

四物湯、葛根湯及び黄連解毒湯の向精神作用に関する実験薬理学的検討

渡辺 裕司,*^{a)} 松本 欣三,^{a)} 佐藤 貴史,^{a)} 太田 浩之,^{a)} 松田 治己^{b)}^{a)}富山医科薬科大学和漢薬研究所生物試験部門, ^{b)}富山医科薬科大学附属病院和漢診療部Psychopharmacological studies on Shimotsu-to, Kakkon-to
and Oren-gedoku-to using animal modelsHiroshi WATANABE,*^{a)} Kinzo MATSUMOTO^{a)} Takashi SATOH^{a)} Hiroyuki OHTA^{a)} and Harumi MATSUDA^{b)}^{a)}Section of Pharmacology, Research Institute for Wakan-Yaku (Oriental Medicines),
Toyama Medical and Pharmaceutical University^{b)}Department of Japanese Oriental Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University Hospital

(Received March 19, 1990. Accepted August 2, 1990.)

Abstract

Psychotropic effects of Shimotsu-to, Kakkon-to, Oren-gedoku-to, Sho-saiko-to and Hochu-ekki-to were investigated and compared with those of diazepam and desipramine. Shimotsu-to recovered pentobarbital sleeping decreased by forced-shaking stress at lower temperature to control level, whereas Sho-saiko-to and Hochu-ekki-to did not affect it. On the other hand, both Shimotsu-to and Sho-saiko-to decreased aggressive behavior (AGB) induced by individual housing of mice but they did not change immobility time (IMT) in a forced swimming test with rats. Hochu-ekki-to (5 g/kg, *p.o.*) decreased IMT but not AGB. AGB and IMT were decreased by diazepam (10 mg/kg) and desipramine (20 mg/kg), respectively. Experimental pharmacological profiles of Kakkon-to and Oren-gedoku-to were quite similar to those of Shimotsu-to. Diazepam (5 mg/kg) significantly decreased conflict responses in rats, while neither Shimotsu-to nor Hochu-ekki-to (5 g/kg) affect them. Except for Hochu-ekki-to, which slightly increased the number of movements, none of the formulations used here depressed spontaneous motor activity in mice even in a dosage of 5 g/kg. These results indicate that Shimotsu-to, Kakkon-to and Oren-gedoku-to have actions on the central nervous system, of which profiles are different from those of Sho-saiko-to, Hochu-ekki-to and diazepam and that Hochu-ekki-to may have an antidepressant action.

Key words Kampo-hozai, aggressive behavior, stress, immobility, depression, anti-anxiety.

Abbreviations AGB, aggressive behavior; Hochu-ekki-to (Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang), 補中益気湯; IMT, immobility time; Kakkon-to (Ge-Gen-Tang), 葛根湯; Oren-gedoku-to (Huang-Lian-Jia-Du-Tang), 黄連解毒湯; Shimotsu-to (Si-Wu-Tang), 四物湯; Sho-saiko-to (Xiao-Chai-Hu-Tang), 小柴胡湯.

緒 言

様々なストレスによって精神不安, 不眠, うつ状態, 心身症などが生じることが知られている。このような精神疾患の治療には主に西洋薬を中心とした

向精神薬が繁用されている。一方葛根湯, 黄連解毒湯などの漢方方剤の精神神経科的治療における有効性についてもいくつかの治験報告がなされている。¹⁻³⁾一般的に精神神経疾患における漢方療法は向精神薬が無効な場合あるいは副作用のために向精神薬の服用が継続できない場合に適していると考えら

*〒930-01 富山市杉谷2630
2630 Sugitani, Toyama-shi, Toyama 930-01, Japan

れている。最近、魏と渡辺⁴⁾は臨床的に精神不安、抑うつ状態に対して有効率の高い漢方方剤、大気一転湯 (Taiki-itten-to) が動物実験でも抗うつ作用を発現することを示したが、漢方治療薬の中樞作用を実験薬理学的に詳細に検討した報告は少ない。本研究において我々は生薬構成の比較的単純な四物湯および精神神経疾患において治験報告のある葛根湯、黄連解毒湯を中心に、これらの漢方方剤の中樞作用について検討した。

