

加味帰脾湯

名古屋市立大学大学院 薬学研究科 教授 牧野 利明

帰脾湯は、厳用和の『厳氏濟生方』(1253年)にある帰脾湯が原典であるが、ここでは白朮、茯苓、黄耆、竜眼肉、酸棗仁、人參、木香、甘草、大棗、生姜の10味を構成生薬としており、現代の12味の帰脾湯とは異なっている。その後、『玉機微義』(1396年)で当帰が加味され、『内科摘要』(1529年)を含む『薛氏医案』(1600年頃)で遠志が加味され、現代と同じ構成の帰脾湯となっていた。さらに、『薛氏医案』内の諸書によって柴胡と山梔子が加味されて、現代と同じ加味帰脾湯となり、今日まで伝わっている。

加味帰脾湯の方剤薬理シリーズは1998年に報告されている¹⁾ので、本稿ではそれ以降に報告された帰脾湯および加味帰脾湯に関する薬理試験についてまとめる。

異常疾病行動モデル

Arakiら²⁾は、担がんマウスでの疾病行動に対する加味帰脾湯の作用を検討した。マウスに結腸腺がんColon 26細胞を腹部皮内に投与し、その翌日から11日間連続して、生薬から調製した加味帰脾湯エキス(白朮配合、ヒト常用量の約2倍量)を1日1回経口投与した。8日と12日目に自発運動、9日目に物体探索行動試験、10日目に社会的行動試験、11日目に強制遊泳試験を行った。正常群、がん細胞投与群(対照群)、がん細胞投与+加味帰脾湯投与群それぞれの間で、自発運動量には差が認められなかった。正常群と比較して対照群では、物体探索行動、社会的行動の抑制と、強制遊泳試験での無動時間の延長が有意に認められたが、それらは加味帰脾湯投与により有意な改善が認められた。がんの大きさは、対照群、加味帰脾湯投与群の間で差は認められなかった。

Arakiら³⁾は、細菌内毒素リポ多糖(LPS)によるマウスの疾病行動に対する加味帰脾湯の作用を検討した。マウスに生薬から調製した加味帰脾湯エキス(白朮配合、ヒト常用量の約2、6倍量)を経口投与し、その1時間後に大腸菌由来LPSを腹腔内投与して、24時間行動を観察した。正常群、LPS投与群(対照群)、LPS投与+加味帰脾湯投与群それぞれの間で、自発運動量には差が認められなかった。正常群と比較して対照群では、物体探索行動、社会的行動の抑制と、強制遊泳試験での無動時間の延長が有意に認め

られたが、それらは加味帰脾湯投与群では有意に改善し、低用量投与群では3種の試験すべてで、高用量投与群では物体探索行動と無動時間で、それぞれ有意差が認められた。その後のマウスの脳の病理組織切片を調製し、視床下部傍室核と扁桃体中心核における神経細胞活動マーカーであるc-Fosの発現を免疫組織化学的に評価したところ、正常群と比較して対照群で増加していたc-Fosの発現量は、加味帰脾湯低用量投与群で有意な改善が認められた。

以上のことから、加味帰脾湯はがん自体には影響せずに、がんや炎症に伴う異常疾病行動を改善できる可能性が示唆された。

記憶障害モデル

Egashiraら⁴⁾は、ラットにおける空間作業記憶障害に対する加味帰脾湯の作用を検討した。8方向放射状迷路を用いて正しい餌の場所を覚えさせ、空間作業記憶を獲得させたラットに対して、医療用加味帰脾湯エキス(以下KKTとする)(蒼朮配合、エキス原末か製剤か不明、エキス原末ならヒト常用量の約100分の1、33分の1量、製剤なら約150分の1、50分の1量。原文での記載量から計算。量が少ないのは、mgとgを間違えているから?)を経口投与し、その30分後にスコポラミンを腹腔内に投与、さらにその30分後に8方向放射状迷路で試験したところ、正常群と比較してスコポラミンを投与した対照群では、空間作業記憶が有意に低下していたが、それは加味帰脾湯の投与により用量依存的に有意に改善した。同様に、空間作業記憶を獲得させたラットにKKT(エキス原末ならヒト常用量の約10分の1、3分の1量、製剤なら約15分の1、5分の1量。同上)を経口投与し、テトラヒドロカンナビノール(THC)を腹腔内投与して、その60分後に試験したところ同様の結果が得られ、加味帰脾湯は高用量投与群において有意な改善が認められた。マウスに加味帰脾湯(エキス原末ならヒト常用量の約33分の1、3分の1量、製剤なら約50分の1、5分の1量)を投与し、その50分後にM1受容体作動薬であるオキソトレモリンを腹腔内に投与して、10~20分後の間に誘発された振戦行動を評価した。その結果、オキソトレモリンにより誘発された振戦行動に対して、加味帰脾湯

