

ヨヒンビン投与卵巣摘出ラットにおけるホットフラッシュ様症状に対する エストロゲン及び桂枝茯苓丸の作用

森元康夫,* 青塚保志, 柴田裕次郎

Effects of Estrogen and Keishibukuryogan on Hot Flash-like Symptoms Induced by Yohimbine in Ovariectomized Rats

Yasuo MORIMOTO,* Yasushi AOZUKA, and Yujiro SHIBATA
Kampo Research Laboratories, Kracie Pharma, Ltd., Kanebo-machi 3-1,
Takaoka, Toyama 933-0856, Japan

(Received February 9, 2011; Accepted May 16, 2011; Published online May 20, 2011)

Hot flash (HF) is the most common phenomenon in climacteric symptoms which often develop concomitantly with a decrease in estrogen in postmenopausal women. The onset mechanism of the hot flash is complicated and remains unclear. To date, some animal models of postmenopausal HF have been devised, but they are not fully available because of the difficulty in producing them. It is thought that hyperactivity of the central α -adrenergic system with a decrease in estrogen participates in the onset of postmenopausal HF. Therefore, in the present study, we examined whether a HF model could be easily produced by administering yohimbine (YOH), a presynaptic α_2 -adrenoceptor antagonist which promotes norepinephrine release, to female rats. HF-like symptoms such as a rise in tail skin temperature and a fall in rectal temperature were shown in the rats who received YOH (3 mg/kg) subcutaneously seven days after the ovariectomy (OVX). Such symptoms following YOH administration were observed in sham rats as well, but were much more clearly noted in OVX rats. We next examined the effects of various drugs, which are clinically effective against postmenopausal HF, on HF-like symptoms in YOH-treated OVX rats: clonidine, a presynaptic α_2 -adrenoceptor agonist which inhibits norepinephrine release; β -estradiol as an estrogen; and *Keishibukuryogan*, a *Kampo* medicine. These drugs inhibited HF-like symptoms in YOH-treated OVX rats. These results suggest that the activity of the α -adrenergic system is enhanced with a decrease in estrogen in OVX rats whereby YOH causes HF-like symptoms more conspicuously than in sham rats. Therefore, it is thought that YOH-treated OVX rats will be a novel and simple model of postmenopausal HF.

Key words—hot flash; yohimbine; ovariectomy; clonidine; estradiol; keishibukuryogan

緒 言

閉経後の女性には、卵巣機能の低下によるエストロゲンの減少に伴い、肉体的及び精神的に様々な不定愁訴が現れ、それらは一般に更年期障害と呼ばれている。そのような更年期障害のうち最も代表的な症状はホットフラッシュ (HF)、すなわち顔や胸のほてりで、閉経後の女性の約 75% が本症状を経験するとの報告もある。¹⁾ HF 発症時における体温の変化は部位によって異なり、体表面の温度は発症後に急激に上昇する一方で、体の深部温度は発症後に低下することが知られている。^{2,3)} 閉経後 HF の発症機序は複雑で十分に解明されていないが、これまで

にいくつかの説が提唱されている。このうち、現時点で有力視されているものは、エストロゲンの減少に伴い、中枢 α -アドレナリン神経系の活動が亢進し、それにより視床下部で luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) が増加し、これが体温調節中枢に作用して体温のセットポイントを下げ、体表面の血管が拡張して熱放散が起きるという説である。^{4,5)} また、この過程には内因性オピオイドが介在することも示唆されている。^{4,6)}

閉経後 HF の動物モデルも、上記のような発症機序の仮説を受けてこれまでにいくつか考案されている。しかし、簡便に作製することができ、かつ臨床の病態に近いモデルはほとんどない。例えば、ヒトに近い動物としてサルやヒツジを用いる方法もあるが、^{7,8)} これらの大型動物の使用は設備や費用の点で

クラシエ製薬株式会社漢方研究所

*e-mail: morimoto@phm.kracie.co.jp

一般に実施は困難である。Shutoらは、卵巣摘出(OVX)マウスにトレッドミル走行運動を負荷すると、偽手術(sham)マウスに同じ運動を負荷した場合よりも尾部皮膚温度(TST)が大きく上昇すると報告している。⁹⁾また、このような運動負荷OVXマウスに起きるTSTの上昇はエストラジオール(E₂)によって抑制されることから、同マウスが新規閉経後HFモデルとなり得ることを示唆している。⁹⁾しかし、彼らはTSTの変化のみを調べ、体深部温度の測定は行っていない。また、この方法ではトレッドミルという特殊な装置を必要とすることから、簡便性に欠けるという難点がある。Katovich and Simpkinsらは、モルヒネ依存症を起こしたOVXラットにオピオイドアンタゴニストのナロキソンを皮下投与すると、TSTの上昇及び体深部温度である直腸温(RT)の低下などヒトのHFと類似した現象が起きることを報告している。^{10,11)}しかし、この方法では作製にモルヒネという麻薬を用いることに加え、OVX処置の有無にかかわらずこのような体温変化が起きることから、¹⁰⁾閉経後HFのモデルとしては妥当でないと考えられる。一方、彼らはこれとは別に、OVXラットにLH-RHアゴニストを脳室内投与するとTSTの上昇及びRTの低下などのHF様症状が起きることをも報告している。¹²⁾また、ShimamuraらはこのようなLH-RH処置OVXラットに起きるTSTの上昇は、同アゴニストをshamラットに投与した場合よりも顕著であることを報告している。¹³⁾このように、LH-RH処置OVXラットはヒトの閉経後HFと類似していることから、その動物モデルとして適している可能性が考えられる。しかし、本モデルの作製には脳室内投与など特殊な技術を要するため、より簡便に作製できる動物モデルが求められている。

