

【研究メモ】

肝機能保護効果と脳細胞活性化の因果関係の考察 — 2

謝心範¹⁾、山本理²⁾、原田雅義³⁾、詹華強⁴⁾、許勵⁵⁾、劉韻樂⁴⁾、段然⁴⁾

1) 武蔵野学院大学大学院, 2) 漢方養生研究所, 3) 東明会原田病院, 4) The Hong Kong University of Science and Technology, 5) Harvard University

Relationships between the Protection of the Hepatic Function and Activation of Brain Cells -2-

Shinhan Sha, Ph.D., Msaru Yamamoto, Ph.D., Masayoshi, Harada, M.D.
Karl Wah-Keung Tsim, Ph.D., Miranda Li Xu, Ph.D., Etta Yun-Le Liu, Ph.D.,
Ran Duan, M.B.A.

序論

認知症患者の増加により、本人はもとより、家族、地域、社会、国家の非建設的な負担の増大が世界的問題になっている。現在、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤のドネペジルやNMDA受容体チャンネル阻害剤のメマンチンがあるが、これらには副作用としてQT延長や心室頻拍などの循環器系への影響、食欲不振、嘔気、嘔吐、下痢などの消化器症状、めまい、頭痛や医薬品に多く見られる肝機能障害が報告されている。このように医薬品では副作用が無く効果が高く信頼できる物質が見つかっていない。厚生労働省老健局認知症施策推進室の「高齢者の認知症患者数と有病率の将来推計」によると65歳以上では、2012年は認知症患者数が462万人で65歳以上の高齢者の7人に1人（有病率15.0%）、2025年年には約700万人、5人に1人になると見込まれている¹⁾。

我々は漢方薬「抑肝散」が神経症、うつ病、不眠症、幼児夜泣きなどの適用で使用され、神経疾患に対する有効性、認知症に対する可能性も報告されていることに注目した^{2,3,4)}。更に、肝機能や腎機能の保護が脳の活動に大きく影響するという古くからの報告にも注目し、抑肝散の脳に対する効果があるのは偶然なのかということに疑問を持った。抑肝散以外で更に、肝機能を確実に調整し養護効果があれば、脳の機能改善、その関連の症状が確実に改善できると言える。このような観点で我々は研究を行い、肝機能改善に効果のある漢方養生食品が神経突起伸長作用や、シナプス蛋白の発現に対し効果があることを報告した⁵⁾。今回の検討では、認知症の原因と関連するアミロイドβの凝集に注目し、肝機能改善に効果のある田七、杜仲を含む漢方養生食品の認知症予防や治療につながる可能性を検討した。

【抑肝散の脳細胞に対する効果】

抑肝散はそもそも脳に対する治療薬ではなく肝臓に対する治療薬であるが小児夜泣き、成人では神経症や不眠症などの精神神経症状に処方されている。肝臓と脳の関係として中国では“腦気

不足治在肝”（脳の気が足りなければ、治療は肝から）という報告もある⁶。抑肝散の脳細胞に対する効果としては、アルツハイマー病の進行性細胞変性に関して、病因物質のアミロイド β (Aβ) が誘発する神経細胞死を抑肝散が抑制したという報告があるが、そのメカニズムおよび活性成分の詳細はまだエビデンスが少ない^{7,8,9,10}。岩崎らは、マウスを使った実験により、これら作用が抑肝散の構成生薬のうちどれに由来するかを検討した。その結果、抑肝散を構成する7種の生薬のうち 認知症の周辺症状(BPSD) に対しては釣藤鈎の5-HT_{2A}受容体を介した作用が、また、中核症状に対しては当帰のアセチルコリン (ACh) 神経系を介した作用がその役割を担っている可能性を報告している¹¹。

