

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06724

研究課題名(和文) 認知症の「陰性」周辺症状に対する漢方薬の有用性に関する基礎研究

研究課題名(英文) Study on effectiveness of Kampo medicines for "negative" surrounding symptoms of dementia

研究代表者

小池 一男 (KOIKE, Kazuo)

東邦大学・薬学部・教授

研究者番号：30130363

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：認知症は記憶障害や見当識障害などの中核症状を示す一方、周辺症状として幻覚、妄想、抑うつ、せん妄、興奮、不安、徘徊、攻撃的言動など多彩な行動・心理症状(Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia: BPSD)が認められる。本研究は、スコポラミン誘発記憶障害モデルマウスにおける五苓散の記憶障害改善作用およびBPSDに対する効果について検討した。また、体内の酸化ストレス亢進が認知症の発症を促進することから、医療用漢方製剤のin vitroおよびin vivo抗酸化作用の評価を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現代社会は急速な高齢化を迎え、認知症患者数は増加の一途を辿っている。認知症は記憶障害や見当識障害などの中核症状の他に幻覚、抑うつ、興奮などの周辺症状を伴う。これらの症状は認知症患者の生活の質を著しく低下させることから、有効的な治療法の開発は社会的要請といえる。そこで本研究は、漢方薬の認知症の中核症状および周辺症状に対する有用性を基礎科学的観点から明らかにすることで、認知症の発症予防および治療に対する新たな知見を示せたと考える。

研究成果の概要(英文)：Dementia presents core feature such as memory disorder and disorientation. On the other hand, various behavioral and psychological symptoms (Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia: BPSD) such as hallucination, delusion, depression, delirium, excitation, anxiety, wandering, and aggressive behavior are observed in patients. In present study, we investigated the effect of Goreisan on improving memory disorder and BPSD in scopolamine-induced memory impairment model mice. In addition, since the increase in oxidative stress in the body promotes the onset of dementia, the in vitro and in vivo antioxidant activities of 147 oral formulations of Japanese traditional herbal medicines were evaluated.

研究分野：漢方薬学

キーワード：認知症 BPSD 漢方薬 抗酸化 駆お血剤

1. 研究開始当初の背景

現代社会は急速な高齢化を迎え、認知症患者数は増加の一途を辿っている。厚生労働省は2025年の認知症の有病者数は約700万人になると予測した。認知症は記憶障害や見当識障害などの中核症状を示す一方、周辺症状として幻覚、妄想、抑うつ、せん妄、興奮、不安、徘徊、攻撃的言動など多彩な行動・心理症状 (Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia: BPSD) が認められる。認知症のほとんどは未だに根治することができない。そこで、中核症状の進行を遅らせるために、アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害薬や NMDA 受容体拮抗薬が投与される。一方、BPSD には抗精神病薬や抗うつ薬といった対症療法が行われるが、錐体外路症状や転倒など副作用の出現により、認知症の多数を占める高齢者には継続的に投与することが困難である。さらに、中軽度の BPSD 症状にはこれら抗精神病薬や抗うつ薬の有効性はみられない場合も多い。認知症患者の生活の質を著しく低下させる BPSD に対する有効的な治療法の開発は社会的要請ともいえる。

このような抗精神病薬や抗うつ薬では対処しがたい認知症の BPSD に対して、臨床では漢方薬がファーストチョイスとなる場合が多い。特に、BPSD の中でも攻撃性やいらいらなどの「陽性」症状に対しては抑肝散が有効とされており、臨床では多用されている。即ち、認知症における陽性 BPSD は漢方医学では「肝気鬱滞」の病態として捉え、抑肝散が処方される。更に、認知症の陽性 BPSD に対する有効性は基礎研究において、脳内セロトニン神経系の機能低下の改善および神経細胞外グルタミン酸濃度の上昇抑制による神経細胞の保護作用によるものであることが解明されている。臨床研究においても、ランダム化クロスオーバー試験により有効性が証明され、臨床応用の拡大に拍車をかけている。

一方、抑うつ症状や不安などの陰性 BPSD を呈す認知症患者は全体の 40~50%にものぼる。治療には抗うつ薬の選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) が用いられるが、はっきりとした臨床有効性が認められておらず、明確な治療法に欠如している。陰性 BPSD に対して、漢方医学では「気滞」や「気虚」といった病態として捉えることが多く、半夏厚朴湯、柴胡桂枝乾姜湯、補中益気湯、加味帰脾湯などが処方される。しかし、その臨床応用は一部の漢方専門医師に限られている。これは、これら漢方薬が陰性 BPSD に有効であることを証明する基礎科学的なデータがないことが一番大きな理由として挙げられる。そこで本研究においては、漢方薬の BPSD における有用性をどのように基礎科学的アプローチから明らかにするかに着目した。