HFの発症時には強力な血管拡張作用を有するcalcitonin gene-related peptide (CGRP)の血中濃度が上昇することから、同発症にはCGRPが関与することが示唆されている。¹⁴⁻¹⁶⁾Kobayashiら¹⁷⁾及びNoguchiらは、^{18,19)}OVXラットにCGRPを静脈内投与すると、同じ用量のCGRPをshamラットに投与した場合よりも皮膚温度が大きく上昇するが、このようなCGRP処置OVXラットでの皮膚温度の上昇はE₂によって抑制されると報告している。ただし、彼らはCGRPはRTに対しては影響

を及ぼさないか、あるいはわずかしき低下させないと報告している。^{17,18)}このように、CGRP処置OVXラットは作製は簡便であるが、RTの低下がほとんど起きない点でヒトの閉経後HFと異なり、そのモデルとしての妥当性には疑問を残している。

前述のように、HFの発症にはエストロゲンの減少に伴う中枢 α -アドレナリン神経系の活動亢進が関与することが示唆されている。^{4,5)}ちなみに、前シナプスの α_2 -アドレナリン受容体アンタゴニストでノルアドレナリン遊離を促進するヨヒンビン(YOH)を閉経後の女性に投与すると、HFが起きることが報告されている。²⁰⁾また、YOHなどの α_2 -アドレナリン受容体アンタゴニストは、雄ラットにおいてTSTの上昇及びRTの低下などのHF様症状を惹起することが報告されている。²¹⁾しかし、YOHなどによるこのような現象が、雌ラットでも同様に起きるかについてはこれまでに調べられていない。そこで今回、われわれはYOHを雌ラット、とりわけOVXラットに投与することで、閉経後HFのモデルを簡便に作製することができないかを検討した。なお、閉経後HFに対しては、エストロゲンの補充や前シナプスの α_2 -アドレナリン受容体アゴニストでノルアドレナリン遊離を抑制するクロニジン(CLO)の投与が有効とされている。^{22,23)}しかし、エストロゲンの補充ではがんのリスク増大や心血管障害など、またCLOでは口渇や不眠などの副作用が懸念されている。²⁴⁻²⁷⁾一方、これらに代わり、長期間安全に使用できるものとして、近年では漢方薬が注目されている。例えば、それらの代表的なものとしては加味逍遙散、桂枝茯苓丸、桃核承気湯などが挙げられる。このうち桂枝茯苓丸(KBG)については、ラットのCGRP誘発HFモデルにおいて抑制作用を示すことに加え、^{18,19)}臨床においても閉経後HFに対して有効であることが報告されている。^{28,29)}そこで、YOH処置OVXラットが閉経後HFのモデルとして妥当であるかどうかを検証するために、これら臨床で閉経後HFに対して有効とされるCLO、エストロゲン及びKBGの同ラットに対する作用を調べた。

方 法

1. 使用動物 Sprague-Dawley系雌性ラット(日本チャールス・リバー、横浜)を7週齢で購入

し、1週間の予備飼育後実験に使用した。動物は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、8時点灯、20時消灯の条件下で飼育した。なお、実験はクラシエ製薬漢方研究所動物実験委員会の承認の下、同研究所の定める動物実験実施規程及び「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」に則って実施された。

2. 使用薬物 ヨヒンビン塩酸塩 (YOH; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 及びクロニジン塩酸塩 (CLO; Sigma-Aldrich) は生理食塩液 (大塚製薬工場, 鳴門) に溶解した。β-エストラジオール (E_2 ; Sigma-Aldrich) はエタノール: ポリエチレングリコール 400: 生理食塩液 = 1: 12: 27 の混合液に溶解した。桂枝茯苓丸エキス末 (KBG; クラシエ製薬, 東京) は蒸留水に懸濁した。なお、同エキス末は桂皮, 茯苓, 牡丹皮, 桃仁及び芍薬の5生薬を等重量ずつ含む生薬混合物より熱水抽出して得られたエキスを、噴霧乾燥して製造されたものである。

3. 尾部皮膚温度 (TST) 及び直腸温度 (RT) の測定 ラットをエーテル吸入により麻酔し、両側卵巣の全摘出 (OVX) 手術を行った。偽手術 (sham) 群には開腹と縫合のみを行った。手術7日後にラットをボールマンケージ (KN-326, 夏目製作所, 東京) に固定し、無麻酔下で5分毎に TST 及び RT の測定を行った。TST は測定用プローブ (Microprobe Thermometer BAT-12, ニューロサイエンス, 東京) のセンサー部を尾の基部より 2-3 cm の部位にサージカルテープで固定し、微小精密温度計 (BAT-12R, ニューロサイエンス) に接続して測定した。また、RT はサーミスタ高精度温度計 (K210, テクノ・セブン, 東京) を用い、測定用プローブを肛門より約 5 cm 挿入して測定した。両温度の測定開始から 20 分後に YOH を背部皮下に投与し、引き続き投与 60 分後まで両温度の測定を行った。なお、一部の実験では TST 及び RT の測定終了後にラットを安楽死せしめ、子宮を摘出してその重量を測定した。

CLO は 0.3 mg/kg の用量を YOH 投与の 30 分前に腹腔内投与した。 E_2 は $30 \mu\text{g/kg}$ の用量を、KBG は 1000 mg/kg の用量を OVX 手術の翌日から 1 日 1 回、7 日間、それぞれ皮下及び経口投与した。なお、いずれも最終日は YOH 投与の 3 時間前に投与

した。

4. 統計処理 実験結果は平均値±標準誤差で示した。有意差検定は、StatView Ver. 5.0 (SAS Institute Japan, 東京) を用い、2 群間の比較では Student の *t* 検定法により、3 群間以上の比較では Tukey-Kramer 法により行った。いずれの場合も、危険率が 5% 未満 ($p < 0.05$) の場合を有意差ありと判定した。