<抑肝散の成分>

- 蒼朮 (ソウジュツ)
- 茯苓 (ブクリョウ)
- 川芎 (センキュウ)
- 釣藤鈎 (チョウトウコウ)
- 当帰 (トウキ)
- 柴胡 (サイコ)
- 甘草 (カンゾウ)

【これまでの知見】

田七及び杜仲を含む漢方養生食品のYHKはニューロフィラメントの発現、及び神経細胞の神経突起の伸長を含む神経細胞の分化・成長に有意な効果を示した。従って認知症もしくはその心理症状、又は神経変性疾患の予防もしくは治療に優れた効果を有することが期待されると考えた¹²。また、田七、杜仲を含む漢方養生食品YHK, DTSではC型肝炎、B型肝炎、脂肪肝、アルコール性肝炎、肝硬変、など肝機能異常者の肝機能回復効果を確認している^{13,14,15,16}。

【今回の検討－1】

田七及び杜仲を含む漢方養生食品、養生片仔癯(YHK)、養脳力(BW)を用い以下の評価を行った。

1. 細胞生存率：MTTアッセイ*を用いて漢方養生食品抽出物の安全濃度域の決定
2. アミロイド β (Aβ) 凝集塊生成に対する評価：Aβ1-42 ペプチドを用い、チオフラビンを加え蛍光強度を測定

MTTアッセイ：MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide] の試薬は、生きている細胞中のミトコンドリアにより開裂し（死細胞とは反応しない）、暗青色のホルマザン (Formazan) を生成する。このホルマザンの生成量は生きている細胞数と相関しているため細胞生存率の評価に使用される。

IL-6: インターロイキン-6

TNFα: 腫瘍壊死因子

tBHP : tert-butyl hydroperoxide, 酸化ストレス誘導剤

【結果】

1. MTTアッセイ：

YHK, BWの抽出物が0-5mg/mLで細胞増殖や細胞死を有意に引き起こさないことが確認できた。この結果, 以降の試験に用いるYHK, BWの濃度を低: 0.1, 中: 0.5, 高: 5mg/mLと設定した(図1)。

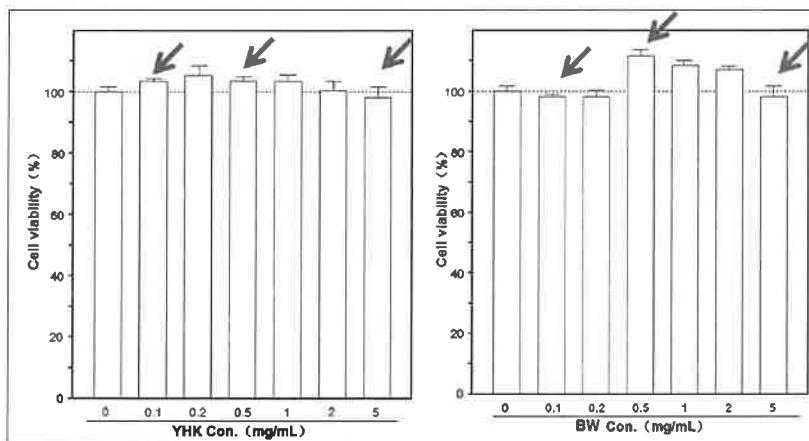


図1：PC12細胞における細胞生存率とYHK, BW抽出物の影響

2-1. アミロイドβ凝集塊生成に対する評価

田七抽出物は細胞毒性のない濃度(5mg/mL)でアミロイドβ(10uM)の凝集塊生成をコントロール群に比べ、YHKが100%が68%に(32%改善)、BWが100%が60%へと40%改善した。凝集塊生成を促進する4-HNE存在下ではコントロール群に比べそれぞれ120%が74%に(38%改善)、120%が72%へと40%凝集を改善した(図2)。

