

D. 考察と結論

記憶学習試験より嗅覚障害(OBL)により記憶学習試験記憶保持能低下が認められた。これに対し、漢方処方経口投与は反応潜時が延長され、記憶保持能の低下を抑制した。経日的にも低下を抑制することが確認できた。温経湯では、OBL 処置後投与においても記憶保持能を改善することが示された。嗅球での DA, DOPAC 含量は、OBL により DOPAC の減少が認められたが、DA では認められなかった。しかし、漢方処方投与により含量の増加あるいは減少抑制が示唆された。今後、未測定試料を測定し、解析する必要があると考えている。また対照群に対する漢方処方を投与時の影響も検討する必要があると考えている。

また、カルノシンは神経細胞保護の作用を有することが示唆されているが、本研究からカルノシンはドーパミン神経系の制御に重要な役割を担っていることが示唆された。

予備的にカルノシン投与が嗅覚障害モデル動物における記憶学習能の低下を抑制することを見出し、漢方処方(抑肝散加陳皮半夏ほか)の効果発現に関与する可能性を検証する予定である。

漢方薬が、感覚器障害やそれに伴う症状の改善に有効な治療法となる可能性がある。これに加え、この嗅覚障害モデル動物は記憶学習障害の評価モデルの一つでもあり、次年度以降は、抑肝散の実薬およびプラセボを投与したときの生物学的力価の評価法になる可能性がある。次年度の課題と考えている。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 国際学会
なし
2. 国内学会
 1. 鳥居塚和生:嗅覚障害モデルマウスに対する漢方処方の影響, 日本生薬学会第58回年会, 2011.09.24-25, 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究補助金（認知症対策総合研究事業）
分担研究報告書

抑肝散プラセボ分析に関する研究
—抑肝散プラセボの化学分析並びに色彩評価に関する研究—

川原 信夫

独立行政法人医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター長

本研究では、漢方方剤「抑肝散」によるアルツハイマー病に伴う精神症状・問題行動の軽減効果を、プラセボを比較対照とした臨床第2相試験として実証することを到達目標としている。今回我々は、抑肝散エキスのLC-NMR-MSを用いた化学分析を継続するとともに、2009年に新規開発された「抑肝散」プラセボについて、なおに関する評価の一環としてGC-MSを用いた化学分析を行い、両者の成分比較を行った。同時に分光測色計による実薬とプラセボの色彩評価を行い、それら粉末色の共通点、相違点を数値化して両者の色に関する評価を行った。

この結果、LC-NMR-MSを用いた化学分析では、抑肝散エキスにはカンゾウ由来の成分が比較的多く存在することが明らかとなった。

また、GC-MSを用いた化学分析では、プラセボにはステアリン酸、パルミチン酸等と推定される脂肪酸が多く含まれていることが明らかとなった。しかし、これらの脂肪酸は抑肝散エキスにも認められることから、エキス製造時に使用される賦形剤として用いられたものと考えられた。一方、抑肝散エキスでは生薬由来と考えられるいくつかのピークが観測され、特にソウジュツに特徴的に含有される化合物である hinesol 及び edesmol と推定される成分が検出された。

さらに分光測色計による検討では、抑肝散エキス及びプラセボのエキス末における $L^*a^*b^*$ 表色系の L^* 値、 a^* 値及び b^* 値共に抑肝散とプラセボに大きな違いは見られなかった。また、抑肝散とプラセボの色差 (ΔE^*ab) の値も小さく、抑肝散とプラセボそれぞれのエキス末に明確な色の違いは認められなかった。また、抑肝散エキスとプラセボのエキス末の水抽出液の色の $L^*a^*b^*$ の各値並びに ΔE^*ab と濃度の関係では、 L^* については、抑肝散、プラセボ共に濃度依存的に値が小さくなり、抽出液の明度が低下していることが示された。 a^* については、抑肝散、プラセボ共に濃度 10 mg/mL 付近までは濃度依存的にマイナス方向へ値が動き、青みが強くなる傾向が認められた。 b^* については、抑肝散、プラセボ共に濃度依存的にプラス方向へ値が大きくなり、黄みが強くなった。

研究協力者

瀧野裕之

独立行政法人医薬基盤研究所筑波研究部
栽培研究室長

赤木謙一 独立行政法人医薬基盤研究所
共用機器実験室 研究員

安食菜穂子 株式会社インテリジェントセン
サーテクノロジー プロジェクトマネージャー

A. 研究目的

アルツハイマー病は人生の収穫期とも言うべき晩年において、人間らしく生きるための様々な生活機能を奪い取り、アルツハイマー病の発症は実社会との決別を意味し、介護にあたる家族は自らの生活の質を犠牲にしながらかその精神的・肉体的負担は計り知れない。認知症において従来研究者が注目してきたのは主として中核症状であるが、実際患者を介護する家族にとって最も深刻な問題となるのは精神症状や問題行動、すなわち幻覚、妄想、脱抑制、昼夜逆転、徘徊、易興奮性、介護への抵抗、暴言、抑うつ、意欲障害、不安、焦燥などの周辺症状である。これらの周辺症状に対して今日では Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia (BPSD) という用語が用いられている。BPSD は介護負担感を増強する大きな要因であり、さらに重い介護負担感、介護者のうつ傾向を一層助長することが知られている。認知症患者を抱える家族の介護負担の軽減を計るにはまずこの BPSD への対策が第一となる。本研究では漢方方剤「抑肝散」によるアルツハイマー病に伴う精神症状・問題行動の軽減効果を、プラセボを比較対照とした臨床第 2 相試験として実証しようとするものである。認知症に

おける抑肝散の有効性と安全性を報告した研究は多いが、これまではプラセボが開発されなかったため、プラセボを比較対照として検証したエビデンスレベルの高い研究は皆無であった。2009 年、(株)ツムラから抑肝散のプラセボの作成に成功したことが初めて報じられた。本研究では昨年度に引き続き両者の成分比較を目的として、特に抑肝散エキスの LC-NMR-MS を用いた化学分析を行った。

一方、日局に記載されている生薬は、その各条において性状の項に記載される“味”及び“におい”が適否の判定基準とされている。従って生薬や生薬から調製される漢方処方におけるにおいの表現は、化学的合成医薬品と比べてより重要であり、客観的であることが望まれる。そこで“におい”の客観的評価の一環として GC-MS を用いた化学分析を検討した。

また、“色”についても性状の項に記載されており、客観性のある評価基準の設定が重要であると考えられる。我々は現在までに生薬の品質評価研究の一環として分光測色計を用いた色の客観的な評価を試みており、これまでに生薬中の残留二酸化硫黄と粉末色との関連性について報告を行っている。¹⁾ 本研究ではプラセボの視覚的な標準化を目的として、分光測色計による実薬とプラセボの粉末色並びに水抽出液の色調評価を行い、それらの色の共通点、相違点を数値化して両者の色に関する評価を試みた。

B. 研究方法

1. 実験材料

抑肝散エキス(臨床研究用)及びプラセボ(臨床研究用)は株式会社ツムラより入手した。

2. 装置

1) LC-NMR-MS による検討

LC-NMR-MS の測定に関して、LC 部は Agilent 1200 series (Agilent Technologies,ポンプ: Quat Pump, 紫外可視検出器: VWD, オートサンプラー: ALS) に、カラムオープンとして BPFU-O (Bruker) を用いた。MS 部は、esquire 4000 (Bruker)、イオン化源には ESI を用いた。MS-NMR の送液スプリッターとして 20 分の 1 スプリッターを採用した BNMI (Bruker)を用いた。MS に試料を導入する際には、BNMI のミキシングシリンジを用いて、0.2%ギ酸添加済アセトニトリルを添加した。LC と NMR を接続するために、セル容量 30・L を採用した Cryo-FIT (Bruker) を NMR に装着した。LC-MS-SPE/NMR 法を行うために、SPE (Solid Phase Extraction) 装置として PROSPEKT2 (Spark 社)を用いた。NMR は TCI クライオプローブ付き AvanceII 800 (Bruker)を用いた。LC 及び LC-MS の制御には Hyster 3.2 (Bruker)、MS の制御には esquireControl version 5.3 (Bruker)、NMR の制御は Topspin 2.0 (Bruker)を用いた。

2) GC-MS による検討

GC-MS の測定は、島津製作所社製 GCMS QP-5050A に SUPELCO 社製 Equity-1701 カラム (30 m x0.25・m) を接続して測定した。

3) 分光測色計による検討

色の測定には、分光測色計 CM-5(ユニカミノルタセンシング株式会社)を用いた。測定用光源はパルスキセノンランプ、表色系は $L^*a^*b^*$ 、色差式は ΔE^*ab 、観察条件は 10° 視野、観察光源は D65 を用いた。エキス末の測定用には、径 3 mm の微小シャーレを用いた。エキスの水

