

ニコチン誘発尾振戦 (tail-tremor) を用いた抗振戦薬の評価とその発現機構の解明

末丸克矢, 荒木博陽, 五味田裕

岡山大学医学部附属病院薬剤部, 〒700-8558 岡山市鹿田町 2-5-1

Assessment of Anti-Tremorogenic Drugs Using Nicotine-Induced Tail-Tremor Model and Elucidation of the Mechanism

Katsuya SUEMARU, Hiroaki ARAKI, and Yutaka GOMITA

*Department of Hospital Pharmacy, Okayama University Medical School,
2-5-1, Shikata-cho, Okayama 700-8558, Japan*

(Received January 22, 2001)

Repeated administration of nicotine causes a tremor only in the tail (tail-tremor) of rats. The tremor is accompanied with locomotor hyperactivity without rigidity and immobility of the whole body, suggesting the involvement of the mechanism associated with the movement. The tail-tremor induced by nicotine was suppressed by nicotinic acetylcholine (nACh) receptor antagonists, but not by muscarinic acetylcholine (mACh) receptor antagonists. Moreover, the tail-tremor was suppressed by β -adrenoceptor antagonists and benzodizepines. The tremor at rest is observed only in Parkinson's disease, which is improved by the use of mACh receptor antagonists. An essential tremor is one of the typical tremor connected with the movement (postural tremor) and improved with β -adrenoceptor antagonists. These findings and results suggest that the nicotine-induced tail-tremor is useful for the study of the essential tremor as an animal model. On the other hand, daily administration of nicotine resulted in an augmentation of the tail-tremor. The development of the tail-tremor was suppressed by nACh receptor antagonists, *N*-methyl-*D*-aspartate (NMDA) receptor antagonists and nitric oxide (NO) synthase inhibitors. These results suggest that central nACh receptors are essential for the onset and further development of the tail-tremor induced by repeated administration of nicotine, and that NO formation mediated by NMDA receptors is involved in the developmental mechanisms.

Key words—nicotine; tail-tremor; essential tremor**1. はじめに**

本態性振戦は、姿勢時振戦及び動作時振戦を主症とする原因不明の神経疾患である。大部分は40歳以降に発症するが、高齢者に発症する場合には老人振戦と呼ばれ、その患者数は高齢化に伴い増加している。¹⁾ 本疾患は直接生命の維持に関わることはないが、微細運動障害や書記障害をきたし日常生活に困難を生ずるため、QOLの観点から薬物療法が行われる。現在、我が国では β アドレナリン受容体遮断薬が第1選択薬として処方されており、arotinololが本態性振戦に対して保健適応が認められている。 β アドレナリン受容体遮断薬が無効の症例に対しては抗てんかん薬のclonazepam又はprimidoneが用いられる。^{2,3)} 一方、静止時振戦を特徴とするパーキンソン病振戦は黒質-線条体系のドパミン神経の脱落による不随運動障害である。このパーキンソン病振戦と本態性振戦が臨床症状や治療

薬に関して振戦疾患としての典型的な両極を形成している。

ヒトと類似した振戦はサルにしかみられないため、実験動物を用いた振戦の神経機序の解明には主にサルが用いられている。^{4,5)} ラットやマウスを用いた薬物誘発振戦はそのすべてが固縮・無動を伴った全身性の振戦であり、抗振戦薬の評価に応用されている。代表的な薬物による振戦誘発法としては、ムスカリン性アセチルコリン (ACh) 受容体作動薬のoxotremorineによる振戦がある。この振戦モデルはムスカリン性ACh受容体遮断作用を有するパーキンソン病治療薬のスクリーニング法として用いられている。しかしながら、本態性振戦はその原因が不明であることから、動物での抗振戦薬の作用評価においてもいかなる動物病態モデルで検討すべきか明確でない。

ニコチンをラットやマウスに投与すると全身性の

振戦が発現する。しかし、全身性の振戦が発現しない低用量のニコチンをラットに反復投与すると尾に限局した振戦 (tail-tremor) が誘発される。^{6,7)} この振戦は、無動・固縮といった全身性の運動障害を伴わず、逆に自発運動量の増加を伴い、その動作時にも振戦の発現が認められることが特徴である。⁸⁾ 我々は、この現象がヒトの動作時振戦若しくは姿勢時振戦に類似すると想定し、ニコチンによる tail-tremor の本態性振戦病態モデルとしての応用を検討してきた。本稿では、このニコチンによる tail-tremor を用いた抗振戦薬の薬物評価とその発現機構について概説する。

