

# 抑肝散の向精神作用におけるグルタミン酸神経系の関与に関する研究

川上 善治

株式会社ツムラ ツムラ研究所, 〒300-1192 茨城県稲敷郡阿見町吉原3586

## Involvement in glutamatergic nervous system in psychotropic effects of yokukansan

Zenji Kawakami

TSUMURA Research Laboratories, TSUMURA & Co.,  
3586 Yoshiwara, Ami-machi, Inashiki-gun, Ibaraki 300-1192, Japan

### Abstract

Yokukansan, a traditional Japanese medicine called Kampo composed of seven medicinal herbs (Atractylodis lancea rhizome, Poria sclerotium, Cnidium rhizome, Uncaria hook: UH, Japanese Angelica root, Glycyrrhiza: GL, and Bupleurum root), has been reported to improve behavioral and psychological symptoms of dementia (BPSD) in dementia patients. However, the mechanism is still unclear. In various animal models used for researches in the pathogenesis and therapy of dementia, the increase in the extracellular level of glutamate in the brain has been reported. In order to clarify the hypothesis, the effects of yokukansan on glutamate-mediated excitotoxicity as one of mechanism were investigated both *in vivo* and *in vitro* studies.

*In vivo* studies, daily oral administration of yokukansan ameliorated thiamine deficient (TD)-induced memory disturbance, increase in aggressive behavior, decrease in social behavior, and several neurological symptoms including opisthotonus. Histopathological examinations showed that yokukansan inhibited the degeneration of neuronal and astroglial cells in the brain stem, hippocampus and cortex in TD rats. Microdialysis experiments showed that yokukansan inhibited extracellular glutamate rise in the ventral posterior medial thalamus in TD rats. These results suggest a possibility that yokukansan possesses the preventive or progress inhibitive effect against the development of memory disturbance and BPSD-like behaviors induced by the degeneration of neuronal and astroglial cells resulting from TD.

*In vitro* studies, yokukansan ameliorated TD-induced decreases in glutamate uptake and glutamate transporters in cultured astrocytes. A similar effect of glutamate uptake was found for GL-derived glycyrrhizin (GR) and its metabolite 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid (GA), which inhibit protein kinase C activity. These results suggest that GR and GA are likely responsible for amelioration of dysfunction of glutamate transport in astrocytes. Next, the direct effects of yokukansan on neurons using cultured neurons and PC12 cells were investigated. Yokukansan inhibited glutamate-induced neuronal and PC12 cell death. Higher potency of protection was found in four UH-derived components (hirsutine: HIR, hirsuteine: HTE, geissoschizine methyl ether: GM, and rynchophylline) and four GL-derived components (glycycoumarin, isoliquiritigenin: ILQG, liquiritin, and GA). HIR, HTE, and GM ameliorated the glutamate-induced decrease in glutathione levels in PC12 cells, suggesting that these components have an anti-oxidative effect. ILQG bound to NMDA receptors and inhibited

the glutamate-induced increase in receptor-linked  $\text{Ca}^{2+}$  influx in neurons, suggesting that this component has NMDA receptor antagonistic effect.

In conclusion, these lines of evidence suggest that yokukansan ameliorated the TD-induced BPSD-like symptoms and memory impairment. This effect might be mediated by two types of protective effects for neurons: an indirect effect by amelioration of dysfunction of astrocytes and a direct effect by anti-oxidative and NMDA receptor antagonistic effects.

**Key words:** astrocyte, behavioral and psychological symptoms of dementia (BPSD), glutamate transporter, neuroprotection, yokukansan.

## 緒言

現代社会の抱える問題の一つに高齢化があり、それに伴う代表的疾患に認知症がある。わが国の認知症患者は現在200万人を超え、15年後には300万人以上になるとも言われている。認知症の症状には記憶・学習障害などの中核症状と、幻覚・妄想、暴言・暴力、攻撃性、不安、徘徊、うつ症状など様々な周辺症状（BPSD）がある<sup>1)</sup>。BPSDは中核症状にもまして介護者へ大きな負担を強いることなどから社会的な問題となっている<sup>2), 3)</sup>。臨床では様々な薬物が対症的に用いられている。その中でこれまでBPSD治療に主に用いられていた抗精神病薬には錐体外路系症状などの副作用が知られている<sup>4), 5)</sup>。2005年、米国食品医薬品局が「これら薬物が認知症患者の死亡率を高める」ことを勧告<sup>6)</sup>して以来、同様な報告が相次ぎ、副作用の少ない新しい治療薬が探し求められていた。このような背景において、神経過敏で興奮しやすい、イライラする、眠れないなどの精神症状に効果を持つ抑肝散が抗精神病薬のような副作用がなく、BPSD改善効果を有することが時を同じくして国際誌に報告された<sup>7), 8)</sup>。これを契機に抑肝散の臨床研究も三大認知症と言われているアルツハイマー型、レビー小体型、血管性認知症患者などを対象とした多施設臨床試験が実施され、現在その有効性が集積されている<sup>9), 10), 11), 12)</sup>。その一方で、このような改善効果を有する抑肝散の作用機序解明が求められる。抑肝散に限らず各種生薬の複合体である漢方薬の複合効果を科学的に解明しようとするれば、当然、構成生薬の効果を特定するのが論理であり、それを確認すれば有効成分が問われる。

本論文は抑肝散のBPSD改善効果とその作用機序を科学的に明らかにするために、3章に分けて *in vivo* および *in vitro* 実験を遂行し、以下の新知見を得た。