抽出液は光路長 10 mm のセルを用いた。

3. 試薬・試液

1) LC-NMR-MS による検討

LC-MS 測定溶媒は、MilliQ 水、アセトニトリル LC/MS 用 99.8% (Kanto Chemical CO., INC) を用いた。NMR 測定には、重水化アセトニトリル(99.9%, ATOM % D, ISOTEC inc.)を用いた。その他の試薬は、全て試薬特級品を用いた。

2) GC-MS による検討

抽出溶媒に用いたメタノールは試薬特級品を用いた。

3) 分光測色計による検討

水は、超純水製造装置(野村マイクロ・サイエンス株式会社、型式 TW-250) で製した超純水を使用した。

尚、本研究において動物由来試料を用いた実験は行わず、倫理面で大きな支障となる問題は無いと考えられる。

4. 試料の調製

1) LC-NMR-MS による検討

抑肝散エキス10 mg、カンゾウ、トウキ、ソウジツツを各熱水抽出エキス2 mgをmilliQ水1 mLへ懸濁し、ボルテックスにて30 min 間攪拌した。その後13000 rpmにて遠心後、沈殿を除去した。上記ボルテックス、遠心操作を計三回行い、沈殿を除去した。その後、0.2・mのフィルターに通した。

2) GC-MS による検討

抑肝散エキス及びプラセボ各 2.5g を遠沈管に入れ、メタノールを 10mL 加えて室温下で 10 分間振り混ぜた。その後、遠心分離を行い、上澄み液を採取し、さらにメタノール加えて 2 倍に

希釈し、試料溶液とした。

3) 分光測色計による検討

エキス末の測定は、測定直前に開封した抑肝散エキス及びプラセボそれぞれのエキス末を用いて行った。エキス末の水抽出液の測定に用いた試料液は以下のように調製した。抑肝散エキス及びプラセボそれぞれを、濃度 0.1~30 mg/mLとなるように秤量して水約 45 mLへ懸濁し、マグネチックスターラー(HS-30D: アズワン株式会社)を用いて室温、約 600 rpmで10分間攪拌した後、水で50 mLにメスアップした。本液を20°C、1,600 x gにて15分間遠心分離し(H-201FR: 株式会社コクサン)、分取した上清を色測定に供した。抽出に用いた水をブランクコントロールとした。

5. 測定方法

1) LC-NMR-MSによる検討

LC 測定条件: 移動相は、(A) D₂O, (B) CH₃CNを用いた。(A) 90%から20 minで、(A) 0%までリニアグラジエントを行い、20 minから25 min (A) 0%にて送液した。流速は1 mL/minで行った。カラムはYMC-Triart C18 4.6 X 150, 粒子径(5・m) 細孔径(10・m)を用いた。UV観測波長は210, 254, 280 nm、インジェクト量は10・Lとした。

NMR 測定条件: UV 検出器信号、もしくはトータルイオンクロマトによる信号を目的シグナルとして検出し、BPSU-36 を利用した Loop-Storage 法を行った。NMR測定パラメータの詳細に関しては表 1 にまとめた。表 1 中の NS (積算回数)、RG (レシーバーゲイン)、SPNAM6 (溶媒消去用シェイプドパルス) については各分画についてパラメータを最適化した。

¹H-NMR の化学シフト値はアセトニトリルのメチル基シグナルが 1.93 ppm となるように合わせた。

MS 測定条件: LC から MS への導入の際、BNMI を経由することにより流速を20分の1に減速させ、同時に110・L/minの流速でアセトニトリル(0.2% ギ酸)の添加を行った。データは正イオンモードで取得した。詳細な測定パラメータは表 2 にまとめた。

2) GC-MSによる検討

GC 測定条件: 気化室温度、インターフェース温度は、共に250°Cで測定し、昇温プログラムは、90-270°C (0→90分)、270°C (90→180分)に設定した。

MS 測定条件: 検出質量: m/z 40-600

3) 分光測色計による検討

エキス末は、径 3 mm の微小シャーレを用いて3回発光測定の反射測定を行った。エキス末をシャーレに入れて軽くタッピングして表面を平らにし、シャーレを90°Cずつ回転させて計5回測定した平均値を測定値として用いた。一方、エキスの水抽出液は光路長10 mmのセルを用いて3回発光測定の透過測定を行った。

尚、本研究で用いた表色系 ($L^*a^*b^*$ 表色系) では、 L^* は明度を表し、 a^* 及び b^* は色相を表現する²⁾。明度を表す L^* は0 ~ 100で表され、値が大きいほど測定試料が明るいことを示す。一方、色相を表現する a^* 及び b^* は、 a^* 値のプラス側が赤、マイナス側が緑、 b^* 値のプラス側が黄、マイナス側が青を表し、それぞれ絶対値が大きいほど色が濃いことを示している。また、2 サンプル間の色差 (ΔE^*ab) は、 $L^*a^*b^*$ の各値の2 サンプル間の差 (ΔL^* 、 Δa^* 、 Δb^*) の二乗の和の平方根で表される。

C. 研究結果及び考察

1) LC-NMR-MS による検討

抑肝散エキスの溶媒による抽出成分の違いを比較するために、水抽出、40%エタノール抽出及び0.1%TritonX抽出を行い、抽出される成分の比較をUV吸収帯210 nm, 254 nm及び280 nmを用いてLC-MS分析を行った。抑肝散含有生薬(サイコ、チョウトウコウ、ソウジュツ、ブクリョウ、トウキ、センキュウ、カンゾウ)のうち、カンゾウ、トウキ、ソウジュツについて、水抽出を行い、UV吸収帯254nmを用いてLC-MS分析を行った。さらにLC-MS-SPE/NMR法を用いて、抑肝散エキス、カンゾウ、プラセボ薬のNMRスペクトルを取得した。図1及び2に抑肝散エキスの水抽出におけるLC(210, 254, 280 nm)及びBPC(Base Peak Chromatogram)のチャートを示した。

この結果から、抑肝散エキスにおける3 UV吸収波長によるスペクトルの大きな差は認められなかった。そこで、カンゾウ、トウキ、ソウジュツとのスペクトル比較は254nmで行うこととした。また、水抽出、40%エタノール抽出、0.1%TritonX抽出のスペクトル比較から、抽出される成分に大きな差が認められなかったため、水抽出試料を用いてカンゾウ、トウキ、ソウジュツについてLC-MS測定を行った(図3~5)。これらの結果から、上記3生薬の中では、カンゾウ由来の成分が比較的多く抑肝散エキス中に残っていることが明らかとなった。

抑肝散エキスとカンゾウのLC-MSスペクトルの比較を図6に示した。MS(453 m/z)値を持つ化合物が抑肝散とカンゾウ中に比較的多く見受けられた。そこで、この領域物質を比較す

るためにLC-MS-SPE/NMRを測定した。測定分画は、抑肝散において453 m/zのEICが検出された8 minを取得した。図7及び8にカンゾウのNMRスペクトル並びに同じリテンションタイムにおける抑肝散エキスのNMRスペクトルを示す。しかし抑肝散エキス由来のシグナルが非常に小さく、NMRスペクトルからは、分子構造を推定することが困難であった。

2) GC-MS による検討

抑肝散エキスとプラセボのGCチャートを図9に示す。さらに45-63分付近の拡大図を図10に、また、抑肝散エキスのGC-MSチャートの拡大図を図11に示す。MS及びライブラリー検索の結果からプラセボにはステアリン酸、パルミチン酸と推定される脂肪酸が多く含まれていることが明らかとなった。しかし、これらの脂肪酸は抑肝散エキスにも認められることから、エキス製造時に使用される賦形剤として用いられたものと考えられた。

抑肝散エキスでは生薬由来と考えられるいくつかのピークが観測され、特にhinesol及びedesmolと推定される成分が検出された。これらの成分はソウジュツに特徴的に含有される化合物である。抑肝散の配合生薬はビャクジュツ、ブクリョウ、センキュウ、チョウトウコウ、トウキ、サイコ、カンゾウであるが、ツムラの処方ではビャクジュツの代わりにソウジュツを用いるため、上記成分が検出されたものと考えられる。

今回の測定ではメタノール抽出で試料調製を行ったが、精油定量器を用いてキシレンに吸収させた後にGC-MS分析を行うと精油成分が多く検出されると考えられることから、今後は他の抽出方法を検討する必要があると考えられた。

3) 分光測色計による検討

本研究に用いた抑肝散エキスとプラセボの、エキス末の $L^*a^*b^*$ の各値のグラフを図 12 に示す。 L^* 値、 a^* 値及び b^* 値共に抑肝散とプラセボに大きな違いは見られなかった。また、抑肝散とプラセボの色差 (ΔE^*_{ab}) の値も 2.16 と小さく、抑肝散とプラセボそれぞれのエキス末に明確な色の違いは認められなかった。

