漢方薬理・最前線

抑肝散・抑肝散加陳皮半夏 1

名古屋市立大学大学院 薬学研究科 准教授　牧野 利明

はじめに

抑肝散は中国明代の『保嬰撮要』を出典とし、もともとは小児のひきつけや夜泣きに使用する処方であった。現在では認知症に伴う随伴症状を抑えるために汎用されるようになっている。抑肝散加陳皮半夏は、江戸時代に日本で改良されたもので、抑肝散の構成生薬はそのままに、陳皮と半夏を加えて慢性・成人向きに使えるよう適用範囲を広げた処方とされている。最近の知見では、陳皮の神経保護作用も明らかになってきており、抑肝散加陳皮半夏の有用性が高まっている。

それら抑肝散および抑肝散加陳皮半夏の基礎薬理について2回に分けてレビューする。『漢方医学』誌「方剤薬理シリーズ」によると、これら処方のレビューは2001年[1]であることから、それ以降に報告された論文について、紹介していく。

精神・神経系疾患

1. 正常動物モデル

Kameiら[2]は、正常マウスに医療用抑肝散エキス原末(YKS)を1.0g/kg(ヒト1日量の約15倍量)単回経口投与し、その1時間後の不安行動を観察した。その結果、ホールボード試験(不安行動評価法)における穴覗き行動回数が有意に増加し、この活性は、ベンゾジアゼピン受容体拮抗薬であるフルマゼニルで抑制された。また、YKS 1.0g/kgの投与により、高架式十字迷路試験(不安行動評価法)でのオープンアームの滞在時間が有意に増加した。抑肝散の構成生薬のうち、釣藤鈎エキスを0.1g/kg、釣藤鈎の水分画を30mg/kgマウスに経口投与したとき、穴覗き行動回数が有意に増加した。このことから、抑肝散は、釣藤鈎由来の成分がベンゾジアゼピン系を活性化することにより、抗不安作用を示すことを示唆した。

Yamaguchiら[3]は、正常ラットに、YKSを0.1または1.0g/kgを1日1回14日間経口投与し、恐怖条件付け文脈学習試験(文脈記憶・注意能力評価法)を行ったところ、すくみ行動が有意に改善した。高架式十字迷路試験においても不安行動の有意な改善が認められた。このYKSの作用は、選択的セロトニン1A受容体拮抗薬で抑制された。以上のことから、抑肝散による注意能力の改善、抗不安作用には、セロトニン1A受容体の刺激が関与することが推測された。

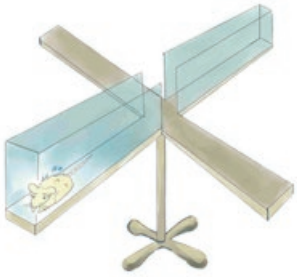
2.老齢動物モデル

Tanakaら[4]は、若齢および老齢ラットを3ヵ月間、YKSを3%混ぜた食餌で飼育した(ヒト1日量の約40倍量)。脳組織の前頭前皮質と海馬におけるアグリカンの蓄積は、若齢ラットと比較して老齢ラットでは顕著に増加し、増殖中の神経幹細胞数は顕著に減少した。それらの値は、若齢ラット、老齢ラットそれぞれにおいて、YKSの投与によりアグリカンの蓄積は有意に減少し、神経幹細胞数は有意に増加した。

Mizoguchiら[5, 6]は、3ヵ月間、YKSを3%混ぜた食餌で飼育した老齢ラットの行動を、通常餌で飼育した若齢ラットおよび老齢ラットと比較した。若齢ラットと比較して老齢ラットでは、便排泄回数が顕著に増加し、高架式十字迷路でのオープンアームの滞在時間、滞在頻度は顕著に減少した。また、前頭前皮質のセロトニンおよびドパミンの量は顕著に減少した。これらはYKS投与により有意に回復した。若齢ラットと比較して老齢ラットでは血漿中のアミノトランスフェラーゼ(ALT)とアンモニアの濃度が有意に増加したが、YKS投与によりアンモニア濃度のみ有意に回復した。T字型迷路試験(作業記憶・参照記憶評価法)では、老齢ラットでは作業の正確性が顕著に減少したが、YKS投与により有意に回復した。このT字型迷路試験のYKSの改善作用は、選択的ドパミン(D_1)受容体拮抗薬により阻害された。