2. tail-tremor の行動特性

ニコチンにより全身性振戦が発現する約 1/4 の投与量である 0.5 mg/kg (free base) をラットに反復皮下投与すると尾に限局した振戦 (tail-tremor) が発現する。⁶⁾ この振戦は、無動・固縮といった全身性の運動障害を伴わず、逆に自発運動量の増加を伴い動作時にも振戦の発現が認められる。⁸⁾ 臨床において、振戦は静止時に出現する静止時振戦 (tremor at rest)、一定の姿勢時にのみ認められる姿勢時振戦 (postural tremor) 及び四肢の動作時にみられる動作時振戦 (kinetic tremor) に大別される。パーキンソン病振戦は静止時振戦を特徴とし無動・固縮を伴う。それに対して、本態性振戦は姿勢時振戦を特徴とし動作時にも発現する。^{2,3)} 前述のように、ニコチンによる tail-tremor は、固縮・無動などの運動障害を伴わず運動開始時や動作の途中に頻繁に観察される。したがって、tail-tremor の発現には運動と関連した振戦の機序が考えられる。

3. tail-tremor に対する諸種薬物の影響

パーキンソン病振戦にはドパミン前駆物質の L-DOPA やムスカリン性 ACh 受容体遮断薬が有効である。本態性振戦には arotinolol や propranolol などの β アドレナリン受容体遮断薬が有効であり、抗けいれん薬の clonazepam や primidone も有効性を示す。²⁾ 特に、clonazepam はミオクローヌスや振幅の大きい動作時振戦に対して有効性が知られている。しかし、本態性振戦に対してはムスカリン性 ACh 受容体遮断薬は無効とされている。⁹⁾ 一方、ニコチンはドパミン遊離促進作用を有するためパーキンソン病振戦に対して有効であることが報告されているが、^{10,11)} 本態性振戦に対するニコチン受容体の

関与については一定の結果は得られていない。¹¹⁻¹³⁾ そこで、臨床において抗振戦作用を示す薬剤と併せて諸種神経関連薬物の影響について検討を行った。その結果、ニコチンによる tail-tremor は中枢移行性の高いニコチン性 ACh 受容体遮断薬の mecamlamine により拮抗されたが、中枢移行性の低い hexamethonium によっては何ら影響がみられなかった。⁶⁾ また、ムスカリン性 ACh 受容体遮断薬の atropine 及び scopolamine でも影響されなかった (Table 1)。したがって、tail-tremor は中枢性のニコチン性 ACh 受容体の刺激により惹起されることが明らかになった。

臨床において β アドレナリン受容体遮断薬が本態性振戦の改善作用を示すことや、 β_2 アドレナリン受容体刺激薬によりヒトの手指に振戦が誘発されることから、 β_2 アドレナリン受容体が振戦の発現に重要な役割を果たしていることが明らかになっている。³⁾ β アドレナリン受容体遮断薬には β_1 アドレナリン受容体を選択的なものと、 β_1 及び β_2 アドレナリン受容体に非選択的な薬剤がある。さらに、中枢移行性の相違、内因性交感神経刺激作用 (ISA)、膜安定化作用 (MSA) など各薬剤ごとに有する作用が異なっている。我々は、 β アドレナリン受容体遮断薬の中枢移行性と β アドレナリン受容体選択性の相違に注目し、tail-tremor における β アドレナリン受容体の関与を検討した。その結果、ニコチンによる tail-tremor は中枢移行性の高い非選択的 β アドレナリン受容体遮断薬の propranolol 及び pindolol により抑制された。^{14,15)} しかし、末梢性 β アドレナリン受容体遮断薬の atenolol, arotinolol 及び carteolol による影響は小さかった。また、中枢移行性の高い β_1 アドレナリン受容体遮断薬の metoprolol は全く影響を示さなかった (Table 2)。すなわち、ニコチンによる tail-tremor には中枢性の β_2 アドレナリン受容体が関与していることが示唆された。また、その他の薬剤としてはベンゾジアゼピン系薬剤の clonazepam と diazepam が tail-tremor の抑制作用を示した。