材料と方法

(1) 実験動物：体重 200 g 前後のウイスター系雄性ラット及び体重 25～45 g の ddY 系雄性マウスを使用した。

(2) 使用薬物：使用した構成生薬は下記の通りである。当帰 (Toki), *Angelica acutiloba* KITAGAWA (日本奈良県産)；芍薬 (Shakuyaku), *Paeonia lactiflora* PALLAS；川芎 (Senkyu), *Cnidium officinale* MAKINO；地黄 (Jio), *Rehimannia glutinosa* LIBOSCHITZ var. *purpurea* MAKINO；麻黄 (Mao), *Ephedra sinica* STAPF；葛根 (Kakkon), *Pueraria lobata* OHWI；生姜 (Shokyo), *Zingiber officinale* ROSCOE；桂枝 (Keishi), *Cinnamomum cassia* BLUME；甘草 (Kanzo), *Glycyrrhiza glabra* LINN. var. *glan-dulifera* REGEL et HERDER；大棗 (Taiso), *Zizyphus jujuba* MILLER var. *inermis* REHDER；黄柏 (Obaku), *Phellodendron amurense* RUPRECHT；黄連 (Oren), *Coptis japonica* MAKINO；黄芩 (Ogon), *Scutellaria baicalensis* GEORGI；梔子 (Shishi), *Gardenia jasminoides* ELLIS；柴胡 (Saiko), *Bupleurum falcatum* L., 人参 (Nin-jin), *Panax ginseng* C.A. MEYER；白朮 (Byaku-jutsu), *Atractylodes japonica* KOIZUMI；黄耆 (Ogi), *Astragalus membranaceus* BUNG；陳皮 (Chimpi), *Citrusunshiu* MARKOVICH；升麻 (Shoma), *Cimicifuga simplex* WORMSK；附子 (Bushi), *Aconitum japonicum* THUNBERG；半夏 (Hange), *Pinellia ternata* BREITENBACH (いずれも栃本天海堂より購入)。Diazepam (Roche), desipramine (Chiba-Gigy), pentobarbital-Na (東京化成)。

方剤の調製：葛根湯〔麻黄 16, 葛根 32, 生姜 4, 甘草 8, 大棗 12, 桂枝 12, 芍薬 16 (単位 g)〕, 四物湯 (当帰 30, 川芎 30, 地黄 30, 芍薬 30), 黄連解毒湯 (黄柏 18.75, 黄連 18.75, 黄芩 37.5, 梔子

25), 補中益気湯 (柴胡 8, 人参 16, 白朮 16, 黄耆 12, 陳皮 8, 升麻 4, 当帰 12, 大棗 8, 生姜 8, 甘草 6), 小柴胡湯 (半夏 20, 大棗 12, 生姜 16, 甘草 8, 黄芩 12, 人参 12, 柴胡 24), 四逆湯 (甘草 60, 乾姜 40, 附子 10) の各構成生薬に 900 ml の精製水を加えて 100℃ で 90 分間加熱抽出し、更に濾液を凍結乾燥して乾燥エキス粉末とした。葛根湯、四物湯、黄連解毒湯、小柴胡湯、補中益気湯、四逆湯の収率はそれぞれ 28.2, 42.3, 34.3, 37.8 及び 59.3% であった。

(3) 低温下振盪ストレス負荷マウスにおけるペントバルビタール誘発睡眠の測定：魏と渡辺の方法⁴⁾を改変した。即ちマウス 10 匹を小ケージ (24×18×13 cm) に入れて振盪器 (毎分 250 回, 1 日 2 回各 40 分間) 上に乗せ、低温室 (4℃) で振盪した。このような振盪ストレスを 4 日間で合計 7 回繰り返し、最終振盪の 10 分後に薬液または生理食塩水を経口投与した。1 時間後に pentobarbital-Na 45 mg/kg を腹腔内投与し、マウスの正向反射が消失してから回復するまでの時間を睡眠時間として測定した。

(4) 長期隔離飼育マウスの闘争行動：マウスを 1 匹ずつ小ケージに入れて隔離飼育した。隔離飼育開始してから 6 週間後及び 7 週間後に同じ組合せのマウス 2 匹を 20 分間同一小ケージに入れて、闘争発現時間を測定した。闘争行動は biting attack and wrestling を指標として判定した。第 1 回目 (6 週間後) の測定の 1 時間前に生理食塩水のみを投与し、第 2 回目 (7 週間後) の測定の 1 時間前に薬液または生理食塩水を経口投与した。

(5) 強制遊泳実験：Porsolt ら⁵⁾の方法を改変した魏と渡辺の方法⁴⁾に従い、ガラス瓶 (直径 17 cm, 高さ 25 cm) に深さ 18 cm まで 25℃ の水を入れ、これにラットを 1 匹ずつ入れた後、蓋をして泳がせた。第 1 日目に 15 分間泳がせて慣らした後、第 2 日目及び第 3 日目に 5 分間遊泳させて、その間の不動時間を測定した。薬物は第 2 日目の測定直後、第 3 日目の測定の 12 時間及び 2 時間前に合計 3 回経口投与した。

(6) マウス自発運動量の測定：自発運動量の測定は既に我々が報告した運動量測定システム^{6,7)} (Animate, 東洋産業) を用いて行った。即ち、測定ケージの中心から 1 群 4 組の光センサー (合計 36 群) を放射状に配置し、1 群毎に光センサーを走査 (100 μsec, 10 回) した。全群の走査を完了する毎に走査データを CPU (Z-80) に取り込み (100 msec に 1 回)、解析を行った (文献 6 及び 7

