

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461742

研究課題名(和文)クロザピンの治療抵抗性統合失調症のP糖タンパク質を介した作用機序解明の検討

研究課題名(英文)The investigation for relation between the mechanism of P-glycoprotein and treatment-resistant schizophrenia effective Clozapin

研究代表者

長田 賢一 (kenichi, osada)

聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20233504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：P糖蛋白質(P-gp)は、脳血液関門で薬物の流通を調節する蛋白であり、治療抵抗性統合失調症治療薬であるクロザピンはP-gpの基質ではないが、殆どの抗精神病薬はP-gpの基質でありP-gpにより排出される。

本研究の結果からP-gpの基質であるアリピプラゾール長期投与によりP-gp発現が誘発され、増加したP-gpにより、ジゴキシンが脳内から血清に排出されジゴキシン脳/血清比が低下した。しかしクロザピン長期投与後はP-gp発現に影響がなかった。従ってP-gpの基質である抗精神病薬の長期投与によりP-gp発現が誘発され、脳内から抗精神病薬が排出され治療抵抗性統合失調症が形成されていると考えられる。

研究成果の概要(英文)：P-glycoprotein (P-gp) influences the distribution of drugs across the blood-brain barrier, and is capable of transporting antipsychotic drugs such as aripiprazole and risperidone. Clozapine, which is used clinically for treatment-resistant schizophrenia, is not a P-gp substrate. C57BL/6 mice were orally administered aripiprazole, blonanserin, or clozapine at 10 mg/kg once daily for 6 weeks, and P-gp mRNA (Abcb1a/Abcb1b) and protein (Abcb1a/Abcb1b) expression levels were measured.

This is the first report that chronic aripiprazole treatment increases P-gp mRNA and protein expression in animals, which is associated with the inhibition of digoxin excretion from the brain. These results suggest that increased P-gp expression induced by aripiprazole is mediated by its interaction with P-gp.

研究分野：神経精神医学

キーワード：P糖蛋白質 治療抵抗性統合失調症 クロザピン アリピプラゾール ジゴキシン

1. 研究開始当初の背景

(1)近年、薬物の血液脳関門透過性においてP糖タンパク質が、重要であることが解明された。P糖タンパク質は脳毛細血管内皮に存在し、血液脳関門において薬物を汲み出しポンプ作用により、一度、血液脳関門を通過した脳内の薬物を血管内に排除する機構をもっていることが明らかになった。

(2)申請者らは、P糖タンパク質ノックアウトマウスを用い、リスペリドンはAUCで10倍、パリペリドンはAUCで25倍の薬物濃度がP糖タンパク質で脳内から排出されているが、プロナンセリンはP糖タンパク質の基質とならない非定型抗精神病薬であることを解明した(British Journal of Pharmacology 2011)。

(3)ヒトでもP糖タンパク質遺伝子多型(3435T/2677T/1236T)はリスペリドンの血中濃度が増加するとの報告がある(Gunes A, Ther Drug Monit.;30(5),2008)。慢性統合失調症と健常者をPETで比較した報告では(de Klerk OL, Psychiatry Res. 30;183(2): 2010)、側頭葉基底核、扁桃体が著明にP糖タンパク質の排出機能が増加していたことは、統合失調症の難治症例はP糖タンパク質が増加している可能性を示唆した。

2. 研究の目的

治療抵抗性の統合失調症患者に対する適用がある唯一の抗精神病薬はクロザピンである。このクロザピンも、P糖タンパク質の基質とならず抑制作用がないことが報告されている(Wang JS, Psychopharmacology (Berl).187(4):2006)。そのためクロザピンは脳内から排出されずに治療抵抗性統合失調症患者に効果がある可能性があるが未だ、P糖タンパク質を介した治療抵抗の機能の研究はされていない。従って、P糖タンパク質の抑制作用がない薬物が、治療抵抗性統合失調症の治療に有効である可能性が非常に高いと考えられる。このP糖タンパク質を介した治療抵抗性統合失調症の機構の解明が、最終的には有効な治療の発見となると思われる。そこで本研究では、初めにクロザピンが治療抵抗性統合失調症に対して有効である真の機構をP糖タンパク質の発現を中心に解明する。

