

学位論文題名

抗不安作用における選択的 serotonin (5-HT)  
再取り込み阻害剤, 選択的 5-HT<sub>1A</sub> アゴニスト  
及びリチウムの作用機序に関する研究

－不安の動物モデル及び脳内微小透析法を用いた,  
行動薬理的, 神経化学的研究－

学位論文内容の要旨

選択的セロトニン (5-HT) 再取り込み阻害剤 (SSRI) は、うつ病のみならず、不安障害の治療にも有効であることが臨床的に明らかとなってきた。SSRI の抗不安作用については、不安の動物モデルである conditioned fear stress (CFS) を用いた行動薬理学的研究で、SSRI、5-HT<sub>1A</sub> アゴニスト、L-5-hydroxytryptophan がすくみ行動を抑制することが報告されている。SSRI に関する神経化学的研究はこれまで多くなされており、脳内透析法を用いた研究により SSRI の急性及び慢性投与が、縫線核や視床下部、大脳皮質における細胞外 5-HT 濃度を増加させることが報告されている (Fuller, 1994)。従って、5-HT 系神経伝達の促進が SSRI の抗不安作用の作用機序であることが示唆される (Eriksson and Humble, 1990)。リチウムの抗うつ薬に対する増強効果の作用機序については、5-HT 神経伝達の促進が考えられている。電気生理学的研究では、リチウムが前シナプス性の機序を介して、5-HT 神経伝達を促進することが報告されている (Blier *et al.*, 1987)。しかし、SSRI の効果に対するリチウムの増強効果の作用機序については、神経化学的実験でまだほとんど明らかにされていない。本研究では SSRI である citalopram、選択的 5-HT<sub>1A</sub> アゴニストである MKC-242 の抗不安作用に及ぼすリチウムの影響を CFS を用いて行動薬理的に検討し、さらに citalopram、MKC-242 の細胞外 5-HT 濃度に対する効果に及ぼすリチウム亜慢性投与の影響について脳内微小透析法を用いて検討した。

〈動物及び薬物〉 実験には、Sprague-Dawley 系雄性ラット (230 ~ 270g) を使用した。リチウムの実験では、lithium carbonate (固形飼料に 0.05 % または 0.2 % の濃度で含む) を 1 週間経口投与し、リチウム投与群、標準飼料投与群ともに 10mM の食塩水を自由摂取させた。薬物としては、citalopram hydrobromide、MKC-242 を用いた。〈CFS〉 電撃ストレス (footshock) を負荷してショック箱に条件付けを行い、ラットを再度同じショック箱に入れる操作により、引き起こされる心理的ストレスである。この操作によって、footshock を加えなくてもラットは無動のまま身体をすくませるという防御反応 (freezing) を示す。5 分間の観察期間のうち、freezing がみられる期間を百分率 (% Freezing) に計算しスコアとして表した。〈自発運動量〉 薬物投与後のホームケージ内での自発運動量を、赤外線センサーを用いて、ラットの水平方向の移動量の積算値を 10 分毎にコンピュ

ーターに出力して記録した。(脳内微小透析法) ガイドカニューレをラットの頭蓋骨表面に挿入固定し、透析プローブを内側前頭前野の組織内に 3.0mm 露出されるように挿入した。手術から20時間後に人工脳脊髄液を灌流し、2時間後から、灌流液を20分ごとに380分間回収した。サンプル回収開始から80分後に薬物または vehicle を皮下投与した。回収された透析液を電気化学検出器付高速液体クロマトグラフィーに注入し、透析液中の 5-HT 濃度を測定した。

