

氏名 (本籍) 小 川 伸 一  
お がわ しん いち  
小 川 伸 一  
学位の種類 博士 (薬学)  
学位記番号 薬第 395 号  
学位授与年月日 平成 10 年 6 月 17 日  
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学位論文題目 Phencyclidine 誘発精神分裂病モデルにおけるシグマ<sub>1</sub>  
受容体拮抗薬の神経薬理学的解析

(主 査)  
論文審査委員 教授 佐藤 進 教授 大内 和雄  
教授 大泉 康

## 論文内容要旨

精神分裂病は人格水準の低下をきたす精神疾患の一つであり、その症状は陽性症状および陰性症状に分類される。陽性症状は急性期に特徴的な症状群であり、幻覚・妄想および奇異な行動などを示す。陰性症状は慢性期に特徴的な症状群であり、感情の鈍麻・平板化および認知機能障害などを示す。脳グルコース利用率および局所脳血流量の低下が精神分裂病患者の大脳皮質および海馬で認められ、これらの脳部位が精神分裂病の成因に重要であることが示唆されている。

Haloperidol などの定型抗精神分裂病薬の臨床有効量での血中濃度とドーパミン D<sub>2</sub> 受容体に対する親和性の強さが相関し、さらにドーパミン作動性神経系作用薬は精神分裂様症状を引き起こす。従って、ドーパミン作動性神経系の機能亢進が精神分裂病成因の一つとして考えられ（ドーパミン仮説）、黒質線条系および中脳辺縁系ドーパミン作動性神経系のドーパミン D<sub>2</sub> 受容体に対して拮抗作用を有する定型抗精神分裂病薬が開発された。しかし、定型抗精神分裂病薬は陽性症状を改善するが、陰性症状には無効である。さらに、定型抗精神分裂病薬の大量投与および長期治療は過度の鎮静およびパーキンソン様症状などの錐体外路障害を引き起こす。従って、ドーパミン作動性神経系以外の神経系あるいは神経伝達物質に作用する抗精神分裂病薬の開発が望まれている。

近年開発された一群の非定型抗精神分裂病薬の中にはシグマ<sub>1</sub>受容体に高い親和性を有する薬物が多く、定型抗精神分裂病薬の中にもシグマ<sub>1</sub>受容体に高い親和性を有する薬物が多い。シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の rimcazole は陽性症状のみならず陰性症状にも治療効果を現し、錐体外路障害を引き起こさないと報告されている。一方、シグマ<sub>1</sub>受容体作用薬である (+) N-allylnormetazocine [(+)SKF10,047] および (+) pentazocine は健常人に精神分裂様症状を引き起こし、精神分裂病患者死後脳のシグマ<sub>1</sub>受容体数は大脳皮質において減少している。これらの知見は、シグマ<sub>1</sub>受容体が精神分裂病の成因に関与し、シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬は優れた抗精神分裂病薬となることを示唆している。しかしシグマ<sub>1</sub>受容体の細胞内情報伝達機構および分子特性に関しては不明な部分が多く、シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗作用と陰性症状改善作用との関連は解明されていない。

前臨床試験において薬物の抗精神分裂病作用は、主として精神分裂病モデルの異常行動に対する抑制作用を行動薬理学的な解析により評価されている。精神分裂病モデルの作製には一般的に methamphetamine (MAP) および phencyclidine (PCP) が用いられている。MAP はドーパミン作動性神経系の機能を亢進し、健常人に投与すると陽性症状に類似した精神異常を引き起こし、MAP 精神病は定型抗精神分裂病薬により改善される。PCP は N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体イオンチャネル複合体に対する非競合的拮抗作用によりグルタメート作動性神経系の機能を低下し、健常人に投与すると陽性症状および陰性症状に類似した精神異常を引き起こすが、PCP 精神病は定型抗精神分裂病薬による治療に抵抗性を示す。従って、MAP モデルは陽性症状モデル、PCP モデルは包括的な精神分裂病モデルとされる。しかし、多くの PCP モデルは常同行動などの異常行動モデルであるが、精神分裂病の認知機能障害などの脳高次精神機能の低下を反映させた陰性症状モデルではない。前臨床試験において抗精神分裂病薬

の陰性症状改善作用を評価するため、より病態に近い精神分裂病モデルの作製が望まれている。

そこで、第1編ではシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の抗精神分裂病作用を明らかにするため、PCPを用いて脳高次精神機能低下を反映させた新規認知障害モデルを作製し、本PCPモデルに対するドーパミンD<sub>2</sub>受容体拮抗薬、セロトニン<sub>2</sub>受容体拮抗薬およびシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の改善作用を行動薬理学的に検討した。第2編ではPCPモデルに対するシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の改善作用機序を解明するため、シグマ<sub>1</sub>受容体とNMDA受容体イオンチャネル複合体との関連を神経化学的に検討した。