投与により用量依存的な増強が認められ、両群において有意差が認められた。加味帰脾湯単独では振戦行動は誘発されなかった。

以上のことから、加味帰脾湯はシナプス後のコリン作動性神経系を活性化させることにより、記憶障害を改善させることが示唆された。

アルツハイマー病モデル

Tohdaら⁵⁾は、アルツハイマー病モデルマウスにおける帰脾湯の作用を検討した。麻酔したマウスにアミロイドβ(Aβ)₂₅₋₃₅を右脳室内に投与(対照群)し、その10日後から生薬から調製した帰脾湯エキス(白朮配合、ヒト常用量の約0.6倍量)を1日1回3日間経口投与した。正常群には活性のない逆配列Aβ₃₅₋₂₅を脳室内に投与した。その後、1日4回5日間モーリス水迷路試験を課したところ、正常群と比較して対照群では、空間認知によりゴール台にたどり着くまでの時間が有意に延長したが、それは帰脾湯投与群において有意に回復していた。5回の水迷路試験の3日後にゴール台を除いた水迷路試験を課し、60秒間自由に遊泳させたところ、正常群と比較して対照群では、ゴール台があった場所を通過する回数が有意に低下していたが、それは帰脾湯投与群において有意に回復しており、記憶が保持されていたことが示された。Aβ₂₅₋₃₅投与後25日目に物体認識試験を課したところ、正常群と帰脾湯投与群では、獲得試行後に行ったテスト試行で有意に探索行動が拡大したが、対照群では獲得試行とテスト試行の差はなかった。Aβ₂₅₋₃₅投与後27日目に屠殺して脳を摘出、組織標本を作成し、免疫染色したところ、神経損傷の指標となるリン酸化ニューロフィラメントH(P-NF-H)の陽性領域では、海馬CA1野の放線状層、歯状回の分子層と門、頭頂葉皮質、嗅周皮質、線条体において、神経内分泌細胞のマーカーであるsynaptophysinの陽性領域では海馬CA1野、CA3野それぞれの上昇層と放線状層、歯状回の分子層において、ミエリン塩基性蛋白の陽性領域では嗅周皮質において、正常群と比較して対照群で有意な減少が認められたが、それらは帰脾湯投与群において有意に回復していた。神経変性疾患にみられる神経細胞死に関与するとされるμカルパインの陽性領域では、正常群と対照群間で差は認められなかったものの、頭頂葉皮質と前頭皮質において帰脾湯投与群で有意な減少が認められた。

Tohdaら⁶⁾とWatariら⁷⁾は、遺伝子組換えアルツハイマー病モデルマウスとして知られる5XFADマウスを用いて、加味帰脾湯の作用を検討した。5XFADマウスにKKT原末(白朮配合、ヒト常用量の約2倍量)を1日1回15日間経口投与し、その後、物体認識試験を課したところ、野生

型マウス群と5XFADマウスに加味帰脾湯を投与した群では、獲得試行後に行ったテスト試行で有意な探索行動が拡大したが、5XFADマウスに水を飲ませた対照群では獲得試行とテスト試行の差はなく、低下した5XFADマウスでの物体認識記憶が加味帰脾湯投与により回復していたことが示された。その翌日、マウスを屠殺して脳を摘出、組織標本を作成し、前頭皮質におけるAβ_{1-40/42}とP-NF-Hまたはsynaptophysinの二重染色によりAβプラーク内での軸索終末の球状化または前シナプスの肥大を評価したところ、対照群と比較して加味帰脾湯投与群で有意な改善が認められた。5XFADマウスに生薬から調製した加味帰脾湯エキス(白朮配合、ヒト常用量の約7倍量)を1日1回15日間経口投与した翌日に屠殺し、大脳皮質を摘出、ホモジナイズし、アルツハイマー病の原因となるリン酸化tauを脱リン酸化する酵素であるプロテインホスファターゼ2Aの活性を評価したところ、野生型群と比較して、対照群では活性が有意に低下していたが、加味帰脾湯投与群では有意に回復していた。

