

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

魏 振装, 渡辺 裕司*

富山医科薬科大学和漢薬研究所生物試験部門

Pharmacological studies on central effects of Taiki-itten-to, a novel Kampo-hozai, in mice

Zhenzhuang WEI and Hiroshi WATANABE*

*Department of Pharmacology, Research Institute for Wakan-Yaku,
Toyama Medical and Pharmaceutical University*

(Received November 4, 1988. Accepted January 17, 1989.)

Abstract

Pharmacological effects of Taiki-itten-to (Da-Qi-Yi-Zuan-Tang), a novel Kampo-hozai (formulation) devised by a Chinese author, on the central nervous system were investigated in animal model of diseases and compared with those of desipramine and caffeine. Taiki-itten-to (5 g dried herbs/kg, p.o.) and desipramine (20 mg/kg, p.o.) inhibited immobility induced by forced swimming in rats, while caffeine did not affect the immobility. Taiki-itten-to prolonged pentobarbital-induced sleep in mice after forced shaking stress for 4 days, but in contrast, it did not modify the sleep in naive mice. Desipramine prolonged sleep induced by pentobarbital in both naive and stressed mice. Caffeine did not change the pentobarbital-induced sleep. Taiki-itten-to reduced the aggressive behavior in mice isolated for three months, whereas desipramine did not. These results suggest that Taiki-itten-to may have anti-depressant as well as anti-aggressive effects in animals.

Key words Taiki-itten-to (Taiki-itten-tô), antidepressant, desipramine, immobility, aggressive behavior, sleep.

Abbreviations DA, dopamine; DOPAC, 3, 4-dihydroxyphenylacetic acid; NE, nor-pinephrine; Taiki-itten-to (Da-Qi-Yi-Zuan-Tang), 大気一転湯.

諸 言

現代はストレスの時代と言われており、我々は毎日いろいろな刺激を受けながら生活している。これらの刺激に対して我々の身体は巧みな調節を行っているが、外的刺激に対して適応できなくなると、神経系の病気を発生することが多い。このようなストレスによるノイローゼや精神不安、うつ病などを治療するため、現在は専ら西洋薬が用いられているが、副作用が強く長期間の使用は困難なことが多い。著者の1人は中国において新しい漢方薬処方(大気一転湯)を創製し、186例の精神不安や抑うつ

患者に対して使用し臨床知見を積み重ねてきた。その結果、非常に有効率が高く副作用の少ないことが確認された。

そこで、今回はこの大気一転湯の中樞作用を実験薬理学的に裏付けると共に、作用機構を明らかにする目的で3種類の病態モデルを用いて desipramine の作用機構と比較検討し、また正常マウスの脳内カテコールアミン含量に対する影響についても検討した。

材料と方法

(1) 実験動物: 体重 200 g 前後のウィスター系雄

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

性ラットおよび体重 20~28 g の ddY 系雄性マウス (いずれも静岡実験動物農協) を使用した。

(2) 使用薬物：大気一転湯は当帰 *Angelica acutiloba* KITAGAWA (日本・奈良県産) 10, 淫羊藿 *Epimedium macranthum* M. et D. var. *violaceum* FR. (中国産) 5, 生地黄 *Rehmannia glutinosa* LIBOSCHITZ var. *purpurea* MAKINO (中国広東省産) 10, 升麻 *Cimicifuga simplex* WORMSK. (中国産) 5, 葛根 *Pueraria lobata* OHWI (日本産) 20, 甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. (中国産) 10, 香附子 *Cyperus rotundus* L. (北朝鮮産) 10, 赤芍 *Paeonia albiflora* PALL. (中国黒竜江省産) 10, 茯苓 *Poria cocos* WOLF. (韓国産) 10, 澤瀉 *Alisma orientale* JUZ. (中国四川省産) 10, 党参 *Codonopsis pilosula* NANNF. (中国雲南省産) 10, 柴胡 *Bupleurum falcatum* L. (日本産) 5 (いずれも枋本天海堂, 単位 g) から成る。これに 900 ml の精製水を加えて 100℃ で 90 分間加熱抽出し, 濾液を凍結乾燥し, 乾燥エキス粉末とした。収率は約 28% であった。Desipramine hydrochloride (Ciba-Geigy), caffeine (和光純薬) および大気一転湯乾燥エキス粉末はいずれも生理食塩水に溶解して使用した。