以上のことから、YKSは加齢による不安、作業記憶低下、参照記憶低下を、脳内アグリカンの蓄積抑制、セロトニンおよびドパミンを介して改善することが示唆された。

高架式十字迷路試験



3. 脳虚血再灌流障害モデル

Nogamiら[7]は、ラットの椎骨動脈を閉塞・開放する操作を繰り返し行うことで脳虚血再灌流障害モデルを作成し、手術前後の計14日間、YKS 0.3および1.0g/kg/2日(ヒト1日量の約2.5および7.5倍量)を1日おきに7回経口投与した。明暗箱試験(不安行動評価法)では明箱での滞在時間が有意に増加し、高架式十字迷路でのクローズドアームの滞在時間の有意な増加と、それぞれのアームに入った回数が有意に減少し、不安行動が観察された。これらの不安行動は、YKSの用量依存的に回復した。セロトニン2A受容体拮抗薬の腹腔内投与によって誘導される首振り行動(幻覚の評価法)は、脳虚血再灌流障害モデルで有意に増加したが、YKS投与により有意に回復した。

4. 隔離ストレス負荷モデル

Uchidaら[8]は、1ケージに1匹のみで飼育する隔離ストレスを与えたラットを用いて、YKSの作用を評価した。このラットは、グループで飼育したラットと比較して社会的行動試験による攻撃行動スコアが顕著に増加したが、YKSを100および300mg/kg(ヒト1日量の約1.7および5倍)を単回投与すると30〜120分後のスコアは有意に減少した。また、正常マウスにメタンフェタミンを腹腔内投与してみられる探索行動スコアの増加は、YKS 300mg/kgをメタンフェタミン投与前に単回投与することで、有意に抑制された。

Egashiraら[9]は、隔離ストレスを与えたマウスでYKSの作用を評価した。このマウスにペントバルビタールを投与したとき、正常マウスと比較して睡眠時間が低下したが、YKS 300mg/kgをペントバルビタール投与前に単回経口投与することで、睡眠時間が有意に増加した。この作用は正常マウスではみられなかった。この作用は、$GABA_A$受容体拮抗薬および選択的ベンゾジアゼピン拮抗薬との併用で阻害されたが、セロトニン1A受容体拮抗薬では変化が認められなかった。このことから、YKSの作用には$GABA_A$およびベンゾジアゼピン受容体が関与していることが推測された。

Nishiら[10]は、4週間の隔離ストレスを与えたマウスでYKSの有効成分と作用機序を検討した。隔離ストレスを与えたマウスは、グループで飼育したマウスと比較して社会的行動試験による攻撃行動スコアの増加と社会的行動の低下が認められた。これらに対して、YKSを0.5および1.0g/kg 4週間連続経口投与することで、用量依存的に有意な回復が認められた。YKSから釣藤鈎を除いたエキスでは同様の作用は認められなかった。釣藤鈎熱水抽出エキスは、75または150mg/kgの連続経口投与で用量依存的に有意な回復が認められた。これらの作用は、セロトニン1A拮抗薬との併用で抑制された。*In vitro*試験でセロトニン1A受容体結合活性を指標に、釣藤鈎由来のアルカロイドとしてゲイソシジンメチルエステルの作用を明らかにし、本化合物を100または300μg/kgの投与量で連続経口投与することで、隔離ストレスによる攻撃行動スコアの増加と社会的行動の低下は用量依存的に有意な回復が認められた。以上のことから、YKSはセロトニン1A受容体を介する抗ストレス作用を示し、その有効成分は釣藤鈎に含まれるゲイソシジンメチルエステルであることが明らかになった。

