九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

天然物由来であるcoumarinの肝障害リスク評価およびnutmegの抗うつ様作用に関する研究

岩田，直大

https://hdl.handle.net/2324/1806974

出版情報：九州大学，2016，博士（臨床薬学），課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

天然物由来である coumarin の肝障害リスク評価および nutmeg の抗うつ様作用に関する研究

（分野名）臨床育薬学分野　（学籍番号）3PS13022M　（氏名）岩田直大

【序論】

西洋医学の発展は様々な疾患における治療法の開発に大きく貢献してきた一方で、生活習慣やストレスなどの要因によって引き起こる疾患については必ずしも克服できていない。現在西洋医学に基づく医療だけではなく、全人的なヘルスケア視点に基づいた補完代替医療（complementary and alternative medicine; CAM）が普及し始めている。CAM の領域は各国独自の伝統医学から天然物療法、アロマセラピー、指圧など広く存在するが、経験に基づく療法や生物を用いるものが多く、科学的根拠は不足しているという問題点が挙げられる。本研究では、日本伝統医療である漢方薬の適正使用評価および天然物による予防医学の観点に着目した。

桂皮（cinnamon bark）は香辛料に使用され、古くから生薬としてのぼせなどに用いられている。シナモンに含まれる coumarin には肝毒性が知られており、欧州においては安全性を担保するため耐容 1 日摂取量（TDI）0.1 mg/kg/day が設定されている。これまで食品に含まれるシナモンによる肝障害のリスク評価はされている一方で、桂皮含有漢方薬による肝障害は評価されていない。また、桂皮含有漢方薬に含まれるクマリン含有量も明らかでない。桂皮含有漢方薬中のクマリンによる肝障害のリスクを評価するため、漢方外来において桂皮含有漢方薬を服用している患者のクマリン 1 日摂取量を評価した。

うつ病は世界保健機構により「個人や社会に負荷を与える疾患」の第 3 位とされている。また自殺既遂者の 90%が精神障害を持ち、さらにその 60%が抑うつ状態であったと報告されている。そのためうつ病は効果的な治療に加えて、その予防が求められている。Nutmeg は古くから香辛料のほか生薬として健胃などの目的で用いられてきた。近年、nutmeg は中枢神経系に影響を与えることが知られ、抗うつ様作用についても報告されている。一方、過量摂取による中毒や成分中に発がん性物質を含む報告がある。しかし、nutmeg の抗うつ様作用に関して、有効性と安全性を合わせて評価した報告はなく、その作用機序も詳細には明らかとなっていない。今回、健康補助食品としての nutmeg のうつ様状態の改善に及ぼす効果と安全性について検討した。

【方法】

<u>漢方薬由来 coumarin の肝障害リスク評価</u>

2008 年から 2013 年の間に桂皮含有漢方薬である桂枝茯苓丸加薏苡仁（TJ-125）が処方さ

れた患者 129 名（男 18 名、女 111 名、年齢平均 58 歳）を対象とし、併用された桂皮含有漢方薬と肝障害発生状況肝機能値をレトロスペクティブに調査した。肝障害評価には有害事象共通用語規準（CTCAE）v4.0 を用いて、肝機能検査値におけるグレードの異常変動を評価した。高速液体クロマトグラフィーにて TJ-125 および併用漢方薬の coumarin 含有量を定量し、1 日総摂取量を算出して coumarin 1 日総摂取量と肝障害発現性を調査した。