(3) 強制遊泳実験：直径 17 cm, 高さ 25 cm の円筒型のガラス瓶に深さ 18 cm まで 25℃ の水を入れ, ラットを 1 匹ずつ入れた後, 蓋をして自由に泳がせた。第 1 日目に 15 分間泳がせて慣らした後, 第 2 日目に 5 分間遊泳させ, その間に観察された無動時間を測定した。その後, 直ちに大気一転湯エキスまたは生理食塩水を経口投与 (24 時間前), さらに第 3 日目の測定 12 時間前および 2 時間前に, それぞれ経口投与した。第 3 日目は 5 分間遊泳させ, その間に観察された無動時間を測定した。

(4) Pentobarbital 睡眠時間の測定：無処置マウス群, 小ケージに 16 匹ずつを入れて振盪器 (毎分 250 回, 横振巾 4 cm) 上に乗せ, 1 日 2 回各 40 分間振盪したマウス群, および振盪を 4 日間で 7 回繰り返したマウス群に振盪直後, 薬液または生理食塩水を 1 回経口投与した。1 時間後に pentobarbital 46 mg/kg を腹腔内投与し, 各群のマウスの睡眠時間を測定した。

(5) 個別飼育マウスの闘争行動：マウスを小ケージで 3 カ月間個別飼育した後 3 群に分け, 大気一転湯群は煎液 (5%) を 5 日間, desipramine・HCl 群は 0.03% 水溶液を 3 日間, 対照群はそのまま水道水を自由に摂取させた。実験日に 2 匹のマウスを 20 分間同一小ケージに入れ, 闘争行動発現時間を測定した。

(6) マウスの脳内 dopamine (DA) 含量の測定：無処理マウスに薬液あるいは生理食塩水を腹腔内投与した。投与 50 分後に断頭して脳を摘出し, 線条体と中脳辺縁部位を分取した。両部位の湿重量を測定後 0.25 N 過塩素酸 1 ml でホモゲナイズし, 遠心分離した。上澄液に活性アルミナ 20 mg および Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.5) 1 ml を加えて 10 分間振盪し catecholamine 類を吸着させた。Catecholamine 類は活性アルミナを洗滌後 0.25 N 過塩素酸 200 μ l を加えて溶出させ, 10~20 μ l の溶出液を高速液体クロマトグラフィー (Bioanalytical Systems, Inc.) に注入して, 電気化学検出器 (Eicom ECD-100) により測定した。

(7) 統計処理法：分散分析後 Duncan の新多重比較検定あるいは Student の *t* 検定により有意差検定を行った。

結 果

1. ラット強制遊泳時の無動に対する作用

薬液あるいは生理食塩水を 3 回経口投与後, 第 3 回目の強制遊泳時に測定された無動時間を Table I に示した。大気一転湯 7.5 g (生薬)/kg はラットの無動時間を有意に短縮させた。例数が少ないので表には示していないが, 3.7 g (生薬)/kg では短縮は認められなかった。比較のために用いた desipramine・HCl は 20 mg/kg 投与により無動時間を有意に短縮した。また, caffeine は 10 および 100 mg/kg の両投与量とも無動時間に有意な影響を与えなかった。

2. マウスの pentobarbital 睡眠に対する作用

無処置, 1 日振盪および 4 日間振盪の各マウス群に, 大気一転湯, desipramine・HCl および caffeine をそれぞれ 1 回投与し, pentobarbital 誘発睡眠時間を測定した結果を Table II に示した。

無処置マウス群の睡眠時間に対して大気一転湯および caffeine は何ら影響しなかった。しかし desipramine・HCl は 10 mg/kg により有意に延長した。振盪処置そのものの影響についてみると, 無処置群に比べて 1 日振盪群では pentobarbital 誘発睡眠時間に著明な差はみられなかったが, 4 日間振盪群では有意に短縮された。

4 日間振盪群において, 大気一転湯は 12.5 g (生薬)/kg, desipramine・HCl は 10 mg/kg でそれぞれ短縮された睡眠時間を有意に延長した。Caffeine に有意な作用は認められなかった。

Table I Effects of Taiki-itten-to, desipramine and caffeine on the total duration of immobility during a 5 min test.