5. 嗅球摘除モデル

Yamadaら[11]は、マウスの嗅球を摘除することによる学習記憶障害に対するYKSの作用を評価した。嗅球摘除術3日後から1日1回YKSを375および750mg/kg(ヒト1日量の約5.5および11倍)2週間連続経口投与した。2日おきに自発運動量を、YKS投与2週間後にY迷路試験(認識能力評価法)による自発的交替行動と新奇物体認識試験(非空間記憶評価法)による探索行動、電気ショックを用いた恐怖条件付け学習試験を評価した。嗅球摘除により自発運動量は有意に増加したが、YKSによる変化は認められなかった。また、嗅球摘除により、認識能力と非空間記憶学習能力は有意に低下したが、YKSはそれぞれを用量依存的に有意に回復させた。刻み生薬から熱水抽出した抑肝散エキス、釣藤鈎抜きの抑肝散エキス、釣藤鈎エキスの認識能力に対する作用を検討したところ、釣藤鈎抜きの抑肝散エキスおよび釣藤鈎エキスでは認識能力の低下を改善することが出来なかった。YKSの認知能力低下に対する改善作用は、スコポラミンの併用により拮抗した。2週間後の脳を摘出したところ、嗅球摘除により海馬に含まれるアセチルコリンエステラーゼ(AChE)およびムスカリン1(M1)受容体発現が減少していたが、YKSの投与によりそれぞれ有意に回復した。以上のことから、YKSはコリン作動性神経系を介して認知能力の低下を改善することが推測された。

6. アミロイドβ(Aβ)脳室内投与モデル

Sekiguchiら[12, 13]は、マウスにAβを脳室内投与することによるアルツハイマー病様症状に対するYKSの作用を検討した。Aβ投与7日目から社会的行動試験による攻撃行動スコアが増加していたが、YKSを28日間、1.0g/kgを連続経口投与することにより有意な改善が認められた。また、Aβを投与して自発運動量も有意に増加していたが、それにはYKSは影響を与えなかった。また、YKSはハロペリドールやリスペリドンでみられたカタレプシーを起こさなかった。マウスの行動を集団型全自動行動試験装置で評価したところ、Aβ投与により22日目の記憶スコアは低下したが、YKSを5〜22日目まで1.0g/kg/日で経口投与することで、有意な回復が認められた。

Uchidaら[14]は、10分間の椎骨および総頸動脈閉塞による脳虚血を施した後、Aβオリゴマーを1日1回7日間脳室内に投与したラットでのYKSの作用を評価した。このモデルに対して、YKS 0.1、0.3、1.0g/kgを脳虚血手術の7日前から14日間、連続経口投与したところ、八方向放射状迷路を用いた作業記憶・参照記憶試験での記憶障害スコアの悪化が用量依存的に有意に回復した。海馬背部の細胞外液中アセチルコリン(ACh)濃度およびダイナミン1(海馬に発現し神経終末で開口分泌に関わる酵素)の量は、病態モデルにおいて顕著に減少したが、YKS投与によりそれぞれ有意に増加した。このことから、YKSは海馬部位でのアセチルコリン神経系の遊離促進作用によって学習記憶能を改善させることが推測された。

7. チアミン欠乏餌モデル

山口ら[15]は、チアミン欠乏餌で21日間飼育したマウスでのYKSの評価を行った。その結果、19日目にステップスルー型受動的回復反応試験による記憶障害スコアの有意な減少、21日目に社会的行動試験により評価した攻撃性の有意な亢進、20日目に評価したオープンフィールド試験による自発運動量(不安状態を反映)が有意に減少した。チアミン欠乏餌にYKS 0.5または1.0g/kgを添加して飼育したとき、記憶障害スコア、攻撃性、不安行動それぞれにおいて用量依存的に有意な改善が認められた。

Ikarashiら[16]は、電気ショックによる受動回避学習を施したラットを、37日間、チアミン欠乏餌で飼育しYKSの評価を行った。21日目の社会的行動試験による攻撃行動は、通常餌群と比較してチアミン欠乏餌群で顕著に増加していたが、チアミン欠乏餌にYKS 0.5または1.0g/kgを添加して飼育したとき、用量依存的に改善した。また、28日目にオープンフィー

ルド試験で評価した自発運動量の低下、29日目における記憶保持スコアの低下、30日目における後弓反張・てんかん発作スコアの増加は、YKS添加により用量依存的に有意に改善した。37日目のチアミン欠乏餌群の脳組織切片では、脳幹におけるスポンジ状の空胞形成、海馬と大脳皮質における神経脱落が認められたが、それぞれYKSの添加により用量依存的に有意に改善した。また、大脳皮質におけるアストロサイトの電子顕微鏡による観察では、チアミン欠乏餌群では空胞形成と、樹状突起の腫張が顕著に認められ、ミトコンドリアの崩壊が観察されたが、YKS添加群では有意に改善した。視床後内側腹側核の細胞外グルタミン酸量は、チアミン欠乏餌で28日間飼育した群では有意に増加し、YKSの添加で回復した。