次に、抑肝散エキスとプラセボのエキス末の水抽出液の色の $L^*a^*b^*$ の各値並びに ΔE^*_{ab} と濃度の関係についてのグラフを図 13~16 にそれぞれ示す。 L^* については、抑肝散、プラセボ共に濃度依存的に値が小さくなり、抽出液の明度が低下していることが示された (図 13)。 a^* については、抑肝散、プラセボ共に濃度 10 mg/mL 付近までは濃度依存的にマイナス方向へ値が動き、青みが強くなる傾向にあったが、濃度 30 mg/mL で赤みを示すプラス方向へ値が大きくシフトした (図 14)。 b^* については、抑肝散、プラセボ共に濃度依存的にプラス方向へ値が大きくなって行き、黄みが強くなって行った。また、濃度 3 mg/mL 付近から明確に、抑肝散に比べてプラセボの方が、黄みが強い傾向が見られた (図 15)。また、抑肝散とプラセボの色差は濃度 1 mg/mL を超えるあたりから急激に大きくなって行き、濃度 10 mg/mL では、別の色系系統になると言われている数値 12 を超えた (図 16)。一般的に、漢方薬のエキス剤は一包約 2.5 g 入りで、エキス末を直接服用、もしくは、水や湯に溶いて服用する場合には一包を約 100 mL に溶いて服用するように指導されることが多い (25 mg/mL)。今回の結果より、抑肝散とプラセボの色の違いについて、エキス末を直接服用する場合には区別することは難しいと考えられる一方、水などに溶いて服用する場

合にはこれらを区別できる可能性があると考えられる。

今回、各濃度エキス抽出液を遠心分離し、その上清液を測定に供したが、特にプラセボで遠心分離液中に浮遊物が多く、一定の条件で測定できなかった可能性が考えられた。次年度には、さらに詳細に色に関する検討を行い、成分含量等との関係について調査する予定である。

D. 結論

本研究では、漢方方剤「抑肝散」によるアルツハイマー病に伴う精神症状・問題行動の軽減効果を、プラセボを比較対照とした臨床第 2 相試験として実証することを到達目標としている。今回我々は、抑肝散エキスの LC-NMR-MS を用いた化学分析を継続するとともに、2009 年に新規開発された「抑肝散」プラセボについて、なおに関する評価の一環として GC-MS を用いた化学分析を行い、両者の成分比較を行った。同時に分光測色計による実薬とプラセボの色彩評価を行い、それら粉末色の共通点、相違点を数値化して両者の色に関する評価を行った。

この結果、LC-NMR-MS を用いた化学分析では、抑肝散エキスにはカンゾウ由来の成分が比較的多く存在することが明らかとなった。

また、GC-MS を用いた化学分析では、プラセボにはステアリン酸、パルミチン酸等と推定される脂肪酸が多く含まれていることが明らかとなった。しかし、これらの脂肪酸は抑肝散エキスにも認められることから、エキス製造時に使用される賦形剤として用いられたものと考えられた。一方、抑肝散エキスでは生薬由来と考

えられるいくつかのピークが観測され、特にソウジュツに特徴的に含有される化合物である hinesol 及び edesmol と推定される成分が検出された。

さらに分光測色計による検討では、抑肝散エキス及びプラセボのエキス末における $L^*a^*b^*$ 表色系の L^* 値、 a^* 値及び b^* 値共に抑肝散とプラセボに大きな違いは見られなかった。また、抑肝散とプラセボの色差 (ΔE^*ab) の値も小さく、抑肝散とプラセボそれぞれのエキス末に明確な色の違いは認められなかった。一方、各エキス末の水抽出液では、抑肝散とプラセボの色差は濃度 10 mg/mL 付近で別の色系統になると言われている数値 12 を超えている。従って、抑肝散とプラセボの色の違いについて、エキス末を直接服用する場合には区別することは難しいと考えられるが、水などに溶いて服用する場合にはこれらを区別できる可能性があると考えられた。

E. 引用文献

- 1) Kawahara, N., Anjiki, N., Kim, I-H., Mikage, M., Goda, Y., *Jpn. J. Food*

Chem., 14 (3), 140-144 (2007).

- 2) 日本工業標準調査会, 日本工業規格, $L^*a^*b^*$ 表色系及び $L^*u^*v^*$ 表色系による物体色の表示方法, JIS Z 8729, 日本規格協会, 東京, 1980

F. 健康危険情報

本研究において健康に危険を及ぼすような情報は無い。

G. 研究発表

1. 誌上発表
なし
2. 学会発表等
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表1 NMR 測定条件

PULPROG =	lc1pncwps	Channel f1	
TD =	16384	NUC1 =	1H
NS =	1024	P1 [μs] =	10.00
DS =	8	P18 [μs] =	100000.00
SWH [Hz] =	16025.64	PL1 [dB] =	3.00
AQ [s] =	0.5112308	PL1W [W] =	9.30345917
RG =	203	SFO1 [MHz] =	800.2017941
DW [μs] =	31.200	SP6 [dB] =	53.98
DE [μs] =	20.00	SP6W [W] =	0.00007425
D1 [s] =	3.00000000	SPNAM6 =	p_ak_11022413
D11 [s] =	0.03000000	SPOAL6 =	0.500
d12 [s] =	0.00002000	SPOFFS6 [Hz] =	0.00
d13 [s] =	0.00000400	Channel f2	
D8 [s] =	0.10000000	NUC2 =	13C
16 =	30	PL2 [dB] =	0.00
17 =	1	PL21 [dB] =	26.00
TD0 =	1	PL21W [W] =	0.27699026
		PL2W [W] =	110.27181244
		SFO2 [MHz] =	201.2108424

表2 MS 測定条件

Mode		Tune SPS	
Mass Range Mode	Std/Normal	Target Mass	500 m/z
Ion Polarity	Positive	Compound Stability	90 %
Ion Source Type	ESI	Trap Drive Level	100 %
Alternating Ion Polarity	off	Optimize	Normal
Current Alternating Ion Pol	Positive	Smart Parameter Setting	active
Divert Valve	to Source		
Tune Source		Trap	
Trap Drive	36.9	Rolling	on
Octopole RF Amplitude	150.0 Vpp	Rolling, Averages	2 cts
Lens 2	-60.0 Volt	Scan Begin	100 m/z
Capillary Exit	116.7 Volt	Scan End	1000 m/z
Dry Temp (Set)	320 °C	Averages	8 Spectra
Nebulizer (Set)	30.00 psi	Max. Accu Time	200000 μs
Dry Gas (Set)	7.00 l/min	ICC Target	30000
HV Capillary	4000 V	Charge Control	on
HV End Plate Offset	-500 V		