Nutmeg の抗うつ様作用および安全性の評価

ICR 雄性マウス（6 週齢）を自由摂食・自由飲水条件下で 7 日間環境順応した後、以下の試験を行った。抗うつ様作用の評価に関して、Tail suspension test（TST）および Open field test （OFT）を行った。ICR 雄性マウスに nutmeg n-hexane extract（NNE; 5, 10 mg/kg, p.o.）および desipramine（15 mg/kg, p.o.）を 3 日間連日経口投与した。TST では 3 日目の投与 60 分後に、高さ 33cm の装置からマウスの尾を固定して吊るし、6 分間の無動時間を測定した。マウスの無動状態はうつ様症状と考えられ、無動時間の減少を抗うつ様作用として評価した。WAY100635（0.1 mg/kg, s.c., 5-HT_{1A} 受容体拮抗薬）、ketanserin（1 mg/kg, i.p., 5-$HT_{2A/2C}$ 受容体拮抗薬）、ondansetron（1 mg/kg, i.p., 5-HT_3 受容体拮抗薬）および yohimbine（1 mg/kg, i.p., α_2 受容体拮抗薬）は NNE 投与 30 分後に投与した。OFT では投与開始前および 3 日目の投与後 30、 60、 120 分に open field 装置（直径 60 cm、 19 区画）にマウスを放ち、1 分間の区画移動数を測定し、自発運動量を評価した。安全性の評価に関して、急性経口毒性試験および変異原性試験を行った。急性経口毒性試験は OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 423（2002）に準拠して行った。ICR 雄性マウスに NNE 2000 mg/kg 単回経口投与後、マウスの死亡や行動変容等の異常について 2 週間観察した。変異原性試験についてはプレインキュベーション法により S9mix 添加/非添加状況において Ames 試験を行った。Nutmeg powder の最高濃度を 3000 μg/plate とし、公比約 3 の濃度で実施した。菌株はネズミチフス菌 TA98、TA100 を用い、陰性対象として DMSO、陽性対象として、2-アミノアントラセン（2AA）、2-ニトロフルオレン（2NF）、4-ニトロキノリン 1-オキシド（4NQO）を用いた。

【結果】

漢方薬由来 coumarin の肝障害リスク評価

対象患者は TJ-125 に加えて、桂皮含有漢方製剤 32 種および煎じ薬 22 種が使用されていた。添付文書に記載された 1 日服用量あたりで比較した結果、漢方製剤 33 種の中では TJ-125 が最も高かった（5.63 mg）。煎じ桂皮は TJ-125 の 1 日服用量に含まれる桂皮量と同じ 4g において coumarin 含有量は 12.1 mg であった。TJ-125 および併用漢方薬を含めた患者の coumarin 1 日摂取量の中央値は 0.113 mg/kg/day（0.049 - 0.541 mg/kg/day）であり、98 名（76.0%）は TDI を超えていた。23 名に肝機能検査値の異常変動がみられたが、TDI 以上摂取群と

TDI 未満摂取群で発現率に差が見られなかった（Table）。個々の症例においても肝機能検査値の異常変動の要因が桂皮によるものと考えられるものは見られなかった。

Table.　漢方薬由来 coumarin 1 日摂取量と肝障害発生状況

	TDI 未満群 (n = 31)		TDI 以上群 (n = 98)		*P* value
性別					
男性, n（%）	5	(16.1)	13	(13.3)	0.767
女性, n（%）	26	(83.9)	85	(86.7)	
年齢（歳）	56	(27 - 78)	59	(21 - 91)	0.362
体重（kg）	64	(43 - 88.7)	53.4	(38 - 84.8)	< 0.0001*
TJ-125 投与期間（日）	147	(21 - 869)	152.5	(14 - 1404)	0.639
Coumarin 1 日摂取（mg/kg/day）	0.086	(0.049 - 0.099)	0.124	(0.101 - 0.541)	< 0.0001*
肝機能検査値の異常変動発生, n (%)	6	(19.4)	17	(17.3)	0.792

数値は median（range）で示す。性別、肝機能検査値の異常変動発は fisher's exact test を、その他は wilcoxon rank sum test を用いて検定を行った。* $P < 0.05$ は TDI 未満群と TDI 以上群の比較を示す。

Nutmeg の抗うつ様作用および安全性の評価

TST および OFT において、NNE 10 mg/kg では desipramine と同様に自発運動量には影響を与えず、無動時間の有意な減少がみられた。一方で ketanserin、ondansetron、yohimbine との併用により、nutmeg による抗うつ様作用は減弱し、WAY100635 との併用では抗うつ様作用の減弱傾向がみられた（Figure）。急性経口毒性試験では、2 週間の観察中に死亡はみられず、control 群と比較してマウスの行動変容および体重の変化もみられなかったことから、NNE の LD_{50} は>2000 mg/kg であることが明らかになった。Ames 試験では TA98、TA100 いずれの用量においても、陰性対照値の 2 倍以上となった復帰コロニー数は確認されず、遺伝毒性を有しないと判定した。

【考察】

漢方薬由来 coumarin の肝障害リスク評価に関して、TJ-125 が処方された患者は TDI を超えて coumarin を摂取していることが明らかとなった。一方で、coumarin 摂取量による肝機能検査値異常変動との関連性はみられず、桂皮による肝機能検査値の異常変動もみられなかった。このことから、漢方薬由来の coumarin では TDI を超える量を摂取しても、漢方薬と肝障害との関連はみられず、臨床上漢方由来の coumarin 摂取では肝機能への影響は少ないことが示唆された。