を参照)。運動量は次のパラメーターの変化として表した。

a) number of movements

円周方向への走査毎に直前の走査データとの比較を行い、データに差異がある場合、“動作回数”としてカウントした。

b) number of rearings

立ち上がり検出用ビームを横切った場合、立ち上がりフラッグを“on”とし、“off”から“on”へ変化したとき立ち上がりとしてカウントした。挙尾反応等による検出妨害を防ぐことも考慮して立ち上がりセンサーは床面から6.5 cmの高さに設定した。

c) locomotor activity (cm)

マウスの中心位置が移動する毎に移動距離を積算し、これをlocomotor activityとした。

マウスに薬物を経口投与した後、通常30分後に測定ケージに入れ、10分毎の運動量の変化を測定した。但しhaloperidolの場合は腹腔内投与した後、10分後に測定を開始した。

(6) 抗葛藤作用：Geller and Seifter⁽⁸⁾の抗葛藤試験を一部改変して用いた。即ち、体重を自由摂餌時の約85%に減量されたラットをオペラント実験箱に入れ、10回のレバー押しにより1個の餌(45 mg)を獲得するスケジュール(FR10)を学習させた。餌獲得行動が確立した後、このスケジュール中5分毎に5分間の罰期を挿入し、この間は平均10回のレバー押し(VR10)に対し1個の餌と電気ショック(0.3~0.4 mA, 0.5 sec)を同時に与えた。1回のセッションは32分間とし、罰期の弁別刺激としてブザー音を与えた。動物は非罰期に高頻度、罰期に低頻度の安定した反応(被ショック数が5以下)を示すよう十分訓練した後、試験に用いた。漢方方剤は1日2回のスケジュールで経口投与(合計1~7回)するかまたは飲水(四物湯)として3日間自由摂取させ1回目、3回目及び7回目投与の1時間後に試験を行った。またdiazepamは試験の1時間前に経口投与した。薬物投与直前の3回の平均値をコントロール値とし、非罰期の反応数及び罰期の被ショック数について薬物投与後の値と比較した。

(7) 統計処理：分散分析後Duncanの新多重比較検定、Student's *t* 検定または対応のある *t* 検定を行った。

結 果

1. 低温下振盪ストレス負荷マウスにおけるpentobarbital睡眠の延長

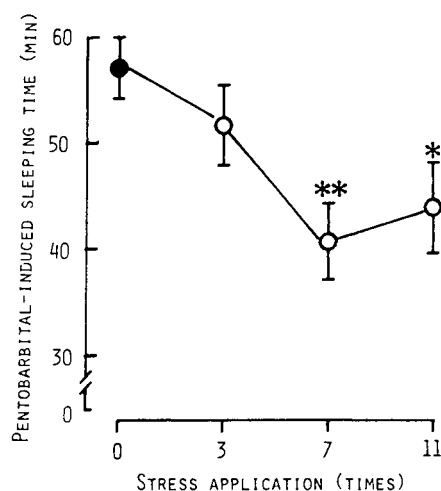


Fig. 1 Decrease in pentobarbital-induced sleep by forced shaking stress.

Mice were subjected to stress by shaking for 40 min twice daily for 2 to 6 days (totally 3–11 times) in a cold room ($4 \pm 1^\circ\text{C}$). Seventy minutes after the last shaking, pentobarbital-Na (45 mg/kg) was injected (*i.p.*). Each datum represents the mean $\pm$ S.E.M. ($N = 10$). * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared to the unstressed control group (●).

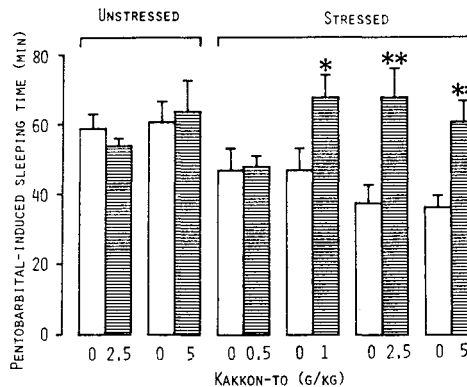


Fig. 2 Effects of Kakkon-to on pentobarbital-induced sleep in unstressed and stressed mice.

In total, mice were subjected to stress 7 times as described in Fig. 1. Either saline or Kakkon-to extract was administered (*p.o.*) 10 min after the last shaking and 1 hr later, pentobarbital-Na (45 mg/kg, *i.p.*) was injected. In each group, 4–14 animals were used. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared to respective stressed control value.

Fig. 1に低温下振盪ストレス負荷回数とpentobarbital誘発睡眠時間の変化を示した。Pentobarbital-Na (45 mg/kg) によって誘発される睡眠時間はストレス負荷回数に依存して変化し、負荷開始

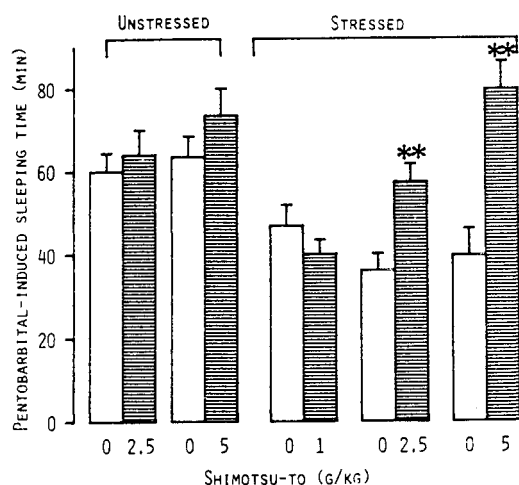


Fig. 3 Effects of Shimotsu-to on pentobarbital-induced sleep in unstressed and stressed mice.

