

薬物誘発性ストレスに対する黄連解毒湯の効果

祝部 大輔*, 佐藤 慶祐

鳥取大学医学部薬理学教室

Oren-gedoku-to may improve locomotor activities in stress-loaded mice

Daisuke HOURI*, Keisuke SATOH

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Tottori University

(Received July 25, 1994. Accepted November 15, 1994.)

Abstract

We studied the anti-fatigue activity of Oren-gedoku-to by measuring spontaneous locomotor activities in adult male mice after and not after administration of tetrabenazine. Stress was loaded through intraperitoneal (i.p.) administration of 100-mg/kg tetrabenazine to 72 mice, whereas vehicle (0.5 % methyl cellulose) was i.p. injected to another 72 mice : 24 h later, 18 animals each were orally given purified water and Oren-gedoku-to of 0.5, 1 and 2 g/kg, and the activity count per 10 min was then measured for 120 min. The data obtained were compared among 4 groups after administration of tetrabenazine and vehicle.

Spontaneous locomotor activities did not differ significantly among the 4 groups after vehicle administration. After administration of tetrabenazine, the 1-g/kg dose group showed significantly higher increases at 60 and 70 min than the purified water group. The significantly higher increase lasted from 10 to 50 min in the 2-g/kg dose group. The total activity count for 120 min in the 1- and 2-g/kg dose groups was also increased more significantly than in the purified water group. The difference between the 0.5-g/kg dose group and the purified water group was not significant.

These facts showed that Oren-gedoku-to inhibited the exhaustion induced by tetrabenazine in mice. It is concluded that Oren-gedoku-to was effective in recovering from fatigue.

Key words Kampo-hozai, Oren-gedoku-to, tetrabenazine, locomotor activity.

Abbreviations Oren-gedoku-to (Huang-Lian-Jie-Du-Tang), 黄連解毒湯; TBZ, tetrabenazine.

緒 言

不眠症、うつ状態、心身症などの疾患に対して葛根湯、黄連解毒湯の有効性についての報告^{1,3)}がなされている。黄連解毒湯 (Oren-gedoku-to) は、唐代の処方集である外台秘要方に収載されており、黄連 (オウレン)、黄芩 (オウゴン)、黄柏 (オウバク)、山梔子 (サンシシ) の4種の生薬から構成され、三焦 (上焦、中焦、下焦) の実熱に用いられる代表処方である。漢方では、上焦は精神・神経の機能を有する部位を指し、実熱は過亢進した状態を意味しており、生体に何らかのストレスが加わっ

た場合などには、上焦の実熱の状態、すなわち不眠症、うつ状態、心身症、疲労などの精神神経科的症状を起こすと考えられる。

今回、黄連解毒湯のストレス負荷に対する作用を明らかにする目的で、レセルピンと同様の作用機序を有する tetrabenazine (TBZ) を薬物誘発性ストレスの誘発物質として用い、TBZ 負荷後の自発運動量に及ぼす影響を調べた。

材料と方法

(1) 実験動物 : 5-6 週齢 (体重 25-35 g) の ddY 系雄性

*〒 683 鳥取県米子市西町86
86 Nishimachi, Yonago, 683 Japan

マウスを用いた。4週齢のマウスを購入後、金属性の飼育箱(32 cm×22 cm×12 cm)に12匹ずつ入れて飼育し、1週間馴化させて実験に用いた。実験動物には測定時間以外、飲料水及び食餌は自由に摂取させ、室温は通常21±1°Cに保つように留意した。使用前に24時間絶食した。

(2) **使用薬物**：黄連解毒湯のエキス粉末(小太郎漢方製薬株式会社提供)は、黄連(*Coptidis Rhizoma*)、黄芩(*Scutellariae Radix*)、黄柏(*Phellodendri Cortex*)、山梔子(*Gardeniae Fructus*)の4種の生薬を1.5:3:1.5:2の割合で混合し、熱水抽出した後、乾燥したもので、その収率は22.5%である。このエキス中に berberine 2.2%, baicalin 11.2%, geniposide 2.8% を含有する。

この黄連解毒湯は、蒸留水に懸濁し、マウスに0.1 ml/10 gの割合で経口投与した。

TBZ(Fluka)は0.5%メチルセルロースに懸濁し腹腔内投与した。

(3) **自発運動量の測定**：正常マウス群は0.5%メチルセルロースを、薬物誘発性ストレス負荷群はTBZ 100 mg/kgを腹腔内投与した。その投与24時間後両群に精製水、黄連解毒湯0.5, 1, 2 g/kgを経口投与し、10分間毎の自発運動量を120分間測定した。自発運動量測定は、感応コイルの共鳴回路を利用した自発運動記録装置(MK-animex activity meter, Model DSE, 室町機械、