Iizukaら[17]は、チアミン欠乏餌で34日間飼育したラットの脳の病理組織の電子顕微鏡による観察所見に対するYKSの作用を詳細に解析した。正常ラットと比較してチアミン欠乏餌群では、前庭神経核ニューロンでの細胞質での空胞化、ミトコンドリアと粗面小胞体の腫張、前庭神経核アストロサイトでの細胞質オルガネラの脱落と細胞の腫張、前庭神経核ミエリン鞘の変成と腫張が認められたが、YKS投与群ではいずれも認められなかった。

以上のことから、YKSには、アストロサイトのグルタミン酸取り込み障害を改善する可能性が示唆された。

表　各種モデルに対する試験結果（まとめ）

		著者	使用動物	投与量（一番高用量のみ記載）	結果（一部抜粋）
精神・神経系疾患	正常動物モデル	Kameiら[2]	ICRマウス（♂）（6～8週齢、n＝8～16）	YKS 1.0g/kg 単回経口投与	不安行動（↓）
		Yamaguchiら[3]	Wistar/STラット（♂）（10～13週齢、n不明）	YKS 1.0g/kg/日 連続経口投与（14日間）	注意能力（↑） 不安行動（↓）
	老齢動物モデル	Tanakaら[4]	F344/Nラット（♂）（2月齢、21月齢、n＝6）	YKS 3% 混合餌投与（3ヵ月間）	脳組織アグリカン蓄積（↓） 神経幹細胞数（↑）
		Mizoguchiら[5, 6]	F344/Nラット（♂）（4月齢、21月齢、n＝8～26）	YKS 3% 混合餌投与（3ヵ月間）	不安行動（↓） 記憶能力（↑） 前頭前皮質セロトニン、ドパミン量（↑） 血漿中アンモニア濃度（↓）
	脳虚血再灌流障害モデル	Nogamiら[7]	Wistarラット（♂）（250～300g、n＝4～10）	1.0g/kg/2日 単回経口投与（14日間）	不安行動（↓） 幻覚（↓）
	隔離ストレス負荷モデル	Uchidaら[8]	Wistarラット（♂）（7週齢、n＝8～10）	YKS 300mg/kg 単回経口投与	攻撃行動（↓）
			ddYマウス（♂）（5週齢、n＝7～16）		探索行動（↓）
		Egashiraら[9]	ddYマウス（♂）（4週齢、n＝5～14）	YKS 300mg/kg 単回経口投与	睡眠時間（↑）
		Nishiら[10]	ddYマウス（♂）（4週齢、n＝5～37）	YKS 1.0g/kg/日 連続経口投与（4週間）	攻撃行動（↓） 社会的行動（↑）
	嗅球摘除モデル	Yamadaら[11]	ddYマウス（♂）（9週齢、n＝4～17）	YKS 750mg/kg/日 連続経口投与（2週間）	認識能力（↑） 非空間記憶（↑） 海馬のAChE、M1受容体発現（↑）
	Aβ脳室内投与モデル	Sekiguchiら[12, 13]	ddYマウス（♂）（6週齢、n＝8～10）	YKS 1.0g/kg/日 連続経口投与（28週間）	攻撃行動（↓） 記憶能力（↑）
		Uchidaら[14]	Wistarラット（♂）（230～270g、n＝4～19）	YKS 1.0g/kg/日 連続経口投与（14日間）	記憶能力（↑） 海馬のACh、ダイナミン1濃度（↑）
	チアミン欠乏餌食モデル	山口ら[15]	ddYマウス（♂）（4週齢、n＝10～20）	YKS 1.0g/kg/日 連続経口投与（21日間）	記憶能力（↑） 攻撃行動（↓） 不安行動（↓）
		Ikarashiら[16]	Wistarラット（♂）（3週齢、n＝6～11）	YKS 1.0g/kg/日 連続経口投与（37日間）	攻撃行動（↓） 自発運動量（↑） 記憶能力（↑） てんかん発作（↓） 海馬・大脳皮質の神経脱落（↓） 視床後内側腹側核のグルタミン酸量（↓）
		Iizukaら[17]	Wistarラット（♂）（4週齢、n＝10～15）	YKS 1.0g/kg/日 連続経口投与（34日間）	前庭神経核ニューロン、アストロサイトの病理組織学的変化の保持