## 第1章. チアミン欠乏ラットの精神行動障害に対する抑肝散の向精神作用

認知症モデル動物を用いたこれまでの研究は、主に認知症の主症状である学習・記憶障害に焦点が当てられていたため、BPSDに関する情報はほとんど報告されていなかった。そのような状況の中で、チアミン欠乏（TD）ラットやマウスが学習・記憶障害だけでなく、不安、抑うつ、ムリサイド（ラットがマウスを殺す行動）、攻撃性、および驚愕反応のようなBPSD様行動を発症することが報告されていた<sup>13), 14)</sup>。そこで、TDラットに着目し、記憶障害およびBPSD様症状発現の検証とそれに基づく抑肝散の効果を検討した。

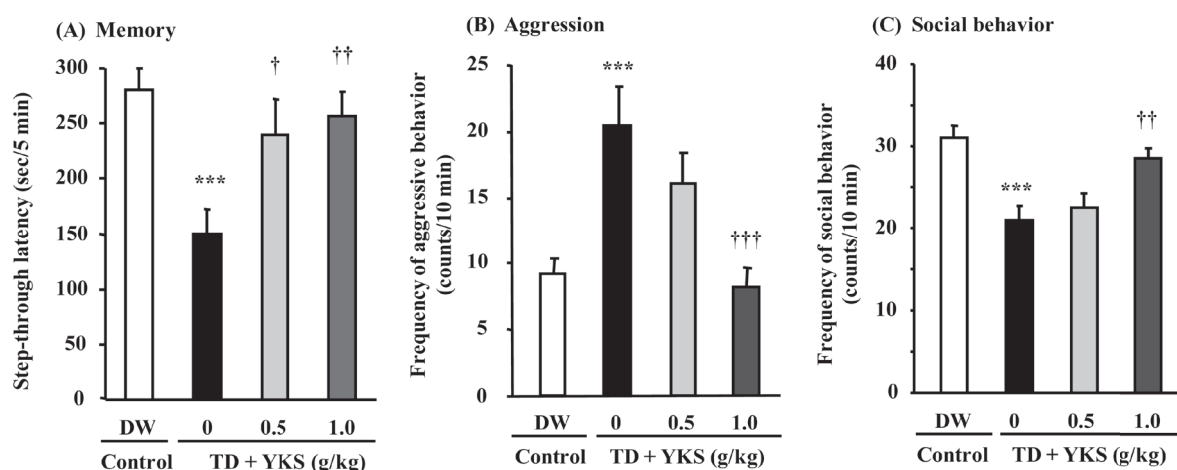
4週齢のウイスター系ラットは、コントロール食またはTD食で37日間飼育した。コントロール群の動物にはTD群と同量のコントロール食を与えた。この間、コントロール群とTD群には蒸留水を、TD+0.5 g/kg 抑肝散群およびTD+1.0 g/kg 抑肝散群には0.5 g/kg および1.0 g/kg の抑肝散を毎日1回経口投与した。

記憶障害評価は<sup>15)</sup>、ステップスルー型受動回避試験により評価した。すなわち、正常食飼育期間に回

避記憶を獲得させ、その記憶の保持をTD食変更後15および29日目に再生試行により評価した。15日目の再生試行では、群間差は認められなかった。しかし、29日目ではコントロール群の90%が300秒以上明室に滞在したのに対し、TD群の動物ではわずか9%だけしか明室に滞在しなかった。各群の平均明室滞在時間をFig. 1Aに示した。TD群の明室滞在時間(155 ± 23秒)はコントロール群(288 ± 20秒)に比べ有意に短く、この保持時間の短縮は抑肝散処置により用量依存的に有意に抑制(延長)された。この結果から抑肝散には記憶保持能力作用のあることが示唆された。攻撃性および社会的行動性に及ぼす抑肝散の作用は、TD食変更後21日目にソーシャルインタラクション試験により調べた。TD群の攻撃行動の総数はコントロール群に比べ有意に増加し、1.0 g/kg抑肝散処置はTDで誘発された攻撃行動数の増加を有意に抑制した(Fig. 1B)。TD群の社会的行動の総数はコントロール群に比べ有意に減少し、1.0 g/kg抑肝散処置はTDで誘発された社会的行動数の減少を有意に抑制した(Fig. 1C)。その他にも、抑肝散はTD末期で認められる後弓反張や痙攣などの神経症状を改善した。これらの結果は、抑肝散に攻撃性増加、社会性低下や易刺激性などのBPSD様症状に対し改善作用のあることを示唆した。