### 第1編 Pencyclidine 誘発認知障害モデルに対するシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の作用

PCPを用いて脳高次精神機能低下を反映したPCP誘発認知障害モデルを作製し、ドーパミンD<sub>2</sub>受容体拮抗薬、セロトニン<sub>2</sub>受容体拮抗薬およびシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の作用を検討した。ラットの水迷路試験において、正常動物の空間認知学習は試行を重ねるに従い成立した。0.75-2 mg/kgのPCPを各試行前に腹腔内投与すると、空間認知学習は用量依存的に障害された。ラットを水面下のプラットホーム上に静置した場合、正常動物はプラットホーム上に静止しているが、0.5-2 mg/kgのPCPを腹腔内投与すると水中への飛び込み行動が発現し、PCPは外部環境の変化に対する順応を障害した。今回用いた低用量(0.5-2 mg/kg)のPCPを反復投与しても、ラットに常同行動、運動失調および遊泳能力障害は発現しなかった。従って、PCPを用いることにより空間認知学習障害および外部環境順応障害を呈する新規認知障害モデルが作製できた。ドーパミンD<sub>2</sub>受容体拮抗薬はPCP誘発認知障害を改善しなかった。セロトニン<sub>2</sub>受容体拮抗薬およびシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬はPCP誘発認知障害を改善した。陰性症状に対するこれらの受容体拮抗薬の臨床効果と本結果との類似性より、PCP誘発認知障害モデルは陰性症状モデルとして有用であることが示唆された。

高用量(10-20 mg/kg)のPCPを腹腔内投与した場合、投与24時間後において水迷路試験での空間認知学習障害が用量依存的に認められた。PCP投与直後のラットに常同行動および運動失調が発現したが、投与24時間後にこれらの異常行動は認められなかった。従って、高用量のPCPにより遅発性空間認知学習障害モデルが作製できた。10 mg/kgのPCP投与24時間後において、ラット大脳皮質のNMDA受容体イオンチャネル複合体数の増加が報告されており、精神分裂病患者死後脳にも大脳皮質のNMDA受容体イオンチャネル複合体数増加が認められている。従って、高用量のPCP投与による遅発性空間認知学習障害モデルは慢性期精神分裂病により近い病態モデルであると考えられる。シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬を高用量のPCP投与10分後あるいは水迷路試験の第1試行の15分前に処置した場合、PCP誘発遅発性空間認知学習障害の改善が認められた。従って、シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬は慢性期精神分裂病の認知機能障害に有効であることが示唆された。

シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の抗精神分裂病作用の特徴を行動薬理学的に明確にするため、既存の陽性症状モデルおよび錐体外路障害モデルに対する作用を検討した。ドーパミンD<sub>2</sub>受容体拮抗薬は陽性症状モデルであるMAP誘発運動過剰を用量依存的に抑制したが、選択的シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬は抑制しなかった。ドーパミンD<sub>2</sub>受容体拮抗薬は黒質線条体系ドーパミン作動性神経系の亢進モデルであるMAPおよび

apomorphine (APO) 誘発常同行動を抑制したが、シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬は高用量を用いても抑制しなかった。ドーパミン D<sub>2</sub>受容体拮抗薬は黒質線条体系ドーパミン作動性神経系の機能低下に起因する錐体外路障害モデルであるカタレプシーを発現させたが、シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬にはカタレプシー惹起性は認められなかった。シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬はマウス自発運動を抑制しなかったが、ドーパミン D<sub>2</sub>受容体拮抗薬は低用量より抑制した。従って、シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の陽性症状に対する治療効果は無いが、定型抗精神分裂病薬の副作用である過度の鎮静や錐体外路障害は引き起こされ難いことが示唆された。

## 第2編 Pencyclidine 誘発認知障害モデルにおけるシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の作用機序の解明

PCP 誘発認知障害モデルに対するシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の改善作用機序を解明するため、シグマ<sub>1</sub>受容体と NMDA 受容体イオンチャネル複合体との相互作用について検討した。シグマ<sub>1</sub>受容体作用薬である (+) pentazocine はラット海馬切片からの NMDA 惹起 [<sup>3</sup>H] dopamine 遊離を用量依存的に抑制したが、kainate あるいは  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) 惹起 [<sup>3</sup>H] dopamine 遊離は抑制しなかった。NMDA 惹起 [<sup>3</sup>H] dopamine 遊離に対する (+) pentazocine による抑制作用はシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬により用量依存的に拮抗され、節遮断薬である tetrodotoxin 存在下においても認められた。従って、ドーパミン作動性神経系の神経終末において、シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬は NMDA 受容体イオンチャネル複合体の機能を亢進することによりドーパミン遊離を賦活化することが示唆された。