3. 研究の方法

C57BL/6マウスに対し、アリピプラゾール、クロザピンをそれぞれ10mg/kg/日の用量で、6週間経口投与を行った。最終投与より6時間後に採血・断頭し、P糖タンパク質のmRNAであるabcb1a、abcb1bをreal-time PCRを用いて測定しmRNAレベルについて検討した。

P糖タンパク質のタンパク質の発現量はイムノプロットを用いて測定した。

さらにジゴキシンを断頭前に投与し、ジゴ

キシンの脳内濃度、血漿中濃度を測定しP糖タンパク質の機能をジゴキシンを用いて評価した。

4. 研究成果

P糖タンパク質(P-gp)は、脳血液関門を介した薬物の流通に影響する膜蛋白であり、抗精神病薬はほとんどがP-gpの基質でありP-gpにより輸送される。一方、治療抵抗性の統合失調症の治療薬であるクロザピンはP-gpの基質でないことが知られている。また、ジゴキシンはP-gpの基質であり、P-gpの薬物排出機能を評価する際に広く用いられる。

我々はC57BL/6マウスに10mg/kg/日のアリピプラゾール、クロザピンを6週間に渡って経口投与した。アリピプラゾール6週間投与群では、P-gpのmRNA発現は、Abcb1aが1.49、Abcb1bが2.11倍増加していた。しかし、クロザピン6週間投与群ではP-gpのmRNA発現は変化がなかった(図1、図2)。

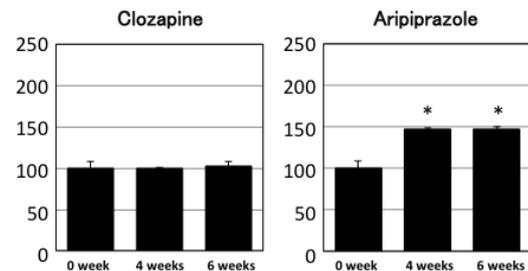


図1.クロザピン、アリピプラゾール6週間投与後のAbcb1aの発現の継続的変化; *, p < 0.05;

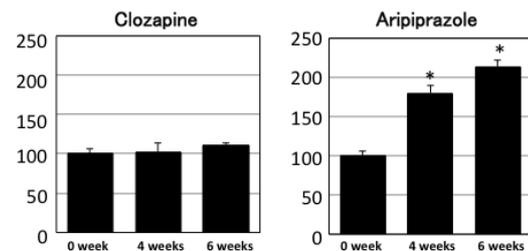


図2.クロザピン、アリピプラゾール6週間投与後のAbcb1bの発現の継続的変化; *, p < 0.05;

またP-gpのタンパク質発現も、アリピプラゾール4週後には139.52%、6週後には151.08%増加していた。クロザピン4週、6週間投与群ではP-gpのタンパク質発現も変化がなかった。

またP-gpの機能を調べるために、ジゴキシンの血漿中濃度、脳内濃度、脳/血漿濃度比を測定した。クロザピン投与群では有意差を認めなかったが、アリピプラゾール6週間投与群では、ジゴキシン血中濃度が1.59倍増加し、ジゴキシン脳/血清比は0.69倍と低下した(図3、図4、図5)。

これらの結果は、P-gpの基質であるアリピプラゾール長期投与によってP-gp発現が誘発され、増加したP-gpにより、ジゴキシンを脳内から血清に排出され、血清ジゴキシン濃度が増加し、ジゴキシン脳/血清比が低下したと考えられた。しかし、P-gpの基質でないクロザピンは長期投与後もP-gp発現に影

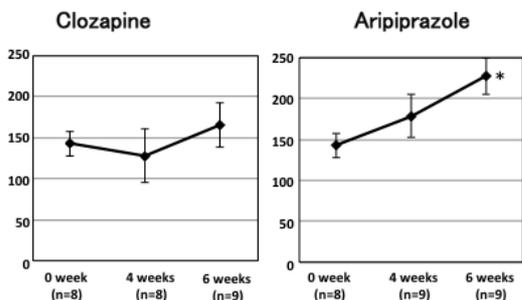


図 3.クロザピン、アリピプラゾール6週間投与後のジゴキシン血中濃度の継時的変化; *, p < 0.05;

