



## はじめに

COVID-19パンデミックは、身体だけでなく、心理的、精神的な影響も大きく、流行初期の1年間に、不安障害およびうつ病の罹患率が全世界で25%も急増したと報告されている<sup>1)</sup>。うつ病を発症した要因を分析した報告<sup>2)</sup>では、ロックダウンの程度と有意な相関がみられることから、コミュニティとの直接の繋がりや生活に必要な物資の調達を大幅に抑制する行動制限が、精神に多大な影響を与えたと考えられる。本邦においても、COVID-19パンデミック以降に2010年から下降していた自殺者が増加に転じている。自殺の動機は様々であるが最も多いものは健康問題であり、そのうちうつ病患者は4割を超える<sup>3)</sup>。これらのことから全世界的にメンタルヘルスへの介入の必要性が高まっている。

日本うつ病学会のガイドラインによると、うつ病は、抑うつ気分または興味・喜びの著しい減退の何れかの症状があり、さらに体重増減、食欲の増減、不眠または過眠、疲労感・気力の減退などの症状のうち5項目程度が該当し、対人関係や職業その他重要な領域で障害をきたしていることが確認された場合に診断される。うつ病の治療には、SSRIやSNRIなどの抗うつ薬を服用することが基本であるとされているが、副作用を懸念して漢方薬を用いるケースも多い。日本うつ病学会治療ガイドラインには、まだエビデンスレベルは高くはないとされるものの、加味帰脾湯あるいは加味逍遙散などの漢方薬も掲載されている。

加味帰脾湯は貧血や不眠症に対し効能を持つ帰脾湯に、中枢抑制作用を有する柴胡と利胆・鎮痛作用等を有する山梔子を配合したもので、貧血、不眠症、精神不安、神経症に効果効能をもつ漢方処方である<sup>4)</sup>。うつ病の症状である抑うつは神経症の代表的な症状であることから、加味帰脾湯はうつ症状の患者にも処方される。しかし、うつ症状に対する加味帰脾湯の有効性やその機序を評価した基礎研究は十分ではない。

うつ病の発症機序は未だ不明であるが、ストレス刺激が重要な危険因子と考えられ、動物を用いたうつ病研究においても、ストレス負荷を与えることでうつ様の行動変化が観察されるモデルが頻用される。そこで、本検討では、マ

ウスの行動を制限する拘束ストレスモデル<sup>5)</sup>を用いて、まずは、うつ症状に対する加味帰脾湯の有効性を評価した。

## 試験方法

7週齢(雄)のICRマウスを導入(日本SLC)し、一週間予備飼育の後に本試験を実施した。対照群(ストレス無負荷)、拘束ストレス群、拘束ストレス+0.7%加味帰脾湯混餌群、拘束ストレス+1.4%加味帰脾湯混餌群の4グループに分け、拘束ストレス群は2時間の拘束ストレス負荷を15日間続けた。ストレス負荷の間、対照群は別室で絶食絶水とした。加味帰脾湯混餌投与は拘束ストレス負荷1日目から行った。拘束ストレス負荷開始13日目にストレス負荷後の採糞を行って性状評価を行い、また同日採尿を行って尿中のコルチコステロン量を測定した。拘束ストレス負荷開始16日目に強制水泳試験を実施した。飼育条件は室温 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、8:00点灯、20:00消灯の12時間サイクルとした。実験期間中、餌と水は自由に摂取させた。

### 〈マウス糞便の性状評価：Bristol Stool Form Scale<sup>6)</sup>〉

マウスの糞便の性状をBristol Stool Form Scale<sup>6)</sup>を参考に0~3のスコアをつけた。

0：通常便、1：形を保持した軟便、2：水っぽい不定形あるいは一部形を保持した緩い便、3：完全に不定形の便。

### 〈うつ様行動評価：強制水泳試験<sup>7)</sup>〉

行動実験室に1時間馴化ののちに強制水泳試験を実施した。直径19cm、高さ25cmのマウス用シリンダーに23℃の水を10cmの高さにはった。マウスを水に入れ、6分間の行動を観察し、ビデオに記録した。無動時間は最初の2分間を除いた4分間を目視により測定した。