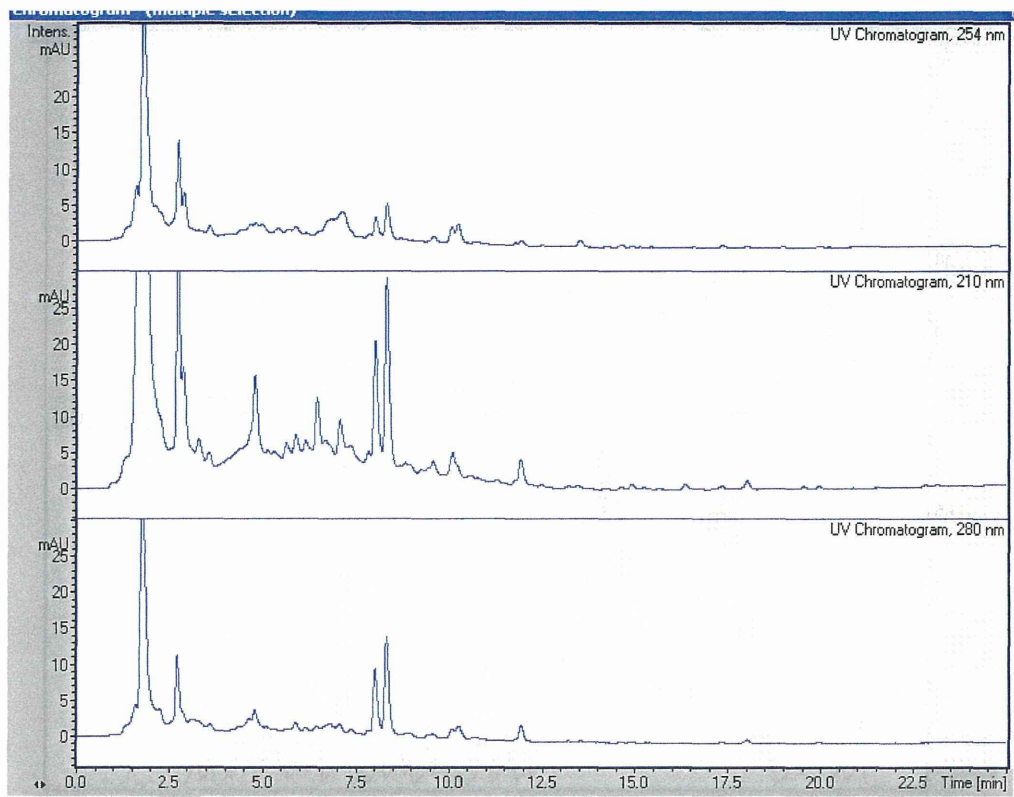


図1 抑肝散エキス水抽出の HPLC チャート

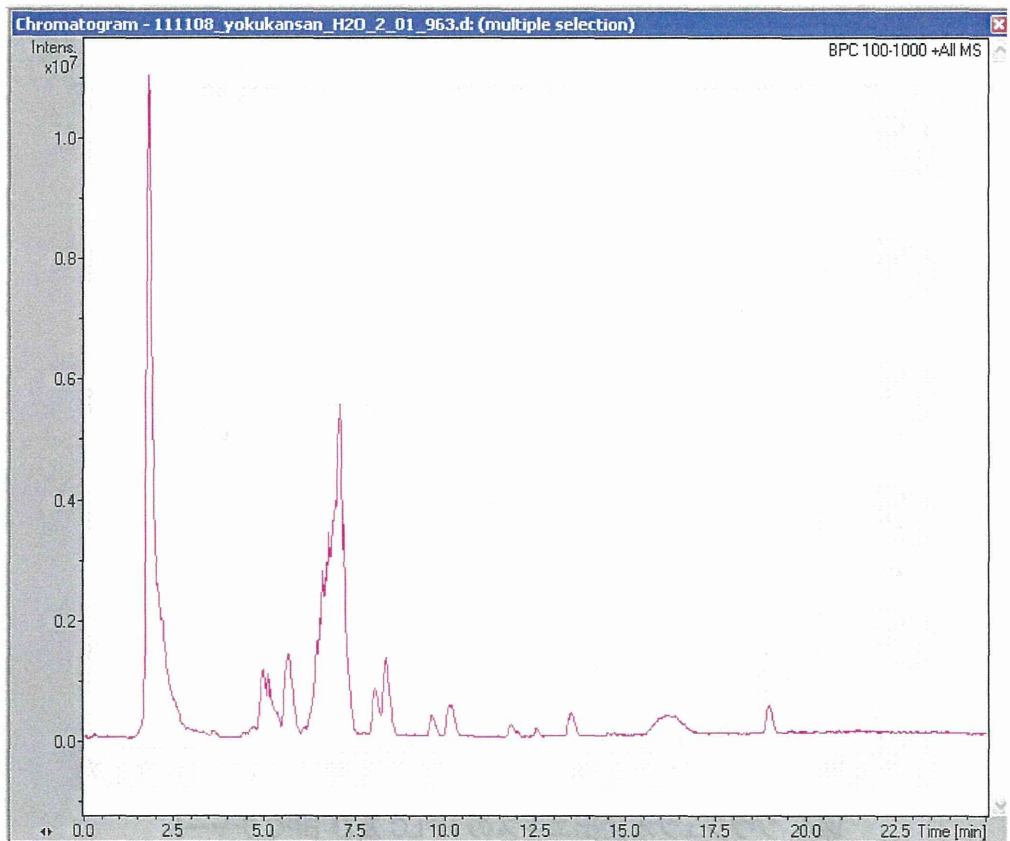


図2 抑肝散エキス水抽出の BPC チャート

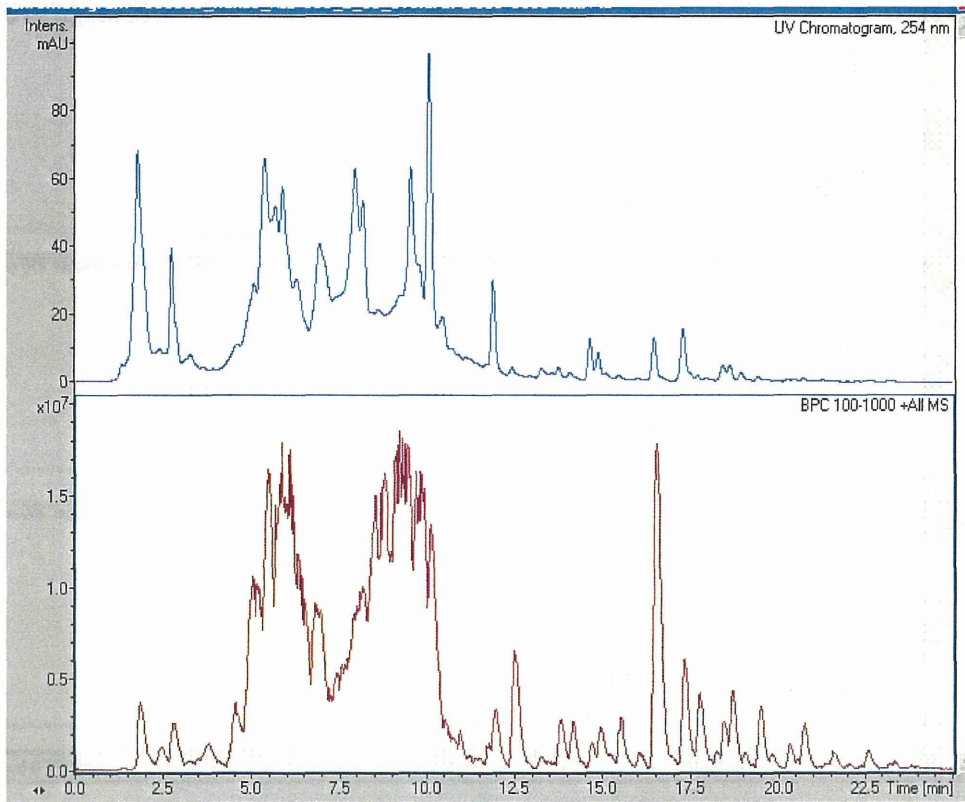


図3 カンゾウ水抽出エキスの HPLC 及び BPC チャート

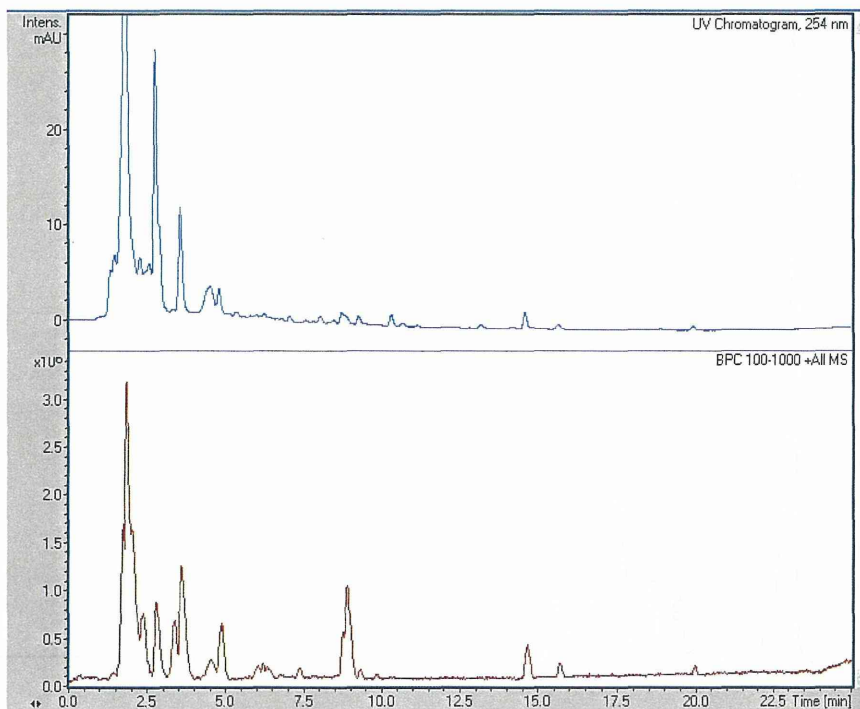


図4 ソウジュツ水抽出エキスの HPLC 及び BPC チャート

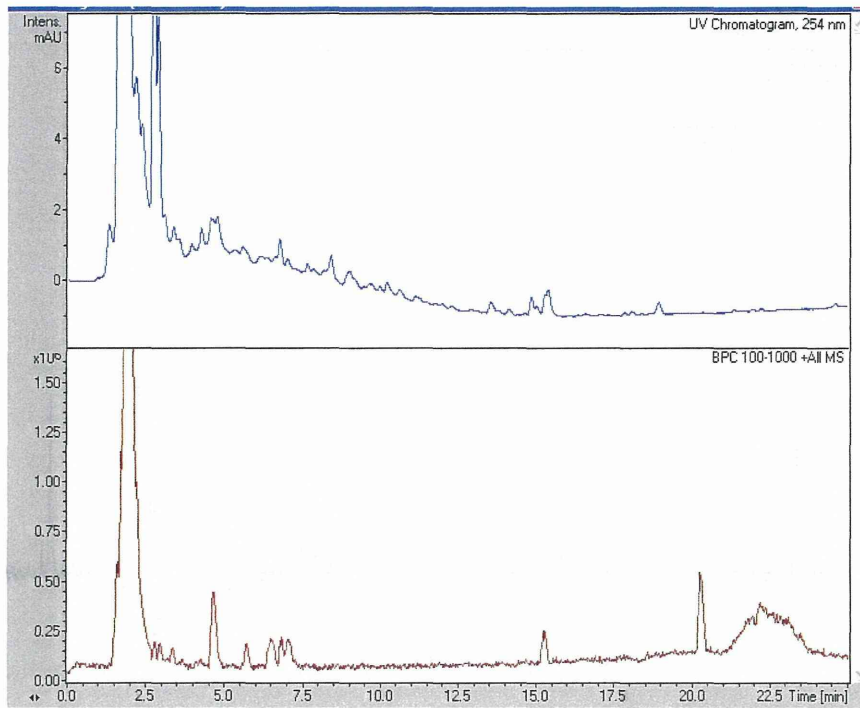