以上のように、代表的な振戦疾患であるパーキンソン病振戦及び本態性振戦と tail-tremor の関係を明らかにする目的で、ニコチンによって惹起される tail-tremor の行動特性と各種神経関連薬剤の影響を調べた。その結果、ニコチンによる tail-tremor は

Table 1. Effects of Acetylcholine- and Monoamine-Related Drugs on Nicotine-Induced Tail-Tremor in Rats

Drugs	Dose range (mg/kg)	Effect of tail-tremor	Minimum effective dose (mg/kg)
Nicotinic ACh receptor antagonist			
Mecamylamine	0.1-1	↓	0.2
Hexamethonium	0.5, 1	—	
Muscarinic ACh receptor antagonist			
Scopolamine	1, 2	—	
Atropine	2.5, 5	—	
β -adrenoceptor antagonist			
Propranolol	5-20	↓	5
Pindolol	5-20	↓	5
Arotinolol	5-20	↓	20
Carteolol	5-20	↓	20
Metoprolol	5-20	—	
Serotonin-1A receptor antagonist			
WAY-100635	0.03-3	↓	1
Serotonin-1A receptor agonist			
Buspirone	1-20	↑	5
Gepirone	1-10	↑	5
8-OH-DPAT	0.01-0.1	↑	0.03

Nicotine was administered at a dose of 0.5 mg/kg/d (s.c.) once daily in rats. Each drug was intraperitoneally administered before the 15th nicotine treatment. Drug doses were expressed in terms of the free base. — : no change, ↑ : increase, ↓ : decrease.

Table 2. Development and Occurrence of Tail-Tremor Induced by Nicotine in Rats

	Development	Occurrence
Nicotinic ACh receptor antagonist		
Mecamylamine	↓	↓
Hexamethonium	—	—
β -adrenoceptor antagonist		
Propranolol	—	↓
Metoprolol	—	—
Carteolol	—	—
NMDA receptor antagonist		
CPP	↓	—
MK-801	↓	(↓)
NO synthase inhibitor		
L-NAME	↓	—
L-NA	↓	—

— : no change, ↑ : increase, ↓ : decrease.

無動・固縮といった全身性の運動障害を伴わず、逆に運動に関する振戦機序が推察されたこと、並びに β アドレナリン受容体遮断薬やベンゾジアゼピン系薬物が tail-tremor の抑制作用を示したことより、tail-tremor はパーキンソン病振戦よりはむしろ本態性振戦の薬物評価に有用であると考えられた。¹⁶⁾

4. tail-tremor モデルを用いた新規抗振戦薬の検索

β アドレナリン受容体遮断薬は本態性振戦に対して改善作用を示すが、本薬剤には徐脈などの副作用があり、また気管支喘息の患者では使用禁忌である。また、clonazepam や primidone には眠気の副

作用がある。²⁾ ニコチンによる tail-tremor に対して抑制作用を示した propranolol や pindolol は β アドレナリン受容体に親和性を示すと同時にセロトニン 1A (5-HT_{1A}) 受容体に対しても親和性を有することが知られている。そこで、ニコチン誘発 tail-tremor モデルを用いて新しい作用機序を有する抗振戦薬を模索する目的で、tail-tremor に対する 5-HT 受容体の関与について検討した。その結果、5-HT₂ 受容体遮断薬の ketanserin はニコチン誘発 tail-tremor に何ら影響を示さなかったが、5-HT_{1A} 受容体作動薬の buspirone や 8-OH-DPAT は tail-tremor の増強作用を示し、逆に選択的 5-HT_{1A} 受容体遮断薬の WAY-100635 は tail-tremor の抑制作用を示した。¹⁷⁾ 一般的に、セロトニン症候群としてミオクローヌス、振戦並びに反射性の興奮が出現することを考え合わせると、¹⁸⁾ 5-HT_{1A} 受容体遮断薬が新しい抗振戦薬開発のターゲットになる可能性が考えられた。

