

当帰芍薬散 ③

名古屋市立大学大学院 薬学研究科 教授 牧野 利明

中大脳動脈閉塞モデル

Renら¹⁾は、ラットの中大脳動脈閉塞モデルでの神経や血管新生に対する当帰芍薬散の作用を検討した。ラットを麻酔し、右外頸動脈を露出し、90分間結紮後、元に戻すことにより、一過性の中大脳動脈閉塞を誘導した。施術日から14日間、1日1回(中国の量ではヒト常用量の2倍相当、日本の量ではヒト常用量の約8倍量)、当帰芍薬散(唐当帰、唐川芍、白朮を使用、配合比は日本のものとは異なる)の熱水抽出エキスを強制経口投与した。14日目に反射・感覚を評価する神経行動学的試験と、運動の左右バランスを評価する上体旋回試験を行ったところ、中大脳動脈閉塞群では正常群と比較してそれぞれ有意に悪化していたが、当帰芍薬散エキス投与群では有意な改善が認められた。その後、ラットを屠殺し、灌流固定後、脳の組織切片を作成したところ、虚血周辺部の毛細血管における血管内皮細胞マーカーRECA-1陽性領域と脳室下帯における細胞増殖マーカーである5-ブロモ-2'-デオキシウリジン(BrdU)陽性細胞数、未熟ニューロンマーカーであるダブルコルチン(DCX)陽性細胞数と、DCXとBrdUの二重陽性細胞数は、中大脳動脈閉塞群では正常群と比較してそれぞれ有意に増加し、当帰芍薬散エキス投与群においてそれぞれさらに有意に増加していた。虚血した側の脳半球の線条体と脳皮質のホモジネート中の血管内皮細胞増殖因子(VEGF)と血管内皮型NO合成酵素(eNOS)の量も、中大脳動脈閉塞群では正常群と比較してそれぞれ有意に増加し、当帰芍薬散エキス投与群においてそれぞれさらに有意に増加していた。以上のことから、当帰芍薬散はVEGF-eNOSシグナル経路を介して虚血性脳梗塞による神経症状を改善することが示唆された。

嗅覚障害モデル

Songら²⁾は、嗅覚障害モデルでの当帰芍薬散の作用

を検討した。マウスの鼻孔に硫酸亜鉛を注入して嗅球を損傷した。その同日から、医療用当帰芍薬散エキス原末(以下、TSSと略す)(蒼朮配合、ヒト常用量の約10倍量)を自由飲水にて投与しながら飼育した。その3週後、ラットを屠殺し、嗅球と内嗅皮質を採取し、神経伝達物質の濃度を測定した。嗅球を損傷してから3週後の嗅球では、正常群と比較して損傷群においてドパミン(DA)と、その代謝産物である3, 4-ジヒドロキシフェニル酢酸(DOPAC)、ホモバニリン酸(HVA)量の有意な低下が認められたが、それらは当帰芍薬散投与群において回復傾向がみられ、DOPACとHVA量においては有意な回復が認められた。また、内嗅皮質においては、正常群と比較して損傷群において有意なDA、DOPAC量の増加が認められたが、それらは当帰芍薬散投与群においてそれぞれ有意に回復していた。以上のことから、当帰芍薬散はDAの代謝障害を改善することで、嗅球を保護する作用があることが示唆された。

モルヒネ連続投与による耐性モデル

井上³⁾はモルヒネの連続投与による耐性に対する当帰芍薬散の作用を検討した。ラットにモルヒネを日ごとに量を増やしながら1、3、5日間連続皮下投与した。TSS(蒼朮配合、ヒト常用量の約0.6~13倍量)は、モルヒネ投与の7日前から最終投与時まで1日1回強制経口投与した。モルヒネ最終投与1日後にメタンフェタミンを皮下投与し、その後1時間の自発運動量を測定したところ、メタンフェタミンによる自発運動亢進はモルヒネの投与期間に応じて増加した。いずれのモルヒネ投与期間においても、当帰芍薬散を投与したラットでは自発運動量は用量依存的に有意に減少した。モルヒネ非投与時のメタンフェタミンのみでの自発運動亢進には、当帰芍薬散は影響しなかった。このことから、当帰芍薬散はモルヒネ連続投与における耐性形成を抑制することが推測された。

