

脳代謝賦活薬としての当帰, 川芎, 丹参の脳内グルタミン合成酵素活性に対する賦活ならびに保護作用

劉 紀莎*, 渡辺 泰雄, 渋谷 健

東京医科大学・薬理学教室

Stimulative and protective effects of Chinese medicinal brain metabolic stimulants, Toki, Senkyu and Tanjin, on brain glutamine synthetase activity

Ji-Sha LIU*, Yasuo WATANABE and Takeshi SHIBUYA

Department of Pharmacology, Tokyo Medical College

(Received April 10, 1995. Accepted June 23, 1995.)

Abstract

Inhibitory effects of Toki, Senkyu and Tanjin on methionine sulfoximine (MSO) reduced GS activity were examined. In this study, we used the commercial injections of Chinese medicines which were produced on a large scale in China, because the inconsistency extraction of Chinese herbs must be omitted. In the cultured cerebellar granule cell, the dosage of 5 μ M MSO after a 30 min incubation reduced the GS activity about 80 % more than the control levels. A 30 min pre-treatment of examined dosages of Senkyu (0.1-1.0 mg/ml) and Toki (0.05-1.0 mg/ml), but not Tanjin (0.5-2.0 mg/ml), significantly blocked the MSO-reduced GS activity in a dose-dependent manner, although these dosages did not affect the GS activity, directly. Moreover this protection was detected in the glia-rich cultured cells more than in the glia-poor cultured cells. In addition, larger dosages (2.0-10.0 mg/ml) of Toki, but not Senkyu and Tanjin, enhanced the GS activity in the glia-rich cultured cells. These results suggest that Toki and Senkyu help to prevent MSO-reduced GS activity, and that Toki is directly related to the enhancement of GS activity. These herbs might effect on glutamate-induced neuronal dysfunction.

Key words Toki, Senkyu, Tanjin, glutamine synthetase, glia cell, cultured cerebellar granule cell, methionine sulfoximine.

Abbreviations Gs, glutamine synthetase; Glu, glutamate; Gln, glutamine; Tanjin, *Salviae Miltiorrhizae*; Senkyu, *Ligustrazine*; Toki, *Angelicae Sinensis*; K-II, Krebs-HEPES buffer; MSO, methionine sulfoximine.

緒 言

生薬の中でも、丹参、川芎、当帰は、単味あるいは方剤で活血化瘀薬として、広汎に臨床応用されている。^{1,2)}

例えば、血瘀気滞、瘀血阻絡、血虚瘀結による中風失語（脳卒中）、半身不随、頭痛頭重、高血圧、三叉神経痛、目眩、健忘、老人痴呆、心煩動悸（更年期障害、不安神

経症）、腹部膨満（肝硬変）、胸悶脇痛（狭心症、肝脾腫大）、肢体疼痛（神経痛、リウマチ、血栓静脈炎）、小腹急結硬満（子宮内膜症、卵巣腫瘍、前立腺炎）、口唇暗紫（心不全）等の疾患に対する三種の生薬の治療効果の有効性は多くの報告³⁻⁶⁾からも明らかである。殊に、最近では中国本土において、これらの注射薬の適用が初めて可能となり、適用範囲が拡大した。例えば、脳卒中を起因とする脳代謝障害で生じる神経疾患や精神性疾患、あるいは

*〒160 東京都新宿区新宿6-1-1
6 1 1 Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan

は老人性痴呆症などの中枢神経系疾患の治療にも有効性が報告されている。^{9,8)}しかしながら、これら生薬の中枢薬理作用、殊に脳代謝障害改善に対する作用機序に関しては、未だ十分な神経薬理学的解明がなされていない。

近年、脳内低エネルギー状態発症時に神経間隙における興奮性アミノ酸、特にグルタミン酸 (Glu) が過剰となり、この過剰が神経障害を誘発する一因であることは明らかとなっている。^{9,11)}さらに、脳機能の恒常性を維持する機構として、神経間隙に放出された過剰な Glu の神経細胞のみならずグリア細胞への取り込み系が重要な役割を果たすことが指摘されている。^{12,13)}Glu はグリア細胞へ再取り込みされると、グリア細胞内に 95 % 以上の存在が認められているグルタミン (Gln) 合成酵素 (GS) によって Gln に代謝される。¹⁴⁾

GS 活性の上昇はアンモニアの解毒作用のみならず、Glu による神経毒性の抑制にも関与していることが報告されている。^{12,15)}ことから、GS 活性賦活あるいは保護作用を有する薬物は脳機能の恒常性維持、ひいては脳代謝障害抑制作用を有することが推測される。

本研究は、市販の注射製剤である丹参、川芎、当归の脳代謝改善作用における作用発現機序の一端を明らかにするため、GS に及ぼす影響を基盤として神経薬理学的に考究することを目的としている。そのため、共存するグリア細胞数の異なった培養神経細胞を用いて各種生薬の GS 活性に対する賦活あるいは保護作用について、1) GS 活性賦活作用を目的とした単独効果による影響、2) GS 活性保護作用を目的とした GS 阻害薬に対する抑制効果の比較から考究した。さらにこれらの結果から、三種の生薬による中枢薬理作用機序について考察した。

