

P-03

脳卒中易発症自然高血圧ラットの 高血圧病態及び脳内ムスカリン受 容体遺伝子発現に対する中国湖北 省産及び広東省産菊花の影響

○趙 琦^{1,2}、村上孝寿¹、榊原 巖³、松本欣三^{1,2}

¹富山大学 和漢医薬学総合研究所 複合薬物薬理学分野、
²富山大学 21世紀COEプログラム、³株式会社ツムラ 生薬・
資源研究所

【目的】第20回本大会において我々は釣藤散構成生薬の菊花が釣藤散と同様に抗高血圧作用を示すことを報告した。今回、脳卒中易発症自然高血圧ラット (SHR-SP) の高血圧病態及び、脳血流制御に関与する脳内ムスカリン受容体の遺伝子発現を指標に、フラボノール配糖体 linarin を多く含む中国湖北省産菊花 (K1) 及び含有量の極めて少ない広東省産菊花 (K2) を用い、産地の違いによる菊花の効果を差異を検討した。【材料と方法】実験動物：6週齢雄性 SHR-SP を用いた。薬物：K1 (収率：23.7%) 及び K2 (収率：26.5%) は常法に従って抽出した。各エキスは蒸留水に、参照薬ニカルジピン (NC；山之内製薬) は CMC-Na にそれぞれ懸濁し、実験期間中、飲水投与した。対照群には水道水を与えた。血圧・心拍数測定：非観血式自動血圧測定装置を用い、無麻酔下で尾部より測定した。脳卒中発症率及び死亡率：血圧実験終了後、薬物投与を再開した。その間、毎日、ラットの行動を観察して脳卒中発症及び死亡の有無を確認した。脳内ムスカリン性受容体遺伝子発現：血圧実験終了後、ラット全脳より全RNAを抽出し、半定量 RT-PCR 法によりムスカリン性受容体サブタイプ (M₁-M₅) の遺伝子発現量を測定した。【結果】体重変化に対する影響：血圧測定実験期間中、各群間で体重に有意な差はなかった。血圧上昇に対する影響：薬物投与開始前の各群の平均血圧は何れも約170 mmHg であった。薬物投与開始4週間後、対照群の平均血圧は約240 mmHg に上昇したが、K1, K2 (2 g/kg) 及び NC (100 mg/kg) 投与群では投与期間中の血圧上昇は抑制された。各薬物の効果は休薬により消失した。脳卒中発症率に対する影響：対照群では薬物投与再の3週間後に脳卒中発症例が認められ、9週間後には全例で発症した。対照群に比較して K1 及び K2 投与群の脳卒中発症率は低い傾向を示した。脳内遺伝子発現量：正常血圧ラットに比べ、SHR-SPでは脳内 M₃ 及び M₅ 受容体遺伝子発現量のみが有意に低下していた。一方、K1, K2 及び NC 投与群では M₃ 及び M₅ 受容体遺伝子発現量の回復が認められた。【考察】K1 及び K2 は何れも SHR-SP においてはほぼ同程度の抗高血圧作用及び脳卒中発症抑制効果を示したことから、これらの作用に関して両産地間の差は小さく、linarin の関与は低いと考えられた。また両菊花の作用にはムスカリン性 M₃ 及び M₅ 受容体発現の回復が関与する可能性が推測された。

P-04

神経系前駆細胞増殖促進活性を 有する和漢薬由来成分の探索

○矢部武士^{1,2,3}、平原博貴²、伊藤直樹³、永井隆之^{1,2,3}、山田陽城^{1,2,3}

¹北里大学 生命科学研究所、²北里大学大学院 感染制御科学府、³北里研究所 東洋医学総合研究所

【目的】ストレス負荷により、海馬歯状回での神経幹細胞 (NSC) や神経前駆細胞 (NPC) の増殖抑制や神経新生が低下することや抗うつ薬の投与により NSC/NPC の数が増加することなどが報告されており、うつ病などの精神疾患に NSC/NPC の挙動が関与しているものと考えられている。そこで我々は、和漢薬より新たな精神疾患治療薬を見いだす事を目的に、NSC/NPC に対する増殖促進作用を指標に in vitro のスクリーニング系を用いて78種類の生薬成分の作用を検討した。またスクリーニングにより見いだされた化合物については、コルチコステロン投与動物やストレス負荷動物を用いて in vivo での薬効を評価した。【方法】<NSC/NPC 増殖能を指標としたスクリーニング>胎生14日齢の Wistar 系ラットの線条体より neurosphere 法を用いて NSC/NPC を調製した。和漢薬由来成分は 1、及び 10 µg/ml の濃度で添加した。神経幹細胞増殖促進活性は、alamar blue 法により評価した。<in vivo での薬効評価>7週齢の ddy 系雄性マウスにコルチコステロン (CORT) (40mg/kg) を背部皮下に8日間連日投与した。ferulic acid は 50,100,250mg/kg の用量で経口投与した。また増殖性細胞の標識のため BrdU を実験開始7日目と8日目に腹腔内投与 (100mg/kg) し、最終投与日の翌日に灌流固定を行った。BrdU 取り込み細胞の検出には、anti-BrdU 抗体を用いた免疫組織化学的手法を用いた。【結果・考察】培養 NSC/NPC を用いたスクリーニングにより、NSC/NPC に対する増殖促進活性を有する化合物として ferulic acid (FA) を見いだした。マウスへの CORT 投与により海馬歯状回における BrdU 陽性細胞数の減少が認められたが、FA 経口投与群 (100,250mg/kg) では CORT による BrdU 陽性細胞数の減少は有意に抑制された。また強制水泳試験におけるストレス誘発性うつ様行動は、FA の経口投与により改善された。以上の結果より、FA は NSC/NPC の増殖制御により抗うつ様効果を示す可能性が示唆された。