5-1. 振戦の発現機構

本質的に振戦は中枢性機序によって惹起され、さらに末梢性要因との複合によりその強度が影響されると考えられている (Fig. 1)。すなわち、振戦発現時にみられる脊髄運動細胞の律動的興奮 (oscillation) は、中枢神経内部におけるリズム形成 (central oscillation) と脊髄-末梢神経-筋で形成される反射回路による反射性リズム形成 (reflex oscillation) の2つによって生ずる。¹⁹⁾ 中枢性機序の関連脳部位としては、皮質運動野、小脳、淡蒼球、視

床腹外側核 (VL)、視床腹中間核 (Vim)、脳幹、脊髄などが振戦リズムの制御や設定に関与しているとされている。^{4,5)} 末梢性の要因としては骨格筋の関与が明らかになっており、arotinolol などの末梢性 β アドレナリン受容体遮断薬の抗振戦作用は恐らく骨格筋に存在する β_2 アドレナリン受容体遮断作用によるものと推定されている。²⁰⁾ 事実、 β_2 アドレナリン受容体遮断薬は振戦の振幅を減少させるが、その周波数には影響を与えない。⁹⁾ 本態性振戦の病因は不明であるが、末梢性 β アドレナリン受容体遮断薬とともに抗てんかん薬の primidone やアルコールが改善作用を示すことから、本態性振戦の病因や抗振戦薬の作用機序には末梢性と中枢性の機序が複合的に関与していることが推察されている。¹⁹⁾

5-2. tail-tremor における脊髄ノルアドレナリンの関与

ニコチンによって惹起される tail-tremor は尾に限局して出現することから脊髄の関与も推察されている。カテコールアミン神経毒の 6-hydroxydopamine (6-OHDA) の脊髄内注入により脊髄のノルアドレナリンを減少させた動物では、ニコチンの初回投与時より著明な tail-tremor が出現した。^{15,21)} しかし、対照群と同様に 6-OHDA 処置ラットにおいてもニコチン反復投与により tail-tremor の反応性の増大が認められた。すなわち、脊髄のノルアドレナリンは tail-tremor の発現に関与するが、その形成には他の機序が存在することが推察された。ヒトにおける振戦の発現機序には脊髄で形成される反射

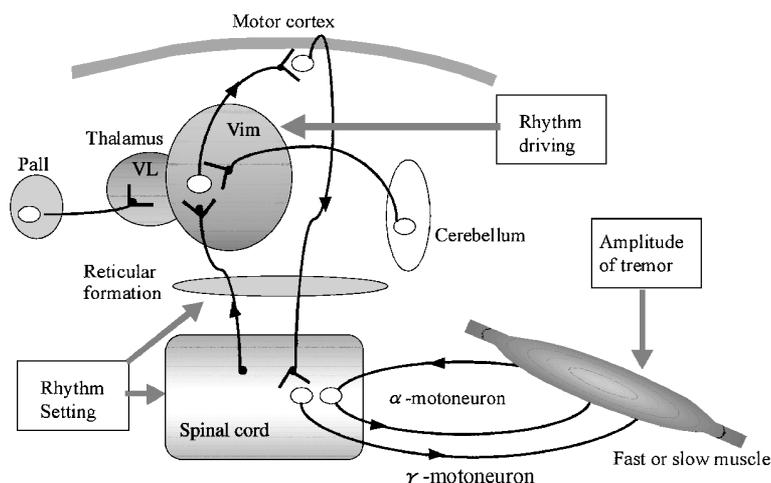


Fig. 1. Possible Mechanisms of Tremor

Vim: ventralis intermedius thalamus, VL: ventralis lateral thalamus, Pall: globus pallidus.