In total, mice were subjected to stress 7 times as described in Fig. 1. Either saline or Shimotsu-to extract was administered (*p.o.*) 10 min after the last shaking and 1 hr later, pentobarbital-Na (45 mg/kg, *i.p.*) was injected. The number of animals used was 4–9 for each group. ** $p < 0.01$ compared to respective stressed control value.

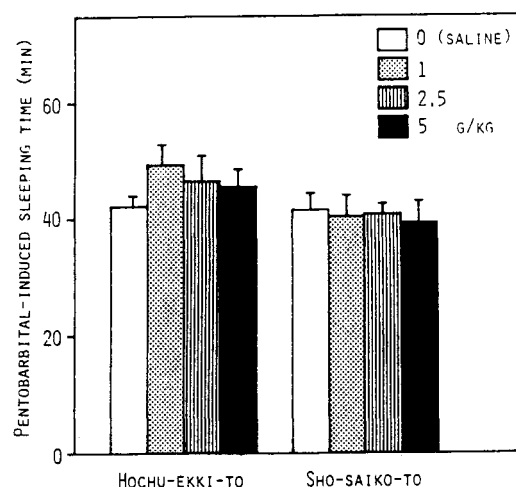


Fig. 5 Effects of Hochu-ekki-to and Sho-saiko-to on pentobarbital-induced sleep in stressed mice.

Drugs were administered to the animals stressed as described in previous figures. One hour after the administration, pentobarbital-Na (45 mg/kg, *i.p.*) was injected. The number of animals used was 9–10 for each group.

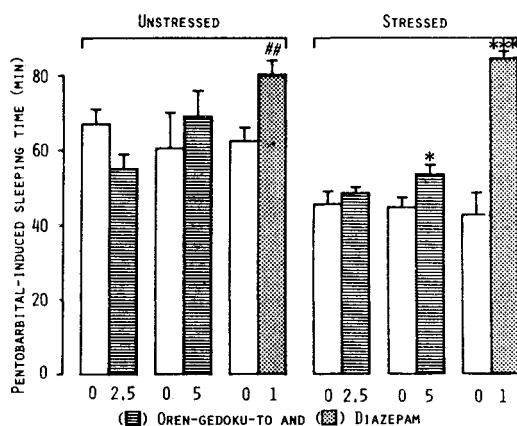


Fig. 4 Effects of Oren-gedoku-to and diazepam on pentobarbital-induced sleep in unstressed and stressed mice.

In total, mice were subjected to stress 7 times as described in Fig. 1. Drugs were administered (*p.o.*) 10 min after the last shaking and 1 hr later, pentobarbital-Na (45 mg/kg, *i.p.*) was injected. The number of animals used was 8–15 for each group. * $p < 0.05$ and *** $p < 0.001$ compared to respective stressed control value. ## $p < 0.01$ compared to the unstressed control value.

4日目(合計7回)で有意な短縮が観察された。

次に4日間にわたり合計7回、ストレスを负荷したマウス(ストレス负荷群)及び対照マウス群に薬液または生理食塩水を前処置した後に pentobarbital 誘発睡眠時間を比較した (Fig. 2~5)。対照マウス群では pentobarbital-Na (45 mg/kg) 誘発睡眠時間はおおよそ 60 分程度であったが葛根湯 (Fig. 2)、四物湯 (Fig. 3)、黄連解毒湯 (Fig. 4) (2.5~5 g (生薬)/kg) はいずれも対照マウス群における睡眠時間に影響を与えなかった。一方、ストレス负荷群では四物湯 (2.5~5 g (生薬)/kg)、葛根湯 (2.5~5 g (生薬)/kg) 及び黄連解毒湯 (5 g (生薬)/kg) はそれぞれストレス负荷によって短縮した睡眠時間を有意に正常レベルまで回復させた。他方、補中益気湯及び小柴胡湯 (1~5 g (生薬)/kg) はいずれもストレス负荷群における pentobarbital 誘発睡眠時間を回復させなかった (Fig. 5)。また比較薬として用いた diazepam (1 mg/kg) は対照群及びストレス负荷群の何れにおいても有意に pentobarbital 誘発睡眠を延長した (Fig. 5)。

2. 長期隔離飼育マウスの闘争行動に対する抑制作用

隔離飼育を開始して6週間後及び7週間後の2回の実験で観察される闘争行動に対する薬液及び生理

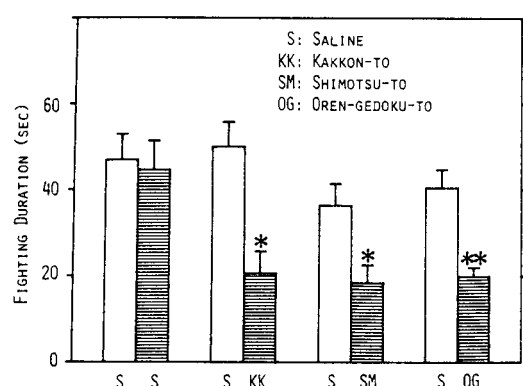


Fig. 6 Effects of Kakkon-to, Shimotsu-to and Oren-gedoku-to on aggressive behavior in mice.