材料と方法

(1) 初期培養脳神経細胞の作成法：脳内アミノ酸動態の研究に適した初期培養脳神経細胞として既報¹⁶⁾と同様な操作で 8 日齢ラットから摘出した小脳顆粒細胞を用いた。なお、アミノ酸動態に重要な役割を果たすグリア細胞の存在を考慮して神経細胞数はほぼ同数であるがグリア細胞数の異なる二種の培養細胞系を、培養開始後 16 時間以内に cytosine arabinoside (Ara-C) を 10 μ M 添加 (グリア細胞の少量な群) あるいは無添加 (グリア細胞の豊富な群) の相違により作成した。グリア細胞数の定量は既報¹⁷⁾の如く flow cytometer を応用する方法で行った。

(2) 本研究で使用了生薬：再現性の高い結果を得るため、本研究で用いた生薬はすべて中国製の注射製剤を用いた。すなわち、丹参注射薬 (Injectio *Salviae*

Miltiorrhizae: 中国上海市新岡製薬会社) は、主成分が丹参素 [D(+)- β -(3,4-di-tangeril, phenyl) 乳酸] であり、¹⁸⁾川芎注射薬 (Injectio *Ligustrazini* HCl: 中国北京市第四製薬会社) は、主成分が川芎嗪 (tetramethyl pyrazine) であり、¹⁹⁾当归注射薬 (Injectio *Angelicae Sinensis*: 中国国营常熟製薬会社) は、主成分が阿魏酸 (ferulic acid) である²⁰⁾ものを用いた。いずれの注射薬も実験日に滅菌フィルター処理をした K-H 液で希釈し、実験に供した。

(3) Gln 合成酵素活性測定法：培養細胞中の Gln 合成酵素 (GS) 活性は、Petito *et al.*²¹⁾の方法に準拠して行った。すなわち、培養細胞を Krebs-HEPES (K H) 緩衝液 (NaCl 136 mM, glucose 10 mM, HEPES 20 mM, KCl 5 mM, MgCl₂ 1.3 mM, CaCl₂ 1.2 mM; pH 7.4) で 2 回洗浄後、生薬を添加して 30 分間 37°C でインキュベート後、上清液を吸引し 1 mM imidazole を加え 4°C で 30 分間のインキュベートを行った。細胞を粉砕後、1 ml の反応液 (240 mM Glu, 0.2 mM ATP, 20 mM Na₂HAsO₄, 100 mM Imidazole, 60 mM hydroxyl amine-HCl, 0.6 mM MnCl₂ 含有) を加えて 37°C で 1 時間反応させた。さらに、0.5 ml の反応停止液 (15 % FeCl₃, 25 % TCA in 2.5 N HCl) を加え、25 分間 37°C のインキュベートを行った。インキュベート後の試料は、5 分間 1,500 rpm の遠心分離後、含有する GS 活性を高感度比色計 (U-Test 30: 日本分光製) を用いて 500 nm の波長で定量し解析を行った。なお、酵素活性は 1 時間に 1 μ mol の glutamyl γ -hydroxamic acid の産生量を 1 unit (U) 基準値として求めた。

(4) 統計処理法：本研究によって得られた成績の統計的処理は、実験条件に従った二種類の検定法から解析した。多群間比較の場合は Scheff test を基盤とした ANOVA one-way 解析によって検定し、二群間比較の場合は F t test によって検定した。

結 果

1. グリア細胞数と GS 活性

共存するグリア細胞数が異なっている培養 7 日目 (7 DIV) の小脳顆粒細胞における GS の性質を Line-Weaver-Burke 法から Km 値および Bmax を計測して比較した結果を Fig. 1 に示した。Km 値はグリア細胞数に拘らず両群共、ほぼ同数であったが、Bmax はグリア細胞数の豊富な群の方が 2 倍以上高い値であった。

Fig. 2 と Fig. 3 には培養日数の増加に伴うグリア細胞数の増量 (Fig. 2) と GS 活性の変動 (Fig. 3) を示した。培養 2 週間までは細胞数ならびに GS 活性、いずれにお

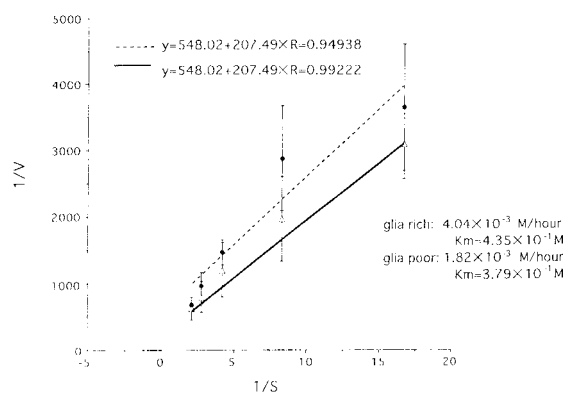


Fig. 1 Properties of glutamine synthetase in the cultured cerebellar granule cells.

● : 1/V (A: Ara C non treatment), ▲ : 1/V (+A: Ara C treatment)
Each value shows the mean $\pm$ S.D. of 4 experiments.