2. 研究の目的

高齢化社会に伴う認知症患者が急速に増加する一方で、根本的な認知症の治療法はない。また、認知症患者の生活の質を著しく低下する BPSD に対する有効な臨床対処法の確立も急務となっている。そこで本研究は、妄想、徘徊、不安、焦燥、うつ状態、せん妄、暴力行為といった認知症の BPSD に着目して、漢方薬の有用性を基礎科学的なアプローチにより明らかにすることを研究目的とした。

3. 研究の方法

本研究は認知症の BPSD における漢方薬の有用性を基礎科学的に明らかにすることを研究目的として、以下の研究項目を実施した。

(1) 認知症モデルマウスの作製

漢方薬の認知症に対する有用性を検討するために、ICR 系雄マウスにスコポラミンを腹腔内投与することで、急性認知症モデルとして広く利用されているスコポラミン誘発記憶障害マウスを作製した。

(2) アルツハイマー型認知症モデルマウスにおける漢方薬の認知機能改善作用および BPSD に対する作用の検討

作製した認知症モデルマウスについて、漢方薬の認知機能改善作用を検討するために、Y 字迷路試験および新奇物質探索試験における認知機能の低下を評価した。また、漢方薬の BPSD に対する作用を解析するために、強制水泳試験およびオープンフィールド試験における認知症モデルマウスの行動異常を評価した。ポジティブコントロールとしては、中枢作用性コリンエステラーゼ阻害薬であるタクリンを使用した。

(3) 抗酸化活性を指標とした認知症 BPSD 改善作用を有する漢方薬のスクリーニング評価

医療用漢方製剤について、DPPH ラジカル補足活性試験 (DPPH 法)、スーパーオキシドアニオンラジカル補足活性試験 (SOD 法) および活性酸素吸収能試験 (AAPH 法) を用いて *in vitro* 抗酸化活性評価を行った。

In vivo 抗酸化活性は、ICR 系雄マウスに漢方製剤を経口投与し、マウス血清を使用した BAP (血清抗酸化力) テストにより評価した。さらに、BALB/c 雌マウスへの低用量エストロゲン・プロゲステロン配合剤 (LEP 製剤) の腹腔内投与によって誘導された酸化ストレスモデルを使用して、駆瘀血剤の *in vivo* 抗酸化活性評価を行った。

4. 研究成果

(1) アルツハイマー型認知症モデルマウスにおける記憶障害および行動異常の評価

認知症モデルマウスとして、急性認知症モデルのスコポラミン誘発記憶障害マウスを選択し、薬剤の投与量の検討を行った。マウスの記憶障害はY字迷路試験により評価した。実験は5日間を1クールとして行い、漢方薬を投与することを考慮して1~4日目に水を経口投与し、5日目には生理食塩水またはスコポラミン(1.0 mg/kg または 2.0 mg/kg)を腹腔内投与した。薬剤投与30分後にY字迷路試験を行い、交代行動率を求めることにより記憶障害を評価した。その結果、スコポラミンを2.0 mg/kg投与したマウスは生理食塩水を投与したコントロール群と比較して有意に交代行動率が低下したことから、スコポラミンの投与により記憶力の低下したアルツハイマー型認知症モデルマウスの作製ができたと考えられる。

また、ポジティブコントロールの検討を行うために、中枢性コリンエステラーゼ阻害薬であるタクリン投与による記憶障害の改善作用を評価した。上記と同様の方法で、1~4日目にタクリン(20 mg/kg)の経口投与を行い、5日目にスコポラミン2.0 mg/kgを投与し、Y字迷路試験を行った。コントロール群に比べて、スコポラミン投与群は有意に交代行動率が低下したが、タクリン投与群では交代行動率の低下は見られなかった。このことから、タクリンはスコポラミンによって誘発した記憶障害を改善する作用があることが確認できた。

さらに長期記憶障害を検討するために新奇物質探索試験、行動異常を評価するために強制水泳試験およびオープンフィールド試験を行った。その結果、スコポラミンの投与により、新奇物質探索試験において探索割合増加率の有意な減少がみられ、長期記憶障害が確認された。また、スコポラミン投与はコントロール群に比べて、強制水泳試験における不動時間の顕著な短縮およびオープンフィールド試験における自発運動量の有意な増加が観察されたことにより、スコポラミン投与により興奮様作用がみられたと考える。

(2) アルツハイマー型認知症モデルマウスにおける五苓散の作用の検討

五苓散は臨床現場において、脳浮腫や慢性硬膜下血腫も対して利尿剤として利用されている。一方、アクアポリンとは細胞膜に存在する膜たんぱく質で、水分子の動きや細胞接着、細胞遊走促進などを担っている。ほ乳類において、アクアポリンはAQP0からAQP12までの13のサブユニットが存在する。中でも特にAQP4は脳に多く存在し、脳神経疾患に関与することが示唆されている。近年の研究では、五苓散がAQP3、4および5の活性を有意に抑制することが明らかにされた。そこで、脳神経外科領域に対する有効性が注目されている五苓散の認知症における記憶障害およびBPSDに対する効果について検討した。

