

II-B-10

加味温胆湯による ChAT 及び NGF 誘導メカニズムの検討

北里研究所・東洋医学総合研究所

○矢部武士、鳥居塚和生、山田陽城

【目的】我々は既に加味温胆湯の経口投与が前脳基底核破壊ラットや老齢ラットなどの痴呆モデル動物の低下した記憶学習能力を改善させること、またその改善効果に choline acetyltransferase (ChAT) や nerve growth factor (NGF) の発現増加などが関与していることを in vivo 及び in vitro の系により明らかにしてきた^{1),2),3)}。そこで今回、加味温胆湯の ChAT 及び NGF の直接的な誘導作用の作用メカニズムを明らかとするために前脳基底野初代培養細胞やアストログリア細胞を用い、活性発現に関するシグナル伝達系や転写因子の解析を行った。

【方法】1. 前脳基底野初代培養細胞の調製；E17-19 の Wistar 系ラットの胎児脳より前脳基底野部分を切りだしパパイソ消化した後に 5% 牛胎児血清、5% 馬血清を含む DF 培地に懸濁し 1×10^6 cells/well となるように 24 穴のプレート (Primaria, Falcon) に細胞をまき、5% CO₂ 下、37°C で培養した。2. アストロサイトの調製；E18 のラット胎児脳より調製した大脳皮質初代培養細胞より継代培養を行うことで神経細胞を排除した細胞を実験に用いた。3. ChAT 活性の測定；1 週間予備培養した前脳基底野細胞に加味温胆湯エキス (200 µg/ml) 及び各種リン酸化酵素阻害剤を添加し 3 日後の細胞中の ChAT 活性を Fonnum の方法により測定した。4. NGF 量の測定；静止期に誘導したアストロサイトに加味温胆湯エキスを添加し 24 時間後の培養上清中の NGF 含量を ELISA 法により定量した。

【結果及び考察】加味温胆湯による ChAT 活性増加作用は A-カイネース阻害剤 H-89 の添加により消失したことから、細胞内 cyclic AMP を介した機序が推定された。一方、加味温胆湯による NGF 産生増加作用は H-89 及び Ca²⁺/カルモジュリン依存性カイネース阻害剤 KN-62 により阻害されたことから、細胞内 cyclic AMP 及び Ca²⁺ を介した複合的な作用である可能性が推定された。また NGF mRNA 発現量の増加に先立って c-fos mRNA 量の増加が認められたことや、c-fos アンチセンスオリゴヌクレオチドにより加味温胆湯による NGF 産生促進作用が有意に減少したことなどから転写因子 AP-1 の関与が推定された。

1) T. Yabe et al. *Phytomedicine*, 2, 41-46, 19952) T. Yabe et al. *Phytomedicine* 2, 45-50, 1996

3) 矢部ら 第12回和漢医薬学会大会要旨集 P. 99