CFS 実験において、SSRI である citalopram は、30mg/kg の用量で freezing の出現を有意に抑制した。脳内微小透析実験では、citalopram の急性投与は内側前頭前野において、用量依存性に細胞外 5-HT 濃度を増加させた。これらの結果から、SSRI である citalopram の抗不安作用は、細胞外 5-HT 濃度の増加と関連していることが示唆される。CFS 実験において、選択的 5-HT<sub>1A</sub> アゴニストである MKC-242 も用量依存性に、freezing の出現を抑制し、1, 10mg/kg の用量で有意であった。脳内微小透析実験では、MKC-242 (1mg/kg) の急性投与で、細胞外 5-HT 濃度の有意な減少が認められた。この結果は、MKC-242 の投与による 5-HT 放出の制御が、前シナプス 5-HT<sub>1A</sub> 受容体の刺激を介して、用量依存性に細胞外 5-HT 濃度を減少させるという報告と一致する。一方、5-HT<sub>1A</sub> アゴニストの freezing 抑制作用については、後シナプス 5-HT<sub>1A</sub> 受容体の刺激を介していることが示唆されている (Inoue *et al.*, 1996)。

0.05%, 0.2% のリチウム含有飼料開始後、7 日後の血漿リチウム濃度は、それぞれ  $0.26 \pm 0.01$ ,  $0.71 \pm 0.05$  mEq/l (N=8) であり、後者は臨床的に効果があると報告されている濃度の範囲内であった。CFS 実験において、リチウム (0.2%) 亜慢性投与は、citalopram (3, 30mg/kg) と MKC-242 (1mg/kg) 双方の freezing の出現抑制効果を増強したが、リチウム (0.05%) 亜慢性投与では増強されなかった。従って、リチウム (0.2%) 亜慢性投与が、citalopram と MKC-242 の抗不安作用を増強したことが示唆された。脳内微小透析実験において、リチウム (0.2%) 亜慢性投与は、内側前頭前野の細胞外 5-HT 濃度の基礎値を有意に増加させた。citalopram (3mg/kg) 急性投与後の、内側前頭前野における細胞外 5-HT 濃度は、標準飼料投与群より、リチウム投与群において有意に高値であった。MKC-242 の急性投与後、標準飼料群、リチウム投与群のいずれにおいても、細胞外 5-HT 濃度の同程度の減少が認められた。

citalopram (3, 30 mg/kg) と MKC-242 (1 mg/kg) の急性投与、リチウム (0.2%) 亜慢性投与後の citalopram または MKC-242 の急性併用投与は、対照群と比較して自発運動量に有意な影響を及ぼさなかった。従って、これらの freezing 出現に対する抑制効果が、自発運動量亢進による非特異的抑制である可能性は除外されると考えられた。

これらの結果から、citalopram と MKC-242 の効果を増強するリチウムの作用機序として、それぞれ細胞外 5-HT 濃度の増加作用、後シナプス 5-HT<sub>1A</sub> 受容体機能の増強といった中枢における 5-HT 系の神経伝達促進の関与が考えられ、SSRI と 5-HT<sub>1A</sub> アゴニストに対するリチウムの併用投与が、不安障害の治療の有効性を高める可能性が明らかとなった。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 山 司

副 査 教 授 本 間 研 一

副 査 教 授 吉 岡 充 弘

学 位 論 文 題 名

## 抗不安作用における選択的 serotonin (5-HT) 再取り込み阻害剤, 選択的 5-HT<sub>1A</sub> アゴニスト 及びリチウムの作用機序に関する研究

－不安の動物モデル及び脳内微小透析法を用いた,  
行動薬理的, 神経化学的研究－

選択的 5-HT 再取り込み阻害剤 (SSRI) は、不安障害の治療にも有効であることが臨床的に明らかとなってきた。リチウムの抗うつ薬に対する増強効果の作用機序については、5-HT 神経伝達の促進が考えられているが、SSRI の効果に対するリチウムの増強効果の作用機序については、神経化学的実験でまだほとんど明らかにされていない。本研究では SSRI である citalopram、選択的 5-HT<sub>1A</sub> アゴニストである MKC-242 の抗不安作用に及ぼすリチウムの影響を不安の動物モデルである conditioned fear stress (CFS) を用いて行動薬理的に検討し、さらに細胞外 5-HT 濃度に対する効果に及ぼすリチウム亜慢性投与の影響について脳内微小透析法を用いて検討した。