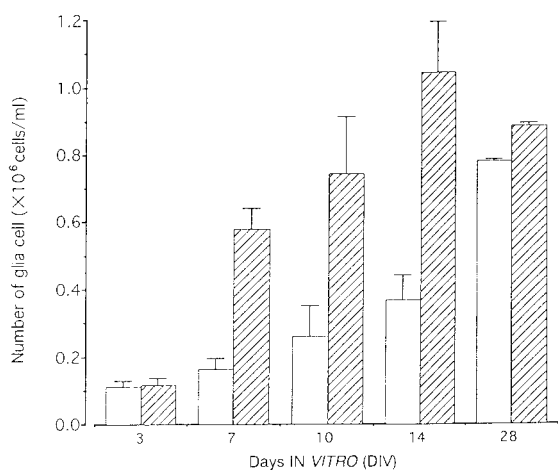


Fig. 2 Developmental population of glia cells in cerebellar granule cell cultures at 3,7,10,14 and 28 days *in vitro*.

□ : Ara C treated cell ; glia poor (mean $\pm$ S.D.)
▨ : Ara C non-treated cell ; glia rich (mean $\pm$ S.D.)
Each value shows the mean $\pm$ S.D. of 6-7 experiments.

いても培養日数に伴った増加が認められ、培養2週間以上ではAra C添加群においてグリア細胞の増殖が生じ細胞数ならびにGS活性はいずれも両群間に差が認められなくなった。

以上の成績を基盤として、本研究はグリア細胞数とGS活性のいずれも成長過程にある培養7日目および両方の増殖程度がほぼ最大値を示している培養14日目の細胞を用いることとした。

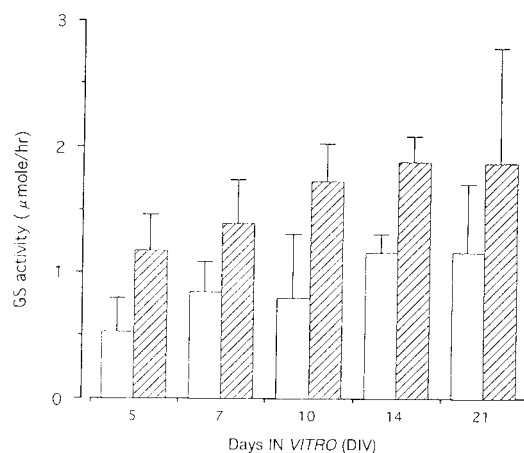


Fig. 3 Changes in Gln synthetase activity during the development of cerebellar granule cell cultures.

□ : glia poor (mean $\pm$ S.D.), ▨ : glia rich (mean $\pm$ S.D.)
Each value shows the mean $\pm$ S.D. of 7-11 experiments.

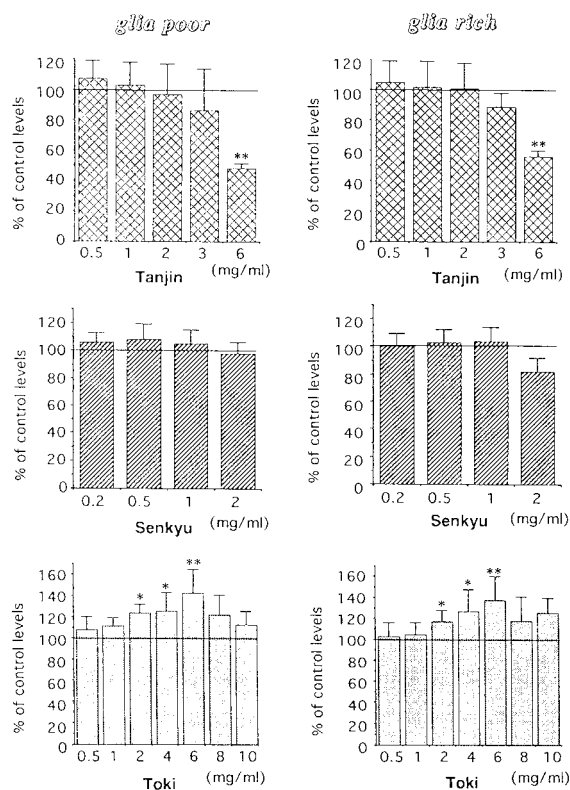


Fig. 4 Effects of single administration of Tanjin, Senkyu and Toki on GS activities (7 DIV).

The control value of GS in glia rich and glia poor cell is $1.11 \pm 0.26 \mu\text{M/hr}$ and $0.60 \pm 0.11 \mu\text{M/hr}$, respectively.

Each value shows the mean $\pm$ S.D. of 6-8 experiments.

*Significant differences from the 0.5 mg/ml treatment group; *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

2. GS 活性賦活作用の検索

三種類の生薬の培養7日目の小脳顆粒細胞におけるGS活性におよぼす影響を検索した (Fig. 4)。

それぞれの生薬を0.2 mg/ml から10 mg/ml の範囲で適用した。丹参および川芎はいずれの濃度においてもGS活性に著明な変動は認められず、むしろ、2.0 mg/ml 以上の濃度ではGS活性の減少が確認された。しかしながら、当帰は2 mg/ml 以上の濃度から濃度依存性にGS活性を上昇させ、6 mg/ml で最大反応が認められた。さらに、6 mg/ml 以上の濃度では薬理効果は減衰することが判明した。

研究成績は示していないが、14日目の細胞群のGS活性に対する各生薬の効果は7日目の細胞群で得られた結果とほぼ同様であったが、当帰の効果は統計的な有意差はないが14日目の方が強いものであった。