Mice, which were individually housed for 6 weeks, were given saline (*p.o.*) 60 min before the first test. Two individually housed animals, one a visitor, and the other a resident, were put into a small cage for 20 min and the duration of aggressive behavior was measured as a control value. After the first trial, each mouse was kept housed individually for another week. Then test drugs were administrated to the same pair of mice while the first trial and aggressive behavior was measured as described above. Each datum represents the mean of 4–7 experiments, with the S.E.M., indicated. Open and striped columns represent the data obtained at the first and the second trials, respectively. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared to respective control value.

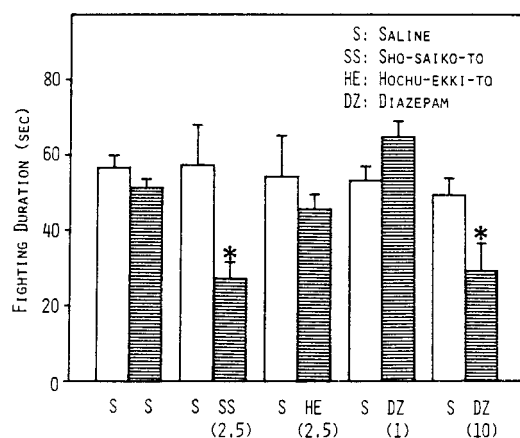


Fig. 7 Effects of Sho-saiko-to, Hochu-ekki-to and diazepam on aggressive behavior in mice.

Aggressive behavior was observed as described in Fig. 6. The numbers in parentheses are doses of test drugs (g/kg for Sho-saiko-to and Hochu-ekki-to and mg/kg for diazepam). Open and striped columns represent the data obtained at the first and the second trials, respectively. Each datum represents the mean of 5–6 experiments with the S.E.M., indicated. * $p < 0.05$ compared to respective control value obtained at the first trial.

Table I Effects of test drugs in the rats forced swimming test.

Drugs	Dose (g/kg)	Duration of immobility (sec)	
		before	after administration
Exp. I			
Saline control		278.2± 6.1	287.8± 3.3 (6)
Kakkon-to	1.0	265.3± 4.1	263.8± 5.2 (6)
	2.5	266.7± 7.5	265.2±13.7 (6)
Shimotsu-to	1.0	262.2± 5.7	261.2± 7.8 (6)
	2.5	261.3± 8.3	275.7± 4.2 (6)
Oren-gedoku-to	2.5	262.2± 3.4	245.0±11.1 (6)
	5.0	259.3± 3.8	245.3±10.8 (6)
Exp. II			
Saline control		264.8± 9.8	274.2± 3.7 (8)
Sho-saiko-to	2.5	277.7± 3.7	257.8±12.3 (6)
	5.0	254.4±11.7	257.6±11.9 (5)
Hochu-ekki-to	2.5	267.3± 6.4	264.8± 8.3 (6)
	5.0	256.6±11.2	217.0±12.5* (5)
Desipramine	10 [#]	273.8± 7.9	249.5± 7.8 (6)
	20 [#]	256.0± 3.8	198.0±15.5* (5)

: mg/kg : Each datum represents the mean ± S.E.M. The number of experiments was shown in each parenthesis. * $p < 0.05$ compared to respective control values obtained 24 hr before the administration of test drugs.

Table II Effects of test drugs on spontaneous motor activity in mice.

Drugs (5 g/kg)	Parameters		
	No. of movement (counts/30 min)	No. of rearing (counts/30 min)	Locomotor activity (cm/30 min)
Saline	2532±610	139±39	3251± 856
Kakkon-to	2609±694	131±45	3568±1098
Saline	1486±236	65±13	1721± 283
Shimotsu-to	2407±594	142±42	3102± 882
Saline	2352±440	126±38	2985± 548
Oren-gedoku-to	2046±267	103±22	2434± 295
Saline	2029±298	131±20	2718± 411
Hochu-ekki-to	3109±310*	204±32	3639± 350
Saline	2724±291	170±26	3630± 526
Sho-saiko-to	2426±374	120±25	2901± 592
Saline	2687±366	141±25	3201± 388
Diazepam*	2838±350	98±11	3926± 696
Saline	2953±463	101±13	2757± 620
Haloperidol#	654± 89**	31± 5**	705± 122*

Test drugs except for haloperidol, which was injected intraperitoneally, were orally administrated. Ten minutes after the administration, each mouse was put into Animat and changes of the parameters such as No. of movements, No. of rearings and locomotor activity (see ref 6 and 7 for detail) were measured for 30 min. Each datum represents the mean of 6-10 independent experiments, with the S.E.M. indicated. #: The doses of diazepam and haloperidol were 1 and 0.25 mg/kg, respectively. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared to the respective saline control.