結 果

1. TST 及び RT に対する YOH の作用 まず、YOH を 1 mg/kg 又は 3 mg/kg の用量で sham 及び OVX ラットに投与し、TST 及び RT に対する作用を調べた。

YOH 1 mg/kg では、sham 及び OVX ラットいずれにおいても TST は投与直後から上昇し、その程度は投与 35 分後までは両ラット間で差は認められなかった。しかし、それ以降は TST は OVX ラットでは高値のまま推移したのに対し、sham ラットでは徐々に低下し、両者間で明らかな差が認められた。なお、RT はいずれのラットにおいても YOH 投与で変化は認められなかった [Fig. 1(A)]。

YOH 3 mg/kg でも TST は sham 及び OVX ラットいずれにおいても投与直後から上昇したが、その程度は投与 20 分後以降は OVX ラットの方が sham ラットよりも大きくなり、40 分後以降では両者間に有意差が認められた。一方、RT はいずれのラットにおいても YOH 投与後から低下したが、その程度は OVX ラットの方が sham ラットよりも大きく、投与 60 分後では両者間に有意差が認められた [Fig. 1(B)]。

これらの結果より、以後の検討では YOH の用量は 3 mg/kg とした。

2. YOH による TST の上昇及び RT の低下に対する CLO の作用 次に、YOH による TST の上昇及び RT の低下に対する CLO (0.3 mg/kg) の作用を、sham 及び OVX ラットそれぞれにおいて調べた。

CLO は sham 及び OVX ラットいずれにおいても単独では TST に影響を与えなかったが (データは示していない)、YOH による TST の上昇を完全に抑制し、CLO 投与群では TST は YOH 投与時点の値から変化しなかった。なお、OVX ラットにおい

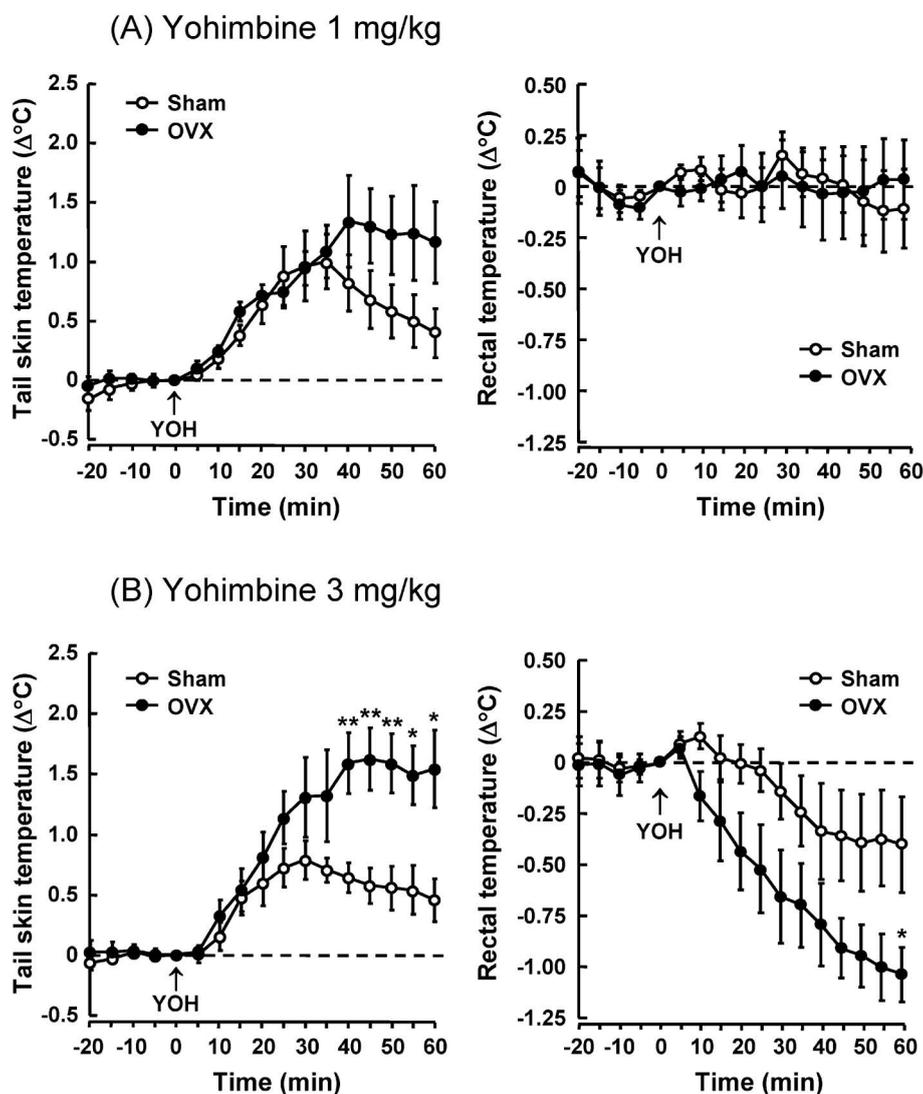


Fig. 1. Effects of Yohimbine on Tail Skin Temperature and Rectal Temperature in Female Rats

Rats were anesthetized with ether inhalation and bilaterally ovariectomized (OVX) or sham-operated. Seven days postoperatively, yohimbine hydrochloride (YOH) was administered subcutaneously to the rats at a dose of 1 or 3 mg/kg and then tail skin temperature (TST) and rectal temperature (RT) were measured. Data are represented by the mean \pm S.E.M. of 5 (YOH 1 mg/kg) or 6 (YOH 3 mg/kg) animals. The statistical difference was assessed using the Student's *t*-test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, comparison between Sham and OVX group.

ては CLO 投与群の TST は YOH 投与 10 分後以降は Vehicle 投与群よりも有意に低下した [Figs. 2(A) and (B); Left].