図5 トウキ水抽出エキスの HPLC 及び BPC チャート

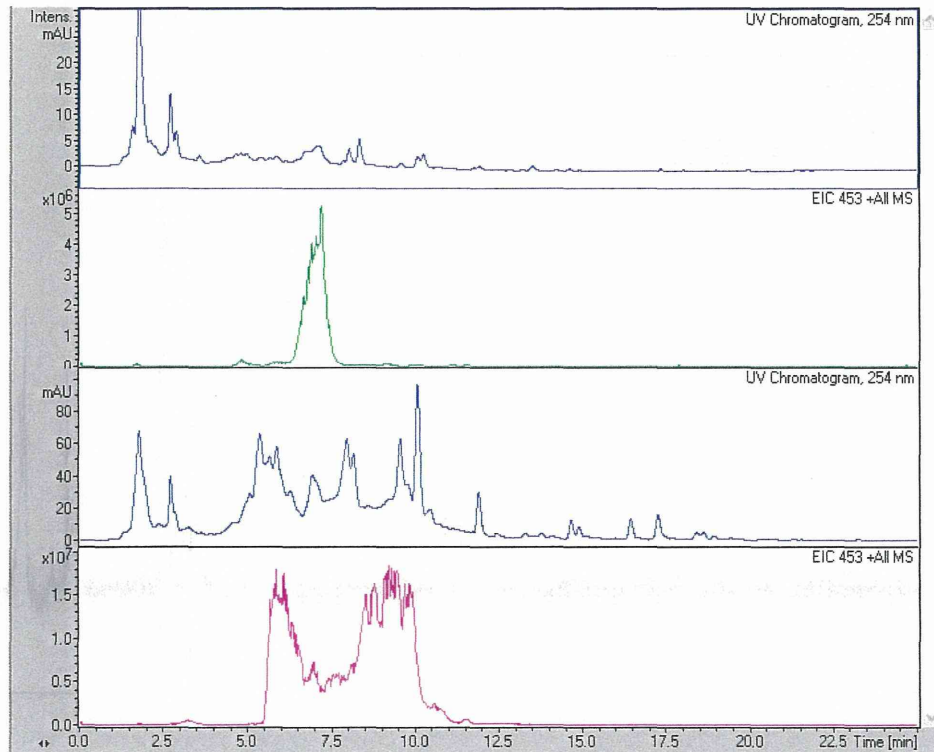


図6 抑肝散水抽出エキスの UV 254nm(1 段目)及び EIC 453 m/z(2 段目)並びに
カンゾウ水抽出エキスの UV 254nm(3 段目)及び EIC 453 m/z(4 段目)各チャート

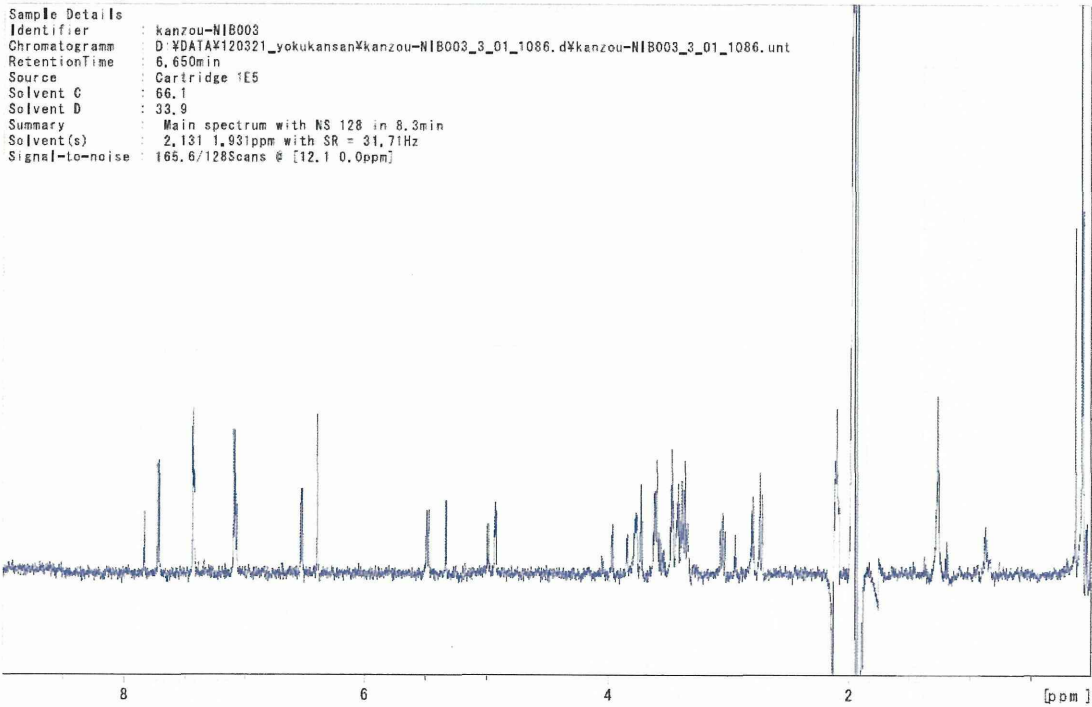


図7 カンゾウ水抽出エキスの NMR チャート(8 min 分画)

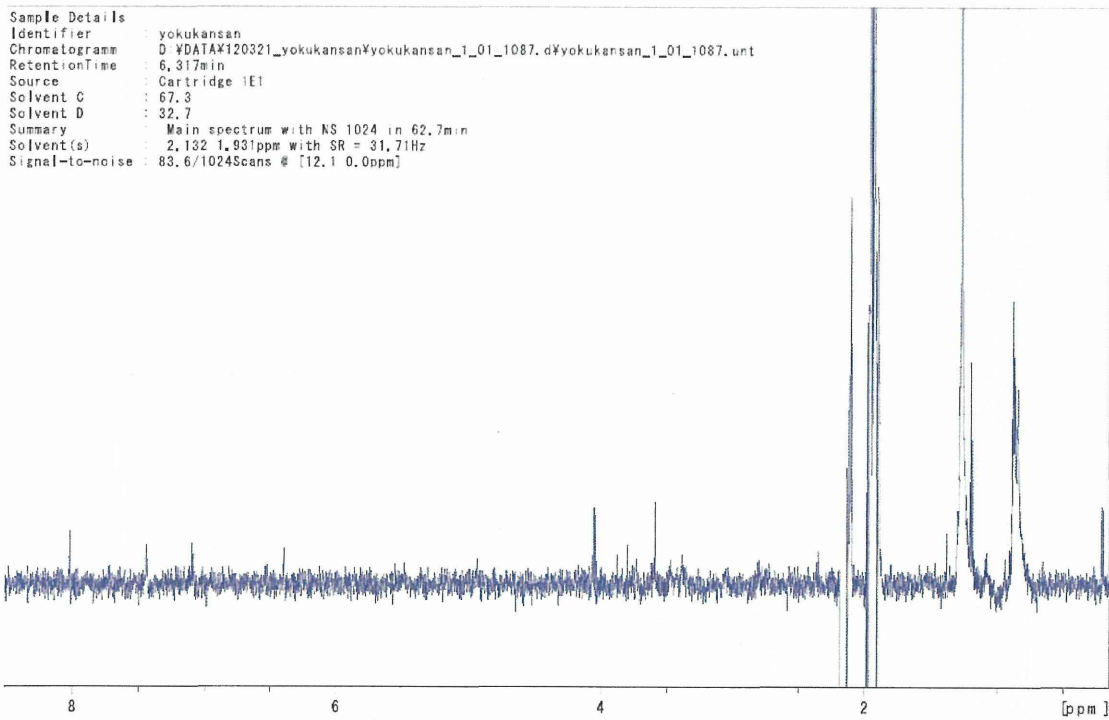


図8 抑肝散水抽出エキスの NMR チャート(8 min 分画)