Table III Anticonflict effect of traditional medicines and diazepam.

Drugs	Treatment (p.o.)	N	Punished period		Unpunished period	
			No. of shocks received before	after administration	No. of responses before	after administration
Shimotsu-to	5 g/kg ^{a)}	3	0.9±0.1	1.3±0.7	590± 96	518±101
	(5 g/kg)×3 ^{b)}	3	0.9±0.1	0.7±0.7	590± 96	536± 95
	3 days ^{c)}	3	0.7±0.2	1.0±0.1	1010± 65	1163± 93
Hochu-ekki-to	5 g/kg ^{a)}	3	1.6±0.6	2.3±0.9	589± 41	639± 51
	(5 g/kg)×3 ^{b)}	3	1.6±0.6	1.3±0.9	589± 41	598± 91
	(5 g/kg)×7 ^{b)}	3	1.6±0.6	2.3±0.7	589± 41	555± 51
Diazepam ^{a)}	1 mg/kg	4	1.3±0.4	1.0±0.6	1009± 76	1111±136
	5 mg/kg	3	3.6±0.9	14.7±2.7*	1200±235	520±235

a) Drugs were administrated 1 hr before the test trial. b) Drugs were administrated twice a day (10:00 a.m. and 4:00 p.m.), totally 3 to 7 times, before the test trial. c) Solution containing 2-4% Shimotsu-to extract was given *ad libitum* for 3 days as drinking water. Each value represents the mean±S.E.M. The average value of 3 consecutive trials was used as self-control one. * $p < 0.05$ compared with respective control value (paired *t*-test).

食塩水投与の影響を Fig. 6 及び 7 に示した。生理食塩水を投与しても 1 回目と 2 回目の闘争時間の間には有意な差はなかった。葛根湯、四物湯及び黄連解毒湯 (2.5 g (生薬)/kg) は 1 回目の値に比べて 2 回目の闘争時間をそれぞれ 58.4, 49.5 及び

51.0%減少させた。一方、補中益気湯 (2.5 g (生薬)/kg) は 2 回目の闘争行動に影響を及ぼさなかった (Fig. 7)。Diazepam は 1 mg/kg で無効であったものの 10 mg/kg では 1 回目に比べて 2 回目の闘争時間を約 40%減少させた。データには示し

ていないが, desipramine (10~20 mg/kg) は闘争時間を短縮せず, むしろ増加させる傾向が認められた。

3. ラット強制遊泳時の不動に対する作用

薬液または生理食塩水を合計3回投与した後, 第3日目の強制遊泳実験時に測定された不動時間をTable Iに示した。葛根湯 (1.0及び2.5 g (生薬)/kg), 四物湯 (1.0及び2.5 g (生薬)/kg), 黄連解毒湯 (2.5及び5.0 g (生薬)/kg) はラットの不動時間を変化させなかったのに対して, 補中益気湯 (5 g (生薬)/kg) は約18%不動時間を短縮した。一方, 比較の為に用いた desipramine (20 mg/kg) は有意に不動時間を短縮した。

4. マウス自発運動に対する作用

薬液あるいは生理食塩水投与後のマウス自発運動量変化をTable IIに示した。葛根湯, 四物湯及び黄連解毒湯 (それぞれ5 g (生薬)/kg) 及び diazepam (1 mg/kg) はいずれも No. of movements, No. of rearings 及び locomotor activity の3種の運動パラメータに影響を及ぼさなかった。他方, 補中益気湯は No. of movements を有意に増加させたのに対し, 抗精神病薬の haloperidol (0.25 mg/kg) はマウス自発運動の全てのパラメータを著明に抑制した。

5. 抗葛藤作用

Table IIIは抗葛藤作用試験における薬物の効果を示す。補中益気湯及び四物湯はレバー押し頻度, 被ショック数何れにも影響を与えなかった。また四物湯を3日間, 飲水として自由摂取させることによってレバー押し反応数は僅かながら有意に上昇したが, 被ショック数には変化がなかった。一方, diazepam 1 mg/kg はラットのレバー押し頻度及び罰期の被ショック数に作用をしめさなかったが, 5 mg/kg では被ショック数の著しい増加がみられた。また同用量でレバー押し頻度が減少したものの, 有意な変化ではなかった。

考 察

拘束, 水浸, 四肢の電気刺激あるいは環境温度変化などのストレスを負荷した動物では末梢及び中枢神経系機能の変化, 鎮痛閾値の変化, バルビタール睡眠の延長などがみられることが知られている。⁹⁻¹²⁾ 例えば水浸ストレスの場合, 1回のストレス負荷によって pentobarbital 誘発睡眠が延長し, また痛みに対応するまでの時間が遅延する。これらの現象はいずれも naloxone によって遮断されることから中