一方, CLO は sham 及び OVX ラットいずれにおいても単独で RT を低下させ, YOH 投与時点 (CLO 投与の 30 分後) では CLO 投与群の RT は Vehicle 投与群よりも有意に低下した (Sham: Vehicle $37.6 \pm 0.2^\circ\text{C}$, CLO $34.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$, $p < 0.01$; OVX: Vehicle $37.9 \pm 0.2^\circ\text{C}$, CLO $35.4 \pm 0.2^\circ\text{C}$, $p < 0.01$). しかし, CLO は YOH による RT の低下に対しては抑制作用を示し, OVX ラットにおいては CLO 投与群の RT は YOH 投与 50–55 分後では Vehicle

投与群よりも有意に上昇した [Fig. 2(B); Right].

なお, sham ラットにおいては, CLO 投与群の RT は YOH 投与 10–25 分後では Vehicle 投与群よりも有意に低く, その後は徐々に上昇して 55–60 分後では逆に Vehicle 投与群よりも有意に高くなるなど, 一定した変化を示さなかった [Fig. 2(A); Right].

3. YOH による TST の上昇及び RT の低下に対する E_2 の作用 次に, OVX ラットに YOH を投与して起きる TST の上昇及び RT の低下に対する E_2 (30 $\mu\text{g}/\text{kg}$) の作用を調べた.

E_2 は OVX ラットに YOH を投与して起きる TST の上昇を抑制し, YOH 投与 30 分後以降は E_2 投与

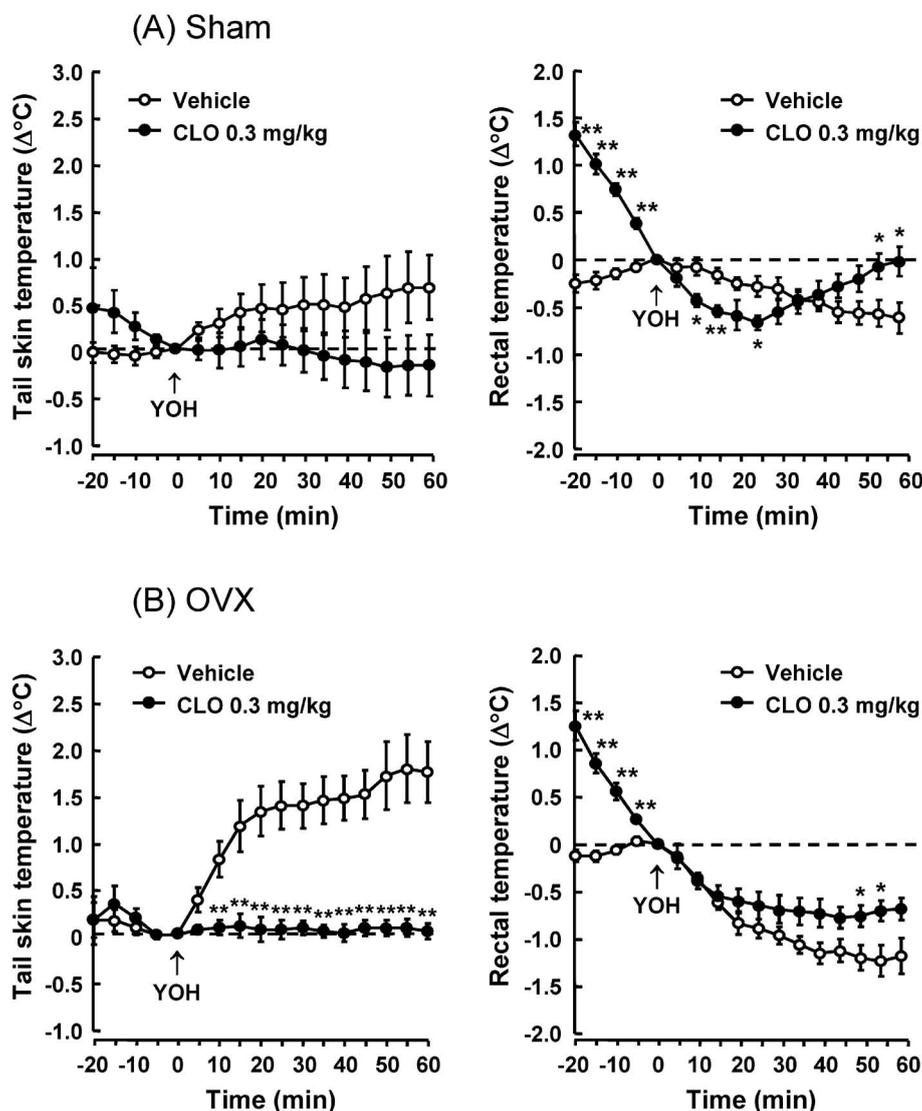


Fig. 2. Effects of Clonidine on Yohimbine-induced Changes in Tail Skin Temperature and Rectal Temperature in Female Rats

Rats were anesthetized with ether inhalation and bilaterally ovariectomized (OVX) or sham-operated. Seven days postoperatively, yohimbine hydrochloride (YOH) was administered subcutaneously to the rats at a dose of 3 mg/kg and then tail skin temperature (TST) and rectal temperature (RT) were measured. Clonidine hydrochloride (CLO; 0.3 mg/kg) was administered intraperitoneally 30 min before YOH treatment. Data are represented by the mean \pm S.E.M. of 5 animals. The statistical difference was assessed using the Student's *t*-test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, comparison between Vehicle and CLO group.

群の TST は Vehicle 投与群よりも有意に低下した。ちなみに、 E_2 投与群の TST は sham ラットに YOH を投与した群 (Sham/Vehicle 群) の TST とほぼ同じ推移を示した。また、 E_2 は YOH による RT の低下をも抑制し、 E_2 投与群では YOH 投与 20 分後の RT は Vehicle 投与群よりも有意に高かった (Fig. 3; Upper).