東京)を用い、1群6匹のマウスを37 cm×24 cm×29 cmの広さのプラスチック製のケージに入れ、薬物投与後の自発運動量を経時的に調べた。なお薬物投与30分前にマウスを測定用ケージに入れ、環境に慣らした後薬物を投与した。

(4) **統計処理**：測定値は各群の平均値±標準誤差で表し、薬物投与群と対照群とをDunnett's testにより有意差検定を行った。 $p<0.05$ をもって有意とした。

結 果

1. 正常マウス群の自発運動量に及ぼす黄連解毒湯の影響

0.5%メチルセルロース投与24時間後に精製水(対照群)を投与したマウスの自発運動量は950 counts/10 min前後であり、時間の経過と共に減少するが、30~50分後でプラトーを保ち、その後は100前後となり、それは2時間後まで続いた。また、黄連解毒湯0.5, 1 g/kg投与群の自発運動量は対照群とほぼ同様であった。

一方、黄連解毒湯2 g/kg投与群の自発運動量は時間の経過と共に減少するが、40~70分後でプラトーを保ち、その後は100以下となり、それは2時間後まで続いた(Fig. 1 A)。

しかし、対照群、黄連解毒湯0.5, 1, 2 g/kg投与群と

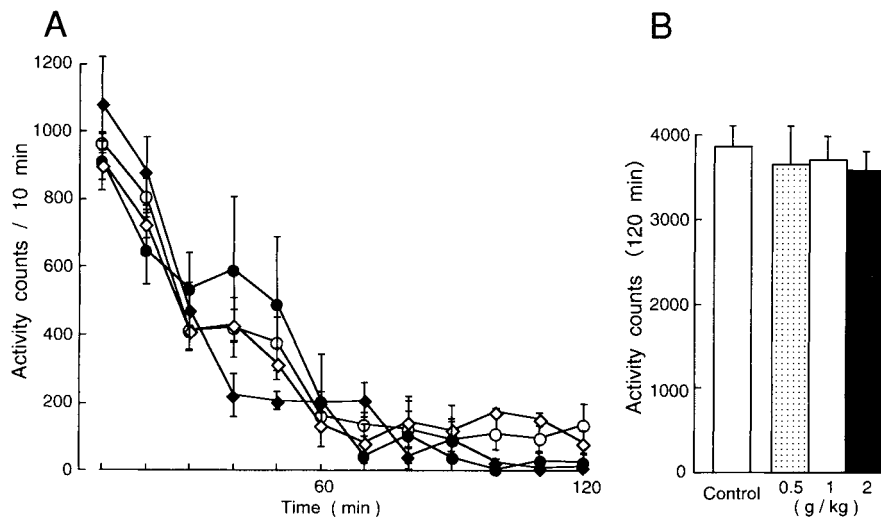


Fig. 1 Effects of Oren-gedoku-to (OGT) on locomotor activity in mice 24 hr after administration of vehicle (0.5% methyl cellulose).

Panel A shows locomotor activities during 10 min-periods (counts/10 min) for 120 min after the administration of OGT. ○: Control (vehicle). ●: 0.5 g/kg, ◇: 1 g/kg and ◆: 2 g/kg of OGT. The data after OGT administration are not significantly different from the corresponding control values. Panel B shows the total locomotor activity (counts) for 120 min. Control: vehicle. Numerals indicate the dose of OGT (g/kg, p.o.); the data after OGT administration are not significantly different from the control values.

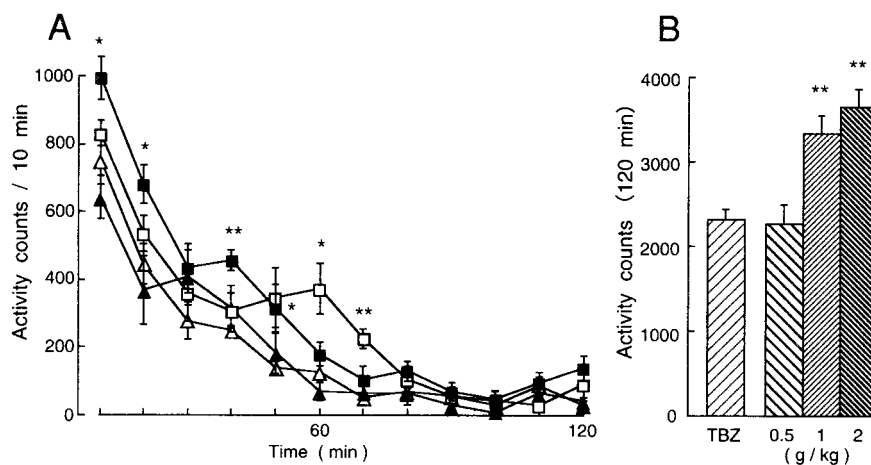


Fig. 2 Effects of Oren-gedoku-to (OGT) on locomotor activity in mice 24 hr after tetrabenazine treatment (100 mg/kg, i.p.).