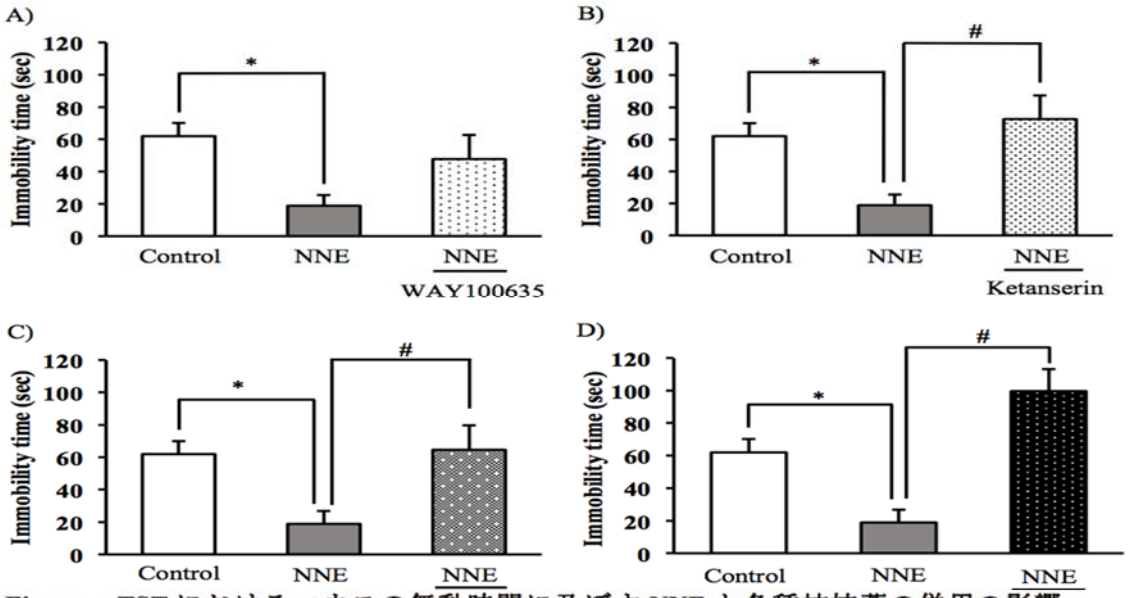

Figure.　TST におけるマウスの無動時間に及ぼす NNE と各種拮抗薬の併用の影響

TST において 3 日間連続 NNE（10 mg/kg, p.o.）投与 30 分後に（A）WAY100635（0.1 mg/kg, s.c.）、（B）ketanserin（1 mg/kg, i.p.）、（C）ondansetron（1 mg/kg, i.p.）および（D）yohimbine（1 mg/kg, i.p.）を投与し、3 日目の NNE 投与 60 分後におけるマウスの無動時間を示した。数値は means ± S.E.（n = 8）を示した。 * $P < 0.05$ は control 群との比較、# $P < 0.05$ は NNE 群との比較を示す（Dunnett's test）。

Nutmeg の抗うつ様作用に関して、TST において NNE は desipramine と同程度の抗うつ様作用を示した。また NNE はセロトニン神経系（5-$HT_{2A/2C}$、5-HT_3 受容体）およびノルアドレナリン神経系（α_2 受容体）を介して抗うつ様作用を示すことが示唆された。その作用機序はセロトニン神経系およびアドレナリン神経系の様々な受容体が関与していると推察され、多様な作用機序があることが明らかとなった。安全性試験として、急性毒性試験では高用量においても NNE によるマウスの死亡や行動変容はみられず、変異原性試験においても今回用いた nutmeg は陰性であった。以上から、nutmeg の抗うつ様効果および安全性が示され、うつ病予防としての健康食品としての可能性を示唆することができた。本研究は、日本伝統医療である漢方医療をはじめ天然植物の有用性を示すものである。発展を遂げた西洋現代医学では解決できていない問題に対し、近年注目されている CAM の重要性を示す一端となる。しかしながら、天然由来は未知なものが多くさらなる検証が必要である。今後この分野がさらなる発展をし、人類医学に貢献することを期待する。

【発表論文】

Frontiers in Pharmacology　第 7 巻　第 174 号

doi: 10.3389/fphar.2016.00174（平成 28 年 6 月 20 日）に公表済