

# コルチコステロン誘発うつ病 モデルマウスに対する 抑肝散加陳皮半夏の効果



クラシエ製薬株式会社 漢方研究所 村田 健太、藤田 日奈

## はじめに

わが国でのうつ病の生涯有病率は人口の3~7%と報告されている。厚生労働省が実施している患者調査によれば、1996年には43万人であった患者数は2008年には約2.5倍の104万人と著しく増加しており、今後もうつ病患者数は増加していくと考えられている。

多くの精神疾患の発症には、遺伝子あるいは環境が同程度に影響を及ぼすことが知られている。たとえば家族にうつ病患者がいる場合、うつ病の発症率は1.5~3倍高く、遺伝的素因の関与が考えられる一方で、うつ病はストレスを誘因として発症することも多く、環境的素因の関与も示唆されている<sup>1)</sup>。ヒトがストレスに曝露されると、副腎皮質からのグルココルチコイドの分泌が促進され、血圧や血糖値の上昇を介してストレスに応答することができる。通常、分泌されたグルココルチコイドは、視床下部からのネガティブフィードバックを受け短時間で定常状態まで低下するが、慢性的なストレス下ではネガティブフィードバック機構が障害を受け、グルココルチコイドの濃度は高濃度に維持され、うつ病を始めとした精神疾患が惹起される。

抑肝散加陳皮半夏は、抑肝散に、消化器症状の改善作用を有する陳皮と半夏を配合した処方で、消化機能が低下した患者に広く用いられる。最近では、認知症の周辺症状や軽度うつ病に対して有効であることが報告されている。本稿では、コルチコステロン(以下、CORT)誘発うつ病モデルマウスを用いて実施した、抑肝散加陳皮半夏エキスの抗うつ効果および海馬神経新生促進効果に関する試験結果を紹介する。

4週間経口投与し、尾懸垂試験および強制水泳試験を実施した。なおうつ様症状は、尾懸垂試験ではマウスを吊り下げた際、強制水泳試験ではマウスを水の張られたビーカーに入れた際の、マウスが動きを止めた時間(無動時間)により評価した。

**【結果】** 図1に示したように、CORT投与により尾懸垂試験および強制水泳試験の無動時間は有意に延長したが、抑肝散加陳皮半夏エキスの投与により無動時間の延長が有意に抑制された。これらの試験結果から、抑肝散加陳皮半夏エキスは抗うつ効果を有することが示唆された。

**【試験 2】** 抑肝散加陳皮半夏エキスの抗うつ効果の作用機序を解明することを目的に、海馬における神経新生に対する作用を検討した。評価には、試験1で使用したマウスを用いて、各投与群の海馬歯状回における幼若神経細胞数を測定した。

**【方法】** 試験1の行動試験終了後、脳パラフィン切片を作成し、幼若神経のマーカーであるDoublecortin(以下、DCX)陽性細胞を免疫染色法により同定し、単位体積当たりの陽性細胞数を測定した。

**【結果】** 図2に示すように、CORT投与群では、コントロール群と比較して、単位体積当たりのDCX陽性細胞数の有意な減少が認められた。一方、抑肝散加陳皮半夏エキスを投与したマウスでは、単位体積当たりのDCX陽性細胞数に改善が認められた。以上の結果より、抑肝散加陳皮半夏は海馬の神経新生を促進することにより、抗うつ効果を呈している可能性が示唆された。

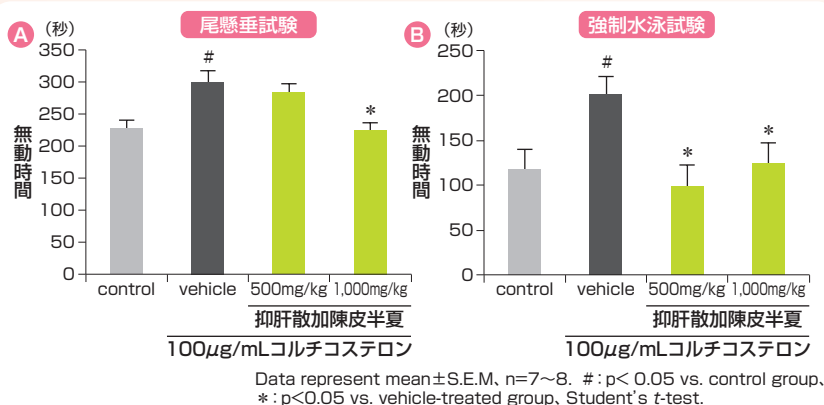
**【試験 3】** 動物試験の結果より、抑肝散加陳皮半夏エキスは海馬の神経細胞数を増加させることにより、抗うつ効果を呈している可能性が示唆されたが、どの様な作用機序で神経細胞