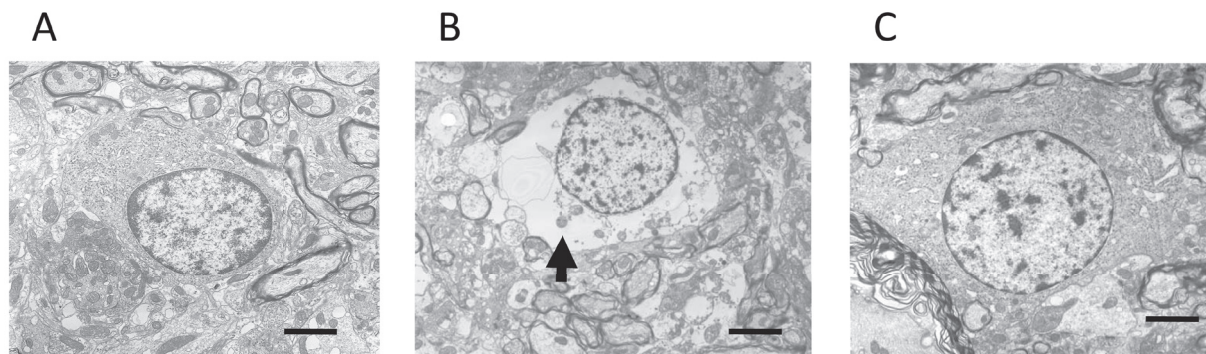
これらの動物の脳(大脳皮質や脳幹前庭神経核)の電子顕微鏡学的検索を21および34日目で行ったところ、34日目においてTDラットの神経細胞の空胞化が高頻度に認められた。しかし、抑肝散(1.0 g/kg)処置動物ではこのような空胞変性は認められなかった。またTDラットでは神経細胞よりもさらに強い空胞化変性が21日目のアストロサイトですでに認められた。しかし、抑肝散処置動物ではそのような変性は34日目においても認められなかった(Fig. 2)。

アストロサイトの機能の一つとして細胞外液グルタミン酸の取り込み作用がある。そこで、細胞外液グルタミン酸濃度を28日目にマイクロダイアリシス法を用いて測定したところ、TD群のグルタミン酸レベルはコントロール群に比べ有意に高かった。その高値は抑肝散処置(1.0 g/kg)群では正常レベルに抑えられていた(Fig. 3)。抑肝散には細胞外液グルタミン酸濃度の上昇を改善する作用のあることが推察された。

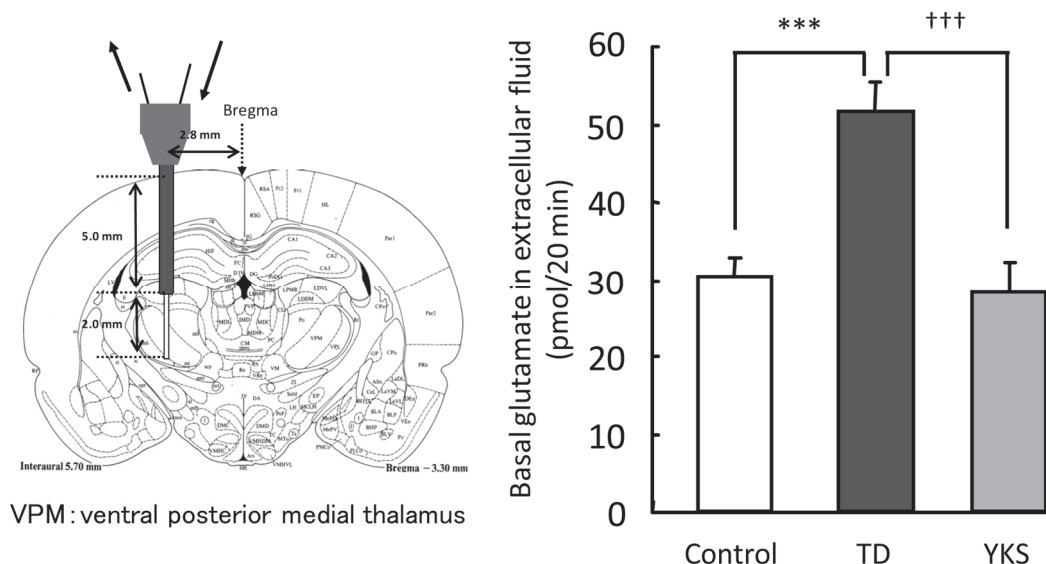


**Fig. 1.** Effect of yokukansan (YKS) on memory disturbance, aggression and social behaviors. Memory retention tests (A) were performed on Days 29 after TD feeding. Aggression (B) and social behaviors (C) were examined by social interaction tests on Day 21. Value represents the mean ± S.E.M. (n=10 ~ 11). Significance by Fisher's PLSD test following one-way ANOVA is indicated as \*\*\* $P < 0.01$  vs Control, † $P < 0.05$  and †† $P < 0.01$  vs TD.

以上、第一章ではTDラットが記憶障害やBPSD様症状の薬効評価に適切なモデル動物であることを示し、このモデルを用いて発現する様々な精神、行動障害に対し抑肝散が改善効果を有することを明らかにした。さらに、TDで誘発される諸症状の背景には、脳内において神経細胞やアストロサイトの変性および細胞外液グルタミン酸濃度の上昇が起きていることを明らかにした。抑肝散がこれらの障害を改善したことから、記憶障害や攻撃性などのBPSD様症状に対する抑肝散の改善効果には脳内興奮伝達物質であるグルタミン酸の神経興奮に対する是正作用が深く関与している可能性を推察した。



**Fig. 2.** Electron micrographs of astrocytes in vestibular nucleus. Compared to a normal astrocyte (A), a severely degenerated astrocyte that had lost most of the organelles in the cytoplasm was found in TD rat (arrow in B). The severe degeneration in cytoplasm of the TD astrocyte was not observed in 1.0 g/kg YKS-treated animal even on the 34th day (C). Bar=2  $\mu$ m.