Panel A shows locomotor activities during 10 min-periods (counts/10 min) for 120 min after the administration of OGT. Δ : tetrabenazine alone. $\blacktriangle$: 0.5 g/kg, $\square$: 1 g/kg and $\blacksquare$: 2 g/kg of OGT. * p < 0.05, ** p < 0.01: Significantly different from the corresponding values by TBZ alone. Panel B shows the total locomotor activity (counts) for 120 min. TBZ: tetrabenazine alone, numerals indicate the dose of OGT (g/kg, p.o.). ** p < 0.01 as compared with the TBZ values.

の間に有意な差は認められなかった。

同様に 120 分間の自発運動量の総カウント数においても対照群, 黄連解毒湯 0.5, 1, 2 g/kg 投与群との間に有意な差は認められなかった (Fig. 1 B)。

2. TBZ 負荷群の自発運動量に及ぼす黄連解毒湯の影響

TBZ 投与 24 時間後に精製水を投与したマウスの自発運動量は 800 counts/10 min 前後であり, 時間の経過と共に減少し, 50~60 分後では約 100, 60 分を過ぎると 100 以下になり, それは 2 時間後まで続いた。一方, 黄連解毒湯 0.5 g/kg 投与群は, 精製水投与群と比べ有意な差はなかった。黄連解毒湯 1 g/kg 投与群では, 30 分後までは精製水投与群と同様に自発運動量は減少するが, その後 60 分後まではプラトーを保ち, 明らかに精製水投与群より自発運動量は増えていた。80 分後にはその自発運動量は精製水投与群と同じになった。黄連解毒湯 2 g/kg 投与群は精製水投与群に比べ, 10 分より 50 分後まで有意な自発運動量の増加を示した。60 分以後の自発運動は精製水投与群と同じように減少した (Fig. 2 A)。

また, 120 分間の自発運動量の総カウント数においても黄連解毒湯 1, 2 g/kg 投与群は精製水投与群に比べて有意に自発運動量の増加が認められた (Fig. 2 B)。

考 察

本実験では薬物誘発性ストレス負荷における黄連解毒

湯の影響について検討を行った。マウスに TBZ を投与すると鎮静状態により自発運動は減少する⁴⁾。この自発運動量減少をストレスの指標として, これに対し黄連解毒湯がどのような影響を与えるのかを検討した。

ストレス負荷を与える 1 つの方法に薬物誘発性ストレスモデルがあり, レセルピンや TBZ が用いられている。

例えば, レセルピンや TBZ などの薬物を動物に投与すると, 脳内のモノアミンを枯渇させ, 著しい鎮静, 移所行動の減少, 眼瞼下垂, 体温降下などを発現する。これらの症状は三環系抗うつ薬である imipramine によって拮抗される⁵⁾。

また, ラットにレセルピンを投与すると新陳代謝機能が低下し, 血圧, 体温, 心拍数, 血流量, 下垂体-副腎系機能変化などを起こし衰弱状態に陥る^{6,7)}。この状態は漢方医学的に「裏寒証」と称される生体状態とよく似ている。そしてこのレセルピンによって引き起こされた衰弱状態に対し, 古来, 新陳代謝の衰退した状態に適用される「附子」が有効であるという報告⁸⁾がある。