性リズム形成が関与することや、6-OHDAによる脊髄ノルアドレナリン神経の破壊は脊髄反射を増強することが知られており、²²⁾このような脊髄における反射性リズム形成異常が tail-tremor 誘発に関与しているものと考えられる。

5-3. tail-tremor の形成に対する神経機構

ニコチンによる tail-tremor は反復投与によってその反応性が増大することから、tail-tremor の形成と発現に関与する神経機構が考えられる。そこで、ニコチンの連日投与による tail-tremor の形成期及び維持期に薬物を投与して tail-tremor の形成と発現に対する影響を調べた。その結果、ニコチン受容体遮断薬の mecamylamine は tail-tremor の発現と形成の両方を抑制した (Table 2)。²³⁾したがって、中枢性ニコチン受容体が tail-tremor の発現と形成の両機構に関与することが明らかになった。神経科学的にもニコチンの反復投与は脳内のニコチン受容体数を増加させることが明らかになっており、²⁴⁾この現象が tail-tremor の反応性の増大に関与していると考えられる。

一方、propranolol も tail-tremor の発現を抑制したが、propranolol の休薬後には形成期及び維持期とも tail-tremor の増大 (リバウンド様現象) がみられた。¹⁵⁾この結果は、 β アドレナリン受容体は tail-tremor の発現機構に関与していることを示唆している。さらに、中枢移行性の低い非選択的 β アドレナリン受容体遮断薬の carteolol や β_1 アドレナリン受容体選択的遮断薬の metoprolol ではそのような作用はみられなかったことから、中枢性の β_2 アドレナリン受容体の関与が示唆された。ニコチン受容体は中枢神経系においてカテコールアミン神経の細胞体や終末上に存在し、ノルアドレナリンの遊離を促進する。²⁵⁾したがって、このニコチンのノルアドレナリン遊離促進作用が tail-tremor の発現に関与していると考えられる。

一酸化窒素 (NO) は、中枢神経系において *N*-methyl-*D*-aspartate (NMDA) 受容体刺激により産生される細胞間情報伝達物質としてシナプス伝達の可塑性に関与していることが示唆されている。そこで、ニコチンによって誘発される tail-tremor の形成と発現に対する NMDA 受容体と NO の関与について調べた結果、NMDA 受容体遮断薬の CPP と dizocilpine (MK-801) 並びに NO 合成阻害薬の *N*_w-

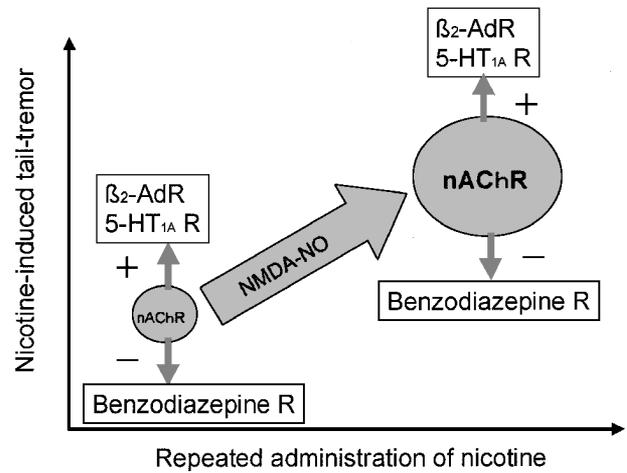


Fig. 2. Presumed Mechanisms of Nicotine-Induced Tail-Tremor on the Onset and Further Development in Rats

nACh: nicotinic acetylcholine receptor, β_2 -AdR: β_2 -adrenoceptor, 5-HT_{1A} R: Serotonin-1A receptor.

nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) と *N*_w-nitro-L-arginine (L-NA) は tail-tremor の発現に影響することなくその形成を抑制した (Table 2)。²³⁾ニコチンはグルタミン酸神経の前シナプスに存在するニコチン受容体を刺激しグルタミン酸の放出を増加させることから、²⁵⁾ニコチンの連日投与に伴う tail-tremor の形成にニコチン受容体を介して遊離されたグルタミン酸による NO 産生が関与することが示唆された。

以上の結果より導かれた tail-tremor の形成と発現の神経機序を Fig. 2 に示す。ニコチンによって誘発される tail-tremor の発現には中枢ニコチン受容体の刺激によって惹起され、その発現作用に対して β_2 アドレナリン受容体と 5-HT_{1A} 受容体が促進的に作用し、ベンゾジアゼピン受容体が抑制的に作用することが明らかになった。さらに、tail-tremor の形成に対しては中枢ニコチン受容体、NMDA 受容体及び NO 産生が関与することが明らかになった。