Itohら⁴⁾は脳における神経伝達物質量に対する当帰芍

葉散の作用を検討した。マウスにTSS(蒼朮配合)を単回(ヒト常用量の約6倍量)または1日2回(ヒト常用量の約13倍量)14日間、連続強制経口投与した。最終投与の1時間後にマウスを屠殺、脳を摘出し、大脳皮質、線条体、海馬に分け、それぞれに含まれる神経伝達物質類の濃度を測定した。当帰芍薬散を単回投与することにより、大脳皮質と海馬中のDAとHVAの量と海馬中のDOPAC量がそれぞれ有意に増加し、海馬中のノルアドレナリン(NA)量が有意に減少していた。14日間の連続投与後では、大脳皮質と線条体におけるNAとDA量が有意に増加し、大脳皮質中のDOPACと5-ヒドロキシインドール酢酸(5-HIAA量)が有意に増加していた。以上のことから、当帰芍薬散がコリン作動性神経系に何らかの作用を示すことが推測された。

末梢神経切断モデル

Itoら⁵⁾は、末梢神経切断による運動神経障害に対する当帰芍薬散の作用を検討した。ラットの右顔面神経を茎乳突孔の位置で切断し、その後、TSS(蒼朮配合、ヒト常用量の約6倍量)を食餌に混合して14または56日間飼育した。屠殺後、バラホルムアルデヒドで灌流固定し、脳を摘出後、各種組織切片を作成した。手術14日後の同側の顔面運動ニューロンのNADPHデヒドロゲナーゼ陽性神経細胞数は、sham群と比べて有意に増加していたが、当帰芍薬散投与群では有意に低下していた。手術56日後では運動ニューロンの回復が認められるが、その生存している運動ニューロンの割合は当帰芍薬散投与群において有意に高かった。当帰芍薬散は神経障害後の酸化ストレスを抑制することにより神経保護作用を示すことが推測された。

各種ストレスモデル

Liら^{6, 7)}は、歯列矯正による疼痛並びに学習障害に対する当帰芍薬散の改善作用を評価した。Ti-Ni合金コイルスプリング歯列矯正器具をラットの右側上顎第一臼歯と上顎切歯に設置し、60gの矯正力をかけた。当帰芍薬散(唐当帰、唐川芎、白朮を使用、配合比は日本のものとは異なる)の熱水抽出エキス(中国の量ではヒト常用量相当、日本の量ではヒト常用量の約4倍量)を、施術の5日前から7日後まで、1日2回強制経口投与した。施術をしたが矯正力をかけていないsham群と比較して、施術して矯正力を負荷した群では、負荷1日後を

ピークに顔身繕い行動と歯ぎしり行動が観察されたが、当帰芍薬散エキスを投与した群ではそれらは有意に抑制されていた。矯正力負荷1日後にラットを屠殺し、灌流固定後、脳の組織切片を作成し、三叉神経脊髄路核の尾側亜核におけるFos-IR(神経興奮マーカー)とIba-1(ミクログリア活性化マーカー)を染色したところ、矯正力をかけていない群と比較して負荷したことによりそれぞれの陽性細胞数が有意に増加していたのに対して、さらに当帰芍薬散エキスを投与した投与群ではそれぞれ有意に回復していた。また、当帰芍薬散エキスを同用量で5日間投与した別のラットに対して、同様の施術を施し、その直前から5日目まで1日1回モリス水迷路試験を行い、学習能力を評価した。Sham群では、安全地帯への到達時間が日ごとに短縮していったが、矯正力負荷群ではその短縮は有意に遅延し、有意な記憶障害が見られていた。当帰芍薬散エキスを矯正力負荷後も継続して投与した群では、安全地帯への到達時間はsham群と同等で、有意に回復した。負荷5日後にラットを屠殺し、灌流固定後、脳幹の組織切片を作成したところ、sham群と比較して矯正力負荷群では同側海馬歯状回でのグリア線維性酸性タンパク(GFAP)陽性神経幹細胞数は有意に増加し、アストロサイトの活性化が認められたが、当帰芍薬散投与群では有意に回復していた。また、視床下部の樹状突起棘を神経標識色素Dilにより染色し、その形態を顕微鏡下で観察したところ、sham群と比較して矯正力負荷群では神経突起棘の密度が有意に減少していたが、当帰芍薬散投与群では有意に回復していた。以上のことから、当帰芍薬散の神経の興奮やミクログリア、アストロサイトの活性化を抑制することにより、歯科矯正によって起こる疼痛や空間記憶能力の低下を抑制することが示唆された。

