

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K16456

研究課題名(和文) 抗血小板薬シロスタゾールが脳卒中後の遷延性気分障害に及ぼす影響

研究課題名(英文) The effects of cilostazol on the monoamine transporter, which is known as cellular target of antidepressants

研究代表者

伊藤 英明 (Itoh, Hideaki)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：30609201

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：シロスタゾールは脳卒中後の再発予防として抗血小板薬として投与されるが、一方でアパシーに対して効果があったとの報告もあるが、その機序は明らかでない。そこで培養細胞を使用してノルエピネフリントランスポーター(NET)およびセロトニントランスポーター(SERT)に対する効果を検討した。シロスタゾールはNETおよびSERTをともに濃度依存的に抑制し、臨床濃度でコントロールの約7割程度の取り込み抑制効果を認めた。共焦点レーザー顕微鏡での観察では、細胞膜表面のSERT量を減少させた。以上より、NETやSERTの機能を抑制することにより脳卒中後の遷延性気分障害の予防や改善に寄与する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳卒中後の遷延性気分障害はリハビリテーション実施の大きな阻害要因になる。今回、培養細胞において抗血小板薬であるシロスタゾールが抗うつ薬と類似したやや弱い作用を持つことが示唆されたことは、シロスタゾールがアパシーやうつ症状などの遷延性気分障害の改善に寄与する可能性が示唆され、今後脳梗塞後の再発予防として投与される抗血小板薬の選択に影響を及ぼす可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：Introduction: The antidepressive effects of cilostazol on post-stroke depression have been reported, but the exact mechanism of this action is unknown. The aim of this study was to investigate the direct effects of cilostazol on NET and SERT function. Methods: SK-N-SH and SERT-transfected COS-7 cells were incubated with [3H]norepinephrine (NE) or [3H]serotonin (5-HT) in the presence or absence of cilostazol to assess the monoamine uptake. Results: Cilostazol decreased the [3H]NE uptake by SK-N-SH cells and the [3H]5-HT uptake by SERT-transfected COS-7 cells in a concentration-dependent manner. Conclusions: The blood concentration of cilostazol in treating patients with cerebrovascular disease has been reported to be 13.8 μM after a single oral dose of 100 mg. These results indicate that cilostazol inhibit NET and SERT function at clinically relevant concentration, which is likely to show the antidepressant effect on post-stroke depression.

研究分野：リハビリテーション

キーワード：シロスタゾール 抗血小板薬 脳卒中後うつ 遷延性気分障害 ノルエピネフリントランスポーター  
セロトニントランスポーター アパシー

## 1. 研究開始当初の背景

「脳卒中後のうつ(PSD:Post-stroke depression)」は、しばしば遭遇するリハビリテーション医療の課題であり、「脳卒中ガイドライン」によれば、うつ状態に対して早期に三環系抗うつ薬(TCA)、選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬などの抗うつ薬を開始することが推奨されている(グレードB)。脳卒中後うつの発症頻度は報告により異なるが15~60%と報告されており、当科の予備的研究「脳卒中後うつ状態に関する回復期リハ病棟共同研究」によれば、脳卒中後うつの有症率は17.2%であった。脳卒中後うつを合併した場合、リハビリテーションの進行に影響を及ぼしてADLが低下したとの報告もあり、脳卒中後うつの治療がリハビリテーションの進行を円滑にして最終的な脳卒中の障害を軽減する可能性がある。ただ一方で意欲の低下や抑うつ状態に対する抗うつ薬の過剰な投与は眠気などを引き起こし、リハビリテーションの阻害因子ともなりうるので投与用量には十分配慮する必要があり、安易な抗うつ薬の投与は避ける必要があるのが現状である。

ノルエピネフリン(NE)、ドパミン(DA)、セロトニン(5-HT)などのモノアミンは気分障害、統合失調症、薬物依存などの精神疾患の病態に深く関わっている。神経終末から放出されたNE, DAおよび5-HTは、それぞれに固有の細胞膜トランスポーターによりシナプス間隙から速やかに除去されることにより神経伝達が終息するが、これらモノアミントランスポーター機能を抑制する薬物であるイミプラミン(TCA)、パロキセチン(SSRI)、ミルナシبران(SNRI)などは抗うつ作用を示す。

