

氏名	おおぐし ゆうま 大串 祐馬		
学位の種類	博士（医学）		
報告番号	甲第1820号		
学位授与の日付	令和2年3月16日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（課程博士）		
学位論文題目	Alterations in Behavior and Brain Monoamine Levels of Olfactory Bulbectomized Rats Following Saiko-ka-ryukotsu-borei-to Administration （柴胡加竜骨牡蛎湯の投与に伴う、嗅球摘出ラットの行動および脳内モノアミンの変化）		
論文審査委員	（主査） 福岡大学	教授	鍋島 茂樹
	（副査） 福岡大学	教授	秋吉 浩三郎
	福岡大学	講師	田頭 秀章

内容の要旨

【目的】

うつ病は世界的によくみられる精神疾患のひとつであり、いわゆる HPA 軸 (hypothalamic-pituitary-adrenal axis) の機能異常やセロトニン仮説に基づいて、これまで種々の抗うつ薬が開発されてきた。一方、嗅球摘出ラット（以下 OBX）は、外科的に嗅球を除去することで神経伝達機構の不全を引き起こし、結果としてうつ病様の行動を来すモデル動物である。OBX の行動上の変化は、抗うつ薬の効果を評価する指標として用いられてきた。今回我々は、臨床でしばしば不眠や苛立ち、神経衰弱症などに対して処方される漢方薬のひとつである柴胡加竜骨牡蛎湯（Saiko-ka-ryukotsu-borei-to、以下 SRBT）を OBX に連続投与し、投与前後での情動過多反応およびモノアミン代謝産物量を測定し、それらを検討した。

【対象と方法】

45 匹の Wistar 系ラットを Sham、OBX-Vehicle (saline)、OBX-Imipramine（三環系抗うつ薬の一種）、OBX-SRBT の 4 群に分類した。OBX の両側の嗅球は、頭蓋骨に空けた 2 つの穴を通して吸引することで外科的に摘出した。摘出術から 2 週間後、種々の薬剤 (vehicle, imipramine 10mg/kg, SRBT 300mg/kg) 投与を 14 日間、毎日 1 回ずつ行い、特定の日に情動過多反応 (hyperemotionality) を測定した。加えて、薬物投与開始時 (day 1) と終了時 (day 14) に open field test を施行し、全ての群の総移動距離を測

定した。さらに、14日間の連続投与を終えてからラット脳の部位別のモノアミン代謝産物量、ここでは homovanillic acid (HVA)、3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG)、5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) について、HPLC (高速液体クロマトグラフィ) を用いて測定した。

【結果】

情動過多反応について、day 1においてはOBX3群全てがShamよりも有意差をもって高いスコアであったが、day 14においてはOBX-SRBTのみShamとの有意差を認めず、OBX-VehおよびOBX-ImiはShamとの有意差を保っていた。一方、OBX-Vehとの比較では、OBX-SRBTはスコアの有意差を認めなかった。HPLCの結果としては、下垂体での5-HIAA値に関してOBX-VehはShamよりも有意に高値である一方、OBX-SRBTおよびOBX-ImiはShamとの有意差を認めなかった。また、前頭前皮質でのHVA値に関してOBX3群は全てShamよりも有意に低値であった。

【結論】

本研究では、SRBTの連続投与によりOBXの情動過多反応が抑制される傾向にあり、さらに下垂体の5-HIAA値が低下する傾向にあることがわかった。この結果は、OBXの情動過多反応が下垂体の5-HIAAと何らかの形で関与している可能性、そしてSRBTがこの現象に影響を与えている可能性を示唆する。先行研究では、OBXの情動過多反応はうつ状態によって引き起こされる行動上の変化とみなされている。嗅球摘出によって活動性亢進や記憶障害といった行動上の変化に加え、脳内ノルアドレナリンやセロトニンの減少といった神経科学的变化、コルチコステロンの分泌上昇といった神経内分泌的变化、好中球や単球の食作用の減少といった神経免疫学的変化が誘発され、このような変化はうつ病の臨床症状と類似性があるといわれている。今回、SRBT投与によってOBXの情動過多反応および一部のモノアミン代謝産物量に変化が認められており、SRBTの関与が示唆される。しかし一方、三環系抗うつ薬であるimipramine投与では情動過多反応に有意差を見出せなかった。この結果が、連続投与期間を長期に設定すれば異なるものになるのか、SRBTとimipramineでは情動過多反応に対する作用のメカニズムが元々異なるのか否かは今回の研究からは判然としない。HPLCの結果では、SRBTやimipramineの投与が下垂体の5-HIAA値を低下させる傾向を示したが、そのメカニズムを理解するにはさらなる研究を必要とする。今回、脳の7つの部位におけるモノアミン代謝産物の測定を行なっているが、薬物連続投与で起こる変化を適切に測定するには不十分である可能性がある。上記と同様に連続投与期間を長期に設定するか、マイクロダイヤリシス法を用いてin vivoでのモノアミン代謝産物量の測定を行うことで異なる結果が得られるかもしれない。何れにしても、本研究はSRBTがOBXのうつ病様行動に影響を与えることを示し、さらに神経伝達の異常を是正する潜在性を持ち合わせている可能性を示している。

