

## 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 - 3

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 Protection of the Hepatic Function and Activation of the Brain Cells -3-

Shinhan Sha, Ph.D., Masaru 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.

## はじめに

これまで我々は、肝機能や腎機能改善効果のある漢方薬に注目してきた。田七、杜仲を含む漢方養生食品養生養生片仔癆 (YHK), 田七杜仲精 (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<sup>1, 2, 3, 4</sup>。

肝臓に対する治療薬である抑肝散は肝機能改善以外でも神経症、うつ病、不眠症、幼児夜泣きなどで処方され、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<sup>5, 6, 7</sup>。このように我々は肝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注目し、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ている。これまでに田七、杜仲を含む肝機能改善効果のある漢方養生食品が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有したことを報告した<sup>8, 9, 10</sup>。

今回の検討では、認知症の原因と関連するアミロイド β (Aβ) の凝集塊に対する漢方養生食品の影響と、その抗炎症作用及び抗酸化作用について検討した。

## 【生成したアミロイド β の凝集塊に対する YHK, 養脳力 (BW) の凝集塊解離効果】

Aβ ペプチド 1-42 を 37 °C で 6 日間培養し凝集塊を生成させた後、YHK 及び BW をそれぞれ 0.1、0.5、5 mg/mL の濃度で共培養し、生成した凝集塊の減少率を経時的に測定した。我々はこれまで、一旦生成した Aβ の凝集塊に対する YHK, 及び BW の凝集塊解離効果が、コントロールに比べ有意差を持って減少し、YHK (5mg/mL) で 22%, BW (5mg/mL) で 30% の減少率であることを報告した<sup>10</sup>。今回の試験では、YHK, 及び BW の濃度が 0.1、0.5 mg/mL では一旦生成した凝集塊の有意な乖離は観察されなかったが、YHK, BW が 5 mg/mL の抽出物との共培養では、一日後から凝集塊は有意な減少を示し、三日後に最高値となった (図 1)。

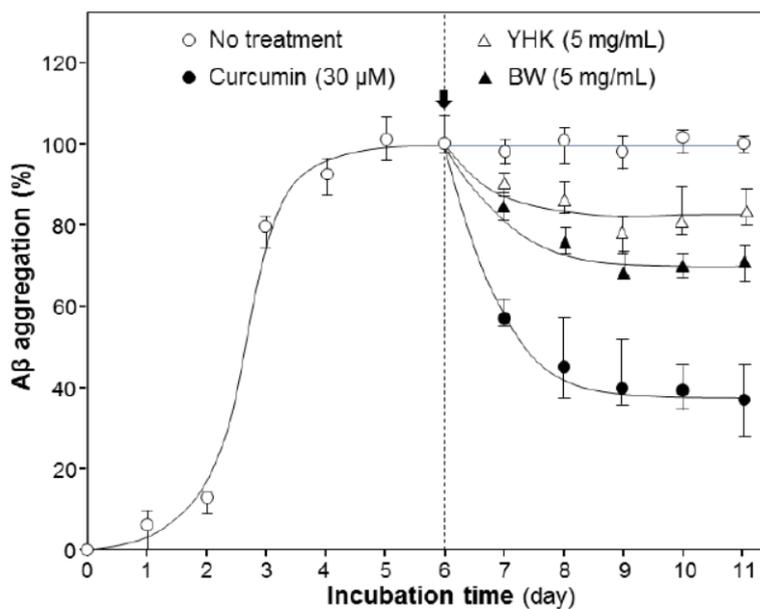


図1：アミロイドβの凝集塊生成後におけるYHK, BWの凝集塊解離効果の経時変化

#### 【YHK, 及びBWの抗炎症作用に対する検討】

次にYHK, 及びBWの抽出物が0 - 5mg/mLにおいてRAW264.7細胞を使用し細胞増殖や細胞死を有意に引き起こさない濃度を検討した。その結果、YHK, 及びBWの抽出物が5mg/dLを超えない範囲では統計的に有意な差が見られなかった。