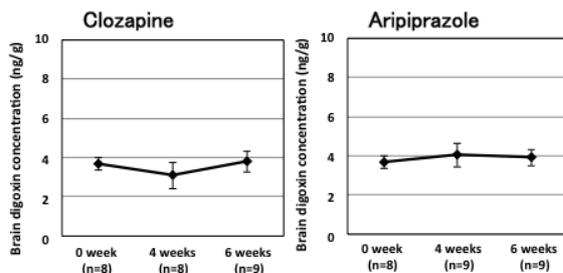


図 4.クロザピン、アリピプラゾール6週間投与後のジゴキシン脳内濃度の継時的変化; *, p < 0.05;

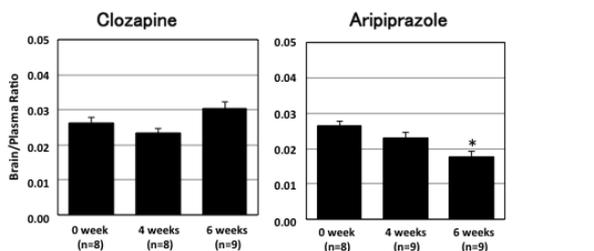


図 5.クロザピン、アリピプラゾール6週間投与後のジゴキシン脳内濃度/血清濃度比の継時的変化; *, p < 0.05;

響がなかった。このことは、P-gp の基質である抗精神病薬の長期投与により P-gp 発現が誘発され、脳内から抗精神病薬の排出が行われるための治療抵抗性統合失調症が形成されている可能性を示唆した。

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 2 件)

浅利翔平、長田 賢一、渡邊高志、芳賀俊明、古茶大樹、エスシタロプラム長期投与による脳内ジゴキシン濃度の検討、聖マリアナ医科大学雑誌、44、221-229、2017

渡邊高志、長田賢一、芳賀俊明、武藤亜矢、小川百合子、田口 篤、浅利翔平、中野三穂、貴家康男、山口 登、アリピプラゾールの長期投与によるジゴキシンの血中/脳内濃度の変化、聖マリアナ医科大学雑誌、42(4)、223-231、2015

[学会発表](計 7 件)

T. WATANABE, K. OSADA, T. HAGA, A.

MUTO, Y. OGAWA, A. TAGUCHI, M. NAKANO, Y. SASUGA, N. YAMAGUCHI. The association between atypical antipsychotic drugs with P-glycoprotein in the mice brain, 2014 Neuroscience meeting, 2014-11,ワシントン、

A. TAGUCHI, T. WATANABE, K. OSADA, T. HAGA, A. MUTO, Y. OGAWA, M. NAKANO, Y. SASUGA, N. YAMAGUCHI. The

investigation of the drug transporter regulated milnacipran in the hippocampal neuronal in vitro system of HT22 cells. 2014-11,ワシントン、

渡邊高志、長田賢一、芳賀俊明、小川百合子、田口篤、藤原圭亮、柳田拓洋、中野三穂、貴家康男、松井、山口登、新規抗精神病薬の長期投与後の脳における P 糖蛋白の機能、第 33 回生物学的精神医学会、2014-10、福岡、

浅利翔平、長田賢一、渡邊高志、芳賀俊明、古茶大樹、抗うつ薬の長期投与後の脳における P 糖タンパク質糖タンパク質の検討、第 46 回日本神経精神薬理学会、2016-09、ソウル、

浅利翔平、長田賢一、渡邊高志、芳賀俊明、古茶大樹、SSRI および SNRI の長期投与後の脳における P 糖蛋白の検討、第 38 回生物学的精神医学会、2016-09、福岡、

長田賢一、浅利翔平、渡邊高志、芳賀俊明、古茶大樹、抗うつ薬長期投与後における P 糖蛋白質の機能検討、第 35 回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会、2016-11、山口、

Shohei Asari, Kenichi Osada, Takashi Watanabe, Toshiaki Haga, Hiroki Kocha, The function of P-glycoprotein after chronic treatment with antidepressant drugs in the mice, 2016 Neuroscience meeting, 2016-11、ニューオリンズ、

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長田 賢一 (Osada Kenichi)
聖マリアンナ医科大学・医学部・准教授
研究者番号：20233504

(2) 研究分担者

芳賀 俊明 (Hga Toshiaki)
聖マリアンナ医科大学・医学部・研究技術
員
研究者番号：80535625