TST 及び RT の測定終了時点では、OVX ラットの Vehicle 投与群では sham ラットに比べて有意な体重増加と子宮重量の減少が認められたが、OVX によるこれらの変化はいずれも E_2 によって完全に抑制された (Fig. 3; Lower).

4. YOH による TST の上昇及び RT の低下に対する KBG の作用 次に、OVX ラットに YOH を投与して起きる TST の上昇及び RT の低下に対する KBG (1000 mg/kg) の作用を調べた。

KBG は OVX ラットに YOH を投与して起きる TST の上昇を抑制し、その効力は同時に検討した E_2 (30 μ g/kg) とほぼ同等であった。ちなみに、KBG 投与群では YOH 投与 20–45 分後に、 E_2 投与群では 50–55 分後に TST は Vehicle 投与群よりも有意に低下した。また、KBG 投与群及び E_2 投与群の TST は、sham ラットに YOH を投与した群 (Sham/Vehicle 群) の TST とほぼ同じ推移を示し

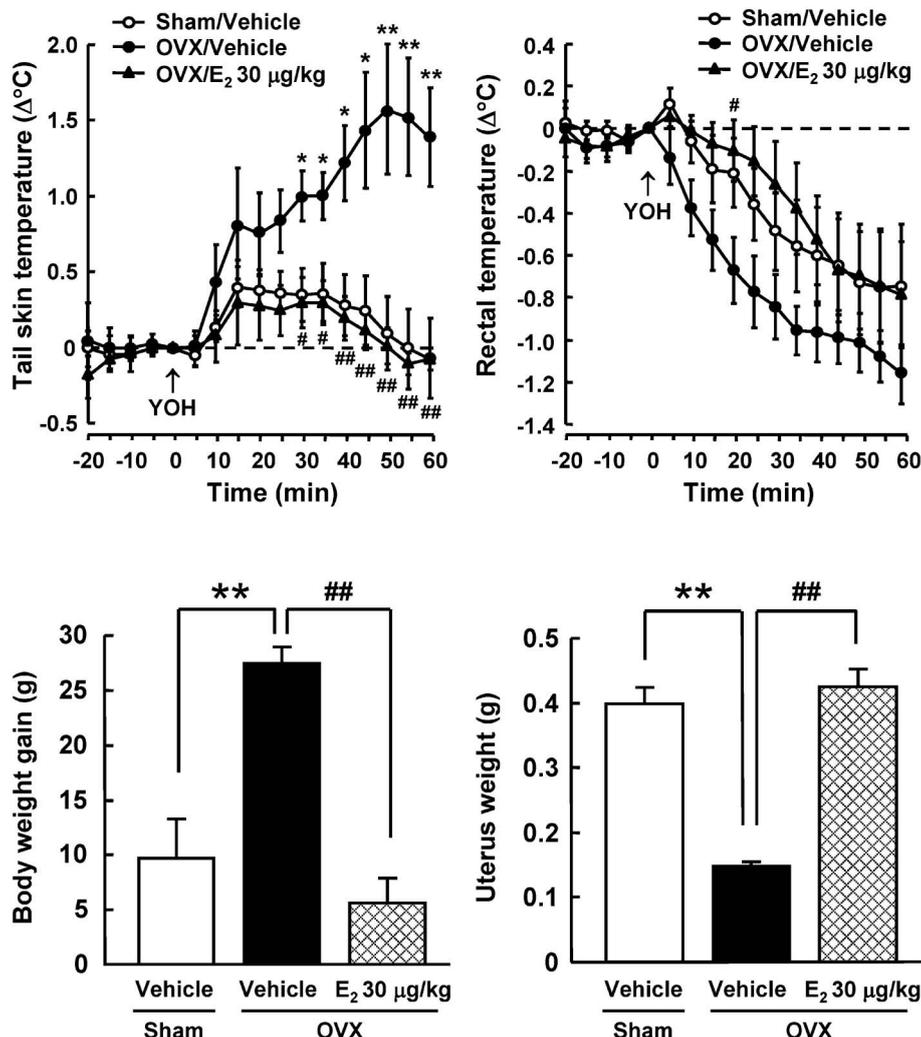


Fig. 3. Effects of Estradiol on Yohimbine-induced Changes in Tail Skin Temperature and Rectal Temperature, and on Ovariectomy-induced Changes in Body Weight and Uterus Weight in Female Rats

Rats were anesthetized with ether inhalation and bilaterally ovariectomized (OVX) or sham-operated. Seven days postoperatively, yohimbine hydrochloride (YOH) was administered subcutaneously to the rats at a dose of 3 mg/kg and then tail skin temperature (TST) and rectal temperature (RT) were measured. β -Estradiol (E_2 ; 30 μ g/kg) was administered subcutaneously for 7 days before YOH treatment. After the measurement of TST and RT, rats were sacrificed, and then the uterus was removed and weighed. Data are represented by the mean \pm S.E.M. of 6 animals. The statistical difference was assessed using the Tukey-Kramer test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, comparison between Sham/Vehicle and OVX/Vehicle group; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, comparison between OVX/Vehicle and OVX/ E_2 group.