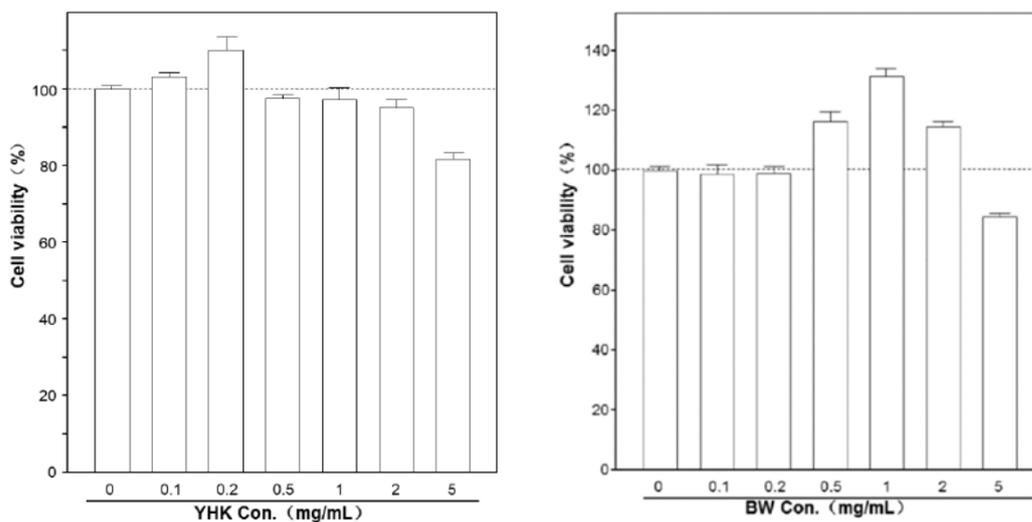


図2：YHK, 及びBWの濃度の違いによるRAW264.7細胞への影響

次にYHK, BWの作用機作を考察する目的で炎症性サイトカインIL-6とTNF-α mRNAの発現を確認した。

リポポリサッカライド(LPS)およびエタノールにより RAW264.7 細胞を 24 時間炎症惹起し、炎症性サイトカイン IL-6 mRNA と TNF- $\alpha$  mRNA の遺伝子発現を観察した。その結果、LPS とエタノールの両方による惹起において YHK 2 mg/mL にのみ IL-6 mRNA と TNF- $\alpha$  mRNA の遺伝子発現の有意な減少が見られた。それ以外の濃度では LPS 単独、或いは LPS とエタノールの両方による惹起の何れでも、IL-6 mRNA と TNF- $\alpha$  mRNA の遺伝子発現は有意な減少は見られなかった ( 図 3、 4 )。