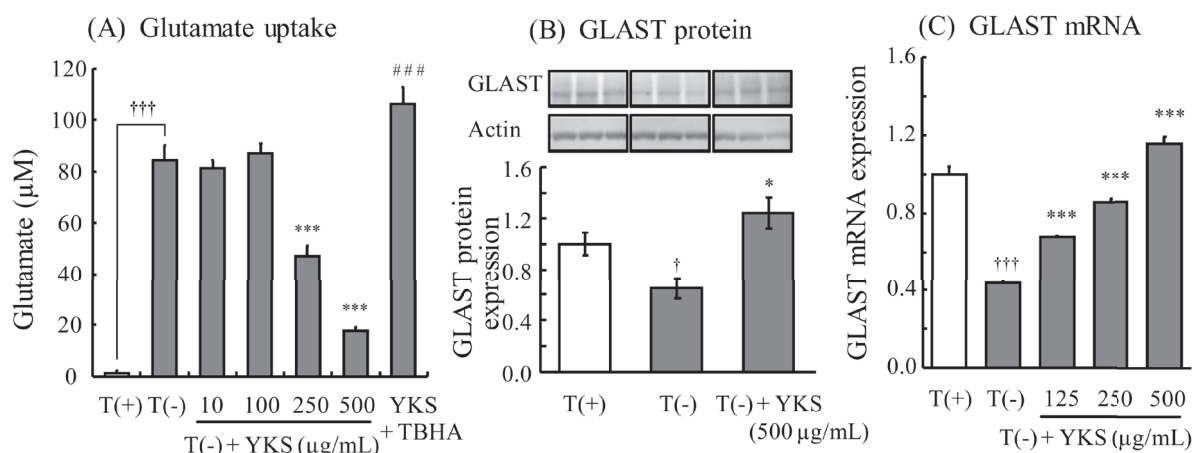
**Fig. 3.** Extracellular concentrations of glutamate in VPM. Value represents the mean  $\pm$  S.E.M. Significance by Bonferroni multiple comparison procedure following one-way ANOVA is indicated as \*\*\* $P$ <0.001 vs Control, †††  $P$ <0.001 vs TD.



## 第2章. アストロサイトのグルタミン酸取り込みに対する抑肝散の作用

認知症の研究に用いられている種々の動物モデルでも、グルタミン酸など、興奮性アミノ酸の脳内細胞外液レベルの増加が知られている<sup>16)</sup>。グルタミン酸は、シナプス後ニューロンの興奮性伝達物質である一方で、その強力かつ持続的な暴露は細胞死を招く要因である<sup>17), 18)</sup>。神経終末からシナプス間隙に放出されたグルタミン酸は、神経細胞のグルタミン酸受容体に作用し神経細胞を興奮させる。生理的条件下では、グルタミン酸の神経細胞への過剰負荷を防ぐため、シナプス間隙に放出されたグルタミン酸のほとんどは主にアストロサイトに存在するトランスポーターによりシナプス間隙から除去され適度な神経興奮が促される。アストロサイトにおけるグルタミン酸の取り込みを担っているのが2つのグルタミン酸トランスポーター (GLASTおよびGLT-1) である<sup>19), 20)</sup>。TDラット脳では、このアストロサイトの変性が認められ、外液グルタミン酸濃度が上昇していた (第1章)。抑肝散がこれらを改善したことから、抑肝散の作用にはアストロサイトのグルタミン酸取り込み機能が関与しているかもしれないという仮説を立てた。そこで本章では、アストロサイトのグルタミン酸取り込み系だけを培養系として取り出し、この仮説の検証を試みた。

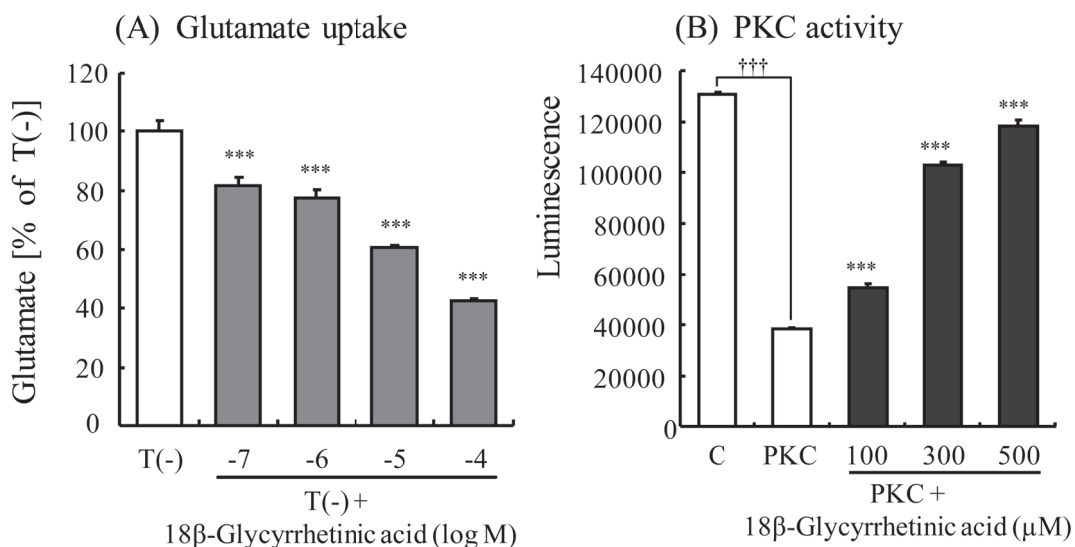
Juurink and Walz (1998)<sup>21)</sup> の変法により高純度に培養したアストロサイトを96-well培養プレートへ再播種し、コンフルエントになった時点で実験を開始した。すなわち、アストロサイトを正常培地またはTD培地で7日間培養した後、各培地にグルタミン酸を添加し、5時間後に培地 (細胞外液) 中のグルタミン酸濃度を測定することによりグルタミン酸取り込み能を評価した。