### 〈統計学的解析〉

得られたデータ値は平均値±標準偏差で示した。連続変数をとる2群の結果はWelchのt検定を行い、3群以上の結果は一元配置分散分析後、Tukeyの多重比較検定法を行った。糞便の性状スコアの結果は、Bonferroniの多重比較

法を行った。全ての検定はEZRを用いて行い、危険率 $p < 0.05$ の場合を有意差あり、 $p < 0.1$ で傾向ありとした。

## 試験結果

拘束ストレス群の尿中コルチコステロン量は対照群と比べ有意な増加を認めた(図1a)。加味帰脾湯群は拘束ストレス群に比べ尿中コルチコステロン量が下がる傾向が見られた(図1b)。拘束ストレス後のマウス糞便は軟便になっていたが、加味帰脾湯群で糞便の性状スコアの改善が見られ、1.4%加味帰脾湯群では拘束ストレス群に対し、有意に糞便の性状スコアの改善を認めた(図2a、b)。

うつ様行動評価である強制水泳試験において、拘束ストレ

ス群は対照群に比べて無動時間が有意に延長した(図3a：次頁参照)。一方、拘束ストレス群と比較して加味帰脾湯群は無動時間の短縮が見られ、1.4%加味帰脾湯群では、拘束ストレス群に対し顕著な改善が認められた(図3b：次頁参照)。

## 考察とまとめ

今回の試験では、拘束ストレスモデルを用いてうつ様症状に対する加味帰脾湯の効果について検討した。拘束ストレス群は対照群と比較して強制水泳試験におけるうつ様行動が見られ、加味帰脾湯の投与はそのうつ様行動を抑制した(図3a、b：次頁参照)。