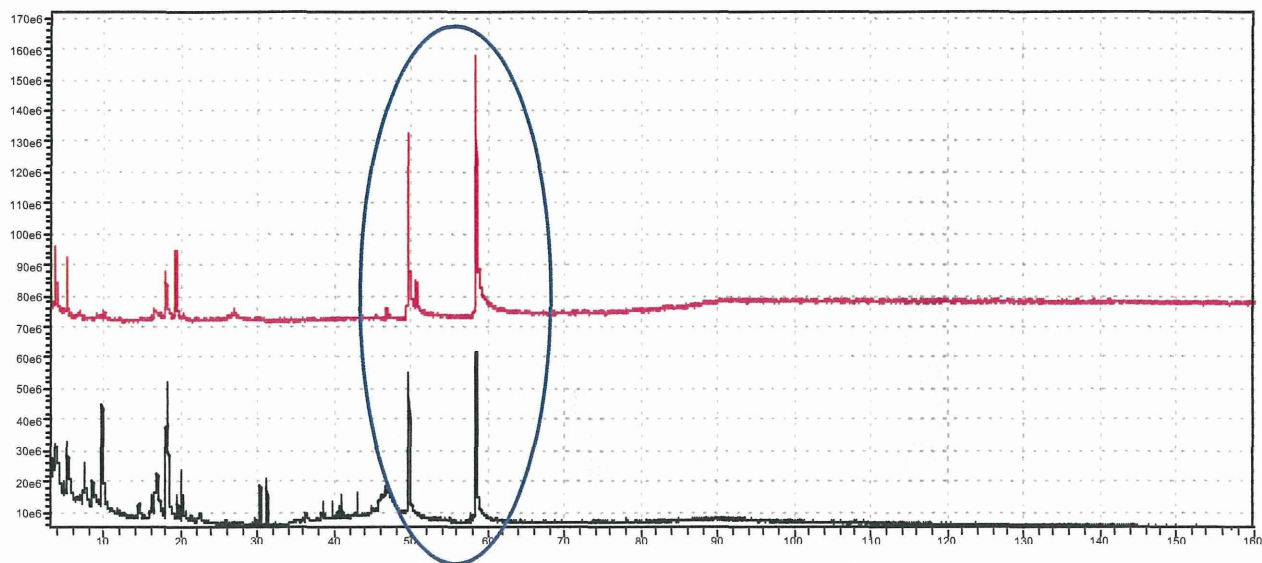


図9 プラセボ(上段)及び抑肝散エキス(下段)の GC-MS チャート

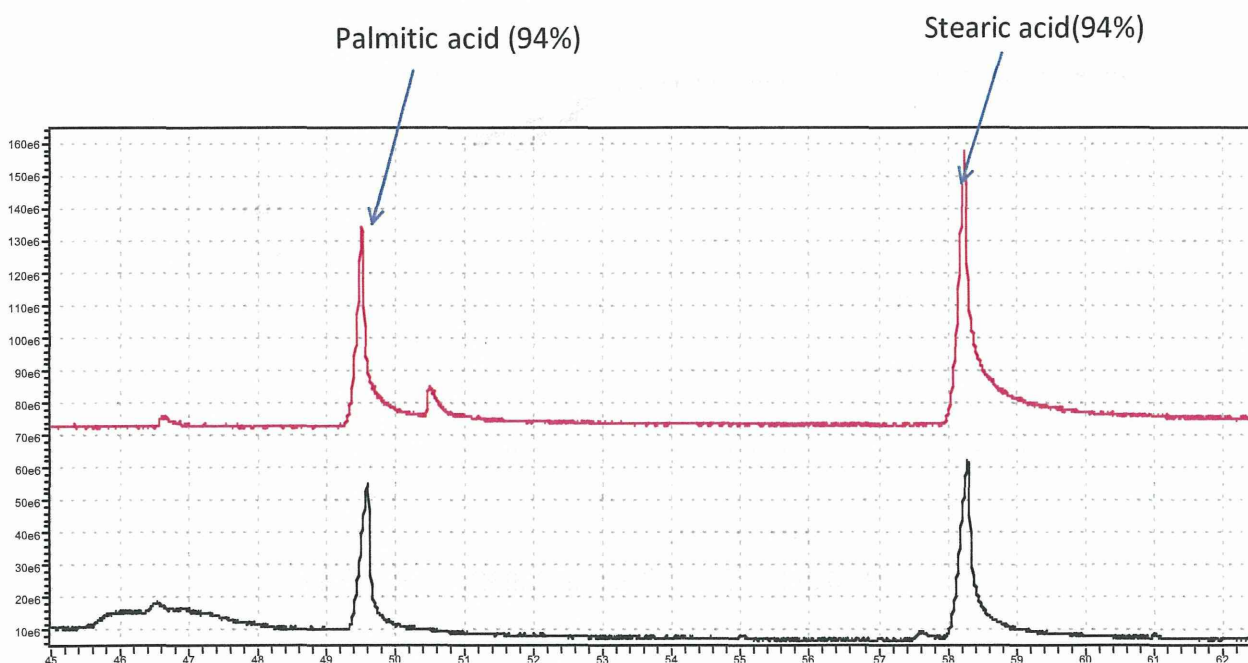


図 10 プラセボ(上段)及び抑肝散エキス(下段)の GC-MS チャートの拡大図(45-63 min)

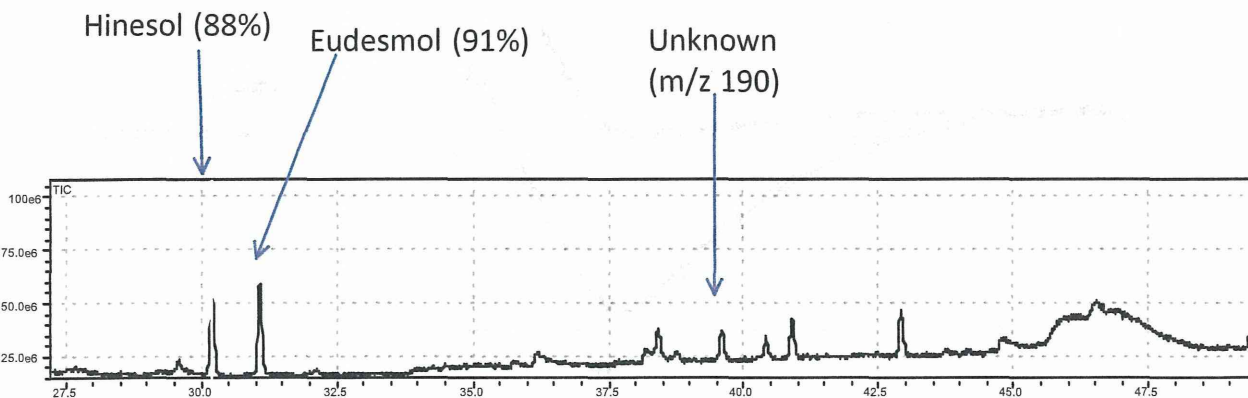


図 11 抑肝散エキスの GC-MS チャートの拡大図(27-50 min)