**Fig. 4.** Effects of YKS on TD-induced decrease of glutamate uptake (A), GLAST protein (B), and GLAST mRNA (C) in cultured astrocytes. Astrocytes were cultured in T(+): thiamine-containing normal medium, T(-): thiamine-deficient medium, or T(-) medium containing various concentrations of yokukansan. (A) YKS + TBHA: T(-) medium containing yokukansan (500 μg/mL) with the glutamate transporter inhibitor TBHA (100 μM). Each value represents the mean ± S.E.M. (n = 6). †††  $P < 0.001$  vs. T(+), \*\*\*  $P < 0.001$  vs. T(-), and ###  $P < 0.001$  vs. T(-) + yokukansan (500 μg/mL): one-way ANOVA + Dunnett's test. (B) In Western blotting, GLAST protein (60 kd) was quantified by normalization to actin (42 kd). Each value represents the mean ± S.E.M. of 3 separate samples. †  $p < 0.05$  vs. T(+), and \*  $p < 0.05$  vs. T(-): Student's *t*-test. (C) Each value is expressed as a relative value of the T(+) control group after the expression of mRNAs in each sample was normalized to the Rps 29 mRNA level. Each value represents the mean ± S.E.M. of 3 measurements performed in triplicate. †††  $p < 0.001$  vs. T(+) and \*\*\*  $p < 0.001$  vs. T(-): one-way ANOVA + Bonferroni test.

Fig. 4Aに示したように、正常なアストロサイトではグルタミン酸添加5時間後には細胞外液中でグルタミン酸はほとんど消失していた。しかし、TDアストロサイトでは、添加したグルタミン酸濃度(100 $\mu$ M)が残存していた。抑肝散処置はTD状態における外液グルタミン酸を濃度依存的かつ有意に減少させた(Fig. 4A)。この抑肝散の作用は、グルタミン酸トランスポーター阻害剤TBHAの併用で完全に阻害された。この結果から、抑肝散の外液グルタミン酸濃度の低下はグルタミン酸トランスポーターを介したグルタミン酸取り込み作用によるものであることが示唆された。Fig. 4Bおよび4Cに示したように、TDアストロサイトではグルタミン酸トランスポーター(GLAST)の蛋白質およびmRNAレベルが低下しており、抑肝散はこれらの低下を改善したことから、抑肝散のグルタミン酸取り込み作用はトランスポーター機能改善によることが示唆された。

そこで、抑肝散のTD誘発グルタミン酸取り込み機能障害改善作用を担う活性生薬を究明するため、構成7生薬(ソウジュツ、ブクリョウ、センキュウ、チョウトウコウ、トウキ、サイコ、カンゾウ)の効果を同様のグルタミン酸取り込み能を指標に検討したところ、カンゾウにのみ有意な濃度依存的改善作用が認められた。それを担う活性成分を明らかにするためカンゾウ8成分の効果についても同様に調べたところ、グリチルリチンに活性が認められた。グリチルリチンは生体内で18 $\beta$ -グリチルレチン酸<sup>22), 23)</sup>に変換されることから、この成分についても検討したところ、グリチルリチンより強い作用があることが解った(Fig. 5A)。このことは、グリチルリチンが18 $\beta$ -グリチルレチン酸のプロドラッグ様成分であることを示唆した。アストロサイトのグルタミン酸取り込み低下およびトランスポーター(GLAST)タンパク質発現低下は、プロテインキナーゼC(PKC)阻害作用により改善することがチアミン欠乏条件



**Fig. 5.** Effects of 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid on TD-induced decrease of glutamate uptake (A) and inhibition of PKC activity (B). (A) Relative values (Glutamate [% of T(-)]) calculated as a percentage of the extracellular glutamate concentration in the T(-) group. Each value represents the mean  $\pm$  S.E.M. (n = 6). \*\*\* $P$ <0.001 vs. T(-): one-way ANOVA + Dunnett's test. (B) PKC activity facilitates phosphorylation of neurogranin, and induces reduction of ATP. Because the intensity of luminescence with luciferin/luciferase activity is dependent on the amount of ATP, PKC activity decreases the intensity of luminescence. Each value represents the mean  $\pm$  S.E.M. (n = 3). ††† $P$ <0.001 vs. control (C) and \*\*\* $P$ <0.001 vs. PKC: one-way ANOVA + Dunnett's test.