## 試験方法と結果

**【試験 1】** マウスにおいて、グルココルチコイドの一種であるCORTの慢性投与により、うつ様症状が惹起されることが多くの研究で報告されている。本研究では、CORT慢性投与モデルをうつ病の病態モデルとして使用し、抑肝散加陳皮半夏エキスの作用について検討した。

**【方法】** 5週齢C57BL/6マウスに、100 $\mu$ g/mL CORT溶液を3週間投与し、うつ様症状を惹起させた。CORT投与終了後、抑肝散加陳皮半夏エキス(500、1,000mg/kg)を

図1 抑肝散加陳皮半夏のうつ様症状に対する効果



胞数を増加させているかは不明である。本試験では、抑肝散加陳皮半夏エキスのCORT誘発増殖能低下に対する保護作用を検討した。

**【方法】** 6週齢C57BL/6マウスの海馬歯状回より、神経前駆細胞を単離し、培養を行った。培養した神経前駆細胞を培養プレートに播種し、20 $\mu$ M CORTと抑肝散加陳皮半夏エキスを同時に添加し、72時間培養を継続した。培養終了4時間前に、10 $\mu$ M BrdUを添加し、増殖中の細胞を標識した。培養終了後、免疫染色法により全細胞中のBrdU陽性細胞数を測定し、神経前駆細胞の増殖能を評価した。

**【結果】** 図3に示すように、CORT添加群では、コントロール群と比較して、BrdU陽性細胞の割合が低下している。一方、抑肝散加陳皮半夏エキスを併用した群では、濃度依存的にCORTによって誘導されたBrdU陽性細胞数の低下を抑制した。以上の結果より、抑肝散加陳皮半夏はCORT誘発増殖能低下に対して保護効果を有することが明らかになった。

## 考察とまとめ

うつ病の治療現場において、選択的セ

ロトニン再取り込み阻害剤(以下、SSRI)が薬物治療の主流となっている。SSRIは、シナプス間隙のモノアミン濃度の上昇によって抗うつ効果を発揮しているとされている。しかし、シナプス間隙のモノアミン濃度の上昇は急性薬理作用として比較的短時間で起こるにも関わらず、うつ病の回復には1ヵ月以上の期間を要することから、モノアミン濃度上昇以外の作用機序の存在が考えられている<sup>2, 3)</sup>。

SSRIの脳内モノアミン濃度上昇以外の作用機序の一つとして、海馬における神経新生の関与が挙げられる。マウスにX線照射を行い、海馬神経新生を阻害すると、抗うつ薬の効果が消失することから、抗うつ薬の効果発現には海馬歯状回における神経新生が重要であることが示唆されている<sup>4)</sup>。

動物試験の結果より、抑肝散加陳皮半夏エキスはCORTによって誘発されるうつ様症状に対して、治療効果を有することが明らかとなった(図1)。また抑肝散加陳皮半夏エキスを投与したマウスの海馬において、幼若神経細胞数が増加していたことから、抑肝散加陳皮半夏エキスの抗うつ効果の一部に、海馬神経新生が関与している可能性は高いと考えられる(図2)。

一方で、同時に実施した強制水泳試験は、海馬神経新生を阻害してもSSRIの抗うつ効果に変化が認められないことから、海馬神経新生に非依存的な試験法であることが報告されている<sup>5)</sup>。本稿で明らかにした海馬神経新生の促進効果以外にも、抑肝散加陳皮半夏エキスには、抗うつ効果に関与する

