

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

浅利 翔平

専攻分野：神経精神科学

コース：

指導教授：古茶 大樹

主論文の題目：

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

共著者：

長田 賢一、渡邊 高志、芳賀 俊明、古茶 大樹

緒言

P糖蛋白質(P-gp)は脳、肝臓や腎臓などに存在する膜蛋白質であり薬物輸送に大きな役割を担っている。選択的セロトニン再取り込み阻害薬であるエスシタロプラムは、P-gpの基質であり、P-gpを介して脳内から血漿中へ輸送される。またジゴキシンもP-gpの基質であることが知られており、P-gpの薬物輸送機能を評価する際に広く用いられている。これまで、短期間の抗うつ薬投与によるP-gpに対する影響について報告はあるが、抗うつ薬の長期投与によるP-gpの機能への影響を検討した報告はない。本研究ではエスシタロプラムの長期投与によるP-gpへの影響について検討した。

方法・対象

C57BL/6マウスに10 mg/kg/dayのエスシタロプラムを6週間に渡って経口で長期投与を行い、解剖2時間前に2 mg/kgのジゴキシン単回腹腔内投与を行いジゴキシンの脳内濃度及び血漿中濃度を測定した。またルシフェラーゼ発光反応によりATPaseに対する活性化作用を測定するこ

とでエスシタロプラムのP-gp活性への影響について検討した。この際ポジティブコントロールとしてP-gpの活性化剤であるベラパミルを使用した。

実験結果は、平均値±標準誤差により示した。ジゴキシン濃度およびジゴキシン脳/血漿濃度比についての統計的有意性はANOVA分散分析法にて3群間に有意差があることを確認した後、Tukey-Kramer法にて群間の差を検定した。マウスの体重についてはTukey法を用いて検定した。検定にはJMPソフトウェア10.0.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA)を使用した。危険率 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

なお本研究は聖マリアンナ医科大学大学院実験動物飼育管理研究施設の動物実験委員会の審査, 承認(承認番号: 1504011)を得て, 日本学術会議の動物実験 実施指針及びアメリカ国立衛生研究所発行の Guide for the Care and Use of Laboratory Animals のガイドラインに基づいて行った。

結果

各薬剤投与後の発光シグナルを相対発光量(RLU)とし、P-gpのATPase阻害剤であるオルトバナジン酸ナトリウム(Na_3VO_4)処理のRLUとの差(ΔRLU)をP-gp活性とした。エスシタロプラム単剤添加での ΔRLU は $15127 \pm 678\text{cps}$ 、ジゴキシン単剤での ΔRLU は $11123 \pm 4093\text{cps}$ 、ベラパミル単剤での ΔRLU は $32054 \pm 936\text{cps}$ であった。エスシタロプラムとベラパミルを同時に添加した ΔRLU は $42184 \pm 3262\text{cps}$ であった。従ってエスシタロプラム単剤とベラパミル単剤の合計値とエスシタロプラムとベラパミルの併用での ΔRLU はほぼ同程度であり、エスシタロプラムにベラパミルの併用では相加的なATPase活性の増加を認めた。またエスシタロプラムとジゴキシンを同時に添加した場合の ΔRLU は $33245 \pm 3021\text{cps}$ であり、エスシタロプラム単剤とジゴキシン単剤との合計より1.27倍の増加を認めた。従ってエスシタロプラムにジゴキシンを添加することで、相乗的なATPase活性の増加を認めた。

エスシタロプラム投与後のマウス体内ジゴキシン濃度については、ジゴキシン血漿中濃度は対照群で $22.41 \pm 2.4\text{ng/ml}$ ($n=5$)、エスシタロプラム4週投与群で $22.43 \pm 5.5\text{ng/ml}$ ($n=5$)、エスシタロプラム6週投与群で $36.26 \pm 13.26\text{ng/ml}$ ($n=5$)であり、対照群と比較して薬物投与群ではジゴキシン血漿中濃度に有意な変化を認めなかった。ジゴキシン脳内濃度に

ついて、対照群は $0.7125 \pm 0.12 \text{ ng/ml}$ ($n=4$)、エスシタロプラム 4 週投与群で $0.6 \pm 0.07 \text{ ng/ml}$ ($n=4$)、エスシタロプラム 6 週投与群では $1.175 \pm 0.12 \text{ ng/ml}$ ($n=5$)であり、対照群と比較してエスシタロプラム 6 週投与群においてジゴキシン脳内濃度の有意な上昇 ($P=0.035$) を認めた。ジゴキシン脳内/血漿中濃度比については対照群が 0.031 ± 0.01 ($n=4$)、エスシタロプラム 4 週投与群では 0.024 ± 0.01 ($n=4$)、エスシタロプラム 6 週投与群で 0.074 ± 0.04 ($n=5$)であり有意な変化は認めなかった。

考察

エスシタロプラムとジゴキシンを併用することでP-gpのATPaseの相乗的な活性の増加を認めた。P-gpの機能抑制作用については解明されていない点も多いが、LooらはtarividarがP-gpの立体構造を変化させることでP-gpの機能を抑制したことを報告している。この立体構造を変化させる際にATPを必要とし、tarividarはATPaseを活性化させている。従って、P-gpの抑制作用の度合いもATPase活性程度と関係している可能性が示唆される。エスシタロプラムのATPase活性化作用とP-gpの抑制作用の関係は今後検討する必要があると考えるが、ATPase活性化作用がジゴキシンにより相乗作用を認めたことで、エスシタロプラムのP-gp抑制作用が増強され、脳から血中へのジゴキシン排出が抑制され脳内のジゴキシン濃度が上昇すると考えられる。

しかしながらエスシタロプラムをin vivoで長期投与した報告がなく、さらにジゴキシン投与後にP-gpの機能を評価した論文はなかったため、本研究ではエスシタロプラムを6週間長期投与した。長期投与の結果、マウス脳内でジゴキシン濃度の有意な上昇が見られた。過去にP-gpのモデルとしてL-MDR細胞やブタの脳毛細血管内皮細胞を用いた研究で抗うつ薬のフルオキセチンやシタロプラムはP-gpの阻害作用があることが報告されている。本研究においても、エスシタロプラムによりP-gp機能が阻害されたことにより、ジゴキシンの脳内濃度が上昇したというメカニズムが推察される。エスシタロプラムが長期投与でないと脳内ジゴキシン濃度が上昇しない理由は現時点では明らかではない。過去に抗うつ薬の生体での長期投与について検討した報告はなく、文献的な考察は難しい。仮説としてエスシタロプラムの長期投与により、BBBでのP-gpの発現量が減少し脳内からのジゴキシンの排出が抑制された可能性が挙げられる。また短期間の投与ではエスシタロプラムの生体内濃度が十分

に上昇せず、長期投与により生体内濃度が定常に達することでP-gpの機能抑制作用が生じた可能性も考えられる。その機構を解明するために、今後PCRやWestern Blotによる蛋白定量を行うことや、エスシタロプラムの生体内濃度を測定し、P-gpの発現との相関を検討することで、抗うつ薬の長期投与によるP-gpの発現量の変化を検討することが必要と考えられる。

結語

本邦で幅広く用いられている SNRI であるエスシタロプラムとジゴキシンを併用することで P-gp の ATPase の相乗的な活性の増加を認めた。また、エスシタロプラムをマウスへ6週間にわたり長期投与することによりジゴキシン脳内濃度の上昇を認めた。これはエスシタロプラムの長期投与によりジゴキシンの脳内から血漿中への P-gp を介した排出が抑制されたためにジゴキシンが脳内に蓄積したものである。