

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 12 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24700576

研究課題名(和文)脳梗塞後遺症に対する脳循環・代謝改善薬(ニセルゴリン)の気分障害への効果

研究課題名(英文) Nicergoline, an ameliorator of cerebral circulation and metabolism, decreases the norepinephrine transporter, which are known as intracellular targets of antidepressants.

研究代表者

伊藤 英明 (ITO, 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) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：脳梗塞後の脳循環代謝改善薬であるニセルゴリンの意欲改善効果について、その機序を検討するために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を細胞レベルで検討した。ヒト神経芽細胞腫由来のSK-N-SH細胞において、ニセルゴリンが濃度依存性、非競合的にノルエピネフリントランスポーター機能を抑制した。セロトニントランスポーターを遺伝子導入したアフリカミドリザル腎臓由来のCOS-7細胞において、ニセルゴリンはセロトニントランスポーター活性の抑制効果は示さなかった。雄性マウスにニセルゴリンを投与したところ、抗うつ効果を評価する強制水泳テストにおいて、明らかな増強効果は認めなかった。

研究成果の概要(英文)：Nicergoline is an ergoline derivative used to treat various symptoms related to cerebrovascular disease. There have been some studies that may support a trial of nicergoline for post-stroke depression, but the exact mechanism of the action is unknown. The aim of this study was to examine the effects of nicergoline on the norepinephrine transporter and serotonin transporter (SET), which are known as intracellular targets of antidepressants. Nicergoline decreased the [3H]norepinephrine uptake by SK-N-SH cells in a concentration-dependent manner (0.1-10 μ M). Nicergoline decreased the [3H]serotonin uptake by SET-transfected COS-7 cells in the concentration of 100 μ M. In the FST, combined treatment with imipramine and nicergoline reduced the immobility time more than the treatment with imipramine alone. The present findings suggest that nicergoline may decrease neuronal monoamine uptake, which could be useful for the treatment of post-stroke depression.

研究分野：リハビリテーション医学

キーワード：ニセルゴリン 脳循環代謝改善薬 意欲低下 ノルエピネフリントランスポーター 抗うつ薬 セロトニントランスポーター 脳卒中後うつ

1. 研究開始当初の背景

脳卒中後のうつは、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、早期に抗うつ薬を開始することが推奨されている。しかし抗うつ薬には副作用も多く、うつではなく意欲低下のみを呈する脳卒中患者に対しては、抗うつ薬を投与するか否かの議論もある。ニセルゴリンは脳梗塞後遺症患者の脳循環改善や血小板凝集抑制の目的で投与され、意欲改善の効果が期待されている。しかし、どのような薬理学作用により意欲が改善するのか明らかでない。そこでニセルゴリン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やセロトニントランスポーターに及ぼす効果や薬理学的作用について、細胞レベルから動物レベルまでの実験系を用いてその機序を解明することにした。

2. 研究の目的

脳卒中後うつに対する治療として、三環形抗うつ薬、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(SNRI)などの抗うつ薬が用いられるが、これらは気分障害を改善するが、一方で眠気・ふらつきなどを引き起こしやすく、これらの症状はリハビリテーション阻害要因にもなりうる。脳循環代謝改善薬・ニセルゴリンは脳梗塞後に脳循環代謝改善の目的で投与されるが、効能として意欲低下改善効果も明記されている。ただこの作用がどのような作用によるものかは明らかにされていない。

ノルアドレナリン(NAd)、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NAd、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)、ミルナシプラン(SNRI)などは抗うつ作用を示す。

そこで脳循環代謝改善薬・ニセルゴリンがモノアミントランスポーターに及ぼす影響について、各種薬物の影響の検討に用いられるヒト神経芽細胞種由来のSK-N-SH細胞、セロトニントランスポーターを遺伝子導入したアフリカミドリザル腎臓由来のCOS-7細胞を用いて検討した。さらにニセルゴリン単独および抗うつ薬と併用した場合の抗うつ作用について、マウスを用いた強制水泳試験で行動薬理学的に検討した。

3. 研究の方法

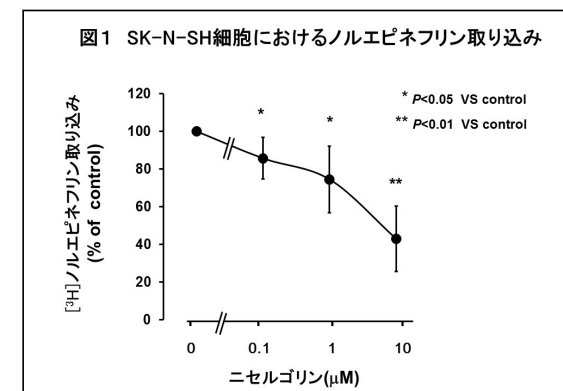
(1)培養細胞を用いたモノアミントランスポーター機能に対するニセルゴリンの効果の