以上のことから、帰脾湯および加味帰脾湯は、アルツハイマー病における脳神経軸索を保護し、記憶障害を改善させる作用があることが示唆された。

睡眠障害

Itoら⁸⁾は、ショウジョウバエでのパーキンソン病モデルでの睡眠障害に対する加味帰脾湯の作用を検討した。野生型ショウジョウバエに対して、羽化直後から一般用加味帰脾湯エキス製剤(白朮配合、製剤を培地中に1.6mg/mL含むように調製、ヒト常用量との換算は困難)を混合した餌で飼育し、羽化3~5日目の間の睡眠行動を観察したところ、正常餌群と比較して加味帰脾湯投与群で夜間における60分以上の長時間睡眠時間が有意に延長した。パーキンソン病など神経変性疾患原因遺伝子とされるα-シヌクレイン遺伝子を導入したショウジョウバエに対して、羽化から10~20日目の間に加味帰脾湯を混合した餌で飼育し、18~20日目の間の睡眠行動を観察したところ、正常餌群と比較して加味帰脾湯投与群で夜間における60分以上の長時間睡眠時間が有意に延長し、1回あたりの睡眠時間も有意に延長した。5分以上の短期間睡眠時間でも1回あたりの睡眠時間は有意に延長した。加味帰脾湯がパーキンソン病での睡眠障害に有効である可能性が示唆された。

卵巣摘出モデル

島村ら⁹⁾は、卵巣摘出ラットでみられるホットフラッシュに対する加味帰脾湯の作用を検討した。ラットの両側

卵巣を摘出し、KKT原末(白朮配合、ヒト常用量の約2、5、9、18倍量)を7日間連続経口投与した。最終投与の1時間後、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(LH-RH)アゴニストを脳室内投与し、直後に起こる尾皮膚温の一過的な上昇は、加味帰脾湯ヒト常用量の約5、9、18倍量投与により、用量依存的に有意な抑制が認められた。また、同様にLH-RHアゴニスト脳室内投与の直後に起こる直腸温の低下は、18倍量投与群において有意な改善が認められた。以上のことから、加味帰脾湯は更年期障害時のホットフラッシュに対して有用であることが示唆された。

Kanaiら^{10, 11)}は、ラットの骨減少症モデルでの加味帰脾湯の作用を検討した。ラットの両側卵巣を摘出し、KKT原末(蒼朮配合、ヒト常用量の約10倍量)を1日2回、1週