NMDA 受容体イオンチャネル複合体の機能を調節するシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬が NMDA 受容体イオンチャネル複合体と同一分子内に存在するのか、あるいは独立した分子からなる特異的結合部位であるのかを解明するため、シグマ<sub>1</sub>受容体を可溶化し、可溶化結合部位の薬理学的特性を検討した。シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬である [<sup>3</sup>H] N, N-dipropyl-2- [4-methoxy-3- (2-phenylethoxy) phenyl] -ethylamine hydrochloride (NE-100) および [<sup>3</sup>H] (+) pentazocine の結合部位をモルモット脳膜標品から可溶化し、可溶化標品のシグマリガンドに対する親和性を脳膜標品と比較検討した。その結果、可溶化標品の薬理学的特性は脳膜標品と同様であることが認められた。可溶化 [<sup>3</sup>H] NE-100 結合タンパク質の分子量をゲル濾過クロマトグラフィを用いて求めたところ、 [<sup>3</sup>H] NE-100 結合タンパク質の分子量は [<sup>3</sup>H] (+) pentazocine 結合タンパク質と同じ約 440KDa であり、これは可溶化 NMDA 受容体イオンチャネル複合体の分子量 603-750KDa と大きく異なっていた。従って、シグマ<sub>1</sub>受容体は NMDA 受容体イオンチャネル複合体と分子的に異なっていることが推測された。

以上、常同行動を発現させない低用量の PCP は空間認知学習および外部環境順応を傷害し、PCP 誘発認知障害モデルが作製できた。高用量の PCP は投与 24 時間後において空間認知学習を障害し、PCP 誘発遅発性空間認知学習障害モデルが作製できた。本 PCP 誘発認知障害をシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬およびセロトニン<sub>2</sub>受容体拮抗薬は改善したが、ドーパミン D<sub>2</sub>受容体拮抗薬は改善しなかった。陰性症状に対するこれらの受容体拮抗薬の臨床効果は本結果と類似することにより、新規 PCP 誘発認知障害モデルは脳高次精神機能低下を反映した新規陰性症状モデルであり、さらにシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬は陰性症状に治療

効果を現すことが示唆された。シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の PCP 誘発認知障害モデルに対する改善作用は、ドーパミン作動性神経系の神経終末において特異的結合部位であるシグマ<sub>1</sub>受容体を介し、NMDA 受容体チャンネル複合体の機能を間接的に亢進することにより、大脳皮質あるいは海馬におけるドーパミン作動性神経系の機能を賦活化して発現していると示唆された。

## 審査結果の要旨

精神分裂病は成人期～青年期に発症するが、本態は未だ十分に解明されていない。従来の抗精神病薬はドーパミン作動性神経系の機能亢進を病因として開発されたドーパミン受容体拮抗薬が多く、慢性期症状を改善せず、また副作用として錐体外路障害を招来した。本研究は、急性期の特徴的症狀である陽性症狀の改善に重点を置かれてきた従来の薬物療法の問題点を補うべく、慢性期症狀である陰性症狀の評価モデルを作製し、さらにその治療薬の作用機序を解明したもので、以下の新知見を提示している。

初めに、従来の精神分裂病モデルである phencyclidine (PCP) が急性期の陽性症狀のみの病態モデルとして取り扱われていることを敷衍して、脳高次精神機能低下を反映させた新規認知障害モデルとしての条件設定の確立に成功した。近年開発された治療薬にはシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗作用を有する薬物が多く、それらが精神分裂病の陰性症狀にも治療効果を発揮することが報告されている。この新規モデルにおいて、臨床的に陰性症狀を改善しないドーパミン D<sub>2</sub>受容体拮抗薬は効果が認められなかったが、陰性症狀を改善するセロトニン<sub>2</sub>受容体拮抗薬ならびにシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬は有効であったことを示し、PCP 誘発認知障害モデルが陰性症狀モデルとして有用であることを見出した。

続いて、ドーパミン D<sub>2</sub>受容体拮抗薬は陽性症狀モデルを用量依存的に抑制し、錐体外路障害症狀であるカタレプシーを惹起すること、選択的シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬である NE-100 はこれらの作用を示さなかったことから、シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬が陽性症狀には無効であるが、陰性症狀に対しては有効で錐体外路障害も引き起こし難いことを行動薬理学的に明らかにした。

次に、PCP 誘発認知障害モデルに対するシグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の改善作用機序を解明するため、シグマ<sub>1</sub>受容体と NMDA 受容体イオンチャネル複合体との関連を神経化学的に検討し、シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬の新規 PCP 誘発認知障害モデルに対する改善作用は、PCP により抑制された NMDA 感受性グルタミン酸作動性神経系の機能を回復させることにより、ドーパミン作動性神経系の機能を賦活化して発現していることを示した。また、可溶化シグマ<sub>1</sub>受容体結合タンパク質の分子量が可溶化 NMDA 受容体イオンチャネル複合体の分子量と大きく異なることを示し、シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬は NMDA 受容体イオンチャネル複合体と異なる特異的結合部位に作用することを明らかにした。

以上の結果より、新規 PCP 誘発認知障害モデルは、脳高次精神機能低下を反映させた精神分裂病モデルであり、陰性症狀に対して治療効果を現す薬物を選択的に検出できる病態モデルであること、このモデルに対して改善効果を示した選択的シグマ<sub>1</sub>受容体拮抗薬 NE-100 は臨床的に精神分裂病の陰性症狀の治療薬として期待されることが示唆された。

よって、本論文は博士（薬学）の学位論文として合格と認める。