検討については、ヒト神経芽細胞種由来のSK-N-SH細胞やセロトニントランスポーター(SERT)を遺伝子導入したアフリカミドリザルの腎臓由来であるCOS-7細胞を用いてトランスポーター活性に対するニセルゴリンの作用を検討した。ノルアドレナリントランスポーター(NAT)活性は ^3H NAdを、セロトニントランスポーター(SERT)活性は ^3H 5-HTを基質として細胞内に取り込まれる量をシンチレーションカウンターにて測定した。また細胞膜上に発現するトランスポーター蛋白量とこれに対するニセルゴリンの作用を ^3H ニソキセチンをリガンドとして用いた結合実験にて検討した。

(2)マウスを用いたニセルゴリンの抗うつ薬の評価について、Jcl-ICR系雄性マウス(体重25-35g)に対して注射による腹腔内投与を行った。対照群として溶媒を投与したマウスを用意した。急性投与による薬効評価として薬物投与30分後に行動実験を実施した。実施する行動実験としては抗うつ作用を評価する試験として代表的である強制水泳試験を実施した。

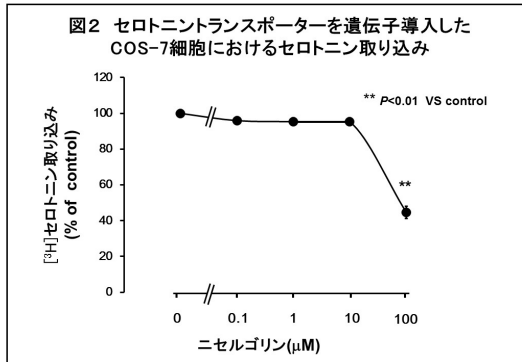
4. 研究成果

SK-N-SH細胞における ^3H NAd取り込みは、ニセルゴリン処理濃度(0.1 μM -10 μM)依存性に抑制された(図1)。



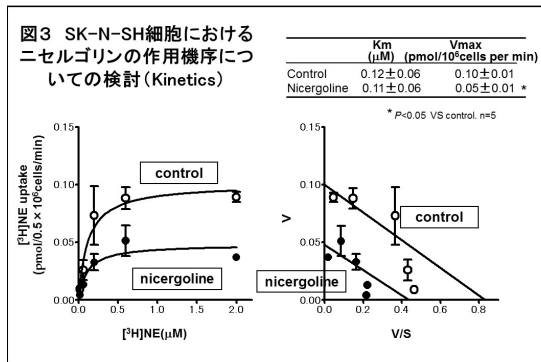
ニセルゴリンの有効血中濃度は0.12-0.2 μM と報告されており、有効血中濃度で有意なNAT取り込みの抑制を認めたと考えられた。

SET遺伝子を導入したCOS-7細胞における ^3H 5-HT取り込みを図2に示す。



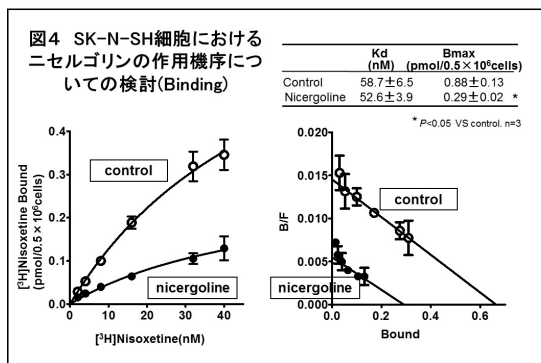
ニセルゴリン濃度 100μM と臨床濃度よりかなり高濃度でのみ抑制され、これは toxic な影響と考えられた(図2) . ニセルゴリンは SERT トランスポーター活性を抑制しないと考えられた .

Kinetics の検討を図3 に示す .



Eadie-Hofstee 解析にてニセルゴリンによる [3H]NAD 取り込みの抑制作用は、最大取り込み能 (Vmax) の減少によるもので、NAT の親和性を示すミカエリス定数 (Km) に変化は見られなかった .

SK-N-SH 細胞を用いた結合実験の結果を図4 に示す .



ニセルゴリンは最大結合能 (Bmax) を減少させ、解離定数 (Kd) を変化させない非競合阻害を示した .

また Protein kinase C 阻害薬や Protein kinase A 阻害薬、MAP kinase 阻害薬はニセルゴリンによる NAT 機能の抑制を阻害せず、

これらの蛋白合成シグナルは関与していないと考えられた .