図1 尿中コルチコステロン量

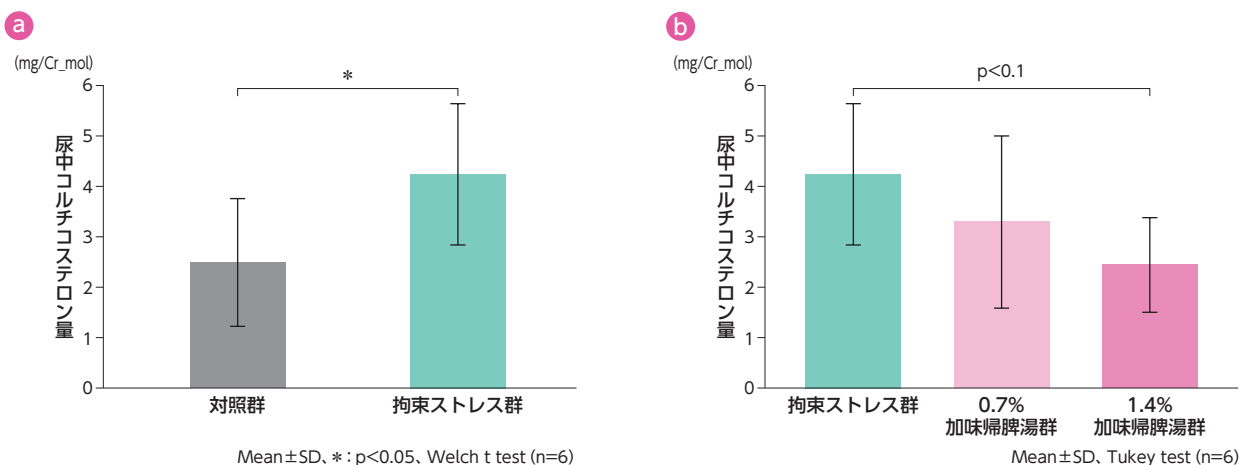


図2 マウス糞便の性状スコア

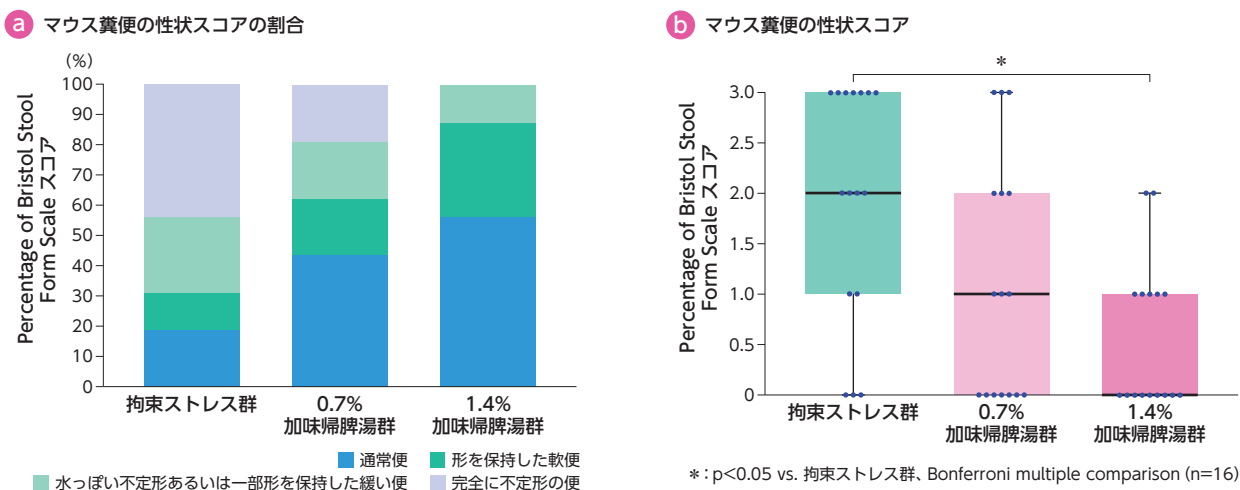
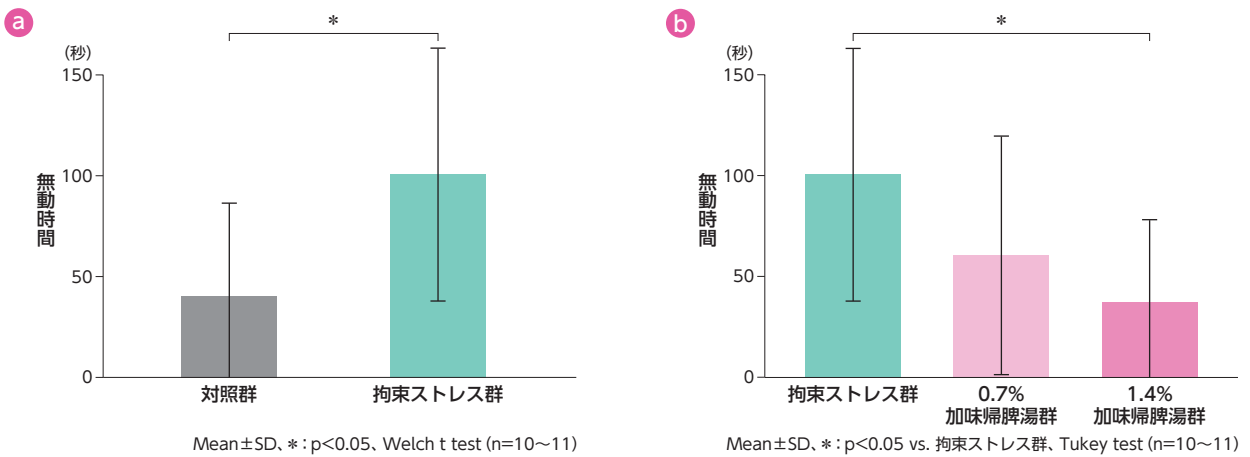


図3 強制水泳時の無動時間



うつ病発症の一因にストレスがあると考えられている。哺乳類におけるストレス反応の指標として、糖質コルチコイドがよく知られている。ヒトではコルチゾールが、げっ歯類ではコルチコステロンがそれぞれストレス反応の仲介の役割を担っている<sup>8, 9)</sup>。反復的なストレス負荷に対しては視床下部・下垂体・副腎(HPA)軸が反応し、コルチコステロン分泌が持続的に増加することが知られている<sup>10)</sup>。今回の検討においても、拘束ストレス負荷により尿中のコルチコステロン量の増加が見られた(図1a)。一方で、加味帰脾湯投与により拘束ストレスによって増加した尿中コルチコステロン量が減少する傾向が見られた(図1b)。これは安達らの報告<sup>11)</sup>と一致する。さらに、拘束ストレス直後のマウスの糞便の性状を観察したところ、加味帰脾湯投与群では糞便の性状スコアが改善されていた(図2a, b)。