下で報告されている<sup>24)</sup>。そこで、 $18\beta$ -グリチルレチン酸についてPKC阻害活性を調べたところ、濃度依存的にPKC活性を阻害した(Fig. 5B)。

以上、第2章ではTD条件下で培養したアストロサイトはグルタミン酸トランスポーターの発現低下およびグルタミン酸取り込み能の低下を引き起こし、抑肝散がこれらの機能低下を改善すること、およびカンゾウの主成分でありPKC阻害作用を有するグリチルリチン(活性体は、その代謝産物である $18\beta$ -グリチルレチン酸)がその効果を担う活性成分であることを明らかにした。

### 第3章. グルタミン酸誘発神経細胞死に対する抑肝散の保護作用

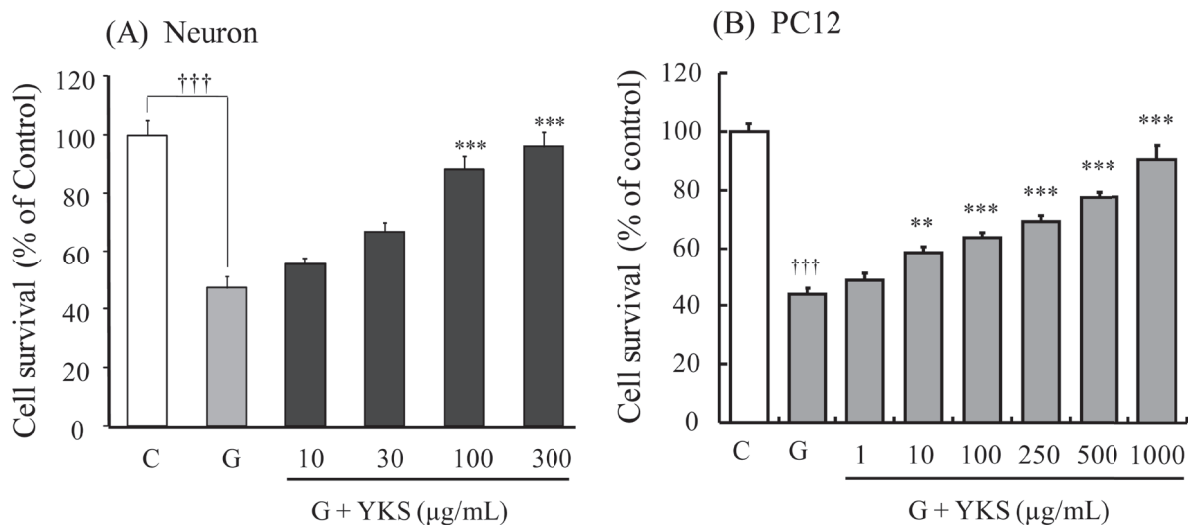
前章では、培養アストロサイトを用いて、抑肝散がアストロサイトのトランスポーターを介してシナプス間隙の過剰なグルタミン酸濃度を是正することを明らかにした。この作用は、ポスト側神経細胞のグルタミン酸による異常興奮・細胞毒性を間接的に軽減すると考えられる。本章では、抑肝散が神経細胞に対して直接的作用を持っているか否かを調べた。神経細胞のグルタミン酸神経毒性に関して2つのメカニズムが提唱されている。グルタミン酸レセプターを介する神経毒性<sup>17)</sup>とシスチン/グルタミン酸アンチポーター(システム $Xc^-$ とも呼ばれる)を介する神経毒性<sup>25), 26)</sup>である。前者は細胞外グルタミン酸の上昇によりN-methyl-D-aspartate (NMDA)型グルタミン酸レセプターが過剰に活性化され、細胞内への $Ca^{2+}$ の流入が細胞毒性に関連する細胞内カスケードを活性化し、神経細胞の機能異常や損傷あるいは細胞死を惹起する<sup>27)</sup>。後者は、細胞外グルタミン酸濃度の上昇によりシステム $Xc^-$ が阻害され、細胞内へのシスチン取り込みが阻害される。グルタチオンの前駆物質であるシスチンの取り込み阻害は、細胞内グルタチオン産生を著しく低下させるため、酸化ストレスが誘導され、最終的には細胞死に至る<sup>28), 29)</sup>。そこでまず、グルタミン酸レセプターおよびシステム $Xc^-$ の両方が発現している初代培養神経細胞を用いて、グルタミン酸誘発細胞死に対する抑肝散の直接効果の有無を検討した。次に、システム $Xc^-$ が特異的に発現しているPC12細胞を用いて、抑肝散のシステム $Xc^-$ を介する細胞死保護作用について検討した。

初代培養神経細胞実験は大脳皮質の細胞を用い、Arimatsu等<sup>30)</sup>とPerry等<sup>31)</sup>の方法を一部改変して行った。グルタミン酸誘発細胞死に対する被験物質の効果は、培養開始14日目に $100\mu\text{M}$ グルタミン酸と種々濃度の被験物質を培地に添加し、24時間インキュベーション後、細胞生存率をMTT還元法を用いて測定することにより評価した。 $100\mu\text{M}$ グルタミン酸は50%の神経細胞死を誘発し、この細胞死は $20\mu\text{M}$  MK-801の併用処置で完全に抑制された。抑肝散は、グルタミン酸誘発細胞死を濃度依存的に抑制し、有意な抑制は $100\mu\text{g/mL}$ より高い濃度で認められた(Fig. 6A)。

グルタミン酸誘発神経細胞死に対し、抑肝散構成生薬ではチョウトウコウとカンゾウが抑制効果を示した。さらに、チョウトウコウの4成分(ガイソシジンメチルエーテル、ヒルステイン、リンコフィリン、およびヒルスチン)とカンゾウの4成分(イソリクイリチゲニン、グリシクマリン、リクイリチン、および $18\beta$ -グリチルレチン酸)が神経細胞死抑制効果を示した。