付記するに、いずれの群においても生薬の薬理効果は共存するグリア細胞数の相違に影響されなかった。

3. GS 阻害薬の薬理効果

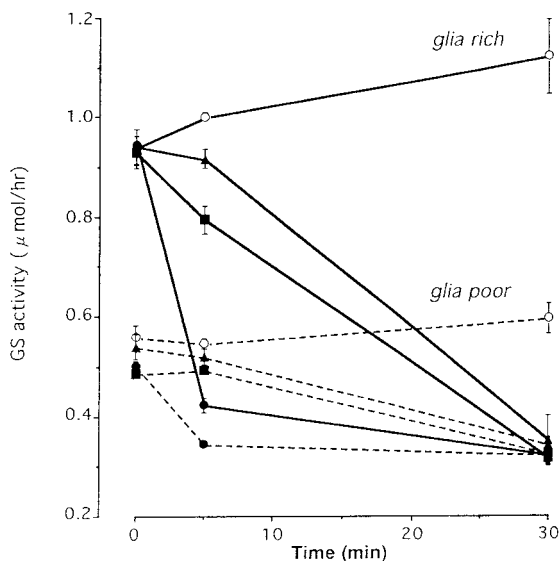


Fig. 5 Effects of methionine sulfoximine (MSO) on glutamine synthetase activity in glia poor and rich cell.

glia rich
 —○—: control
 —▲—: 5 μ M MSO
 —■—: 50 μ M MSO
 —●—: 500 μ M MSO
 glia poor
 - -○- - : control
 - -▲- - : 5 μ M MSO
 - -■- - : 50 μ M MSO
 - -●- - : 500 μ M MSO
 The control value of GS is;
 0 min: $0.56 \pm 0.09 \mu\text{M/hr}$ (glia poor) $0.91 \pm 0.10 \mu\text{M/hr}$ (glia rich)
 5 min: $0.59 \pm 0.11 \mu\text{M/hr}$ (glia poor) $1.09 \pm 0.13 \mu\text{M/hr}$ (glia rich)
 30 min: $0.64 \pm 0.18 \mu\text{M/hr}$ (glia poor) $1.12 \pm 0.23 \mu\text{M/hr}$ (glia rich)
 Each value shows the mean $\pm$ S.D. of 4-5 experiments.

GS活性の阻害薬である methionine sulfoximine (MSO) の初期培養小脳顆粒細胞に存在するGSに対する阻害効果を検索した結果を Fig. 5 に示す (Fig. 5)。

5, 50, 500 μ M のMSOを培養細胞に適用後のGS活性の経時的変動をグリア細胞の豊富な群と少量の群の両群で測定した。5分間のインキュベートでは、いずれの細胞群においてもMSO適用前の活性と比較して統計的に有意な差を有する用量依存性の阻害効果が確認された。しかしながら、30分間のインキュベートではいずれの用量においても、ほぼ同程度の強いGS活性阻害作用が認められ、実測値は測定限度まで低下した。

以上の成績から、GS活性に対する阻害作用が比較的緩和なMSOの濃度である5 μ Mを薬理学的マーカーとして以下の実験に供した。

4. 各種生薬のGS保護作用

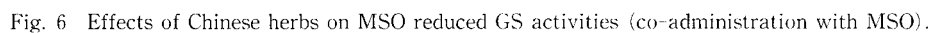
培養7日目の細胞に本研究で用いた三種の生薬を5 μ MのMSOと同時に適用して、30分間インキュベートした後のGS活性に及ぼす影響を調べた (Fig. 6)。

MSOのGS活性に対する阻害効果はグリア細胞の少量の群で約47%であり、グリア細胞の豊富な群で約38%であった。この阻害に対して、単独ではGS活性に影響を及ぼさない用量の丹参、川芎、当帰を併用した群ではいずれの濃度においてもGS活性は無処置群と比較して60-90%のGS活性の抑制傾向が認められ、しかも、グリア細胞の少量群では川芎の0.2 mg/ml、グリア細胞の豊富な群では当帰の0.2 mg/ml処置群で統計的に有意なMSOのGS活性阻害に対する抑制効果が観察された (Fig. 6)。

次に、各生薬をMSO適用の30分前に処置した時のMSOのGS活性阻害効果に対する抑制作用を培養7および14日目のグリア細胞が豊富な群と少量な群とを用いて比較検索した。

丹参の0.5, 1.0および2.0 mg/mlを30分の前処置後、30分間MSOを同時適用した時のGS活性の変動を測定した (Fig. 7)。グリア細胞の少量な群での丹参の効果は、培養7日目ではいずれの用量もMSOによるGS活性阻害効果に対する抑制作用は認められなかった。培養14日目の細胞群では丹参の低用量群で抑制傾向は認められたが統計的に有意な差ではなかった。グリア細胞の豊富な群では、いずれの培養日数の細胞群においても、統計的有意差は認められないものの丹参のMSO誘発GS阻害に対する弱い抑制効果が認められた。

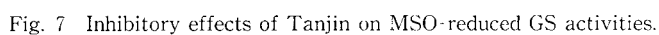
川芎の0.1, 0.2, 0.5および1.0 mg/ml前処置群において、グリア細胞の少量群では7日目の細胞群でMSOのGS活性阻害に対する抑制傾向が計測された (Fig. 8)。14日目の細胞群では統計的に有意な抑制作用がいずれの用



The control value of GS in glia rich and glia poor cell is $0.62 \pm 0.12 \mu\text{M/hr}$ and $1.13 \pm 0.21 \mu\text{M/hr}$, respectively.