間に5日投与しながら6ヵ月間飼育した。大腿骨密度は、正常群と比較して卵巣摘出群で有意な低値を示したが、加味帰脾湯投与群では有意に回復していた。卵巣摘出前および正常群では、自発運動量において昼間と夜間の間で有意な差が認められたが、卵巣摘出から6ヵ月後では昼間と夜間の差がなくなった。これに対して、加味帰脾湯投与群ではその差が回復し、昼間と夜間の間で有意な差が認められた。1日あたりの自発行動量でも、卵巣摘出前と比較して卵巣摘出により有意に低下したが、加味帰脾湯投与群では有意に回復していた。以上のことから、加味帰脾湯は更年期における骨粗鬆症に対して有用であ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 (有意差のあった用量のみ記載)	結果 (一部抜粋)
異常疾病行動モデル	Arakiら ²⁾	BALB/cマウス(♂) (8週齢, n = 8~13)	生薬から調製したエキス(白朮) 0.3g/kg/日 経口投与(11日間)	担がんマウスでの物体探索行動、社会的行動(↑) 強制遊泳試験の無動時間(↓)
	Arakiら ³⁾	ddYマウス(♂) (8週齢, n = 8~11)	生薬から調製したエキス(白朮) 0.3、1.0g/kg 経口投与(単回)	LPS投与マウスでの物体探索行動、社会的行動(↑) 強制遊泳試験の無動時間(↓) 視床下部と扁桃体のc-Fos発現量(↓)
記憶障害モデル	Egashiraら ⁴⁾	Wistarラット(♂) (7週齢, n = 6~11)	KKT(蒼朮)原末が製剤が不明 1.0、3.0 or 10、30mg/kg 経口投与(単回)	スコボラミンおよびTHC誘発空間作業記憶障害を改善
		ddYマウス(♂) (4週齢, n = 10)	同上 3.0、30mg/kg 経口投与(単回)	オキソトレモリン誘発振戦行動(↑)
アルツハイマー病モデル	Tohdaら ⁵⁾	ddYマウス(♂) (7週齢, n = 9)	生薬から調製した帰脾湯エキス(白朮) 0.1g/kg/日 経口投与(3日間)	空間学習と空間記憶および物体探索行動(↑) P-NF-H、synaptophysin、ミエリン塩基性蛋白の各陽性領域での発現レベル(↑) 頭頂葉皮質と前頭皮質でのカルバイン発現レベル(↓)
	Tohdaら ⁶⁾	5XFADマウス(♂) (4~7週齢, n = 4、8~11)	KKT原末(白朮)0.2g/kg/日 経口投与(15日間)	物体認識記憶(↑) 前頭皮質中Aβフラーク内の軸索終末の球状化と前シナプスの肥大(↓)
	Watariら ⁷⁾	5XFADマウス(♂) (9~11週齢、n = 4~8)	生薬から調製したエキス(白朮) 0.5g/kg/日 経口投与(15日間)	大脳皮質中プロテインホスファターゼ2A活性(↑)
睡眠障害	Itoら ⁸⁾	ショウジョウバエ(♂) (羽化直後、n = 16、30)	一般用加味帰脾湯エキス製剤(白朮) 1.6mg/mL混懸投与 (3~20日間)	野生型:長時間睡眠時間(↑) パーキンソン病型:長時間および短時間睡眠時間(↑)
卵巣摘出モデル	島村ら ⁹⁾	Crj:CD(SD)ラット (♀) (8週齢, n = 7、10)	KKT原末(白朮) 0.5、1.0、2.0g/kg/日 経口投与(7日間)	LH-RHアゴニスト誘発 尾皮膚温(↓) 直腸温(↑)
	Kanaiら ^{10, 11)}	Wistarラット(♀) (8週齢, n = 8)	KKT原末(蒼朮)0.5g/kg/日 経口投与(1日2回週5日6ヵ月間)	大腿骨密度(↑) 夜間行動量(↑)

【参考文献】

- 1) 鳥居塚和生: 方劑薬理シリーズ 加味帰脾湯. 漢方医学. 22: 196-202, 1998
- 2) Araki R, et al.: Kamikihito ameliorates tumor-induced sickness behavior in mice. Traditional & Kampo Medicine. 2: 93-96, 2015
- 3) Araki R, et al.: Kamikihito ameliorates lipopolysaccharide-induced sickness behavior via attenuating neural activation, but not inflammation, in the hypothalamic paraventricular nucleus and central nucleus of the amygdala in mice. Biol. Pharm. Bull. 39: 289-294, 2016
- 4) Egashira N, et al.: Kamikihito, a Kampo medicine, ameliorates impairment of spatial memory in rats. Phytother. Res. 21: 126-129, 2007
- 5) Tohda C, et al.: Kihito, a herbal traditional medicine, improves Aβ(25-35)-induced memory impairment and losses of neurites and synapses. BMC Complement Alternat Med. 8: 49, 2008
- 6) Tohda C, et al.: Kamikihito (KKT) rescues axonal and synaptic degeneration associated with memory impairment in a mouse model of Alzheimer's disease, 5XFAD. Int. J. Neurosci. 121: 641-648, 2011
- 7) Watari H, et al.: New treatment for alzheimer's disease, kamikihito, reverses amyloid-β-induced progression of tau phosphorylation and axonal atrophy. Evid. Based Complement Alternat Med. 2014: 706487, 2014
- 8) Ito K, et al.: Effects of kamikihito and unkei-to on sleep behavior of wild type and parkinson model in Drosophila. Frontiers Psychiatry. 8: 132, 2017
- 9) 島村美智枝 ほか: ラット hot flush モデルに対する加味帰脾湯、加味逍遙散および桂枝茯苓丸の効果. 和漢医薬学雑誌. 14: 219-226, 1997
- 10) 金井成行 ほか: 実験的骨減少症に対する加味帰脾湯の効果. 日東医誌. 53: 329-334, 2002
- 11) Kanai S, et al.: Effect of kami-kihi-to (jia-wei-gui-pi-tang) for experimental osteopenia. Am. Chin. Med. 33: 41-48, 2005