スコポラミン誘発記憶障害モデルマウスにおいて、五苓散は用量依存的にY字迷路試験および新奇物質探索試験における認知機能の低下を有意に改善した。また、オープンフィールド試験ではスコポラミンによる自発運動量の増加(興奮)を抑制したことに加え、強制水泳試験では、スコポラミン単独投与群よりもさらに無動時間(うつ状態)を短縮させた。このことから、五苓散は急性認知症モデルにおけるBPSDの陰性症状および陽性症状の両方を改善する可能性が示唆された。五苓散の作用機序を検討するために*in vitro*測定系を用いた五苓散のアセチルコリンエステラーゼ(AchE)阻害作用について測定を行った。その結果、五苓散は有意なAchE阻害作用を示さなかった。このことから、五苓散のBPSDに対する改善効果はAchE阻害作用に依存しない機序もしくは生体内での代謝物による作用であることが示唆された。

(3) 医療用漢方製剤の*in vitro*および*in vivo*抗酸化作用の検討

体内の酸化ストレスの亢進は認知症の発症を促進することが知られている。そこで、外用剤1種を除いた計147種の内服用医療用漢方製剤について、DPPH法、SOD法およびAAPH法により抗酸化活性を評価した結果、通導散、大柴胡湯および麻子仁丸が最も強力な*in vitro*抗酸化活性を示した。*In vitro*抗酸化活性評価にて高い活性を示した3剤について、さらにマウスにおける*in vivo*抗酸化活性をBAPテストによって評価した結果、通導散投与群はポジティブコントロールとして用いたアスコルビン酸とともに、Vehicle群に比べ有意なBAP値の上昇が観察された。通導散は駆瘀血剤として知られる漢方薬であり、駆瘀血作用を有する漢方薬は高い抗酸化活性を示すことが示唆されたことから、駆瘀血剤の抗酸化作用を詳細に解析した。その結果、通導散とともに実証に用いる駆瘀血剤である桃核承気湯が強い抗酸化活性を示し、構成生薬の中のダイオウおよびオウゴンが最も抗酸化活性に寄与していることを明らかにした。

漢方医学において、血液の循環障害を示す瘀血は認知症の発症に関わるとされている。そこで、*in vivo*における代表的な駆瘀血剤である桂枝茯苓丸の抗酸化作用について検討を行った。正常マウスにおいて、桂枝茯苓丸の投与により生体の酸化ストレス指標であるd-ROMsが減少傾向となった。

本研究により、近年脳神経外科領域で使用頻度が増加している五苓散が急性認知症モデルマウスにおいて、記憶障害改善作用を示し、BPSDの陰性症状および陽性症状の両方を改善する可能性が示唆された。また、医療用漢方製剤の抗酸化活性評価により、駆瘀血作用を有する漢方薬は高い抗酸化活性を示すことを明らかにした。駆瘀血剤は抗酸化および駆瘀血作用の相乗効果により認知症の発症予防および進展防止に貢献する可能性が示唆された。今後は、これら漢方製剤の詳細な作用機序、活性成分および生体内における代謝物の解析を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sato Naoko, Li Wei, Takemoto Hiroaki, Takeuchi Mio, Nakamura Ai, Tokura Emi, Akahane Chie, Ueno Kanako, Komatsu Kana, Kuriyama Noriko, Onoda Toshihisa, Higai Koji, Koike Kazuo	4. 巻 73
2. 論文標題 Comprehensive evaluation of antioxidant effects of Japanese Kampo medicines led to identification of Tsudosan formulation as a potent antioxidant agent	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 163～172
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11418-018-1259-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Asako Okamura, Kouharu Otsuki, Haruka Wada, Reiko Yokosawa, Eriko Nakadai, Kana Sekiguchi, Wei Li, Kazuo Koike	4. 巻 99
2. 論文標題 Effects of Oral Administration of Low Dose Estrogen-Progestin on Mice and Combined Effect of Kampo Medicine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 応用薬理	6. 最初と最後の頁 89-98
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 李巍
2. 発表標題 Lessons from Nature: Innovation of Traditional Medicines
3. 学会等名 日中医薬健康領域ハイレベル研究フォーラム（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹元裕明、中村愛、徳倉絵美、佐藤直子、李巍、小池一男
2. 発表標題 医療用漢方製剤のin vivo抗酸化作用
3. 学会等名 日本生薬学会第65年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹元裕明、東福真理菜、堀内まなみ、旗理英、佐藤直子、李巍、小池一男
2. 発表標題 通導散及びその構成生薬の抗酸化活性の検討
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	李 巍 (LI Wei) (90328633)	東邦大学・薬学部・准教授 (32661)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------