さらに滋養強壮ドリンク剤の抗疲労効果を調べるために薬物誘発性ストレス負荷として TBZ を用いた報告⁹⁾がある。

このようにレセルピンと TBZ は, モノアミン量, 肝グリコーゲン量を減少させストレス状態を誘発させる¹⁰⁾。

すなわち, これらのモデルの特徴は, 薬物負荷によりエネルギー源の保持ができなくなり, 肝グリコーゲン量が減少することである。そして副腎摘出ラットと同様,

肝グリコーゲンの低下後、全身状態が悪化し、体重減少と死亡率の増加をきたすことが知られている。

今回はレセルピンと同じ作用機序を有しているが、レセルピンと比較して作用時間が短くかつ中枢性の作用が強いことを特徴とする TBZ⁴⁾ をストレス負荷に用いた。

TBZ 誘発ストレス負荷後、黄連解毒湯 1 g/kg 投与群は 60, 70 分後に、2 g/kg 投与群は 10~50 分後に对照群に比べ有意な自発運動量の増加を示した。これは黄連解毒湯の用量増加に伴い、自発運動量の増加が早く、強く出現したものであり、用量依存的な作用と考えられる。これらの自発運動量の増加は、黄連解毒湯がストレス負荷によって惹起された中枢神経系機能変化に影響した可能性が考えられる。

一方、正常マウスにそれぞれ精製水、黄連解毒湯 0.5, 1, 2 g/kg を投与した群間では有意な差は認められず、黄連解毒湯は正常マウスの自発運動量に影響を与えなかったという渡辺ら¹¹⁾の実験結果と同じであった。

同様に 120 分間の自発運動量の総カウント数においても、TBZ 誘発ストレス負荷後の黄連解毒湯 1, 2 g/kg 投与群は黄連解毒湯を投与しなかった群に比べ有意に自発運動量の増加が認められ、かつ正常マウス群との間では有意な差は認められなかった。

また、正常マウスのペントバルビタール睡眠に対して黄連解毒湯は全く影響を与えず、ストレス負荷マウスにおいてペントバルビタール睡眠を延長した報告¹¹⁾などを考慮すると、黄連解毒湯は疲労した状態又はストレス状態にある場合の修復機構を調節する可能性を示し、疲労回復効果が期待できる。

結 論

黄連解毒湯は、正常マウスの自発運動量には影響を与えず、TBZ ストレス負荷マウスに対して自発運動増強作用が認められ、疲労回復効果が期待できることが示唆さ

れた。

References

- 1) Kinebuchi, A.: Fumin-sho · Utsu-jotai · Shinshin-sho. *Chiryō* **71**, 81-86, 1989. (杵渕 彰:不眠症・うつ状態・心身症, 治療 **71**, 81-86, 1989.)
- 2) Takahara, A.: Kakkon-to no Seishinshinkeikateki-kouyou ni tsuite. *The KAMPO*, Rinjizokan, 24-31, 1984. (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) Kuriyama, K.: Shinteki "Aggression" ni taisuru Oren-gedoku-to no kouyou. *Nihon Touyou Igaku Zasshi* **34**, 100-101, 1985. (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) Quimm, G. P., Shore, P. A. and Brodie B. B.: Biochemical and pharmacological studies of Rol-9569 (tetrabenazine), a non-indole tranquilizing agent with reserpine-like effects. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **127**, 103-109, 1959.
- 5) Niemegeers, C. J. E.: Antagonism of reserpine-like activity. in *Antidepressants*. Ed. by Fieldings, S. and Lal, H., Futura Publishing Co., New York, pp.73-98, 1975.
- 6) Maickel, R. P., Westermann, E. O., Brodie B. B.: EFFECTS OF RESERPINE AND COLD-EXPOSURE ON PITUITARY-ADRENOCORTICAL FUNCTION. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **134**, 167-175, 1961.
- 7) Westermann, E. O., Maickel, R. P., Brodie B. B.: ON THE MECHANISM OF PITUITARY-ADRENAL STIMULATION BY RESERPINE. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **138**, 208-217, 1962.
- 8) Matsuda, H., Moriura, T., and Kubo, M.: Pharmacological study on Aconiti tuber. II. Metabolic function - improving effect of water extract from Aconiti tuber in reserpine-treated rats. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKU* **8**, 68-75, 1991.
- 9) Tadano, T., Aizawa, T., Aso, T., Hozumi, M. and Kisara, K.: Pharmacological studies of nutritive and tonic crude drugs on fatigue in mice. *Folia pharmacol. japon.* **100**, 423-431, 1992.
- 10) Kobayashi, M., Niinoh, T., Mori, T., Fukuyo, S., Yazawa, T., and Nomura, T.: Influences of central acting drugs and adaptation hormones on liver glycogen and blood sugar in reserpinized rats. *Folia pharmacol. japon.* **67**, 265-273, 1971.
- 11) Watanabe, H., Matsumoto, K., Satoh, T., Ohta, H. and Matsuda, H.: Psychopharmacological studies on Shimotsu-to, Kakkon-to and Oren-gedoku-to using animal models. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKU* **7**, 99-107, 1990.