た。KBGはYOHによるRTの低下に対しても有意ではないが明らかな抑制作用を示し、その効力は E_2 とほぼ同等であった (Fig. 4; Upper)。

前述と同様に、 E_2 はOVXによる体重増加及び子宮重量の減少をいずれも完全に抑制したが、KBGはいずれに対しても作用を示さなかった (Fig. 4; Lower)。

考 察

閉経後HFの発症にはエストロゲンの減少に伴う中枢 α -アドレナリン神経系の活動亢進が関与することが示唆されている。^{4,5)} また、前シナプスの α_2 -

アドレナリン受容体アンタゴニストでノルアドレナリン遊離を促進するYOHを閉経後の女性に投与すると、HFが起きることが報告されている。²⁰⁾ そこで今回、われわれはYOHを雌ラット、とりわけOVXラットに投与することで、閉経後HFのモデルを簡便に作製することができないかを検討した。

まず、同じ用量のYOHをsham及びOVXラットに投与し、TST及びRTに対する作用を両ラットで比較した。なお、YOHの投与方法は簡便性を前提に単回皮下投与とし、用量についてはRedfernら²¹⁾が雄ラットにYOHを皮下投与してTSTの上昇を認めた1 mg/kgを開始用量とした。その結果、

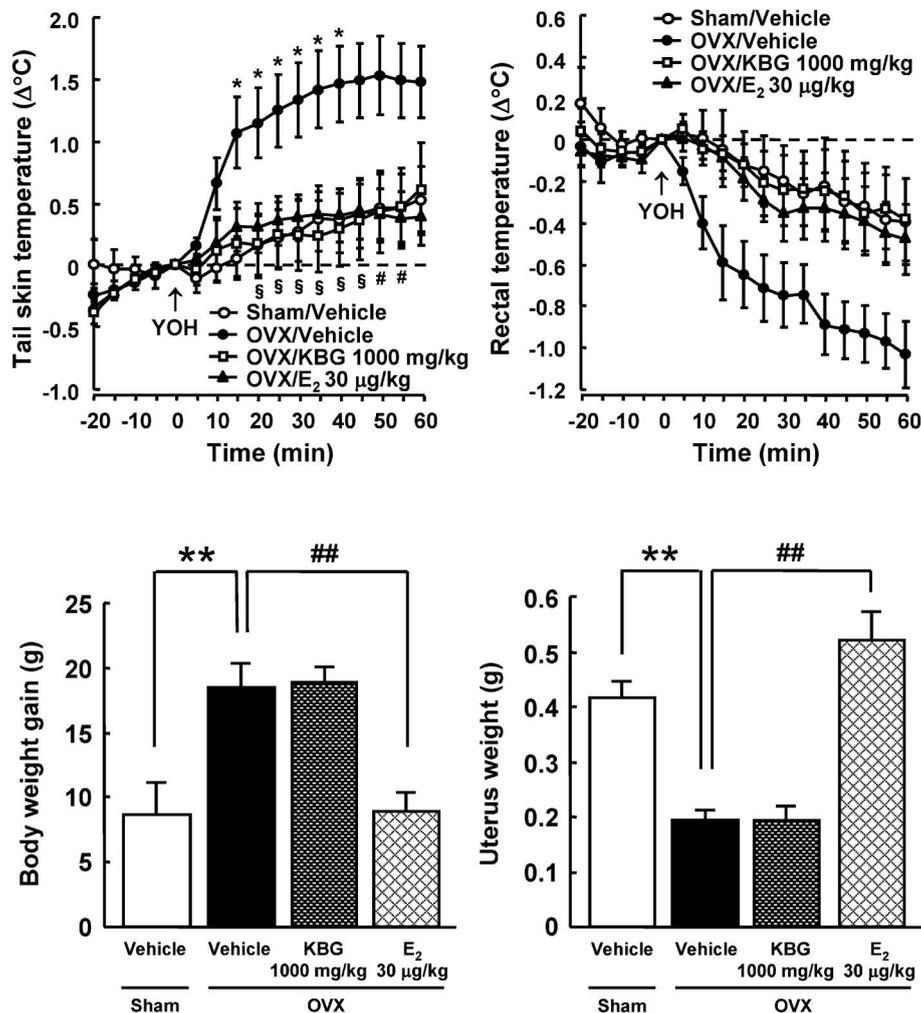


Fig. 4. Effects of *Keishibukuryogan* on Yohimbine-induced Changes in Tail Skin Temperature and Rectal Temperature, and on Ovariectomy-induced Changes in Body Weight and Uterus Weight in Female Rats

Rats were anesthetized with ether inhalation and bilaterally ovariectomized (OVX) or sham-operated. Seven days postoperatively, yohimbine hydrochloride (YOH) was administered subcutaneously to the rats at a dose of 3 mg/kg and then tail skin temperature (TST) and rectal temperature (RT) were measured. *Keishibukuryogan* (KBG; 1000 mg/kg) or β -estradiol (E_2 ; 30 μ g/kg) was administered orally or subcutaneously, respectively, for 7 days before YOH treatment. After the measurement of TST and RT, rats were sacrificed, and then the uterus was removed and weighed. Data are represented by the mean \pm S.E.M. of 7 animals. The statistical difference was assessed using the Tukey-Kramer test: * p <0.05, ** p <0.01, comparison between Sham/Vehicle and OVX/Vehicle group; § p <0.05, comparison between OVX/Vehicle and OVX/KBG group; † p <0.05, †† p <0.01, comparison between OVX/Vehicle and OVX/ E_2 group.

YOH 1 mg/kg では TST は投与から約 30 分後までは sham 及び OVX ラットとも同程度に上昇した。しかし、それ以降は TST は OVX ラットでは高値のまま推移したのに対し、sham ラットでは徐々に低下し、両者間で明らかな差が認められた。YOH 1 mg/kg 投与後の TST の最大上昇値は sham ラットでは約 1.0°C、OVX ラットでは約 1.3°C であった。ちなみに、Redfern らの雄ラットでの検討では同じ用量の YOH による TST の最大上昇値は約 9°C であるので、²¹⁾ 今回の結果はそれと大きく異なっていた。この原因は不明であるが、YOH に対する TST の反応性に雄と雌で差があることが考えられ