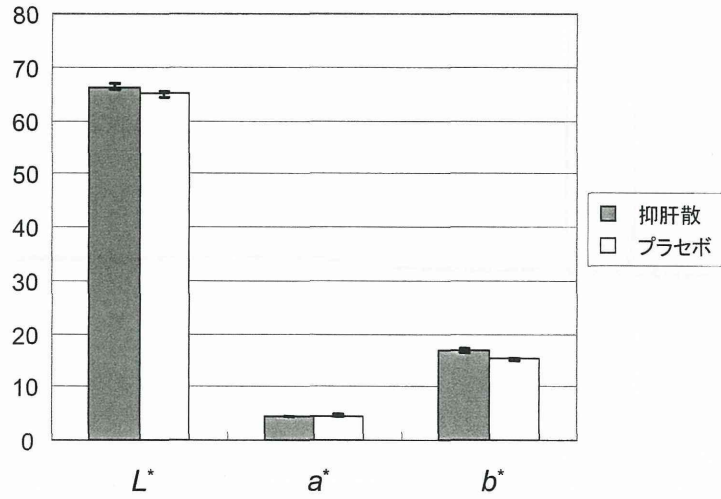


図 12 抑肝散及びプラセボエキス末の L^* a^* b^* 値の比較

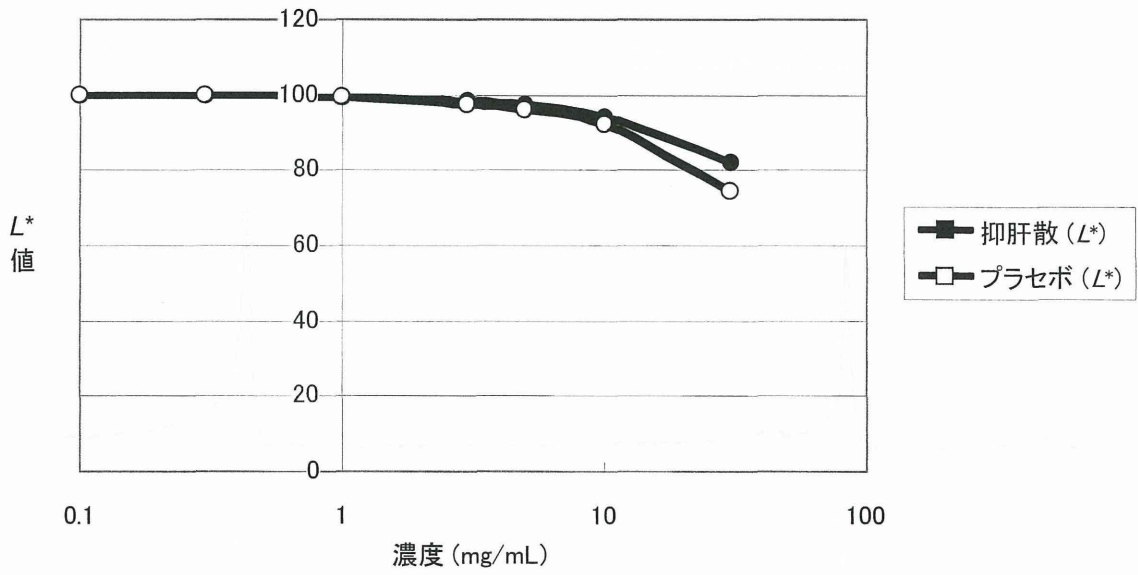


図 13 抑肝散及びプラセボ水抽出液の濃度と L^* 値の関係

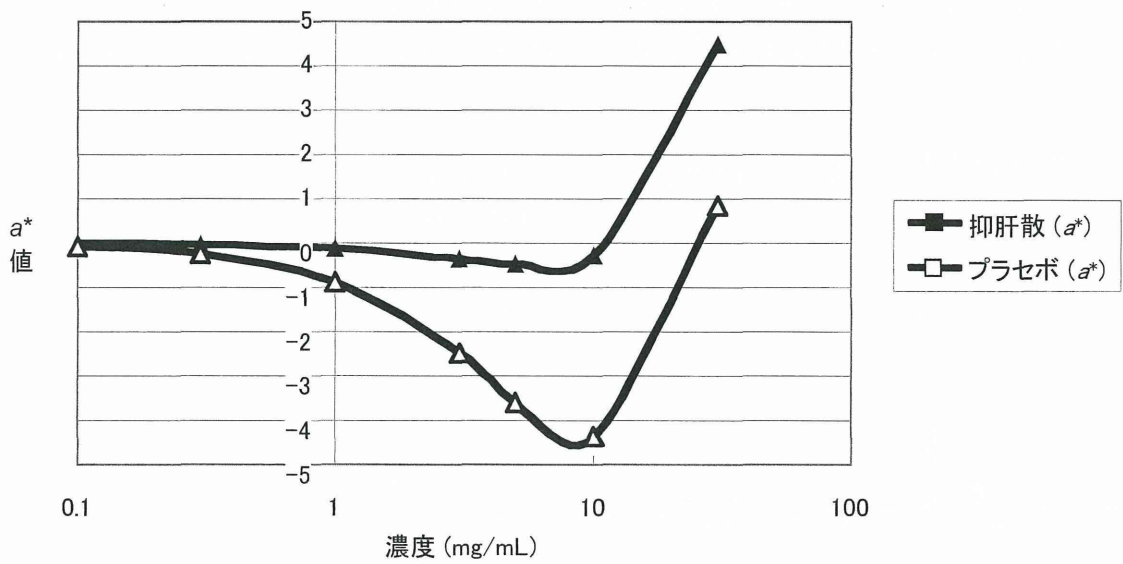


図 14 抑肝散及びプラセボ水抽出液の濃度と a^* の関係

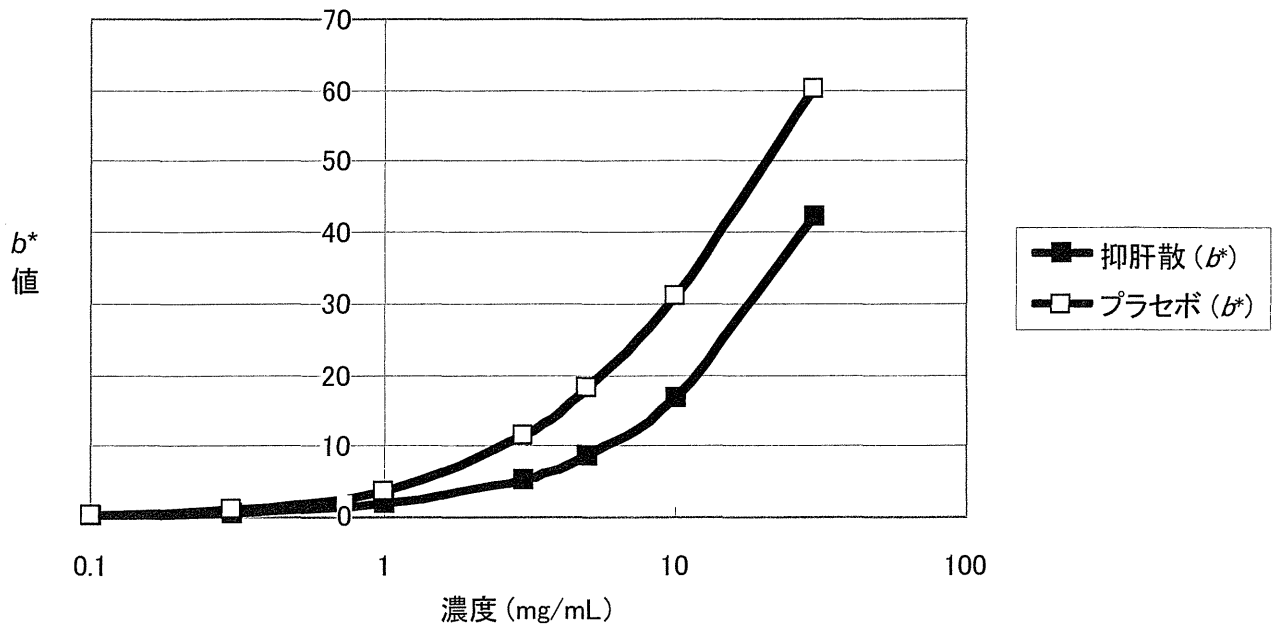


図 15 抑肝散及びプラセボ水抽出液の濃度と b^* の関係

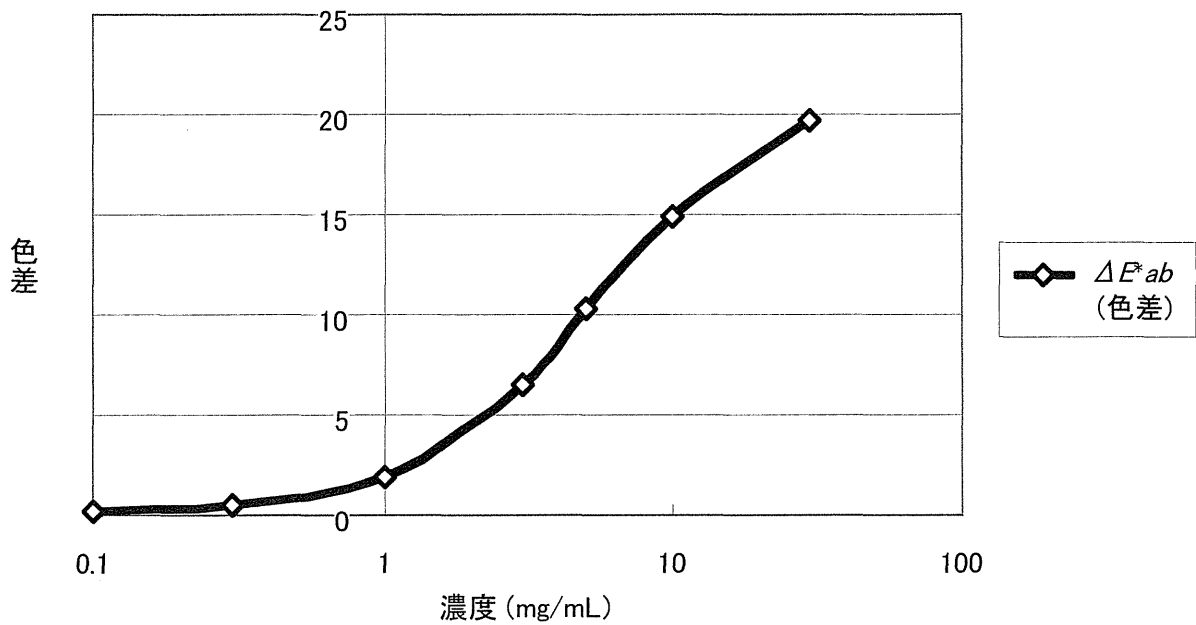


図 16 抑肝散とプラセボ水抽出液の濃度と色差の関係

3. 平成24年度総括研究報告書

平成 24 年度 総括研究報告書
厚生労働省科学研究費補助金(認知症対策総合研究事業)