Each value shows the mean $\pm$ S.D. of 3 experiments.

*Significant difference from MSO alone : * $p < 0.05$ (F value: 3.01).



7 DIV : $0.69 \pm 0.21 \mu\text{M/hr}$ (glia poor) $1.27 \pm 0.27 \mu\text{M/hr}$ (glia rich)
14DIV : $0.92 \pm 0.22 \mu\text{M/hr}$ (glia poor) $1.87 \pm 0.30 \mu\text{M/hr}$ (glia rich)

Each value shows the mean $\pm$ S.D. of 4 experiments.

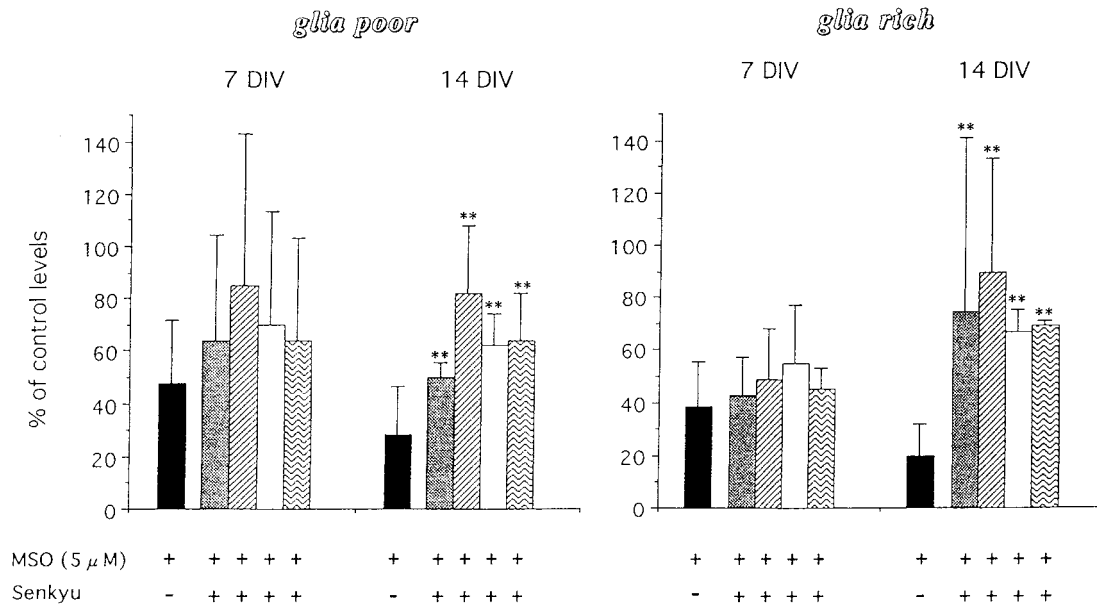


Fig. 8 Inhibitory effects of Senkyu on MSO-reduced GS activities.

(diagonal lines) : 0.1 mg/ml (cross-hatched) : 0.2 mg/ml (white) : 0.5 mg/ml (wavy) : 1.0 mg/ml

The control value of GS is;

7 DIV : $0.69 \pm 0.21 \mu\text{M/hr}$ (glia poor) $1.27 \pm 0.27 \mu\text{M/hr}$ (glia rich)

14 DIV : $0.92 \pm 0.22 \mu\text{M/hr}$ (glia poor) $1.87 \pm 0.30 \mu\text{M/hr}$ (glia rich)

Each value shows the mean $\pm$ S.D. of 6-11 experiments.

*Significant difference from MSO alone: ** $p < 0.01$ (F value: 4.02).

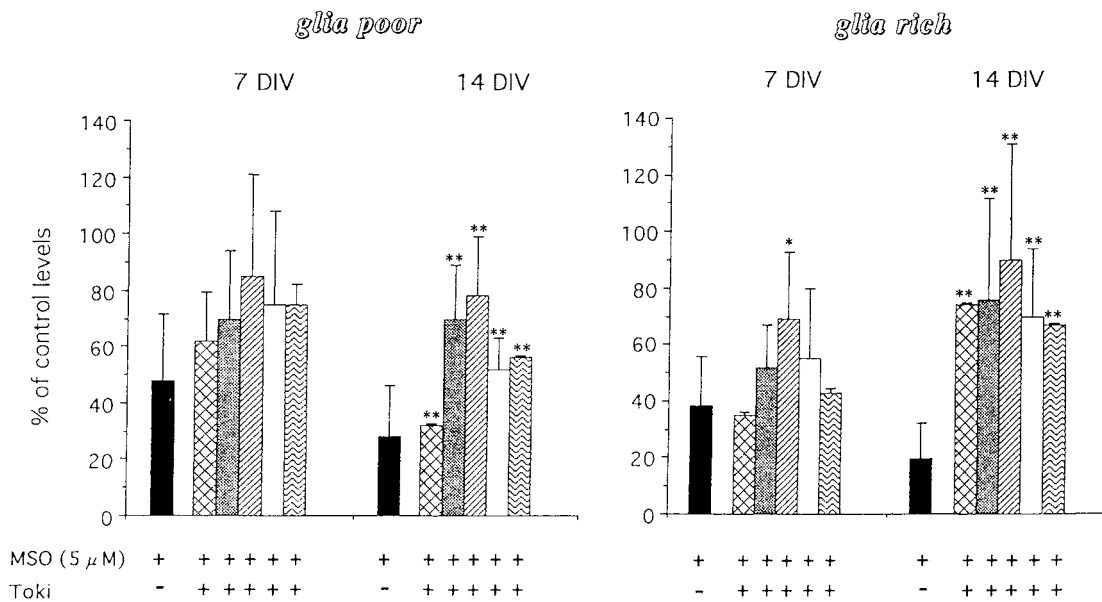


Fig. 9 Inhibitory effects of Toki on MSO-reduced GS activities.