る。また、今回は TST を測定した際の室温は 23°C であったが、Redfern らの検討では 18.5–20°C と低いため、彼らの検討ではラットは防御的に体温が上がり易い状態にあったと推察される。なお、YOH 1 mg/kg ではいずれのラットとも RT に変化は認められなかった。このことから、YOH 1 mg/kg では HF 様症状は起きないと判断された。そこで次に、YOH を 3 mg/kg に増量して同様に検討したところ、TST は OVX ラットの方が sham ラットよりも大きく上昇し、両者間に有意差が認められた。ちなみに、TST の最大上昇値は sham ラットでは約 0.8°C で 1 mg/kg の場合よりむしろ低かったのに対し、OVX

ラットのそれは約 1.7°C で 1 mg/kg の場合よりも増大した。さらに、YOH 3 mg/kg では sham 及び OVX ラットいずれにおいても TST の上昇と相反して RT が低下し、その程度も OVX ラットの方が sham ラットよりも大きく、両者間に有意差が認められた。これらのことから、雌ラットに YOH 3 mg/kg を皮下投与すると HF 様症状が惹起され、しかもその程度は OVX ラットの方が sham ラットよりも顕著であることが判明した。すなわち、OVX ラットに YOH 3 mg/kg を投与することで、閉経後 HF のモデルを作製できることが示唆された。そこで、このような YOH 処置 OVX ラットが閉経後 HF モデルとして妥当であるかどうかをさらに詳しく検証した。

まず、YOH による HF 様症状が α_2 -アドレナリン受容体の遮断を介したものであることを確認するために、同症状に対する CLO の作用を調べた。Shimamura らは LH-RH 処置 OVX ラットに起きる TST の上昇及び RT の低下に対する CLO の作用を検討し、CLO 0.3 mg/kg を LH-RH 投与の 1 時間前に経口投与すると、これらの温度変化がいずれも有意に抑制されることを報告している。¹³⁾ そこで、今回の検討でも CLO の用量は 0.3 mg/kg とした。その結果、sham 及び OVX ラットいずれにおいても、CLO は単独では TST に影響を与えなかったが、YOH による TST の上昇を完全に抑制した。一方、CLO はいずれのラットにおいても単独で RT を低下させ、YOH 投与時点では CLO 投与群の RT は Vehicle 投与群よりも有意に低下した。CLO は中枢 α_2 -アドレナリン受容体を介してラットの体温を低下させることが知られており、³⁰⁾ 今回の結果はそれと一致した。しかし、CLO は YOH による RT の低下に対しては抑制作用を示し、特にそれは OVX ラットにおいて明らかで、CLO 投与群では YOH 投与後の RT は Vehicle 投与群よりも有意に上昇した。これらのことから、YOH による HF 様症状は α_2 -アドレナリン受容体の遮断を介した現象で、しかもそれは OVX ラットにおいて sham ラットよりも増大すると考えられた。閉経後 HF の発症には、エストロゲンの減少による中枢前シナプスの α_2 -アドレナリン受容体の減少又は感受性の低下によるノルアドレナリン遊離の促進が関与することが示唆されている。²⁰⁾ このことから、OVX ラットではエス

トロゲンの減少により中枢前シナプスの α_2 -アドレナリン受容体の減少や感受性の低下が起き、それに加えて YOH によって同受容体が遮断されたために、sham ラットに比べて多量のノルアドレナリンが遊離され、HF 様症状がより強く現われたと推察される。

次に、エストロゲンの補充として機能し、閉経後 HF に有効である E_2 について、YOH 処置 OVX ラットでの HF 様症状に対する作用を調べた。その結果、OVX による体重増加及び子宮重量減少を sham ラットのレベルにまで回復させる用量の E_2 を投与することで、TST の上昇及び RT の低下はいずれも sham ラットに YOH を投与した場合と同レベルにまで抑制された。このことから、YOH 処置 OVX ラットに起きる HF 様症状は、閉経後女性の場合と同様にエストロゲンの減少によるものであり、エストロゲンの補充によって抑制されることが確認された。

同じく、閉経後 HF に対して有効とされる KBG の作用について調べた。なお、KBG の用量及び投与期間は、ラットの CGRP 誘発 HF モデルにおいて有意な抑制作用が認められている報告^{18,19)} に基づき、1000 mg/kg を OVX 手術後から 7 日間経口投与した。その結果、KBG は YOH 処置 OVX ラットに起きる TST の上昇及び RT の低下をいずれも著明に抑制し、その効力は前述の E_2 と同等であった。

Kobayashi ら¹⁷⁾ 及び Noguchi らは、^{18,19)} CGRP を OVX ラットに静脈内投与すると、同じ用量の CGRP を sham ラットに投与した場合よりも皮膚温度が大きく上昇するが、このような皮膚温度の上昇は E_2 によって抑制されることを報告している。このことから、YOH 処置の場合と同様に、CGRP 処置の場合も OVX ラットで起きる皮膚温度の上昇はエストロゲンの減少によると考えられる。また、閉経後 HF の発症時には CGRP の血中濃度の上昇が認められることから、¹⁴⁻¹⁶⁾ CGRP は閉経後 HF の発症においては、その強力な血管拡張作用により最終段階で皮膚表面からの熱放散に関与すると考えられている。³¹⁾ 一方、Noguchi らは KBG がエストロゲン様作用を介さずに CGRP 処置 OVX ラットにおける皮膚温度の上昇を抑制することを報告している。^{18,19)} これらのことから、KBG が CGRP 処置

OVX ラットにおいて皮膚温度の上昇を抑制した機序については、上位のエストロゲン系や α -アドレナリン神経系に対してではなく、最終段階で CGRP に対して直接的に作用したことが考えられる。ちなみに、OVX ラットより摘出した血管では、sham ラットの血管に比べて CGRP による弛緩反応が増大するなど、CGRP に対する感受性の亢進が認められることが報告されている。^{32,33)} 一方、Noguchi らは、KBG を投与した OVX ラットの血管では、CGRP に対する感受性は sham ラットと差がないことを認めている。¹⁹⁾ 今回の検討でも、KBG は OVX による体重増加及び子宮重量減少に対して影響を及ぼさなかったことから、KBG はエストロゲン様作用を有しないことが確認された。したがって、今回の YOH 処置 OVX ラットの場合も、KBG は最終段階において CGRP に対して直接的に作用し、HF 様症状を抑制したと推察される。