杉山ら⁸⁾は、反復低温(SART)ストレスによる痛覚過敏に対する当帰芍薬散の作用を検討した。マウスを、午前9時から午後4時までは4℃と24℃とを1時間毎に交替、午後4時から午前9時までは4℃の環境下で飼育する反復低温ストレスを8日間負荷した。当帰芍薬散は、刻み生薬(白朮配合)から熱水抽出したエキス(ヒト常用量の約10倍量)をストレス負荷8日目に単回投与した。痛覚閾値は尾に対する圧刺激に対する逃避反応により測定した。SARTストレスを負荷することにより、痛覚閾値は有意に過敏となったが、当帰芍薬散を投与した群ではそれは有意に改善していた。SARTストレスを負荷しなかったマウスに当帰芍薬散を投与しても、

痛覚閾値には変化は認められなかった。このことから、当帰芍薬散はストレス性の慢性疼痛に対して有用であることが示唆された。

Iizukaら⁹⁾は、卵巢摘出動物に電気刺激ストレスを加えるモデルで、当帰芍薬散の抗ストレス作用を検討した。マウスの卵巢を摘出し、1週間の回復期間の後、底面に電極のあるケージに1日1回15分入れて電気刺激を与えるストレスを7日間負荷した。各ストレスを与える1時間前と最終ストレス負荷の翌日までの8日間、TSS(蒼朮配合、ヒト常用量の約1、4または13倍量)を1日1回経口投与した。最終投与の1時間後、ペントバルビタールを腹腔内に投与して、その後の睡眠時間によりストレスを評価したところ、開腹したが卵巢を摘出なかったsham群にストレスを負荷した群と比較して、卵巢摘出しストレスを負荷した群では有意な睡眠時間

の短縮が認められた。卵巢摘出非ストレス負荷群と比較して、卵巢摘出ストレス負荷群でも有意な睡眠時間の短縮が認められたのに対して、当帰芍薬散投与群では用量依存的に回復が認められ、中用量、高用量投与群で有意であった。Sham群にストレスを負荷した群に当帰芍薬散を投与しても、睡眠時間に影響は見られなかった。最終投与の1時間後に視床下部を摘出し、NAの代謝産物のMHPGとNAの比(NA代謝回転速度)を求めたところ、卵巢摘出非ストレス負荷群と比較して卵巢摘出ストレス負荷群では有意にNA代謝回転速度が亢進していたのに対して、当帰芍薬散投与群では用量依存的に改善が認められ、いずれの用量群でも有意であった。このことから、当帰芍薬散は更年期障害時において抗ストレス作用を示すことが推測された。

(以下次号へ続く)