Drug	Dose (mg/kg)	No. of rats	Duration of immobility (sec)	% Change from control
Saline control	0.1 ml/100 g	8	255.3±10.0	—
Taiki-itten-to	7500	10	223.0±11.1**	-12.7
Saline control	0.1 ml/100 g	6	272.5± 4.9	—
Desipramine HCl	10	6	241.5±18.5	-11.4
	20	6	222.5±19.2**	-18.3
Caffeine	10	6	247.5±14.7	-9.2
	100	6	264.5± 9.4	-2.9

The drugs were given in 3 p.o. administrations 24, 12 and 2 hr before the test. The doses are those given at each administration.

The dose of Taiki-itten-to corresponds to the weight of dried herbs. Values are mean±S.E.M.

** $p < 0.01$ vs. respective saline control.

Table II Effects of Taiki-itten-to, desipramine and caffeine on the duration of sleep induced by pentobarbital after forced shaking stress in mice.

Group Drug and dose	Naive control	Shaking for 1 day	Shaking for 4 days
Saline control 0.1 ml/100 g	52.9± 2.3 (22)	61.7± 4.4 (18)	34.5± 3.1**(11)
Taiki-itten-to 5.0 g/kg	54.2± 3.1 (16)	61.4± 4.7 (16)	43.0± 5.6 (11)
12.5	55.5± 3.7 (19)	69.7± 4.7 (18)	56.4± 5.1** (11)
Saline control 0.1 ml/100 g	51.9± 3.5 (7)	69.7± 7.2 (6)	43.2± 3.0**(6)
Desipramine HCl 5 mg/kg	60.1± 8.5 (7)	72.2±12.5 (5)	48.6± 6.1 (5)
10	79.7± 9.8** (7)	87.7± 8.8 (6)	82.8± 6.0** (6)
Saline control 0.1 ml/100 g	50.7± 3.9 (7)	49.5± 9.9 (6)	32.0± 4.3** (5)
Caffeine 10 mg/kg	42.7± 8.9 (6)	39.0± 5.0 (5)	27.6± 4.5 (5)
50	43.3± 3.6 (7)	69.4± 8.2 (5)	32.2± 4.6 (5)

The drugs were given in oral administration after forced shaking. Pentobarbital was injected intraperitoneally 1 hr after the drug administration.

Values are the mean of the duration of sleep±S.E.M. The number of animals is shown in parentheses. ** $p < 0.01$ vs. naive control. ** $p < 0.01$ vs. saline control.

Table III Effects of Taiki-itten-to and desipramine on aggressive behavior in mice.

Drug	Aggressive behavior (sec)	% Change from control
Control (11)	48.6±4.9	—
Taiki-itten-to 5 % solution (6)	19.2±1.8**	-60.5
Desipramine · HCl 0.03% solution (6)	62.1±9.3	+27.8

Values are the mean of the total duration of aggressive behavior±S.E.M.

The number of animals is shown in parentheses. ** $p < 0.01$ vs. control.

Table IV Effect of Taiki-itten-to on the levels of dopamine (DA), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) and norepinephrine (NE) in the striatum and the mesolimbic area of the mouse.

	NE ($\mu\text{g/g}$)	DOPAC ($\mu\text{g/g}$)	DA ($\mu\text{g/g}$)	DOPAC/DA Ratio
<u>Striatum</u>				
Saline	—	1.03 $\pm$ 0.05	9.33 $\pm$ 0.43	0.11 $\pm$ 0.01
Taiki-itten-to	—	1.06 $\pm$ 0.09	11.64 $\pm$ 1.00	0.09 $\pm$ 0.00*
<u>Mesolimbic area</u>				
Saline	1.00 $\pm$ 0.06	0.780 $\pm$ 0.026	5.83 $\pm$ 0.20	0.14 $\pm$ 0.01
Taiki-itten-to	0.903 $\pm$ 0.039	0.868 $\pm$ 0.052	6.03 $\pm$ 0.31	0.15 $\pm$ 0.01

Mice were injected with saline (0.1 ml/10 g) or Taiki-itten-to (corresponds to 5 g of dried herbs/kg) and killed by decapitation 50 min later. Values are the mean $\pm$ S.E.M. The number of animals used was 7 to 11. * p < 0.05 vs. saline.