6. おわりに

我々は、行動薬理学的手法を用いてニコチンによる tail-tremor の本態性振戦病態モデルとしての有用性と発現機構を検討してきた。現在、神経性ニコチン受容体のサブユニット遺伝子が同定されており、ヒトにおいては α_2 から α_7 と称される 6 つの α サブユニット及び β_2 から β_4 と称される 3 つの β サブユニットが同定されている。この構成サブユニッ

トが神経性ニコチン受容体の5量体構造を形成し、数種のサブタイプが存在することが明らかになっている。²⁶⁾ニコチン受容体と振戦疾患との関連については、喫煙者ではパーキンソン病の発病率が低いことと共に、²⁷⁾ニコチンはパーキンソン病振戦の改善作用を示すことが報告されているが、¹¹⁾本態性振戦とニコチン受容体の関係には一定の結論が得られていない。今後は、振戦疾患を含めた運動障害とニコチン受容体サブタイプとの関連性を明らかにすることが重要であると考えられる。

謝辞 本研究を行うにあたりご指導とご支援を賜りました岡山大学医学部附属病院薬剤部の先生方に厚くお礼申し上げます。また、本研究の一部は喫煙科学研究財団の援助により行われたものであり、ここに感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Ando K., *Chiryō.*, **65**, 851–855 (1983).
- 2) Matsuoka Y., Takahashi A., *Sougou Rinsho.*, **40**, 2533–2537 (1991).
- 3) Hallett M., *JAMA*, **226**, 1115–1117 (1991).
- 4) Ohe C., *Shinkei Shinpo.*, **25**, 106–117 (1981).
- 5) Ohe C., *Shinkei Shinpo.*, **29**, 222–231 (1985).
- 6) Gomita Y., Suemaru K., Furuno K., Araki Y., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **34**, 817–821 (1988).
- 7) Gomita Y., Suemaru K., Furuno K., Araki Y., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **40**, 453–455 (1991).
- 8) Suemaru K., Oishi Y., Gomita Y., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **350**, 153–157 (1994).
- 9) Gunan X. M., Peroutka S. J., *Clin. Neuropharmacol.*, **13**, 210–223 (1990).
- 10) Imperato A., Mulas A., DiChiara G., *Eur. J. Pharmacol.*, **132**, 337–338 (1986).
- 11) Zdonczyk D., Royse V., Koller W. C., *Clin. Neuropharmacol.*, **11**, 282–286 (1988).
- 12) Stiffman S. M., Gritz E. R., Maltese J., Lee M. A., Schneider N. G., Jarvik M., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **33**, 800–805 (1988).
- 13) Marshall J., Schnieder H., *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **29**, 214–218 (1966).
- 14) Suemaru K., Gomita Y., Furuno K., Araki Y., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **46**, 131–133 (1993).
- 15) Suemaru K., Kawasaki H., Oishi Y., Gomita Y., Tanizaki Y., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **355**, 571–575 (1997).
- 16) Suemaru K., Kawasaki H., Gomita Y., *Jpa. J. Neuropsychopharmacol.*, **17**, 123–127 (1997).
- 17) Suemaru K., Araki H., Gomita Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **408**, 19–23 (2000).
- 18) Sternbach H., *Psychiatry*, **148**, 705–713 (1991).
- 19) Hubble J. P., Busenbark K. L., Koller W. C., *Clin. Neuropharmacol.*, **12**, 453–482 (1989).
- 20) Hara Y., Sugimoto S., Ono H., *Folia. Pharmacol. Jpn.*, **102**, 141–151 (1993).
- 21) Suemaru K., Kawakami Y., Araki H., Gomita Y., Tanizaki Y., *Acta Med. Okayama*, **52**, 49–53 (1998).
- 22) Nygren L., Olson L., *Brain Res.*, **116**, 455–470 (1976).
- 23) Suemaru K., Kawasaki H., Gomita Y., Tanizaki Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **335**, 139–143 (1997).
- 24) Ksir C., Hakan R., Hall J. R., Kellar K. J., *Neuropharmacology*, **24**, 527–531 (1985).
- 25) Yoshida K., Kato Y., Imura H., *Brain Res.*, **182**, 361–368 (1980).
- 26) Lloyd G. K., Williams M., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **292**, 461–467 (2000).
- 27) Baron J. A., *Neurology*, **36**, 1490–1496 (1986).