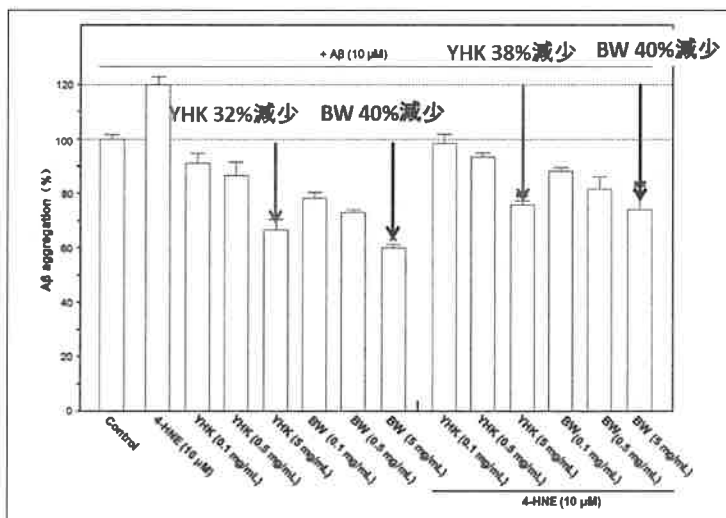


図2：アミロイドβ凝集塊生成に対するYHK, BW抽出物の効果

2-2. アミロイドβの凝集塊生成後に対するYHK, BWの凝集塊解離効果

コントロールに比べYHK (5mg/mL) で22%、BW (5mg/mL) で30%の改善率であった。

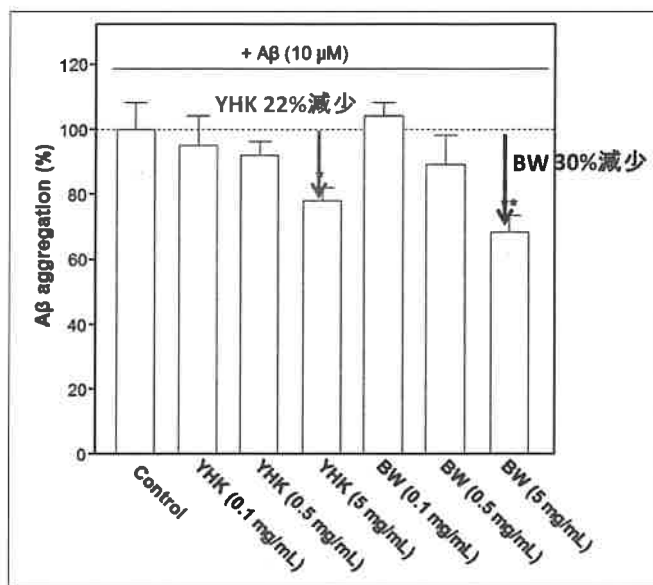


図3：アミロイドβの凝集塊生成後に対するYHK, BWの凝集塊解離効果

【今回の検討-2】

認知症の診断がついていない協力者5名が、田七及び杜仲を含む漢方養生食品養脳力(BW)を服用し一般的な血液生化学検査の結果を服用前後で比較した。協力者の平均年齢は67.6歳、前後の比較は平均値を取りt-testにより有意差があるかを検証した。肝機能に関する検査項目の結果を表1に示す。

M/F	Age	Before			BW intake Mo	After		
		AST U/L	ALT U/L	g-GTP U/L		AST U/L	ALT U/L	g-GTP U/L
M	69	22	18	31	7	22	17	33
M	89	32	35	70	5	21	21	51
F	80	25	19		4	27	17	26
F	49	20	19	19	8	23	20	57
F	51	21	47	82	2.5	22	27	70
Avg	67.6	24	27.6	50.5	5.3	23	20.4	47.4
p		0.693	0.291	0.864				