枢 opiate 系の関与¹⁰⁾ が示唆されている。一方, 本研究において我々が用いた低温下振盪ストレス負荷はマウスにおける pentobarbital 誘発睡眠を有意に短縮した。このような現象の観察は魏及び渡辺⁴⁾ の報告と一致する。バルビタール誘発睡眠の短縮が発現するには4日間にわたり合計7回以上, ストレスを負荷することが必要であったことから, この低温下振盪ストレスは亜急性的に中枢機能変化を惹起する可能性が考えられる。Matsumoto ら¹³⁾ は低温下振盪ストレス負荷による pentobarbital 誘発睡眠の短縮には中枢 GABA 系が一部関与することを示唆している。しかしそのメカニズムの解明は不十分であり, 更に詳細な検討が必要とされる。

本研究で用いた漢方方剤のうち葛根湯, 四物湯および黄連解毒湯はストレス負荷マウスにおける睡眠を正常レベルまで回復させたが, 補中益気湯及び小柴胡湯は無効であった。葛根湯, 四物湯及び黄連解毒湯の効果が方剤もしくは芍薬のような構成生薬成分の鎮静作用¹⁴⁾ のために非特異的に発現する可能性がある。しかしこれらの漢方方剤はいずれも対照群動物における pentobarbital 誘発睡眠には無効であること, 及びマウス自発運動を抑制しないことから四物湯, 葛根湯及び黄連解毒湯による pentobarbital 誘発睡眠の回復がそれらの鎮静作用に由来するとは考え難い。むしろこれらの漢方方剤がストレス負荷によって亜急性的に惹起された中枢神経系機能変化に影響して pentobarbital 誘発睡眠を正常化させた可能性が考えられる。

長期隔離飼育したマウスを同居させた場合にみられる闘争行動は中枢作用薬の効果を評価する上で有用な手段の1つとして用いられている。Chlordiazepoxide, chlorpromazine, imipramine などの中枢作用薬は比較的高用量で実験的に誘発した闘争行動を抑制する反面, 運動機能低下などの有害作用も伴うことが知られている。¹⁵⁾ 今回の我々の成績でも, diazepam は pentobarbital 誘発睡眠を延長する用量では闘争反応に影響せず, これを抑制するには更に高い用量を必要とした。一方, 漢方方剤では葛根湯, 四物湯及び黄連解毒湯がストレス負荷マウス群で短縮した pentobarbital 誘発睡眠を回復させる用量 (2.5 g (生薬)/kg) で顕著な闘争反応抑制がみられた。長期間にわたって動物を隔離することが一種のストレスとなりうるかどうか¹⁶⁾ については議論があるが, 隔離飼育に伴って norepinephrine などストレスに関連した中枢神経伝達物質の代謝回転が変化すること^{17,18)} が知られている。したがって, 隔離飼育がストレス負荷となるとすれば, それによっ

て惹起された中枢機能変化をこれらの漢方方剤が回復させることによって抗闘争効果を示す可能性が考えられる。しかし他方、小柴胡湯は pentobarbital 誘発睡眠に影響を与えない用量 (2.5 g (生薬)/kg) で著明に闘争反応を抑制したのに対して、補中益気湯は無効であったことからこの可能性は低いものと思われる。

ラットやマウスの強制遊泳試験では desipramine, imipramine⁵⁾をはじめとする抗うつ薬の他に pentobarbital, scopolamine, chlorpromazine などの抗うつ薬以外の薬物も不動時間を短縮することが知られている。^{19, 20)} このように抗うつ作用をスクリーニングする方法としては特異性の点で問題が残されているが、しかし今日も尚、薬物の抗うつ作用を検索するためのモデルとして広く使われている。本研究におけるラット強制遊泳試験では Porsolt ら⁵⁾が報告しているように抗うつ薬の desipramine による不動時間の短縮が認められた。一方、葛根湯、四物湯、黄連解毒湯及び小柴胡湯はいずれも不動時間を変化させなかったのに対して、補中益気湯のみが 5 g (生薬)/kg で有意に不動時間を短縮した。葛根湯及び黄連解毒湯の抗うつ効果に関しては臨床的知見^{2, 3)}があるが、強制遊泳試験の結果から葛根湯、黄連解毒湯、四物湯及び小柴胡湯には抗うつ作用はないものと考えられた。補中益気湯の場合、自発運動興奮作用が認められたことから、この興奮作用の為に不動時間が見かけ上短縮した可能性がある。しかし caffeine のような運動興奮性を高める薬物が必ずしも不動時間を短縮しない⁴⁾ことから、補中益気湯による不動時間の短縮はおそらく抗うつの作用を反映しているものと考えられる。これは臨床的な知見²¹⁾と考え合わせると興味深い。一方、抗葛藤試験⁸⁾では diazepam (5 mg/kg) が罰期の被ショック数を著明に増加させたのに対して、単回投与の補中益気湯 (5 g (生薬)/kg)、単回及び連続投与の四物湯はいずれも罰期の被ショック数を増加させなかった。これらの結果は少なくとも両漢方方剤には diazepam で認められるような強力な抗不安作用はないことを示唆する。