ニセルゴリン投与およびイミプラミン (三環系抗うつ薬) 投与後の強制水泳試験の結果を図5 に示す .

図5 強制水泳試験における無動時間

投与群	無動時間 (秒)
コントロール	90.5 ± 12.5
イミプラミン	59.9 ± 8.8 *
ニセルゴリン	89.9 ± 17.3
ニセルゴリン+イミプラミン	55.8 ± 14.7 *

N=10

* P < 0.05 VS control

コントロールに対してイミプラミン投与では有意に無動時間を短縮させた . ニセルゴリン単独投与ではコントロール群比べて有意に短縮されなかったが、ニセルゴリン+イミプラミン群ではイミプラミン群に比べて平均の無動時間をやや短縮する効果があった . 動物行動実験より、ニセルゴリン投与ではイミプラミンによる無動時間短縮効果をやや増強させた .

以上の研究結果より、SK-N-SH 細胞において、ニセルゴリンは有効血中濃度でノルエピネフrintトランスポーター機能を非競合的に抑制し、一方でセロトントランスポーター機能に対しては明らかな抑制効果を認めないことが明らかとなった . 以上のことより、脳循環代謝改善薬・ニセルゴリンはノルエピネフrintトランスポーター機能を抑制し、シナプス間隙のノルエピネフリン量を増加させることが意欲改善効果の一部分を担っている可能性が考えられた .

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 10 件)

2014 年 11 月 22 日 第 7 回トランスポーター研究会 九州部会 産業医科大学ラマツィーニホール (北九州)

モノアミントランスポーターに対する脳循環代謝改善薬・ニセルゴリンの効果

伊藤英明, 豊平由美, 松嶋康之, 上野 晋, 佐伯 覚, 柳原延章

2014 年 10 月 23 日 The 9th World stroke congress, Istanbul (Turkey)

Nicergoline and Cilostazol decreases the function of norepinephrine transporter, which is known as cellular target of

antidepressants.

Hideaki Itoh, Yasuyuki Matsushima, Yumiko Toyohira, Susumu Ueno, Satoru Saeki, Nobuyuki Yanagihara

2014年6月5日 第51回日本リハビリテーション医学会 名古屋国際会議場(名古屋)

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に対する脳循環代謝改善薬の効果

伊藤英明, 松嶋康之, 佐伯 覚, 蜂須賀研二

2014年5月7日 The 23rd European Stroke conference, Nice(France)

Nicergoline, an ameliorator of cerebral circulation and metabolism, decreases the norepinephrine transporter, which are known as intracellular targets of antidepressants.

Hideaki Itoh, Yasuyuki Matsushima, Yumiko Toyohira, Susumu Ueno, Satoru Saeki, Nobuyuki Yanagihara, Kenji Hachisuka

2013年11月9日 The 43rd annual meeting of the Society for Neuroscience, San Diego(USA)

Nicergoline decreases the function of norepinephrine transporter

Hideaki Itoh, Yasuyuki Matsushima, Yumiko Toyohira, Susumu Ueno, Satoru Saeki, Nobuyuki Yanagihara, Kenji Hachisuka

2013年6月29日 第13回日本NO学会学術集会沖縄医師会館(那覇)

ニセルゴリンによるノルエピネフリントランスポーター機能抑制に対する一酸化窒素合成酵素の関与についての検討

伊藤英明, 豊平由美, 松嶋康之, 上野 晋, 佐伯 覚, 柳原延章, 蜂須賀研二

2013年6月13日 第50回日本リハビリテーション医学会 東京国際フォーラム(東京)

脳循環改善薬・ニセルゴリンによるノルエピネフリントランスポーター機能の抑制機序についての検討

伊藤英明, 松嶋康之, 佐伯 覚, 蜂須賀研二

2013年3月21日 第38回脳卒中学会総会, グランドプリンスホテル新高輪(東京)

脳循環改善薬・ニセルゴリンはノルエピネフリントランスポーター機能を抑制する

伊藤英明, 松嶋康之, 佐伯 覚, 蜂須賀研二

2012年10月11日 8th World stroke congress Brasilia(Brazil)

The effects of nicergoline, an ameliorator of cerebral circulation and metabolism, on the monoamine transporter

Hideaki Itoh, Yumiko Toyohira, Yasuyuki Matsushima, Susumu Ueno, Satoru Saeki, Nobuyuki Yanagihara, Kenji Hachisuka

2012年6月1日 日本リハビリテーション医学会 福岡国際会議場・福岡サンパレス(福岡)

脳循環改善薬・ニセルゴリンがモノアミント

ランスポーターに及ぼす影響

伊藤英明, 松嶋康之, 佐伯 覚, 蜂須賀研二

6. 研究組織

(1) 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