図2 抑肝散加陳皮半夏の海馬神経新生に対する効果

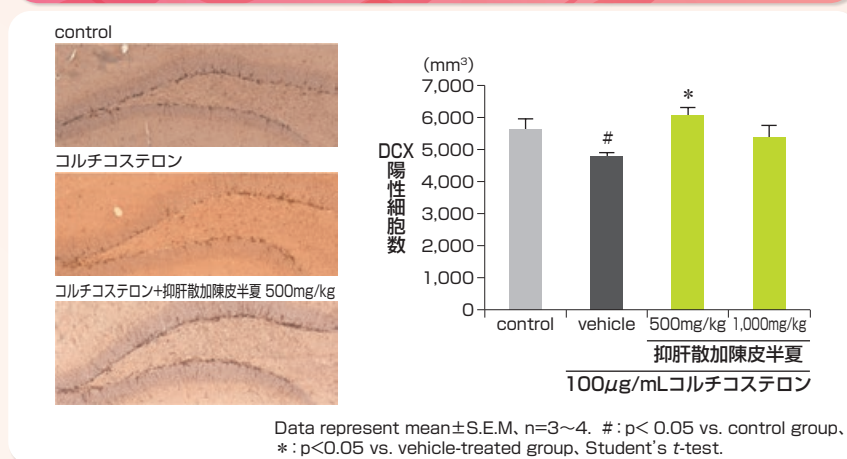
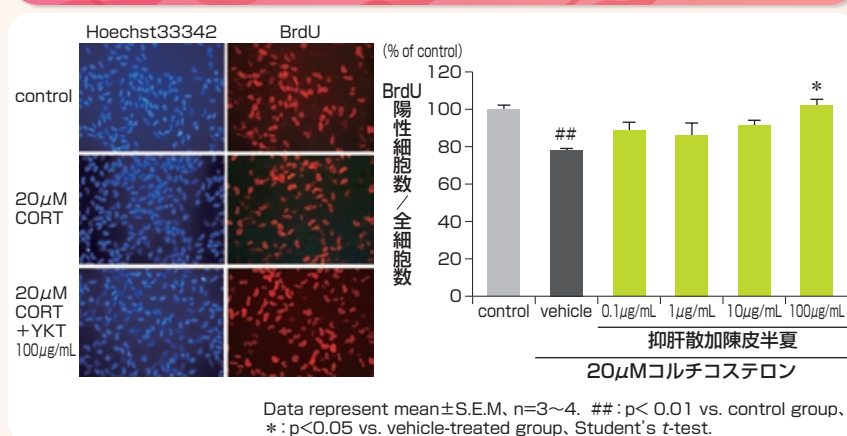


図3 抑肝散加陳皮半夏の神経前駆細胞の増殖能に対する効果



別の作用機序が存在している可能性が考えられる。

また細胞試験の結果より、抑肝散加陳皮半夏エキスは神経前駆細胞の増殖を促進させることにより、海馬神経新生を促進し、抗うつ効果を発現させている可能性が示唆された(図3)。抑肝散加陳皮半夏の構成生薬である当帰や川芎に、神経新生促進作用が報告されていることから、上記生薬に含まれている成分が重要である可能性がある<sup>6)</sup>。

本稿の研究結果より、抑肝散加陳皮半夏エキスはストレスによって誘発されるうつ様症状に対して治療効果を示し、その作用機序の一部に海馬神経新生の促進作用が関与していることが示唆された。また、抑肝散加陳皮半夏エキスには、消化器症状の改善作用を有する陳皮と半夏が含まれることから、SSRI服用開始直後に認められる胃腸障害に苦しむうつ病患者に対して有用である可能性が考えられる。

## 【参考文献】

- Caspi A, et al.: Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 301: 386-389, 2003
- Artigas F, et al.: Acceleration of the Effect of Selected Antidepressant Drugs in Major Depression by 5-HT<sub>1A</sub> Antagonists. *Trends Neurosci* 19: 378-383, 1996
- Gardier AM, et al.: Role of 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors in the mechanism of action of serotonergic antidepressant drugs: recent findings from in vivo microdialysis studies. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 10: 16-27, 1996
- Santarelli L, et al.: Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 301: 805-809, 2003
- David DJ, et al.: Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Fluoxetine in an Animal Model of Anxiety/Depression. *Neuron* 62: 479-493, 2009
- Xin J, et al.: Radix Angelica Sinensis that contains the component Z-ligustilide promotes adult neurogenesis to mediate recovery from cognitive impairment. *Curr Neurovasc. Res* 10: 304-315, 2013