今回の検討により、YOH 処置 OVX ラットは閉経後 HF と類似した体温変化を示すことが判明した。また、臨床で閉経後 HF に対して有効とされる CLO, E₂ 及び KBG が、いずれも本ラットにおいて HF 様症状を抑制することも確認された。これらのことから、YOH 処置 OVX ラットは簡便に作製することができ、かつ臨床の病態に近い新規な閉経後 HF モデルとなり得ることが示唆された。また、YOH 処置 OVX ラットは CGRP 誘発モデルに比べると、閉経後 HF の発症過程を上位から下位まで広い範囲で再現していると推察される。したがって、YOH 処置 OVX ラットは、閉経後 HF をその発症過程の様々な段階で抑制する薬物を幅広くスクリーニングするのに適したモデルであると考えられる。

REFERENCES

- 1) Freedman R. R., *Am. J. Med.*, **118** (Suppl. 12B), 124–130 (2005).
- 2) Lomax P., Schönbaum E., *Pharmacol. Ther.*, **57**, 347–358 (1993).
- 3) Freedman R. R., *Am. J. Hum. Biol.*, **13**, 453–464 (2001).
- 4) Tulandi T., Lal S., *Obstet. Gynecol. Surv.*, **40**, 553–563 (1985).
- 5) Rosenberg J., Larsen S. H., *Med. Hypotheses*, **35**, 349–350 (1991).
- 6) Casper R. F., Yen S. S. C., *Clin. Endocrinol.*, **22**, 293–312 (1985).
- 7) Jelinek J., Kappen A., Schönbaum E., Lomax P., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **59**, 1224–1228 (1984).
- 8) Albertson A. J., Skinner D. C., *Menopause*, **16**, 1030–1036 (2009).
- 9) Shuto H., Yamauchi A., Ikeda M., Sohda Y., Koga A., Tominaga K., Egawa T., Kataoka Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **98**, 323–326 (2005).
- 10) Simpkins J. W., Katovich M. J., Song I.-C., *Life Sci.*, **32**, 1957–1966 (1983).
- 11) Katovich M. J., Simpkins J. W., Berglund L. A., O'Meara J., *Maturitas*, **8**, 67–76 (1986).
- 12) Katovich M. J., Simpkins J. W., O'Meara J., *Brain Res.*, **494**, 85–94 (1989).
- 13) Shimamura M., Nishizawa K., Yamashita A., Kosaka N., *J. Trad. Med.*, **14**, 219–226 (1997).
- 14) Chen J.-T., Hirai Y., Seimiya Y., Hasumi K., Shiraki M., *Lancet*, **342**, 49 (1993).
- 15) Valentini A., Petraglia F., De Vita D., Nappi C., Margutti A., degli Uberti E. C., Genazzani A. R., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **175**, 638–642 (1996).
- 16) Wyon Y. A.-M., Spetz A.-C. E., Theodorsson G. E., Hammar M. L., *Menopause*, **7**, 25–30 (2000).
- 17) Kobayashi T., Ushijima O., Chen J.-T., Shiraki M., Ohta T., Kiyoki M., *J. Endocrinol.*, **146**, 431–437 (1995).
- 18) Noguchi M., Iizuka S., Ishige A., Komatsu Y., Chen J.-T., *J. Trad. Med.*, **14**, 438–439 (1997).
- 19) Noguchi M., Ikarashi Y., Yuzurihara M., Kase Y., Chen J.-T., Takeda S., Aburada M., Ishige A., *J. Endocrinol.*, **176**, 359–366 (2003).
- 20) Freedman R. R., Woodward S., Sabharwal S. C., *Obstet. Gynecol.*, **76**, 573–578 (1990).
- 21) Redfern W. S., MacLean M. R., Clague R. U., McGrath J. C., *Br. J. Pharmacol.*, **114**, 1724–1730 (1995).
- 22) Clayden J. R., Bell J. W., Pollard P., *Br. Med. J.*, **1** (5905), 409–412 (1974).
- 23) Laufer L. R., Erlik Y., Meldrum D. R., Judd H. L., *Obstet. Gynecol.*, **60**, 583–586 (1982).
- 24) Grady D., Gebretsadik T., Kerlikowske K., Ernster V., Petitti D., *Obstet. Gynecol.*, **85**, 304–313 (1995).

- 25) Loprinzi C. L., Stearns V., Barton D., *Am. J. Med.*, **118** (Suppl 12B), 118–123 (2005).
- 26) Carroll D. G., *Am. Fam. Physician*, **73**, 457–464 (2006).
- 27) Nelson H. D., Vesco K. K., Haney E., Fu R., Nedrow A., Miller J., Nicolaidis C., Walker M., Humphrey L., *JAMA*, **295**, 2057–2071 (2006).
- 28) Chen J.-T., Shiraki M., *Maturitas*, **45**, 199–204 (2003).
- 29) Ushiroyama T., Ikeda A., Sakuma K., Ueki M., *Am. J. Chin. Med.*, **33**, 259–267 (2005).
- 30) Zacny E., *J. Pharm. Pharmacol.*, **34**, 455–456 (1982).
- 31) Hay D. L., Poyner D. R., *Maturitas*, **64**, 104–108 (2009).
- 32) Noguchi M., Ikarashi Y., Yuzurihara M., Mizoguchi K., Kurauchi K., Chen J.-T., Ishige A., *J. Endocrinol.*, **175**, 177–183 (2002).
- 33) Minato H., Ikeno A., Watanabe N., Tsuji J., *Maturitas*, **51**, 434–441 (2005).