AST：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ

ALT：アラニンアミノトランスフェラーゼ

g-GTP：ガンマグルトamilトランスペプチダーゼ

表1. 養脳力摂取による血液生化学検査のうち肝臓機能に係わる検査値

【結果】

摂取量は一人1日あたり1gから3gとばらつきがあり、服用期間も2.5-8か月であった。肝機能に関する検査項目では服用前後での比較では有意差はみられず異常値は観察されなかった。また、その他の検査項目に関しても異常値は観察されず、服用者にも副作用が見られなかった。今後更に症例数を増やし確認する必要がある。

【結論】

自然由来の田七及び杜仲を含む漢方養生食品の養生片仔癆（YHK）及び養脳力（BrainWell）はアミロイドβの凝集塊生成を阻害、または生成した凝集塊を乖離させる効果を有した。更に認知症の診断の付いていないBrainWellの服用者の血液検査値は異常所見が見られなかった。このように肝機能改善に効果のある田七、杜仲を含む漢方養生食品の認知症もしくはその心理症状、又は神経変性疾患（アルツハイマー病など）の予防や治療に優れた効果を有することが期待される。

参考資料

- 1 厚生労働省、認知症の人の将来推計について、
<https://www.mhlw.go.jp/content/000524702.pdf>、(2019年10月22日アクセス)
- 2 堀口 淳、抑肝散の臨床応用-統合失調症、パーソナリティ障害、ジスキネジアなど-、神経雑誌 708-718, 2012.
- 3 第61回日本東洋医学会学術総会、抑肝散の応用、日東医誌 KampoMed 62,3,479-508,2011.
- 4 岩崎 克典 他、抑肝散の認知症に対する治療効果の行動薬理学的実証、日薬理誌 140, 66-70, 2012.
- 5 2017年代替医療学会、金沢、石川
- 6 钱鏡湖 《辨証奇聞》 清 道光三年 (1823)
- 7 漢方方剤「抑肝散」によるアルツハイマー病BPSD*軽減効果の検証-プラセボ対照無作為化臨床第II相比較試験、東北大学加齢医学研究所- (2013年終了、結果未公表、臨床試験登録システム UMIN Clinical Trials Registry (UMIN-CTR) より)
- 8 菅野 仁美、抑肝散のベータアミロイドオリゴマー誘発神経細胞死抑制作用に関する研究、北里大学学位論文 (2015年)
- 9 水上 勝義、認知症の治療とケアの最前線 ~アルツハイマー病と漢方薬、脳神経外科と漢方 2015 ; 1 : 1-6.
- 10 鈴木 達也ら、認知症の周辺症状 (BPSD) への対応、日医大医会誌 2010; 6 (3) 135-139
- 11 岩崎克典ら、抑肝散の認知症に対する治療効果の行動薬理学的実証、日薬理誌 (Folia Pharmacol. Jpn.) 140, 66~70 (2012)
- 12 第20回日本補完代替医療学会学術集会
- 13 Catanzaro R, Celep G, Illuzzi N, Milazzo M, Rastmanesh R, Yaduvanshi SK, He F, Trushin M, Sapienza C, Srivastava N, Marotta F. Rejuvenation Anti-inflammatory and anti-mutagenic effect of the YHK phyto compound in hepatocytes: in view of an age-management liver-protecting approach. Res. 2014 Apr;17(2):168-71.
- 14 Chande N, Laidlaw M, Adams P, Marotta P., Yo Jyo Hen Shi Ko (YHK) improves transaminases in nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a randomized pilot study. Dig Dis Sci.

2006 Jul;51(7):1183-9.

15 Marotta F, Harada M, Goh K, Lorenzetti A, Gelosa F, Minelli E. Phytotherapeutic compound YHK exerts an inhibitory effect on early stage of experimentally-induced neoplastic liver lesions. *Ann Hepatol.* 2006 Oct-Dec;5(4):268-72.

16 Marotta F, Harada M, Goh KL, Lorenzetti A, Marandola P, Minelli E. In vitro study on the mechanisms of action of a novel phytotherapeutic compound against human hepatoma cells. *Ann Hepatol.* 2007 Apr-Jun;6(2):111-6.