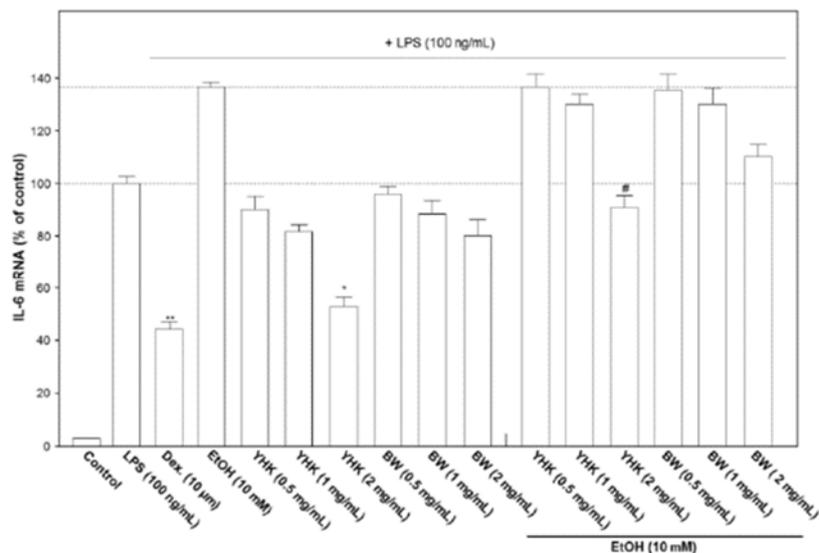


図 3 . YHK と BW の LPS とエタノール惹起による IL-6 mRNA の発現

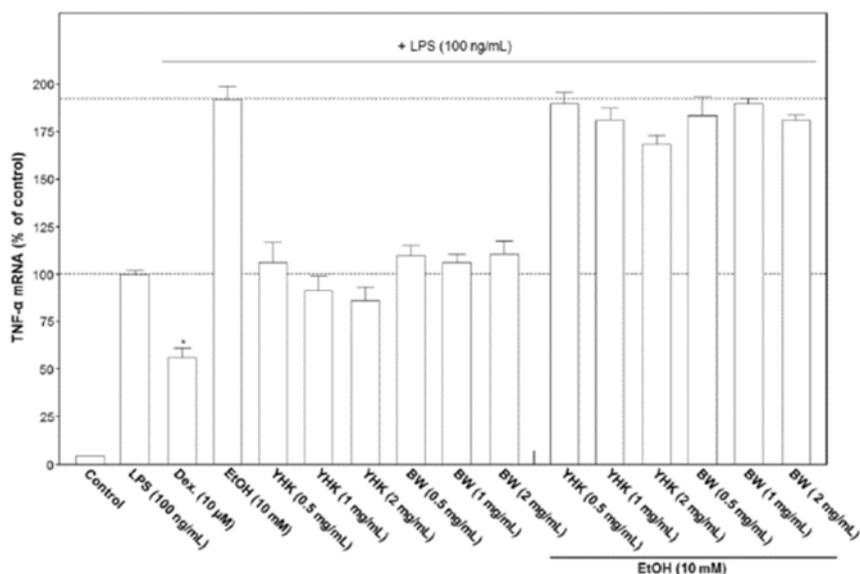


図 4 . YHK と BW の LPS とエタノール惹起による TNF- $\alpha$  mRNA の発現

#### 【YHK, BWの抗酸化作用に対する検討】

PC12 cells 細胞を YHK、 BW それぞれの濃度 (0.1 mg/mL, 0.3 mg/mL, 1 mg/mL, 3 mg/mL) と共培養し、その後酸化剤である tert-butyl hydroperoxide (tBHP) (150  $\mu$ M) を加え更に 3 時間培養し、YHK と BW の抗酸化力 (還元性) を確認した。比較のために

還元性物質であるビタミン C も比較した。その結果統計学的有意差は付かなかったが、BW より YHK が用量依存的に抗酸化力を示す傾向が見られた。ビタミン C では細胞生存率が 25%から 58%に上昇したが、YHK 3 mg/mL では 25%から 84%まで回復した ( 図 5 )。

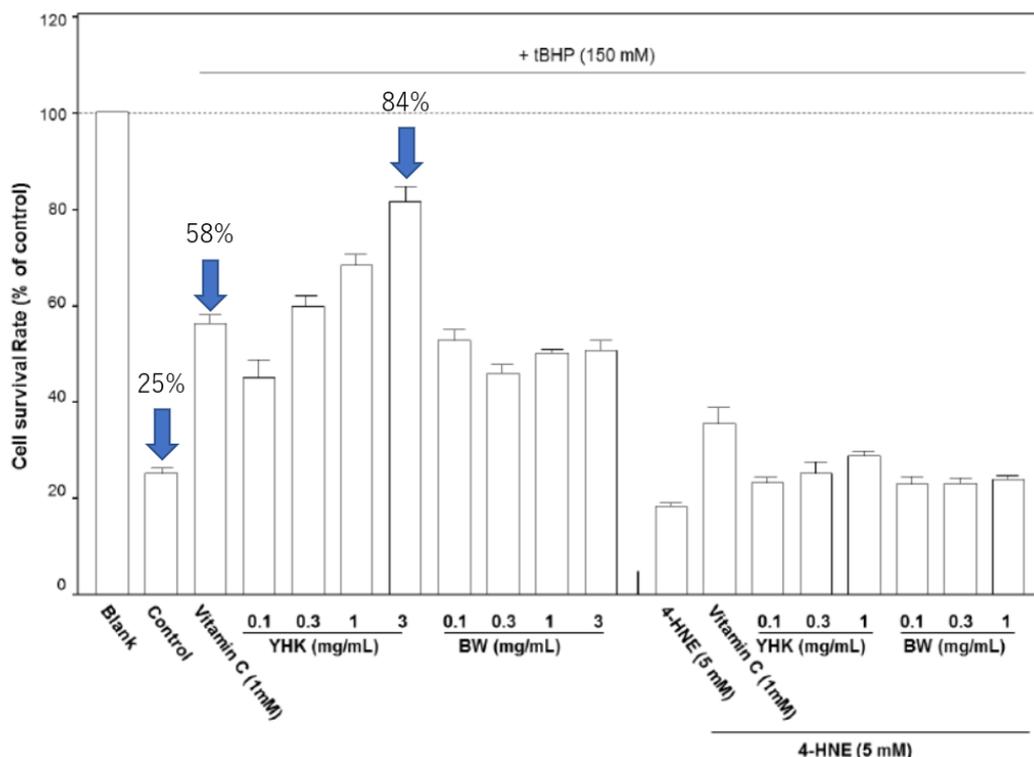


図 5 . PC12 のtBHPによる酸化作用に対する YHK、BWの抗酸化作用

## おわりに

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(BW) 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、抗炎症作用や抗酸化作用を持つことが明らかになった。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神経変性疾患 (アルツハイマー病など) の予防や治療効果を求め、最適摂取量の検討や、効果を増強する成分の添加など更に研究が必要である。

## 参考資料

- 1 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.
- 2 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.
- 3 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.

- 
- <sup>4</sup> 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.
- <sup>5</sup> 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.
- <sup>6</sup> 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.
- <sup>7</sup> 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.
- <sup>8</sup> 2017 年代替医療学会、金沢、石川
- <sup>9</sup> 2020 年代替医療学会、金沢、石川
- <sup>10</sup> 2020 年武蔵野学院大学大学院研究紀要 第 13 輯)