(cross-hatched) : 0.05 mg/ml (diagonal lines) : 0.1 mg/ml (diagonal lines) : 0.2 mg/ml (white) : 0.5 mg/ml (wavy) : 1.0 mg/ml

The control value of GS is;

7 DIV : $0.69 \pm 0.21 \mu\text{M/hr}$ (glia poor) $1.27 \pm 0.27 \mu\text{M/hr}$ (glia rich)

14 DIV : $0.92 \pm 0.22 \mu\text{M/hr}$ (glia poor) $1.87 \pm 0.30 \mu\text{M/hr}$ (glia rich)

Each value shows the mean $\pm$ S.D. of 6-8 experiments.

*Significant difference from MSO alone: * $p < 0.05$ (F value: 2.77), ** $p < 0.01$ (F value: 3.70).

量においても認められた。グリア細胞の豊富な群では、14日目の細胞群で川芎の著明な抑制効果が0.1 mg/ml以上の適用量で認められた (Fig. 8)。すなわち、MSOのGS活性阻害に対する川芎の抑制効果は培養日数によって異なっていた。

当帰の0.05, 0.1, 0.2, 0.5 および 1.0 mg/ml 前処置群において、グリア細胞の少量な群でのMSO阻害作用に対して、培養7日目の細胞では抑制傾向が確認され、14日目の細胞群では統計的に有意な差が認められた (Fig. 9)。さらに、グリア細胞の豊富な群では7ならびに14日目の細胞群で、いずれも0.05 mg/ml から 1.0 mg/ml の用量範囲で著明な抑制効果が認められた (Fig. 9)。

以上の成績から、生薬のMSO誘発GS活性阻害に対する抑制効果はMSO適用前の処置が有効であり、しかも、グリア細胞が多数存在する細胞でより強い抑制作用が認められた。抑制作用の程度を比較すると、三種の生薬の中で当帰がもっとも強い作用を有していた。

考 察

脳内に存在するグリア細胞は神経細胞に対して従属的ではなく、むしろ協調的に脳機能の向上性を維持する重要な役割を果たしていることが最近の知見から次第に明らかとなってきている。^{13, 22)} GSは、その大半がグリア細胞、殊に星状膠細胞に存在してエネルギー代謝調節、解毒作用、ならびにGluの主要代謝酵素として役割を果たしている。^{23, 24)} これらのことから、本酵素の活性を調節する薬物は脳機能維持に影響を及ぼし脳代謝賦活薬としての可能性が考えられる。

本研究は、グリア細胞数と最大酵素活性との量的比較では有意な差は認められるが、Km値を対照とした質的比較では、ほぼ同程度のGS活性を有する二種類の培養細胞を用いた (Fig. 1, 2 および 3)。

生薬のGS活性賦活作用

本研究成績から、丹参、川芎、当帰のうち当帰がGS活性を亢進させ、しかも、グリア細胞の多少に拘らず亢進作用を示した。さらに、GS活性亢進の絶対量はグリア細胞の豊富な群の方が少量群よりも高い値ではあったが、増加率に関しては両群間に有意な差は認められなかった (Fig. 4)。一方、丹参、川芎は増量と共にGS活性は減少した。これらの結果から、当帰はGS活性賦活作用を有することが示唆された。

GS活性の賦活機序としては、以下の三点が挙げられる。すなわち、1)細胞内情報系の中でもmRNAを介する酵素誘導、2)グリア細胞の増殖、3)細胞内のATP/glucose量の亢進のいずれかによってGS活性は増強さ

れる。^{15, 23, 25, 26)}

従来までの報告から、GS活性賦活作用を有する薬物としてhydrocortisoneあるいはinterleukin-4 (IL-4) などのステロイド類やサイトカイン類が明らかにされている。^{26, 27)}

hydrocortisoneのGS賦活作用の機序として、核のglucocorticoid受容体を介したGS mRNA量の増加が考えられている。しかしながら、この亢進作用は薬物投与後少なくとも48時間以上を経てから出現する。²⁶⁾

さらに、IL-4の作用機序に関しては、グリア細胞の増殖を惹起することによってhydrocortisoneとほぼ同様な作用様式を有すると考えられており作用発現も24時間以降から生じることが報告されている。²⁷⁾

一方、本研究成績から当帰のGS活性亢進作用の発現時間は37°Cでインキュベート後60分で発現することが判明した (Fig. 4)。すなわち、当帰のGS活性賦活作用の機序はhydrocortisoneおよびIL-4とは異なっていることが示唆された。さらに、当帰の処置によって、グリア細胞数の豊富な群と少量の群とではGS活性の増加率は同数であったが、絶対値ではグリア細胞数に依存していた。しかしながら、細胞総数ならびに総蛋白質量の著明な変動は認められなかった (私信)。