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 (有意差のあった用量のみ記載)	結果 (一部抜粋)
中大脳動脈閉塞モデル	Renら ¹⁾	SDラット(♀) (280~320g, n = 4, 10)	熱水抽出エキス(白朮) 0.6g/kg/日 連続経口投与(14日間)	神経行動学的試験の有意な改善 VEGF-eNOSシグナル経路を介して神経症状を改善
嗅覚障害モデル	Songら ²⁾	C57BL/6マウス(♂) (6週齢, n = 5~6)	TSS(蒼朮) 0.8g/kg/日 飲水投与(3週間)	嗅球と内嗅皮質におけるDAの代謝障害を有意に回復
モルヒネ耐性モデル	井上 ³⁾	SDラット(♂) (6週齢, n = 5)	TSS(蒼朮) 0.05~1.0g/kg/日 連続経口投与(14日間)	モルヒネ連続投与によるメタンフェタミンの作用増強を用量依存的に抑制
	Itohら ⁴⁾	ddyマウス(♂) (6週齢, n = 8)	TSS(蒼朮) 0.5g/kg 単回、 1.0g/kg/日連続(14日間) 経口投与	脳内神経伝達物質のDAとその代謝物質や5-HIAAが有意に増加
末梢神経切断モデル	Itoら ⁵⁾	Wisterラット(♂) (250~300g, n = 4)	TSS(蒼朮) 0.5g/kg/日 混合餌投与(14、56日間)	運動ニューロンのNADPH-d ⁺ 神経細胞数を有意に減少 運動ニューロンを有意に回復
各種 ストレス モデル	Liら ^{6, 7)}	SDラット(♂) (180~200g, n = 6, 12)	熱水抽出エキス(白朮) 0.3g/kg/日 連続経口投与 (14日間or10日間)	三叉神経脊髄路核での神経興奮とミクログリアの活性化を有意に抑制 空間記憶能力の低下を有意に回復 海馬歯状回でのアストロサイトの活性化を有意に抑制 視床下部の樹状突起棘の密度の減少を有意に回復
	杉山ら ⁸⁾	ddyマウス(♂) (4週齢, n = 8)	熱水抽出エキス(白朮) 1.0g/kg 単回経口投与	痛覚閾値の低下を有意に改善
	Iizukaら ⁹⁾	ICRマウス(♀) (9週齢, n = 不明)	TSS(蒼朮) 0.3、1.0g/kg/日 連続経口投与(8日間)	睡眠時間の短縮を有意に回復 NA代謝回転速度の亢進を有意に改善

【参考文献】

- 1) Ren C, et al.: Herbal formula Danggui-Shaoyao-San promotes neurogenesis and angiogenesis in rat following middle cerebral artery occlusion. Aging Dis 6(4): 245-253, 2015
- 2) Song QH, et al.: Long term effects of Toki-shakuyaku-san on brain dopamine and nerve growth factor in olfactory-bulb-lesioned mice. Jpn J Pharmacol 86(2): 183-188, 2001
- 3) 井上徳浩: モルヒネ連続投与によるメタンフェタミン作用増強に対する当帰芍薬散の抑制効果. 和歌山医学 50(2): 155-163, 1999
- 4) Itoh T, et al.: Effects of single and repeated administrations of Toki-shakuyaku-san on the concentrations of brain neurotransmitters in mice. Meth Find Exp Clin Pharmacol 20(1): 11-17, 1998
- 5) Ito M, et al.: Neuroprotective effects of TJ-23 (Tokishakuyakusan) on adult rat motoneurons following peripheral facial nerve axotomy. Otolaryngol Head Neck Surg 136(2): 225-230, 2007
- 6) Li H, et al.: Danggui-shaoyao-san, a traditional Chinese medicine prescription, alleviates the orthodontic pain and inhibits neuronal and microglia activation. Chin Med J 127(20): 3630-3637, 2014
- 7) Li H, et al.: Effects of Danggui-Shaoyao-San on the influence of spatial learning and memory induced by experimental tooth movement. Chin Med J 128(14): 1948-1955, 2015
- 8) 杉山清 ほか: 慢性疼痛モデルにおける漢方薬の評価. 漢方と最新治療 6(2): 173-179, 1997
- 9) Iizuka S, et al.: Effects of Toki-shakuyaku-san on electric footshock stress in ovariectomized mice. Meth Find Exp Clin Pharmacol 20(1): 39-46, 1998