結 論

本研究で用いた薬理試験では四物湯、葛根湯、黄連解毒湯の3種の方剤、小柴胡湯及び補中益気湯はそれぞれ異なったスペクトルの中枢作用が認められた。このうち少なくとも四物湯のストレス負荷動物における pentobarbital 誘発睡眠の正常化作用及び

抗闘争効果は diazepam のような抗不安薬とは異なる機作で発現することが考えられた。また補中益気湯が抗うつ性の作用を有することが示唆された。

謝 辞

本研究の一部は科学技術庁の「生体情報伝達機構の解析・制御技術の開発に関する研究」の補助費によった。

文 献

- 1) 杵淵 彰：不眠症・うつ状態・心身症。治療 **71**, 81-86, 1989.
- 2) 高原 明：葛根湯の精神神経科的効用について。The KAMPO, 臨時増刊 24-31, 1984.
- 3) 栗山一八：心的 Aggression に対する黄連解毒湯の効用。日本東洋医学雑誌 **34**, 100-101, 1985.
- 4) 魏 振装, 渡辺裕司：新しい漢方方剤大気一転湯の中樞作用に関する実験薬理学的研究。和漢医薬学会誌 **6**, 8-12, 1989.
- 5) Porsolt, R.D., Le Pichon, M. and Jalfre, M.: Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment. *Nature* **266**, 730-732, 1977.
- 6) Matsumoto, K., Cai, B., Sasaki, K., and Watanabe, H.: Methamphetamine- and apomorphine-induced changes in spontaneous motor activity using a new system to detect and analyze motor activity in mice. *J. Pharmacol. Method.* **24**, 111-119, 1990.
- 7) 松本欣三, 蔡 兵, 中村晋也, 渡辺裕司：マウス運動量の測定及び解析のための新しいシステム：5種の中樞興奮薬の作用。日薬理誌 **96**, 31-39, 1990.
- 8) Geller, I. and Seifter, J.: The effects of meprobamate, barbiturates, d-amphetamine and promazine on experimentally induced conflict in the rat. *Psychopharmacologia* (Berlin) **1**, 482-492, 1960.
- 9) Hayes, R.L., Bennett, G.J., Newlon, P.G. and Mayer, D. J.: Behavioral and physiological studies of non-narcotic analgesia in the rat elicited by certain environmental stimuli. *Brain Res.* **155**, 69-90, 1978.
- 10) Willow, M., Carmody, J. and Carroll, P.: The effects of swimming in mice on pain perception and sleeping time in response to hypnotic drugs. *Life Sci.* **26**, 219-224, 1980.
- 11) 喜多富太郎, 秦多恵子, 米田良三, 尾陰多津子：環境温度リズムの変更によるストレス (SART ストレス) とマウス・ラットの生体機能変化。日薬理誌 **71**, 195-210, 1975.
- 12) Soubrie, P., Thiebot, M.H., Jobert, A., Montastruc, J.L., Hery, F. and Hamon, M.: Decreased convulsant potency of picrotoxin and pentetrazol and enhanced [³H]flunitrazepam cortical binding following stressful manipulations in rats. *Brain Res.* **189**, 505-517, 1980.
- 13) Matsumoto, K., Satoh, T., Hong Bin, L., Ohta, H. and

- Watanabe, H. : Decrease of pentobarbital-induced sleep by forced shaking stress. *Japan. J. Pharmacol.* **52** (Suppl. 1), 324, 1990.
- 14) 高木敬次郎, 原田正敏 : 芍薬の薬理学的研究 (第 1 報). 薬学雑誌 **89**, 879-886, 1969.
- 15) Soif, R.D. : Effects of centrally active drugs on four models of experimentally-induced aggression in rodents. *Life Sci.* **8**, 705-716, 1969.
- 16) Brain, P. : What does individual housing mean to a mouse? *Life Sci.* **16**, 187-200, 1976.
- 17) 田中正敏 : ストレス. 代謝 **26**, 122-131, 1989.
- 18) Bell, R. and Hepper, P.G. : Catecholamines and aggression in animals. *Behav. Brain Res.* **23**, 1-21, 1987.
- 19) Porsolt, R.D., Anton, G., Blavet, N. and Jalfre, M. : Behavioural despair in rats : A new model sensitive to antidepressant treatment. *Eur. J. Pharmacol.* **47**, 379-391, 1978.
- 20) Schechter, M.D. and Chance, W.T. : Non-specificity of "behavioral despair" as an animal model of depression. *Eur. J. Pharmacol.* **60**, 139-142, 1979.
- 21) 高山美登利, 田中朱美 : うつ状態に対する補中益気湯の使用経験. 東京女子医大誌 **58**, 4-5, 1988.