生薬のGS保護作用

本研究の目的の一つである生薬のGS保護作用の有無についてGSの阻害薬に対する三種の生薬の拮抗作用を指標として検索した (Fig. 5, 6 および 7)。

MSOは競合的に、しかも非可逆的にGSのSulphydryl基に結合してGS活性を阻害するとされている。本研究成績においても一定量のGS存在下では用量依存的に阻害することが明らかとなった (Fig. 5)。さらに、MSOの少量 (5 μ M) 適用群においても30分間のインキュベートにおいて多量 (500 μ M) 適用群と同程度の阻害効果が確認された (Fig. 5)。

三種の生薬によるMSOのGS阻害作用に対する抑制効果は、生薬をMSOと同時に適用した群よりも30分前に適用した群でより顕著な抑制が認められた (Fig. 6, 7, 8 および 9)。さらに、これらの抑制作用は単独ではGS活性に影響を及ぼさない用量で発現した。MSOのGS活性阻害に対する抑制効果の効力を比較すると当帰>川芎>>丹参であり、且つ、グリア細胞の豊富な群で、これらの効果がより明らかとなっていた (Fig. 7, 8 および 9)。

生薬のMSOに対する拮抗作用の機序として、1)MSOの結合部位に対する直接的な作用、2)GSを賦活させることによる間接的な作用と大別され得る。

本成績から、いずれも薬理効果の程度に差は認められ

るが用量依存的な抑制が確認された。しかしながら、競合的な拮抗様式ではないことから、直接作用と考察するには困難な点がある。

本研究から得られた成績、あるいは従来の成績²⁵⁾を加味して考察すると三種の生薬、殊に当帰、あるいは、川芎はGSのエネルギー源でもある細胞内ATP/glucoseを増量することによって薬理効果が発現するものと考えられる。

生薬の作用機序、殊に、中枢神経系における作用発現機序を明確にすることは、生薬自体が持つ多くの不特定要素を加味すると容易ではない。しかしながら、本研究成績は、和漢薬のGS活性賦活あるいは保護作用がグリア細胞の共存によって薬理効果が亢まることを示唆したものである。和漢薬の中枢作用を検索するに際し、神経細胞とグリア細胞との相関性を考慮にいれた研究^{29, 30)}の必要性も今後の課題と考えたい。