近年、脳腸関連の研究が盛んに行われてきているが、マ

ウスにおいても拘束ストレスによって過敏性腸症候群に見られるような下痢の症状が引き起こされることが分かってきている<sup>12)</sup>。したがってこれらの結果は、反復的なストレスに対し加味帰脾湯が過剰なストレス反応を抑制する可能性を示している。加味帰脾湯には慢性ストレスによって起こる海馬での神経新生の低下を回復させることで、うつ症状を回復させるという報告がある<sup>11)</sup>。一方で、今回のような強制水泳試験の無動時間の短縮には、海馬の神経新生は関係しないとも考えられている<sup>13)</sup>。さらに、加味帰脾湯には、うつ病や統合失調症、PTSDなどの改善に効果を示す、脳脊髄液中のオキシトシンレベルを上昇させることなども報告されており<sup>14)</sup>、今回の結果では、加味帰脾湯のこれら経路に対する働きかけの可能性も考えられた。

今後、血液、脳組織、消化管などを用いた解析を進め、詳細な作用メカニズムを明らかにしていく予定である。

【参考文献】

- 1) WHO News release, 2 March 2022, <https://www.who.int/news/item/02-03-2022-covid-19-pandemic-triggers-25-increase-in-prevalence-of-anxiety-and-depression-worldwide> (2023年11月17日閲覧)
- 2) Fountoulakis K. N. et al.: The effect of different degrees of lockdown and self-identified gender on anxiety, depression and suicidality during the COVID-19 pandemic: Data from the international COMET-G study. *Psychiatry Res.* 315: 114702, 2022. doi: 10.1016/j.psychres.2022.114702
- 3) 厚生労働省 令和5年版自殺対策白書 [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/hukushi\\_kaigo/seikatsuhogo/jisatsu/jisatsuhakusy02023.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/hukushi_kaigo/seikatsuhogo/jisatsu/jisatsuhakusy02023.html) (2023年11月17日閲覧)
- 4) 小山誠次: 帰脾湯及び加味帰脾湯の出現. *日東医誌* 47: 469-475, 1996
- 5) Modui K. et al.: Strain differences in stress responsivity are associated with divergent amygdala gene expression and glutamate-mediated neuronal excitability. *J. Neurosci* 30: 5357-5367, 2010. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5017-09.2010
- 6) Wang L. et al.: Peripheral peptide YY inhibits propulsive colonic motor function through Y2 receptor in conscious mice. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol* 298: G45-G56, 2010. doi: 10.1152/ajpgi.00349.2009
- 7) Cryan J. F., Holmes A.: The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nat. Rev. Drug Discov* 4: 775-790, 2005. doi: 10.1038/nrd1825
- 8) Gjerstad J. K. et al.: Role of glucocorticoid negative feedback in the regulation of HPA axis pulsatility. *Stress* 21: 403-416, 2018. doi: 10.1080/10253890.2018.1470238
- 9) McEwen B. S.: Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol. Rev.* 87: 873-904, 2007. doi: 10.1152/physrev.00041.2006
- 10) Feijó de Mello A. A. et al.: Update on stress and depression: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Braz. J. Psychiatry* 25: 231-238, 2003. doi: 10.1590/s1516-44462003000400010
- 11) Adachi N. et al.: Kamikihito rescued depressive-like behaviors and hippocampus neurogenesis in chronic restraint stress rats. *J. Tradit. Complement Med* 12: 172-179, 2021. doi: 10.1016/j.jtcme.2021.08.001
- 12) Yoshioka T. et al.: Repeated psychological stress, chronic vicarious social defeat stress, evokes irritable bowel syndrome-like symptoms in mice. *Front Neurosci* 16: 993132, 2022. doi: 10.3389/fnins.2022.993132
- 13) David D. J. et al.: Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* 62:479-493, 2009. doi: 10.1016/j.neuron.2009.04.017
- 14) Tsukada M. et al.: Kamikihito, a traditional Japanese Kampo medicine, increases the secretion of oxytocin in rats with acute stress. *J. Ethnopharmacol* 76: 114218, 2021. doi: 10.1016/j.jep.2021.114218