審査の結果の要旨

本論文は、臨床的にうつ病患者に使用することのある漢方薬、柴胡加竜骨牡蛎湯の作用メカニズムを調べるため、嗅球を摘出したうつ病モデルラットにこの漢方薬またはイミプラミン（対照）を2週間経口投与して、ラットの行動面と脳内モノアミン量を測定した研究報告である。結果として、ラットのうつ病症状と考えられる情動過多反応が有意に抑制され、脳内のセロトニン代謝物である5-HIAA量が有意に低下した。したがって、モデル動物を用いて柴胡加竜骨牡蛎湯による抗うつ効果が実験的に証明されたと考えられる。

1. 斬新さ

柴胡加竜骨牡蛎湯はうつ状態を呈する患者にしばしば処方され、実際に薬効が認められることも多いが、そのメカニズムについては十分な検討がなされていない。本研究はうつ病モデル動物である嗅球摘出ラットに柴胡加竜骨牡蛎湯を投与し、ラットのうつ病様行動および神経伝達の異常を是正することを示唆した最初の研究である。

2. 重要性

うつ病の薬物療法においては、従来の抗うつ薬の内服では十分な効果が得られない患者や、副作用のために内服を継続できない患者が依然として多く存在する。漢方薬である柴胡加竜骨牡蛎湯の抗うつ作用とそのメカニズムを検討することは、うつ病治療の選択肢を増やすことに繋がると考えられ、本研究の重要性は高い。

3. 実験方法の正確性

本研究では、嗅球のみを外科的に取り除いた嗅球摘出ラットを実験動物として用いた。比較的容易な手技で完成させることができ、古くから抗うつ薬の効果の検討に広く活用されてきたモデル動物である。評価項目である情動過多反応および脳内モノアミン代謝産物量と併せて、既に複数の論文に掲載されており、十分な確実性があると考えられる。

4. 表現の明確さ

研究の背景から、方法、結果、考察に至るまで正確かつわかりやすい英文で構成されている。明確で論理的な表現による論文である。

5. 主な質疑応答

Q: 嗅球摘出ラットのうつ病モデルとしての正当性はあるか。

A: ヒトと異なり OBX の活動性が亢進することや、そもそも嗅球を除去するという処置

自体の妥当性については確かに議論の余地がある。しかし、今回は嗅球摘出によって既にわかっている事象が薬剤投与によってどのように変化するかを検討しており、このような薬理研究の場合には予測妥当性に優れたこの動物モデルは適切であると考えている。

Q：他にはどのようなうつ病動物モデルがあるか。

A：慢性的なストレスを負荷するという意味では、例えば動物に一定期間にわたって強制水泳をさせたり、水浸拘束（水攻めのような状態に陥らせる）をすることで完成するモデルが存在する。今回使用した嗅球摘出モデルの特筆すべき利点は、処置によって引き起こされる動物の行動や神経伝達物質を含めた変化がある程度解明されている点であり、複数あるモデルの中でも今回のようなうつ病の薬理研究に適しているものの一つと考えられる。