謝 辞

研究に御協力頂いた矢嶋誓子、郭珍両女史に深謝します。

本研究の一部は、財団法人羽田天然物化学研究会の援助で行われました。

References

- 1) Yin, J. and Guo, L.-G.: Modern Clinical and Pre-clinical Research of Traditional Chinese Medicine. Xiue-Yuan-Chu-Ban She, Bei Jin, pp.109-118 (Chuan Xiong), pp.171-188 (Dan Shen), pp.285-298 (Dang Gui), 1994.
陰健、郭力編；中薬現代研究と臨床応用 I. 学苑出版社、北京、pp.109-118 (川芎)、pp.171-188 (丹参)、pp.285-298 (当帰)、1994。
- 2) Dictionary of Traditional Chinese Medicine 3, Shang-Hai Ke Xue-Ji Shu Chu Ban-She, Shogakukan Inc., Tokyo, pp.1494-1497 (Chuan Xiong), pp.1729-1733 (Dan-Shen), pp.1887-1891 (Dang Gui), 1985.
中薬大辞典 3. 上海科学技术出版社、小学館編、東京、pp.1494-1497 (川芎)、pp.1728-1733 (丹参)、pp.1887-1891 (当帰)、1985。
- 3) Tanaka, M.: Congestion in China: its conception, cause and disease, symptoms and diagnosis, drug and prescription. *Clinical Journal of Traditional Chinese Medicine* **11**, 21-35, 1982.
- 4) Xu, J.-M.: Pharmacutical research and application of Chuan Xiong. *Journal of Chinese Materia Medica* **11**(1), 37-38, 1989.
許金明：川芎薬理実験研究及应用。中成薬雑誌 **11**(1), 37-38, 1989。
- 5) Gao, Q.-M.: Research on Tang-Gui related to its pharmaceutical and Gui-jing effects. *Journal of Chinese Medicinal Research* **5**, 32-35, 1985.
高其銘：当帰の薬理研究と其婦経功効関係の探討。中成薬研究雑誌 **5**, 32-35, 1985。
- 6) Chen, W. Z.: Pharmacological mechanism of Dan-Shen. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **19**(11), 876-880, 1984.
陳維洲：丹参の薬理。薬学学報 **19**(11), 876-880, 1984。
- 7) Xiao, J.: Newly development of the pharmaceutical research on Chuan Xiong-Qin. *Western Chinese Journal of Pharmaceutical Sciences* **3**, 170-172, 1993.
肖静：川芎薬理研究の新進展。華西薬学雑誌 **3**, 170-172, 1993。
- 8) Gu, X.-M. and Chen, J.-H.: Review of treatment for senile dementia by the traditional Chinese medicine. *New Journal of Traditional Chinese Medicine* **9**, 49-51, 1991.
占献民、陳建華：老年呆病の中医治療概述。新中医 **9**, 49-51, 1991。
- 9) Enveniste, H. Drejer, J., Shousboe, A. and Diemer, N.M.: Elevation of the extra-cellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *Journal of Neurochemistry* **43**, 1369-1374, 1984.
- 10) Rothman, S.M. and Olney, J.W.: Glutamate and pathophysiology of hypoxic-ischemia brain damage. *Annual Neurology* **19**, 105-111, 1986.
- 11) Hayashi, Y., Watanabe, Y. and Shibuya, T.: Relation between long lasting amount of excitatory amino acids and its neuronal uptake system in cultured cerebellar granule cells under hypoglycemia. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry* **17**, 463-474, 1993.
- 12) Cooper, A.J.L., McDonald, J.M., Gelbard, A.S., Gledhill, R.F. and Duffy, T.E.: The metabolic fate of ¹⁵N-labeled ammonia in rat brain. *Journal of Biological Chemistry* **254**, 4982-4992, 1979.
- 13) LoPachin, R.M. Jr. and Aschner, M.: Glial neuronal interactions: Relevance to neurotoxic mechanisms. *Toxicology and Applied Pharmacology* **118**, 141-158, 1993.
- 14) Erecinska, M.S. and Ian, A.: Metabolism and role of glutamate in mammalian brain. *Progress in Neurobiology* **35**, 245-296, 1990.
- 15) Sher, P.K. and Hu, S.: Increased glutamate uptake and glutamine synthetase activity in neuronal cell culture surviving chronic hypoxia. *Glia* **3**, 350-357, 1990.
- 16) Zhang, X. Q., Watanabe, Y., Ohnishi, M., Baba, T. and Shibuya, T.: Comparative studies on the inhibitory effects of calcium antagonists on cytosolic Ca²⁺ levels increased by high-potassium or glutamate in cultured rat cerebellar granule cells. *Japanese Journal of Pharmacology* **62**, 411-414, 1993.
- 17) Watanabe, Y., Endo, T., Zhang, X. Q., Masuda, M., Hasegawa, K. and Shibuya, T.: A newly developed method for quantal measurement of glia cells in cultured neuronal cells using a flow cytometer. *NEUROSCIENCES* **17**, 261-269, 1991.
- 18) He, H. B., Qin, Z. L., Zhang, D.-C. and Jin, J.-Q.: Paper chromatography: the quantity of DAN-SHEN-SU in Saliva miltiorrhiza injection by ultra violet spectrophotometry. *Journal of Drug Analysis* **4**(4), 212-214, 1984.
何怀水、秦芝玲、張徳成、金吉琴：紙層析一紫外分光光度法測定丹参注射剂中丹参素含量。藥物分析雑誌 **4**(4), 212-214, 1984。
- 19) Liu, X. P., Huang, C. J. and Zhang, Y.-J.: Study on the control of quality of the Chuan Xiong injection. *Western Chinese Journal of Pharmaceutical Sciences* **4**, 248-250, 1989.
劉小平、黃朝建、張耀軍：川芎注射液の質量控制方法研究。華西薬学雑誌 **4**, 248-250, 1989。
- 20) Zeng, Q. H., Wang, L. X., Zhang, B. C. and Wang, M.-A.: Thin layer scanning of ferulic acid in Angelica Sinensis injection. *Journal of Chinese Medicinal Research* **3**, 7-8 1986.
曾慶煌、王蘭霞、張伯崇、王明安：当帰靜脈注射液に阿魏酸の薄層掃描測定。中成薬研究 **3**, 7-8, 1986。
- 21) Petito, C.K., Chung, M.C., Verhovsky, L.M. and Coper, A.J.L.: Brain glutamine synthetase increases following ischemia in the rat. *Brain Research* **569**, 275-280, 1992.
- 22) Barres, B.A.: New roles for glia. *Journal of Neuroscience* **11**, 3685-

- 3694, 1991.
- 23) Berl, S. : Glutamine synthetase : Determination of its distribution in brain during development. *Biochemistry* **5**, 916-922, 1965.
- 24) Rothstein, J.D. and Tabakoff, B. : Glial and neuronal glutamate transport following glutamine synthetase inhibition. *Biochemical Pharmacology* **34**, 73-79, 1985.
- 25) Benjamin, A.M. : Influence of Na^+ , K^+ and Ca^{2+} on glutamine synthesis and distribution in rat brain cortex slices : A possible linkage of glutamine synthetase with cerebral transport processes and energetics in the astrocytes. *Journal of Neurochemistry* **48**, 1152-1164, 1987.
- 26) Samuels, H.H., Klein, D., Stanley, F. and Casanova, J. : Evidence for thyroid hormone-dependent and independent glucocorticoid action in cultured cells. *Journal of Biological Chemistry* **253**, 5895-5898, 1978.
- 27) Brodie, C. and Goldreich, N. : Interleukin 4 modulates the proliferation and differentiation of glial cells. *Journal of Neuroimmunology* **55**, 91-97, 1994.
- 28) Kollegger, H., McBean, G.J. and Tipton, K.F. : The inhibition of glutamine synthetase in rat corpus striatum in vitro by methionine sulfoximine the neurotoxic effects of kainate and N-methyl D-aspartate. *Neuroscience Letters* **130**, 95-98, 1991.
- 29) Haruki, Y. : Pharmacological and Clinical effects of Angelicae Radix. *Gendai-Toyo-Igaku* (The Journal of Traditional Sino Japanese Medicine) **13**, 102-109, 1992.
- 30) Masui, Y. and Osawa, N. : Central pharmacological effects of Chinese medicines with a view of cytokines. *JAMA* (Japanese March), 16-17, 1994.