatment in this experiment. Sitimotu-kōka-tō without Tyōtō dissolved in drinking water was given per os by 0.9 g/kg/day. (n=5)

5. 七物降下湯去釣藤のSHRあるいはM·SHRの血圧に及ぼす影響

SHRあるいはM·SHRに七物降下湯釣藤の連日投与を行ない、七物降下湯の作用における釣藤の役割を検討した。するとSHRの高血圧に対する抑制傾向は認められなくなり、M·SHRの高血圧には影響がなかった (Fig. 9)。

考 察

我々はメチラポンとheat-stressの約1カ月の処置により高血圧状態としたラット (MHR) を開発した。MHRは脳内にドーパミンの著しい蓄積があり、その血圧はドーパミン作動薬 (carbidopa 処置下 *L*-dopa) の投与により著しく下降し、ドーパミン拮抗薬の影響を受けなかったことから、MHRの中樞ドーパミン作動性ニューロンにドーパミン放出不全のあることを推定した¹⁾。さらにこのドーパミン作動薬による血圧下降作用には、中樞のD₁ receptorが関与することを示唆する結果が得られている⁸⁾。

高血圧モデルには遺伝性モデルである自然発症高血圧モデルSHRのほか、腎臓に障害を与え鉍質コルチコイドを投与して作成するDOC/salineラットなどの多くのモデルがあり、各々薬物の降圧作用の検定に用いられている。しかしドーパミン作動薬に対して、MHRほど強い感受性を示して血圧の下降するモデルは知られていない。

そこでMHRあるいはSHRにドーパミン作動薬ま

たは漢方方剤黄連解毒湯、七物降下湯を与えて、これらのモデルの高血圧に及ぼす影響を比較観察した。このときSHRにメチラポンの連日処置を施したところ、SHRの血圧上昇は強められた (M·SHR) ことから、M·SHRに対する作用をも併せて検討した。

MHRおよびSHRを用いて今回得られた血圧下降作用に関する結果をTable Iにまとめた。

MHRはドーパミン作動薬であるbromocriptineあるいはcarbidopa処置下 *L*-dopaにより著しい血圧下降を生じた。また黄連解毒湯によってもMHRの高血圧は著しく抑制されたが、七物降下湯では影響を受けなかった。ゆえにMHRは黄連解毒湯に感受性のあるモデルであるといえる。一方SHRにおいてもドーパミン作動薬の投与により血圧の下降すること⁹⁾が報告されていたが、メチラポンを投与したときには、投与しないときに比べドーパミン作動薬に対する感受性が増加して、著しく血圧の下降する様子が観察された。また高血圧発症前からSHRに黄連解毒湯を与え、SHRの高血圧発症に対する予防効果を見たとき、27週齢でのみ血圧の抑制される様子がみられたものの、血圧上昇曲線に大きな影響は観察されなかった。そして25週齢のSHRに七物降下湯を与えたとき、その高血圧は抑制される傾向を示したが、M·SHRの高血圧は影響を受けなかった。ゆえにSHRに対するメチラポン投与は、ドーパミン作動薬に対する感受性を増加させる一方、七物降下湯に対する反応性を減弱させて、MHRの特

Table I The hypotensive effect of some agents on the hypertension of MHR, SHR or M·SHR (metyrapone treated SHR).

	<i>l</i> -dopa	bromocriptine	黄連解毒湯	七物降下湯
MHR	+++	+++	+++	—
SHR	—	+	—	++
M·SHR		+++		+