Q：この研究では14日間にわたって薬剤を経口投与しているが、脳にどのように到達すると考えられるか。脂溶性の高い薬物であるかどうか。

A：本研究では、残念ながら中枢への移行の仕方や脂溶性であるかどうかの検討はできていない。まずイミプラミンは古くから臨床で使用されている三環系抗うつ薬であり、中枢への移行性は高い薬剤であると考えられる。柴胡加竜骨牡蛎湯に関しては、イミプラミンのようにスムーズに脳に移行するかは不明だが、臨床においては構成生薬の一つである柴胡が特に中枢に作用しやすい可能性が提唱されており、柴胡についての研究を深められれば、中枢への移行のあり方がわかるかもしれない。

Q：様々な構成生薬がある中で、どの成分が抗うつ作用を示すと考えられるか。

A：本研究からは明らかになっていないが、臨床的に柴胡ではないかと考えている。

Q：今回はラットの体重1kgあたりイミプラミンが10mg、柴胡加竜骨牡蛎湯が300mgと後者の方が多くなっているが、ヒトでも同じようになっているのか。

A：本研究で定めた薬剤量の関係性をそのままヒトに当てはめて良いかは断言できないが、今回は先行研究を参考にして量を定めている。柴胡加竜骨牡蛎湯の場合、臨床ではヒトには1日あたり7.5gを投与するのが標準的な使い方であり、mg数としてはイミプラミンよりも多くなっている。

Q：イミプラミンと柴胡加竜骨牡蛎湯は別々の作用機序で効果を現していると解釈して良いか。

A：結果からはその可能性が高いと考えているが、本当にそうであるかを本研究から結論づけることはできない。

Q: 抗うつ薬が効きにくい患者が多く存在すると聞かすが、抗うつ薬と柴胡加竜骨牡蛎湯を併用すると効果が得られやすいのか。

A: ご指摘の通り、臨床では抗うつ薬と併用することで治療が円滑に進むケースも多く、その場合の変化を検討することも非常に興味深いと考えている。今後の研究に生かしていきたい。

Q: 14 日間の薬剤投与期間はやや短いのではないか。先行研究ではどのようになっているか。

A: 嗅球摘出ラットを用いた薬理的な先行研究を調べたところ、14 日間前後のものが多く認められたため、本研究でもそれらに倣って 14 日間と設定した。しかし、確かに臨床で処方している感触では、柴胡加竜骨牡蛎湯でも一般的な抗うつ薬でも 14 日間で効果が発現することは確かに少ない。投与期間を延長した形で追加研究を行うと、異なる結果が得られる可能性はあると考えている。

Q: この研究とは直接関連しないが、うつ病患者に処方する場合に 2 つの薬剤の使い方にどのような違いがあるか。

A: まずイミプラミンに関しては、最近では SSRI などの新規抗うつ薬の出現により処方頻度が以前よりも減少しているものの、例えば食欲が落ちて体重が急激に減少するなどして入院が検討されるような場合など、比較的重症の症例には処方することのある薬剤である。また、柴胡加竜骨牡蛎湯に関しては、うつの症状をしっかりと改善させる目的では最初に SSRI をはじめとした抗うつ薬を処方し、それでうまくいかない場合に柴胡加竜骨牡蛎湯を追加で処方するケースが多い。そもそも、漢方薬は患者の証をみて処方するものであり、それが合っていることが前提条件になる。

Q: 柴胡加竜骨牡蛎湯の処方に適した証とは、どのようなものか。

A: 比較的体力のある、中間証から実証の方に処方をする。また、のぼせやすい体質やイライラや不安が強い方に適応があるとされている。

Q: 先ほど、うつ病モデルとしての正当性についての質問があったが、今回の過敏性を抑制するような結果や、脳内モノアミンを低下させる結果からは、うつ病の治療とは逆の動きに思える。臨床的には抗精神病薬のようにもみえる。どのように解釈すれば良いか。

A: 仰るように、起きている事象の一部がヒトのうつ病とは逆の方向である。その点で、今回の結果を直接ヒトに当てはめることはできず、本研究の限界でもある。ただし、柴胡加竜骨牡蛎湯の投与によってラットの行動や脳内モノアミン代謝産物に変化が認められたことは、今後のうつ病研究に役立つ結果と考えられ、限界を踏まえたうえで活用すべきデータであると考えている。

本論文は、柴胡加竜骨牡蛎湯による抗うつ作用のメカニズムを示唆した最初の研究であり、学位論文に値すると評価された。