これら成分の細胞保護作用がNMDAレセプター阻害作用によるものか否かを明らかにするため、最初に放射性ラベル体を用いた競合的受容体結合試験を行った。その結果、チョウトウコウ成分はいずれもNMDAレセプターへ結合しなかったが、カンゾウ成分であるイソリクイリチゲニン、グリシクマリンおよび $18\beta$ -グリチルレチン酸の3成分に結合が認められた。次に、NMDAレセプター結合成分の作用を調べるため、神経細胞を用いてグルタミン酸誘発 $Ca^{2+}$ 流入に対する効果を検討したところ、 $Ca^{2+}$ 流入の有意な抑制はイソリクイリチゲニンにのみ認められた。

以上、初代培養ラット皮質神経細胞を用いた実験から、グルタミン酸誘発神経細胞死に対し抑肝散はチョウトウコウおよびカンゾウ成分による直接的な細胞保護作用を示し、その成分の一つであるイソリ



**Fig. 6.** Effects of YKS on glutamate-induced neuronal cell death (A) and PC12 cell death (B). Each value calculated as a percentage of the MTT activity in control cells is represented as the mean  $\pm$  SEM ( $n = 6$ ). †††  $P < 0.001$  vs. control (C), and \*\*\*  $P < 0.001$  vs. glutamate (G): one-way ANOVA + Scheffé's test.

クイリチゲニン(NMDAレセプターアンタゴニストであることが明らかとなった。

それでは他の細胞保護成分はどのような作用でグルタミン酸誘発細胞死を抑制するのだろうか?この課題を解決するため、もう一つの細胞死メカニズムであるシステム $Xc^-$ を介した酸化ストレスに対する抑肝散の作用を、PC12細胞を用いて検討した。神経細胞はNMDAレセプターおよびシステム $Xc^-$ を発現しているが、PC12はシステム $Xc^-$ のみを発現していることをmRNAレベルで確認している。このことはPC12がシステム $Xc^-$ 評価するのに適した細胞であることを示唆する。実際、PC12細胞の細胞死はグルタミン酸で誘発されるがNMDAでは誘発されない。またグルタミン酸誘発細胞死はNMDAレセプターアンタゴニストであるMK801を処置しても阻止されない。しかし、培地からシスチンを除去することによって、あるいはシステム $Xc^-$ 阻害剤を添加することによって細胞死が誘発された。これらの結果は、PC12細胞のグルタミン酸細胞死はシステム $Xc^-$ を介していること支持する。抑肝散はこのグルタミン酸誘発PC12細胞死を濃度依存的に阻止した(Fig. 6B)。

グルタミン酸誘発PC12細胞死に対し、抑肝散構成生薬ではチョウトウコウに高い保護効果は認められた。また、チョウトウコウ成分のガイソジジンメチルエーテル、ヒルスチン、およびヒルスチンが細胞死抑制効果を示した。これらの3成分はグルタミン酸誘発グルタチオン減少に対しても有意な改善作用を示した。

以上、グルタミン酸誘発神経細胞死に対する抑肝散の神経保護効果には異なる2つの機序が含まれ、1つはカンゾウ由来のイソリクイリチゲニンによるNMDAレセプター阻害作用、もう1つはチョウトウコウ由来のガイソジジンメチルエーテル、ヒルスチン、ヒルスチンなどに代表される抗酸化作用であることを明らかにした。