脳梗塞後の再発予防として投与される抗血小板薬の1つにシロスタゾールが挙げられるが、シロスタゾールは近年脳梗塞後の遷延性気分障害に対する改善効果の報告があり(高橋ら, 精神経誌2012)、脳卒中後のアパシーに対する効果も報告されている(Junko Ishizaki et al, Depression Research and Treatment, 2011)。

シロスタゾールは、血小板または血管平滑筋のホスホジエステラーゼ(PDE3)の活性を選択的に阻害することでcAMPの分解を抑制し、増加したcAMPによりプロテインキナーゼA(PKA)の活性型が増え、血小板の凝集を抑制する。PKAは平滑筋の収縮に関与するミオシン軽鎖キナーゼを抑える働きがあるため血管拡張作用も引き起こすとされているが脳卒中後の遷延性気分障害に対する効果についての作用機序は明らかでない。そこで今回、抗血小板薬であるシロスタゾールの気分障害に対する改善効果の報告をもとに、シロスタゾールが抗うつ薬の標的蛋白であるモノアミントランスポーターに及ぼす影響について検討することにした。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、抗血小板薬であるシロスタゾールが抗うつ薬の標的蛋白であるノルエピネフリントランスポーター(NET)およびセロトニントランスポーター(SERT)に及ぼす効果と機序について、培養細胞を用いて検討することである。シロスタゾールによる意欲改善の作用機序を解析することで、脳卒中後うつやアパシーなどの気分障害に対する薬物治療についてリハビリ医学的な観点からの指針を提示したいと考えた。

## 3. 研究の方法

神経細胞機能モデル系として各種薬物の影響に用いられるヒト神経芽細胞腫由来のSK-N-SH細胞およびSERTを遺伝子導入したアフリカミドリザル腎由来のCOS細胞を、10~100 $\mu$ Mの各濃度のシロスタゾールで処理した後、 $^3$ H]NE(ノルエピネフリン)と $^3$ H]5-HT(セロトニン)それぞれと10分間反応させ、細胞内への取り込みを液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。またシロスタゾールの作用機序の検討として蛍光タンパク質である緑色蛍光タンパク質(Green Fluorescent Protein: GFP)をSERTに発現させて遺伝子導入した培養COS細胞にシロスタゾールを反応させ、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。

## 4. 研究成果

SK-N-SH細胞を用いてシロスタゾールのNET機能に及ぼす効果を調べたところ、濃度依存性にNET機能を抑制することが判明した(図1)。またアフリカミドリザルの腎臓由来のCOS細胞にセロトニントランスポーター(SERT)を遺伝子導入して、シロスタゾールがSERT機能に及ぼす影響を調べたところ濃度依存的に抑制することが明らかとなった(図2)。以上より、抗血小板薬であるシロスタゾールは、培養細胞において濃度依存的(10~100 $\mu$ M)にNETおよびSERT機能を抑制することが明らかとなった。

図1 SK-N-SH細胞におけるノルエピネフリン取り込み

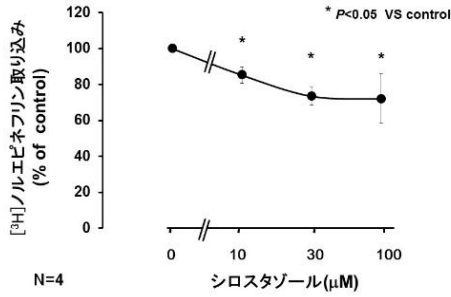
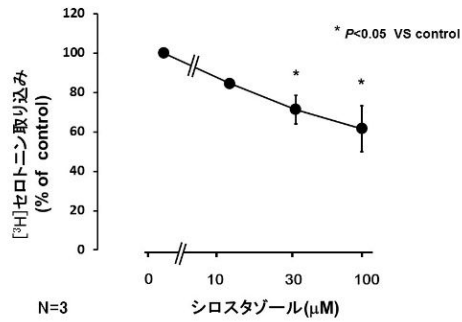