【参考文献】
1）丁宗鐵: 方剤薬理シリーズ57; 抑肝散・抑肝散加陳皮半夏, 漢方医学, 25（1）: 42-47, 2001.
2）Kamei J, et al.: Involvement of the benzodiazepine system in the anxiolytic-like effect of Yokukansan（Yi-gan san）, Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 33（8）: 1431-1437, 2009.
3）Yamaguchi T, et al.: Anxiolytic effects of yokukansan, a traditional Japanese medicine, via serotonin 5-HT1A receptors on anxiety-related behaviors in rats experienced aversive stress, J Ethnopharmacol, 143（2）: 533-539, 2012.
4）Tanaka Y, et al.: Influence of aging on chondroitin sulfate proteoglycan expression and neural stem/progenitor cells in rat brain and improving effects of a herbal medicine, yokukansan, Neuroscience, 164（3）: 1224-1234, 2009.
5）Mizoguchi K, et al.: Anxiolytic effect of a herbal medicine, yokukansan, in aged rats: involvement of serotonergic and dopaminergic transmissions in the prefrontal cortex, J Ethnopharmacol, 127（1）: 70-76, 2010.
6）Mizoguchi K, Shoji H, Tanaka Y, Tabira T（2011）Ameliorative effect of traditional Japanese medicine yokukansan on age-related impairments of working memory and reversal learning in rats. Neuroscience. 177: 127-137
7）Nogami A, et al.: Effects of yokukansan on anxiety-like behavior in a rat model of cerebrovascular dementia, J Nat Med, 65（2）: 275-281, 2011.
8）Uchida N, et al.: Yokukansan inhibits social isolation-induced aggression and methamphetamine-induced hyperlocomotion in rodents, Biol Pharm Bull, 32（3）: 372-375, 2009.
9）Egashira N, et al.: Yokukansan enhances pentobarbital-induced sleep in socially isolated mice: possible involvement of GABA（A）-benzodiazepine receptor complex, J Pharmacol Sci, 116（3）: 316-320, 2011.
10）Nishi A, et al.: Geissoschizine methyl ether, an alkaloid in Uncaria hook, is a potent serotonin（1）A receptor agonist and candidate for amelioration of aggressiveness and sociality by yokukansan, Neuroscience, 207: 124-136, 2012.
11）Yamada M, et al.: Ameliorative effects of yokukansan on learning and memory deficits in olfactory bulbectomized mice, J Ethnopharmacol., 135（3）: 737-746, 2011.
12）Sekiguchi K, et al.: Effects of yokukansan, a traditional Japanese medicine, on aggressiveness induced by intracerebroventricular injection of amyloid beta protein into mice, Phytother Res, 23（8）: 1175-1181, 2009.
13）Sekiguchi K, et al,: Effects of yokukansan and donepezil on learning disturbance and aggressiveness induced by intracerebroventricular injection of amyloid beta protein in mice, Phytother Res, 25（4）: 501-507, 2011.
14）Uchida N, et al.: Cholinergic Involvement and Synaptic Dynamin 1 Expression in Yokukansan-mediated Improvement of Spatial Memory in a Rat Model of Early Alzheimer's Disease, Phytother Res, 2012.
15）山口琢児: チアミン欠乏マウスの記憶障害とその周辺症状に対する抑肝散の効果, 金沢大学十全医学会雑誌, 117（2）: 28-36, 2008.
16）Ikarashi Y, et al.: Effects of yokukansan, a traditional Japanese medicine, on memory disturbance and behavioral and psychological symptoms of dementia in thiamine-deficient rats, Biol Pharm Bull, 32（10）: 1701-1709, 2009.
17）Iizuka S, et al.: Electron-microscopic examination of effects of yokukansan, a traditional Japanese medicine, on degeneration of cerebral cells in thiamine-deficient rats, Neuropathology, 10, 2010.