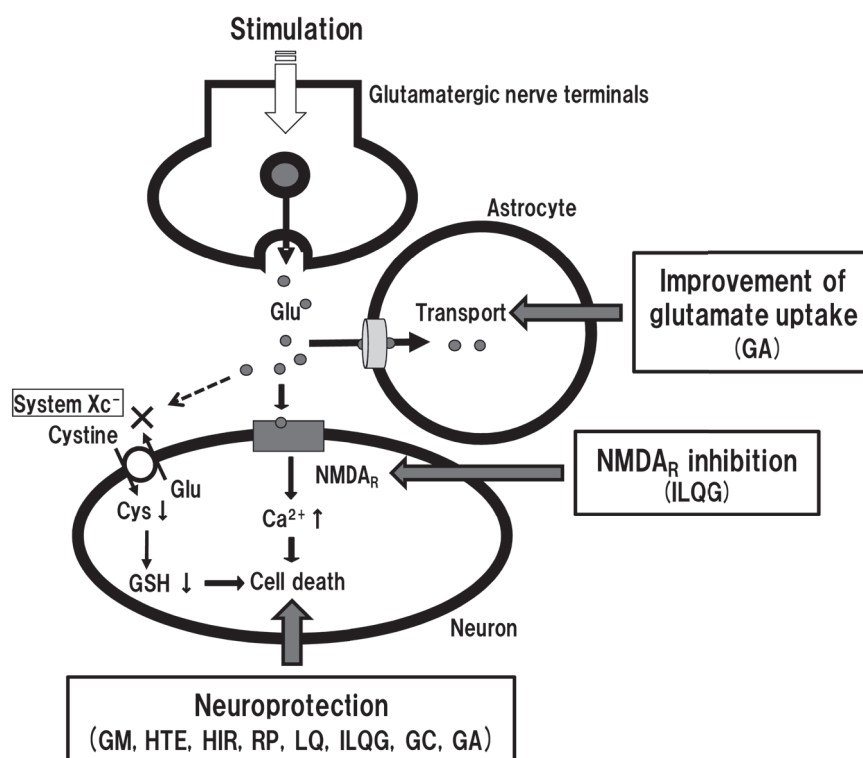


## 総括

本研究において、抑肝散のBPSD改善作用を動物レベルにおいても実証した。動物実験の結果からその作用に興奮性アミノ酸であるグルタミン酸を神経伝達物質とするグルタミン酸神経系の異常が関与している仮説を立てた。その仮説の立証および活性成分を *in vitro* 試験系で明らかにした。そのメカニズムをまとめると Fig. 7 のように示される。抑肝散は過剰なグルタミン酸による神経細胞の興奮/細胞死をアストロサイトのグルタミン酸取り込みは正作用により改善していること、その作用にはPKC阻害作用を持つカンゾウ成分のグリチルリチン酸（活性体は18 $\beta$ -グリチルレチン酸）が関与していることを明らかにした。これに加え、抑肝散には神経細胞に対し直接的な保護作用を示すことを明らかにした。その作用にはNMDAレセプター阻害作用を持つカンゾウ成分・イソリクイリチゲニン、神経保護作用を持つカンゾウ4成分（イソリクイリチゲニン、グリシクマリン、リクイリチン、および18 $\beta$ -グリチルレチン酸）およびチョウトウコウ4成分（ガイソジジンメチルエーテル、ヒルスチン、ヒルスチン、およびリンコフィリン）などが関与していることを明らかにした。

多成分合剤である漢方薬・抑肝散にはまだ多くの作用機序があるかもしれない。

しかし、本研究では、少なくとも、抑肝散の向精神作用にはグルタミン酸神経の興奮を是正するこれらの作用メカニズムと成分の相乗効果が関与していることを明らかにした。



**Fig. 7.** Effects of yokukansan and its components on glutamate-mediated excitotoxicity. Glycyrrhizin (active component is 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid: GA) possesses ameliorative effect of glutamate transport. Isoliquiritigenin (ILQG) possesses NMDA receptor antagonistic effect, and four Uncaria hook-derived components (geissoschizine methyl ether: GM, hirsuteine: HTE, hirsutine: HIR, and rhynchophylline: RP) and four Glycyrrhiza-derived components (ILQG, glycycomarin: GC, liquiritin: LQ, and GA) possess neuroprotective effect.

## 参考文献

- 1) 阪井一雄ら, 認知症テキストブック. p.64-80. 東京: 中外医学社 (2008).
- 2) Donaldson C *et al.*, *Int J Geriatr Psychiatry* 13:248-256 (1998).
- 3) 武地一ら, *日老医誌* 43:207-216 (2006).
- 4) Katz I *et al.*, *Int J Geriatr Psychiatry* 22:475-484 (2007).
- 5) Trifiro G *et al.*, *Pharmacological Res* 59:1-12 (2009).
- 6) FDA Public Health Advisory, Washington, DC, FDA, April 11, 2005. (<http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/DrugSafetyInformationforHealthcareProfessionals/PublicHealthAdvisories/UCM053171>)
- 7) Iwasaki K *et al.*, *J Clin Psychiatry* 66:248-252 (2005).
- 8) Iwasaki K *et al.*, *Clin Psychiatry* 66:1612-1613 (2005).
- 9) Mizukami K *et al.*, *Int J Neuropsychopharmacol* 12:191-199 (2009).
- 10) Monji A *et al.*, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 33:308-311 (2009).
- 11) Iwasaki K *et al.*, *J Am Geriatr Soc* 59:936-938 (2011).
- 12) Hayashi Y *et al.*, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34:541-545 (2010).
- 13) Nakagawasai O *et al.*, *Brain Res Bull* 52:189-196 (2000).
- 14) 小野寺憲治ら, *日薬理誌* 74:641-648 (1978).
- 15) Jodar L *et al.*, *Pharmacol Biochem Behav* 53:735-740 (1996).
- 16) Todd KG, Butterworth RF, *Methods* 23:55-61 (2001).
- 17) Choi DW, *Neuron* 1:623-634 (1988).
- 18) Cheung NS *et al.*, *Neuropharmacol* 37:1419-1429 (1998).
- 19) Kanai Y *et al.*, *Trends Neurosci* 16:365-370 (1993).
- 20) Schlag BD *et al.*, *Mol Pharmacol* 53:355-369 (1998).
- 21) Juurlink BHJ, Walz W, *Cell Neurobiology Techniques*, p.53-102 Totowa, NJ USA: Humana Press Inc. (1998).
- 22) Yamamura Y *et al.*, *J Pharm Sci* 81:1042-1046 (1992).
- 23) Hattori M *et al.*, *Planta Med* 48:38-42 (1983).
- 24) Hazell AS *et al.*, *Glia* 43:175-184 (2003).
- 25) Murphy TH *et al.*, *FASEB J* 4:1624-1633 (1990).
- 26) Froissard P, Duval D, *Neurochem Int* 24:485-493 (1994).
- 27) Michaels RL, Rothman SM, *J Neurosci* 10:283-292 (1990).
- 28) Pereira CF, Oliveira CR, *Neurosci Res* 37:227-236 (2000).
- 29) Penugonda S *et al.*, *Brain Res* 1056:132-138 (2005).
- 30) Arimatsu Y, Hatanaka H, *Brain Res* 391:151-159 (1986).
- 31) Perry SW *et al.*, *J Neurosci Res* 78:485-492 (2004).

## 謝辞

本研究をまとめるにあたり, 御指導および御高閲を賜り, また論文審査の主査を務めて頂いた福岡大学薬学部, 岩崎克典教授, 副査を務めて頂いた福岡大学, 藤原道弘副学長および福岡大学薬学部, 高野行夫教授および福岡大学薬学部, 金城順英教授に深く感謝致します。