3. 個別飼育マウスの闘争行動に対する作用

3 カ月間の個別飼育後、大気一転湯煎液 (5%) あるいは desipramine $\cdot$ HCl 水溶液 (0.03%) を自由摂取させた後、闘争行動時間を測定した結果を Table III に示した。大気一転湯は闘争行動を有意に抑制したが、desipramine $\cdot$ HCl は有意な影響を及ぼさなかった。

4. 無処置マウスの脳内アミン含量に対する作用

無処置マウス線条体および中脳辺縁部位のアミン含量に対する大気一転湯の影響を Table IV に示した。大気一転湯 5 g (生薬)/kg の腹腔内投与により線条体内の DA および 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) の含量には変化はみられなかったが、DOPAC/DA 比率に有意な減少が認められた。中脳辺縁部位では norepinephrine (NE), DOPAC, DA の含量に変化はなく、DOPAC/DA 比率にも有意な変化は認められなかった。

考 察

ラットを用いた強制遊泳実験は抗うつ薬のスクリーニング法として広く利用されており、imipramine や desipramine を始めとする三環系抗うつ薬、nomifensine や mianserine などの非定型的抗うつ薬は強制遊泳時にみられるラットの無動時間をそれぞれ著明に短縮することが知られている^{1,2)}。しかし、無動時間は抗うつ薬だけでなく、triiodothyronine や pentobarbital などの投与によっても短縮されることが報告されている³⁾。今回試験した大気一転湯は desipramine と同様に無動時間を有意に短縮したことから、抗うつ作用を有することが示唆されたが、その他の作用に由来する可能生も否定はで

きない。同時に試験した caffeine では、無動時間の短縮はみられなかったので、単なる中枢興奮作用によるものではないと考えられる。

極度のストレスを与えた動物では、自発運動の減少や、体重減少、眼瞼下垂などがみられ、抗うつ薬の長期投与によって病状が徐々に回復することから、これらの動物をうつ病のモデルとみなして抗うつ薬のスクリーニングや作用機序の研究が行われている⁴⁾。今回の研究において我々は、マウスに振盪ストレスを 3 日間負荷すると pentobarbital による睡眠時間が著明に短縮されることを見出した。このようなマウスに desipramine と大気一転湯を各々投与すると、短縮された睡眠時間は有意に延長された。しかし、この時の睡眠時間は無処置マウスに両薬物を各々前投与した場合の睡眠時間を越えることはなかった。3 日間のストレス負荷後なぜ pentobarbital 睡眠時間が短縮されるかは今後明らかにする必要があるが、大気一転湯のような漢方処方が無処置マウスにおける pentobarbital 睡眠時間には影響せず、ストレス負荷によって短縮された時間だけをいわば元へ戻す形で作用を現しているのは非常に興味深い。Caffeine は用いた用量範囲では、pentobarbital の睡眠時間に著明な影響を与えなかった。大気一転湯の作用機作は全く不明であるが、今後追求すべき研究課題であろう。

マウスを数匹 1 群として長期間飼育すると社会的上下関係が生ずるため、2 つのグループを同居させると新たに上下関係ができるまで闘争行動を生ずる⁵⁾。また、長期個別飼育したマウスを同居させても同様に闘争行動を生ずる。このような闘争行動は少量の chlordiazepoxide によって特異的に増強され、大量では抑制されることが報告されている⁶⁾。Chlor-

promazine や imipramine, *d*-amphetamine, phenobarbital などは抑制作用だけを示す。3 カ月間個別飼育したマウス同士の闘争行動は大気一転湯により抑制され、desipramine では抑制されなかった。与えた大気一転湯煎液や desipramine 溶液はマウスの自発運動量に影響しないことは確認している。ストレス負荷マウスにおける pentobarbital 睡眠時間の延長作用とも合わせて考えると、大気一転湯は臨床的には抗うつ作用を示しているものの、三環系抗うつ薬とはかなり違った作用機作を有するのではないかと考えられる。