CFS 実験において、citalopram、MKC-242 は freezing の出現を有意に抑制した。リチウム 0.2% 亜慢性投与は、freezing 出現に対するこれらの薬物の抑制効果を、リチウムの臨床的治療濃度で有意に増強した。脳内微小透析実験では、内側前頭前野において、citalopram の急性投与後、細胞外 5-HT 濃度は有意に増加した。リチウム 0.2% 亜慢性投与群では標準飼料投与群と比較して、有意に細胞外 5-HT 濃度の基礎値が高値であった。リチウム 0.2% 亜慢性投与後の citalopram 急性併用投与は、citalopram 単独投与群と比較して、細胞外 5-HT 濃度の有意な高値を示した。これらの結果から、リチウム 0.2% 亜慢性投与が、内側前頭前野における citalopram の細胞外 5-HT 濃度の増加作用に相加的な効果を与えることが示された。以上の結果から、リチウムによる SSRI の抗不安作用の増強効果が、SSRI による細胞外 5-HT 濃度増加をリチウムがさらに増加させることによって得られた可能性が示唆された。一方、MKC-242 急性投与は細胞外 5-HT 濃度を有意に減少させたが、リチウム亜慢性投与は MKC-242 による基礎値からの減少割合に変化を与えなかったため、リチウムが少なくとも 5-HT<sub>1A</sub> アゴニストによる 5-HT 放出抑制に影響を与えないことが示唆された。これまでの結果と考えあわせると、リチウム亜慢性投与による後シナプス 5-HT<sub>1A</sub> 受容体感受性亢進が、5-HT<sub>1A</sub> 受容体アゴニストの抗不安作用に対するリチウムの増強効果の作用機序であることが示唆された。

質疑応答では、本間教授から、リチウム慢性投与実験における対照群への食塩水投与によるNaCl過剰摂取の影響、高用量のSSRIとリチウム併用投与では、細胞外5-HT濃度の増加に限界がある可能性、細胞外5-HT濃度をリチウム以上に増加させる薬物の報告について質問があった。これに対して申請者は、ADH、アルドステロン等が電解質バランスを保つため代償しているものと考えられ、(同一実験ではないが)食塩水摂取群と一般水摂取群の間には行動上も細胞外5-HT濃度基礎値も影響がみられないが、CFSの抗不安作用に対してどのように影響するかは不明なため、今後検討したいこと、SSRIとリチウム併用投与では基礎値の約4-5倍までのceiling現象がある可能性、5-HT<sub>1A</sub>と5-HT<sub>1B</sub>受容体アンタゴニスト併用では、細胞外5-HT濃度の増加は7倍近くになる報告があることを回答した。次いで吉岡教授から、リチウムの作用は5-HT系に特異的なものか、リチウム投与ラットの体重増加停滞に対して栄養性の障害がないのかという質問があった。これに対して申請者は、リチウムの他の神経伝達に対する影響としては、ドーパミン、ノルアドレナリン、アセチルコリン、GABA系に影響するという報告がみられるが、細胞外濃度に関しての報告はみられないため、ドーパミン、ノルアドレナリンに関して現在検討中であること、栄養性の障害に関しては、現在のところ体重に影響しないで、高い血漿リチウム濃度を得ることができる投与方法がなく、無理に体重をコントロールするとラットのリズムに影響すると考えたが、今後リチウムの投与方法について検討したい旨回答した。

この論文は、SSRIと5-HT<sub>1A</sub>受容体アゴニストに対するリチウムの併用投与が、不安障害の治療の有効性を高める可能性を確認したという点で高く評価される。今後、動物モデル研究の進歩と臨床知見の蓄積により、不安障害の病態解明と治療法がさらに進展することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院研究科における研鑽と併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。