図2 COS細胞におけるセロトニン取り込み



シロスタゾールの最高血中濃度 (Cmax) は 13.8μM であり、今回の解析では 10μM で有意な抑制効果を認めていることから、有効血中濃度で効果を発揮する可能性が考えられた。

また蛍光タンパク質である緑色蛍光タンパク質 (Green Fluorescent Protein : GFP) を SERT に発現させて遺伝子導入した培養 COS 細胞にシロスタゾールを反応させ、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察したところ、SERT が細胞膜表面から細胞内部へ向かって時間経過とともに転移する様子が観察された。すなわちシロスタゾールが細胞膜表面の SERT の量を減らすことにより、セロトニン再取り込みを抑制したと考えられた。以上の結果より、細胞レベルの検討では抗血小板薬のシロスタゾールが NET や SERT の機能を抑制しており、この効果が脳卒中後の遷延性気分障害の予防や改善に寄与する可能性が考えられた。

体内にはホメオスタシス機能があるため論理が飛躍する可能性があるが、抗血小板薬であるシロスタゾールが有効血中濃度でノルエピネフリントランスポーターとセロトニントランスポーターを抑制すると、シナプス間隙のノルエピネフリンやセロトニンを増加する可能性があり、シロスタゾールが抗血小板薬でありながら軽度の抗うつ作用を発揮する可能性が考えられる。培養細胞ではシロスタゾールの有効血中濃度に近似する 10μM で 2 割程度の抑制にとどまっているが (抗うつ薬ではほぼ 10 割の抑制) 逆にいえば気分障害に対して徐々に効果を発揮しつつ眠気などの副作用を起こしにくいともいえる。

今回の研究で抗血小板薬・シロスタゾールによる脳卒中後の気分障害に対する改善効果について、抗うつ薬の作用点であるモノアミントランスポーターの抑制効果という機序の一端を示せた可能性があると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 伊藤英明、松嶋康之、佐伯 覚
2. 発表標題 抗うつ薬の標的蛋白であるモノアミントランスポーターに対する抗血小板薬・シロスタゾールおよび脳代謝改善薬・ニセルゴリンの作用
3. 学会等名 第53回日本リハビリテーション医学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Hideaki Itoh, Yumiko Toyohira, Yasuyuki Matsushima, Nobuyuki Yanagihara, Satoru Saeki
2. 発表標題 Cilostazol decreases the function of norepinephrine transporter and serotonin transporter, which is known as cellular target of antidepressants.
3. 学会等名 10th World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 伊藤英明、佐伯 覚
2. 発表標題 脳代謝改善薬および抗血小板薬が抗うつ薬の標的であるモノアミントランスポーターに及ぼす効果
3. 学会等名 第11回日本リハビリテーション医学会 専門医会 学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 伊藤英明、豊平由美子、松嶋康之、柳原延章、佐伯 覚
2. 発表標題 Cilostazol shows the possibility of antidepressant effects on post-stroke depression
3. 学会等名 3rd European Stroke Organization Conference (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤英明、佐伯 覚
2. 発表標題 抗血小板薬シロスタゾールによる抗うつ作用とモノアミントランスポーターとの関連
3. 学会等名 第54回 日本リハビリテーション医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤英明、豊平由美子、松嶋康之、佐伯 覚
2. 発表標題 The effects of cilostazol on the monoamine transporter, which is known as cellular target of antidepressants
3. 学会等名 26rd European Congress of Psychiatry (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤英明、豊平由美子、柳原延章、佐伯 覚
2. 発表標題 抗血小板薬シロスタゾールはモノアミントランスポーター機能を抑制する
3. 学会等名 第46回 日本心臓血管作動物質学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤英明、佐伯覚
2. 発表標題 The effects of cilostazol on the monoamine transporter, which is known as cellular target of antidepressants
3. 学会等名 26rd European Congress of Psychiatry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤英明、佐伯覚
2. 発表標題 Cilostazol shows the possibility of effect for post-stroke depression and apathy
3. 学会等名 12th World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ISPRM) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤英明、佐伯覚
2. 発表標題 抗血小板薬・シロスタゾールがモノアミン機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第4回 黒潮カンファレンス
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