量的観点からみると、大気一転湯の臨床用量は 1~2 g 生薬/kg/日であるから、ラットの強制遊泳実験における有効用量はヒトの10倍量以上に相当する。一方、対照とした desipramine は臨床における初期量 50~70 mg/日から計算すると、ラットにおいて有意差の得られた用量 (20 mg/kg×3, p.o.) はやはりヒトの10倍量以上に当たる。また、ストレス負荷時の pentobarbital 睡眠に対する大気一転湯の延長作用量は臨床用量の10倍以上であり、desipramine の場合も 7~10倍量と高い。このように、両病態モデルの desipramine に対する感受性がかなり低いことを考慮すれば、大気一転湯の有効量が臨床用量よりも多かったことは意味のないことではないと思われる。闘争行動に対する大気一転湯の抑制作用は上記両病態モデルに対する用量の 1/10濃度である 5% (生薬) 溶液を常時与えておくことによって得られたが、この用量はマウスの飲水量が 1 日 7 ml (20例の平均) と仮定したときにやはり臨床用量の10倍以上に当たる。

大気一転湯の作用機作の一端を探る目的で、無処置マウスの線条体と中脳辺縁部位の NE, DA および DOPAC 含量を測定したところ、大気一転湯を投与したマウスの線条体における DOPAC/DA 比率が有意な低下を示した。脳局部の DOPAC 量の大部分は内因性 DA の貯蔵部位に由来し、その増減は DA ニューロンの機能的活動性を反映していると考えられることから、⁷⁾ DOPAC/DA 比は DA ニューロンの代謝回転の指標として利用されている。⁸⁾ したがって、大気一転湯は線条体において DA 代謝回転を抑制した可能性を示唆する。この作用と先の 3 種類の病態モデルに対する大気一転湯の作用が如何なる関係を有するのかは不明である。今後、病態モデルにおける脳内カテコールアミン量の変化やそれに対する大気一転湯の作用を検討する必要がある。

以上の如く、3 種の病態モデルに対する大気一転湯の作用を desipramine と比較した結果、大気一転湯が抗うつ作用的な面の他に抗不安作用的な面を有することを認めた。個別飼育マウスにおける闘争行動については大気一転湯が 1 用量のみの投与であることや、これらの病態モデルにおいて抗不安薬を対照薬として使う必要性があることなどのため、さらに研究を進める予定である。

結 論

大気一転湯は抗うつ作用と共に抗不安作用を有する可能性が実験薬理学的に示唆された。

謝 辞

本研究に対して財団法人日中医学協会より研究助成を受けた。ここに謝意を表します。

文 献

- 1) Porsolt, R.D., Anton, G., Blavet, N. and Jalfre, M.: Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol.* **47**, 379-391, 1978.
- 2) Porsolt, R.D., Bertin, A., Blavet, N., Deniel, M. and Jalfre, M.: Immobility induced by forced swimming in rats: Effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *Eur. J. Pharmacol.* **57**, 201-210, 1979.
- 3) 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.
- 4) 鳩谷 龍, 野村純一, 北山 功, 小石沢学: 動物モデルによるうつ病の病態発生に関する研究. *精神医学* **25**, 249-258, 1983.
- 5) 小川暢也, 原 千高: 実験神経症. *神経精神薬理* **9**, 699-704, 1987.
- 6) Zwiner, P.R., Porsolt, R.D. and Loew, D.M.: Inter-group aggression in mice: A new method for testing the effects of centrally active drugs. *Psychopharmacol.* **45**, 133-138, 1975.
- 7) Roth, R.H., Murrin L.C. and Walters, J.R.: Central dopaminergic neurons: Effects of alterations in impulse flow on the accumulation of dihydroxyphenylacetic acid. *Eur. J. Pharmacol.* **36**, 163-171, 1976.
- 8) Bannan, M.J. and Roth, R.H.: Pharmacology of mesocortical dopamine neurons. *Pharmacol. Rev.* **35**, 53-68, 1983.