性に近づかせるものと考えられた。

こうした結果はMHRとSHRの薬物に対する感受性が異なっていることを示すとともに、これらのモデルにおける黄連解毒湯に対する感受性は、ドパミン作動薬に対する感受性と平行性のあることを示している。今回MHRの高血圧が黄連解毒湯の投与により抑制されたことは、MHRが黄連解毒湯の作用機序を解明するためのモデルとして有用であることを示すであろう。今後黄連解毒湯の作用におけるドパミン作動性ニューロンの関与を検討する必要がある。一方SHRはドパミン作動薬や黄連解毒湯に対してMHRほど感受性がなく、七物降下湯にはやや感受性を示し高血圧が抑制される傾向を示したことから、SHRは七物降下湯の作用機序を検討するためのモデルとして好ましいかもしれない。七物降下湯去鈞藤を与えたときSHRに対する高血圧の抑制傾向には減弱が見られたことから、この効果には鈞藤が大きな意味を持つことが示唆された。SHRの高血圧に対する黄連解毒湯の作用については、これまでいくつかの検討がなされているが^{5,10)}黄連解毒湯の投与がSHRの高血圧を持続的に抑制したという報告は未だに見られない。黄連解毒湯の作用をSHRに対して検討するには、同時にその実験手段を検討する必要があると思われる。

漢方薬の有効性や作用機序を解明するのに決まったよい方法というものはない。その場合、漢方の方証相対という言葉が示すように、方は1つの証に対応して用意されているという考えを1つの目安にすることはあながち無意味なこととは思われない。今回MHRの高血圧は黄連解毒湯により著しく抑制され七物降下湯により抑制されなかったが、SHRの高血圧は七物降下湯により抑制される傾向があつて黄連解毒湯により大きな影響を受けなかった。この結果は名々の方に対して実験モデル(証)を用意することが、不可能でないことを示しているように思われる。MHRは黄連解毒湯との関連において、SHRは七物降下湯との関連において更に薬理的な検討を行なったとき、各々の証の薬理的側面が

漸次明らかになってくるものと期待される。

謝 辞

本研究にご助言を賜った北里大学薬学部薬理学教室大石幸子教授に感謝致します。

文 献

- 1) 荒川和男：メチラポンと加熱ストレス処置による血圧上昇ラット(MHラット)とDopamine. 日薬理誌 86, 209-217, 1985
- 2) Stumpe, K.O., Kolloch, R., Higuchi, M., Kruck, F. and Vetter, H.: Hyperprolactinemia and antihypertensive effect of bromocriptine in essential hypertension. Identification of abnormal central dopamine control. *Lancet* ii, 211-214, 1977
- 3) Sowers, J.R., Myby, M. and Jasberg, K.: Dopaminergic control of prolactin and blood pressure: Altered control in essential hypertension. *Hypertension* 4, 431-438, 1982
- 4) 織田真智子, 阿部博子, 有地 滋, 鈴木有朋: 高血圧症ラットに対する大柴胡湯, 桂枝茯苓丸の作用. 和漢医薬学会誌 2, 452-456, 1982
- 5) 関根一郎, 七條和子, 西森一正, 太田 尚, 尾崎正若: 脳卒中易発症ラット(SHRSP)の高血圧病変に対する黄連解毒湯, 鈞藤散の効果. 和漢医薬学会誌 3, 71-76, 1986
- 6) 假野隆司, 石井権二, 黒部圭子, 芥川公昭, 安藤襄一: 鈞藤散と本態性高血圧症(臨床研究第1報: 血圧と血中脂質および電解質に及ぼす影響について). 和漢医薬学会誌 3, 123-128, 1986
- 7) 石井権二, 假野隆司, 安藤襄一: 鈞藤散の薬理作用(第一報): SHRにおける血圧と心臓及び脳での³H-nitrendipine結合に対する影響. 和漢医薬学会誌 2, 556-557, 1985
- 8) 荒川和男, 丁 宗鉄, 大塚恭男, 大石幸子: 新高血圧モデルラットMHR その3 アドレナリン作動薬の作用. 日薬理誌 88, 87, 1986
- 9) Judy, W.V., Watanabe, A.M., Henry, D.P., Besch, H. R. and Aprison, B.: Effect of *l*-dopa on sympathetic nerve activity and blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Circ. Res.* 43, 24-28, 1978
- 10) 桑木崇秀: 高血圧ラットに対する黄連解毒湯並に二三生薬の効果について. 日本東洋医学会誌 29, 105, 1978