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
ープラセボ対照無作為化臨床第 2 相比較試験ー

研究代表者名 荒井啓行
東北大学加齢医学研究所 教授

研究要旨：最終登録期限【平成24年10月末】までに目標症例数140例を超える147例(抑肝散群75例、プラセボ群70例、誤登録2例)を登録した。抑肝散群71例、プラセボ群65例が有効性解析対象となった。主要評価項目として指定したNPI-Q-Jの投与4週後の変化量は、実薬群で-2.3点、プラセボ群で-2.0点と実薬群の方が0.4ポイント優っていたが統計学的には有意ではなかった($p=0.52$ 、施設間差を考慮しても $p=0.35$)。よって、抑肝散によるアルツハイマー病 BPSD 軽減効果は示されなかった。サブグループ解析において、年齢74歳以下では75歳以上に比較して実薬群での有効性が高い傾向が見られた($p=0.077$)。また、Mini-Mental State Examination (MMSE)スコアが20点以下では21点以上に比して実薬群での有効性が高い傾向が見られた($p=0.086$)、74歳以下でMMSEが20点以下のサブグループ($N=12$)では、興奮・攻撃性のNPI-Q-J下位項目において実薬群の有意な有効性が示された($p=0.025$)

平成24年度分担研究者リスト

浦上 克哉(鳥取大学医学部保健学科)

高橋智(故人、岩手医科大学・神経内科・老年科)

松井敏史(国立病院機構久里浜医療センター)

神崎恒一(杏林大学医学部・高齢医療科)

荒木信夫(埼玉医科大学附属病院・神経内科学)

松原悦朗(弘前大学医学系研究科・脳神経内科)

池田将樹(群馬大学病院・神経内科)

布村明彦(山梨大学医学工学総合研究部・精神神経医学)

嶋田裕之(大阪市立大学病院・老年科・神経内科)

伊東大介(慶応義塾大学病院・神経内科)

葛谷雅文(名古屋大学大学院医学系研究科・地域在宅医療学・老年科学)

鷺見幸彦(国立長寿医療研究センター・神経内科)

鳥居塚和生(昭和大学・薬学部)

川原信夫(医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター)

山口拓洋(東北大学臨床試験推進センター)

朝田隆(2010年度のみ、筑波大学精神医学)

A. 研究目的

認知症診断においては、記憶障害や言語機能低下などの中核症状の存在が必須であるが、家庭で認知症患者を介護する家族にとって最も深刻で心理的負担の大きい問題は妄想などの精神症状や暴力などの問題行動である。これらの症状に対して Behavioral and Psychological

Symptoms of Dementia(BPSD と略称される)という用語を用いることが国際学会等で提唱されている。これまでの研究から BPSD は介護負担感を増強する最大の要因であるため、認知症患者を抱える家族の介護負担の軽減を計る対策としてまずこのBPSD への対応が第一となることが示されている(Tanji et al. 2005)。認知症におけるBPSD軽減効果としての抑肝散の有効性と安全性が、単盲験無作為化比較試験によって2005年初めて報告された(Iwasaki et al. 2005a)。その後、少数例ではあるがレビー小体型認知症における有効性と安全性(Iwasaki et al. 2005b)、多施設共同クロスオーバー試験における有効性と安全性(Mizukami et al. 2009)、抗精神病薬併用時における長期有効性と安全性(Monji et al. 2009)、塩酸ドネペジルによるアルツハイマー病標準治療を行なっている患者群における抑肝散上乗せの有効性と安全性(Okahara et al. 2009)なども示されている。しかし、これらいずれの臨床試験においてもプラセボが未開発であったため「プラセボを対照としてのエビデンスレベルの高い比較研究」ではなかった。本研究は、構成生薬やプラセボの成分比較や味覚試験などの基礎薬理的検討を行ないつつ、漢方方剤抑肝散によるアルツハイマー病 BPSD 軽減効果の検証をプラセボを対照とした無作為化比較試験として実施するものである。今年度は最終年度であるため、①平成23年度末までに70例が登録されたので、平成24年度は新たに70例以上の症例を追加し目標症例数である140例を達成する；②有害事象の発生をモニターする；③データセンターにおいてプラセボ群に対する抑肝散投与群の有効性を解析する。ことを目標とする。

< 関連文献 >

Tanji H, Ootsuki M, Matsui T. Dementia caregiver's burden and use of public services. *Geriatrics & Gerontology International* 5:102-106, 2005

Iwasaki K, Maruyama M, Tomita N. et al. Effect of a traditional Chinese herbal medicine for cholinesterase inhibitor-resistant visual hallucinations and neuropsychiatric symptoms in dementia with Lewy bodies. *J. Clin. Psychiatry* 66:1612-1613, 2005a

Iwasaki K, Satoh-Nakagawa T, Maruyama M. et al. A Randomized Observer-Blind Controlled Trial of a Traditional Chinese Medicine, Yi-Gan San, on Behavioral and Psychological Symptoms and Activities of Daily Living in Dementia Patients. *J. Clin. Psychiatry* 66:248-252, 2005b.

Mizukami K, Asada T, Kinoshita T et al. A randomized cross-over study of a traditional Japanese medicine (kampo), yokukansan, in the treatment of the behavioural and psychological symptoms of dementia. *Int J Neuropsychopharmacol.* 12:191-9.2009

Monji A, Takita M, Samejima T. et al. Effect of yokukansan on the behavioral and psychological symptoms of dementia in elderly patients with Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 33:308-11, 2009

Okahara K, Ishida Y, Hayashi Y. et al. Effects of

Yokukansan on behavioral and psychological symptoms of dementia in regular treatment for Alzheimer's disease. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.34:532-6. 2010

B. 研究方法

1. 研究分担施設および研究協力施設の追加認定:

24年度も引き続き症例登録を加速する必要があるため、平成23年度の研究分担施設に加え研究協力施設の追加認定をおこなった。その結果、研究分担施設は、東北大学(代表施設 担当者 荒井啓行,古川勝敏、富田尚希)、杏林大学(担当者 神崎恒一)、久里浜アルコール症センター(担当者 松井敏史)、鳥取大学・倉敷平成病院(担当者 浦上克哉、)、群馬大学(担当者 池田将樹)、慶応義塾大学(担当者 伊東大介)、山梨大学・日下部記念病院(担当者 布村明彦)、大阪市立大学・弘済院附属病院(担当者 嶋田裕之)、弘前大学(担当者 東海林幹夫、松原悦朗)、埼玉医科大学(担当者 荒木信夫)、名古屋大学(担当者 葛谷雅文)、国立長寿医療研究センター(担当者 鷺見幸彦)である。研究協力施設としては、仙台富沢病院・山形厚生病院(協力者 藤井雅彦)、けいめい記念病院(協力者 岡原一徳)、倉敷平成病院(協力者 湧谷陽介)、仙台青葉脳神経外科病院(協力者 小川達次)、野村宏脳神経内科クリニック(協力者 野村宏)、あずま通りクリニック(協力者 小林直人)、植松神経内科クリニック(協力者 植松大輔)である。これらの施設における倫理審査委員会での手続きはすべて完了した。独自の倫理審査委員会を持たない施設

においては東北大学において代替審査を行なった。

2. 班会議議事録

2-1 平成 24 年度 第1回 研究班会議(5月23日、東京)での報告と概要
(全般的な方向性)

- 症例登録の遅れは震災の影響だけでは説明困難。改善すべき点として、症例登録拡充に向けて具体的な方策が必要との指摘。140 例に達することを評価委員会として強く要望すること。
- 本日 90 例に到達したが、各施設の目標症例数(残り症例数)を現実的な数字に見直した。達成困難とのことであれば早急に他施設に振り替えることを考えますので連絡下さい。
- 国民の税金で行なう研究なので、成果達成義務があること、未達の場合、参加施設全体の連帯責任となるので、症例登録に全施設ご協力いただきたい。

(NPI-Q 評価の統一について)

- 各項目の質問に入る前に全体的にこの 4 週間の変化をどうとらえているか確認すると、情報提供者は過去を振り返ることができるので、そうした機会をつくと良い。
- 1つの印象的な出来事に対して混乱しているときには、受け止めつつも質問の内容に戻していくようにする。
- 質問に文章が 2 つ(2 項目)ある場合は、どちらか一方があてはまれば良い。
- 評価に際しては前回のコピーは必ずとって置き、それを見ながら 2 回目以降の評価を実施する(微妙な違いを評価する)。比べるのは 1 回目の評価ではなく、前回の評価。