

論文内容の要旨

論文題目 グループII代謝調節型グルタミン酸受容体遮断による
抗鬱効果の行動薬理学的研究

氏名 島崎 聡 立

始めに

鬱病は主要な精神疾患の一つであり、欧米での罹患率は10%以上、日本でも6%と言われており、患者数は年々増加している。

現在、抗鬱薬は選択的セロトニン再取り込み阻害剤を始めとした1960年代に提唱された病態仮説である「モノアミン仮説」に基づくものだけであり、臨床治療において①有効率が70%程度であり既存の抗鬱薬が奏効しない難治性の患者が存在する事、②消化器系及び性機能障害等の副作用、③3~6週間の服用が薬効発現まで必要であること等の問題が生じている。これらの問題点の多くは、「モノアミン仮説」に基づく薬剤では必ず付帯すると考えられているため、その仮説とは異なる機序による抗鬱薬の開発が求められている。

近年、グルタミン酸神経活性化の鬱病治療への有用性が示唆されている。前臨床試験においてAMPA受容体potentiatorの抗鬱様作用、自己受容体であるmGluR2及びmGluR7のノックアウトマウスでの抗鬱様行動、グループII mGluR antagonistのLY341495における抗無快感症様作用等が報告されている。更に、臨床試験において、難治性鬱病患者の腹側帯状束のグルタミン酸濃度が低下しており、通電療法によって治癒した患者の同部位でのグルタミン酸濃度が健常人レベルへ上昇する事が報告された。同様に鬱病治療の一つである断眠療法により脳橋におけるグルタミン酸濃度が上昇することが報告された。これらの報告は、特定の脳部位におけるグルタミン酸濃度の低下が鬱病発症に関与しており、その低下を改善する事により抗鬱作用がもたらされる可能性を示唆している。

グルタミン酸受容体はイオンチャネル型(iGluR)と代謝調節型(mGluR)の2つに分類され、

後者は 8 つのサブタイプ(mGluR1~8)を持つ。mGluR は共役する情報伝達系及び薬理学的特性により 3 つのグループ(グループ I ~ III)に分類される。その中で、グループ II mGluR は Gi 共役型の GPCR で、主に神経終末に発現する自己受容体である。ラットの脳内において辺縁系に多く分布し、その agonist 及び potentiator が不安障害や統合失調症の治療に有効である可能性が示されている。このように精神疾患におけるグループ II mGluR の役割に関して研究が進んでいるが、鬱病における関与については十分な検討がなされていない。

本研究では鬱病におけるグループ II mGluR の関与を明らかにするため、グループ II mGluR antagonist である MGS0039 を用い、動物モデルでの検討を行った。

1. MGS0039 の in vitro におけるプロファイル

MGS0039 の in vitro プロファイルを検討した。

ラットのリコンビナント受容体発現細胞膜を用いた結合実験において、MGS0039 はグループ II mGluR に高い親和性(Table 1)を有した。

グループ II mGluR にグルタミン酸が結合する事により、Forskolin 刺激性 cAMP 蓄積抑制作用が起こる。ラットリコンビナント受容体発現細胞膜を用いた実験において、MGS0039 はグルタミン酸の作用に拮抗した(Table 1)。このことから、MGS0039 がグループ II mGluR に antagonist として作用することが示された。また、MGS0039 単独負荷では cAMP が変動しなかったことから、グループ II mGluR に agonist として作用しない事が示された(Table 1)。

グルタミン酸誘発細胞内カルシウム濃度測定法により、MGS0039 のグループ II mGluR に対する阻害様式を検討した。グルタミン酸の用量作用曲線が、MGS0039 により最大反応値を変化させずに右方にシフトしたことから、MGS0039 がグループ II mGluR に対し競合的な antagonist であることが明らかとなった。その pA_2 値を Table 1 に示す。

MGS0039 は mGluR 及び iGluR を含む他のグルタミン酸結合部位、モノアミン受容体及びトランスポーターに対して 10 μ M においても作用を示さなかった。

以上の結果から、MGS0039 はグループ II mGluR に対し選択的且つ競合的な antagonist であることが明らかとなった。

<i>Affinity (K_i; nM)</i>	<i>Antagonist activity</i>		<i>pA₂ 値</i>	<i>Agonist activity</i>	
	<i>(IC₅₀; nM)</i>			<i>(EC₅₀; μM)</i>	
mGluR2	2.21	mGluR2 20.0	mGluR2	8.10	mGluR2 >10.0
mGluR3	4.51	mGluR3 24.0	mGluR3	7.70	mGluR3 >10.0

Table 1. In vitro profile of MGS0039 to mGluR2 and mGluR3
Data represent mean \pm SEM from 3-10 separate experiments.

2. 動物モデル試験におけるグループ II mGluR antagonist の作用

グループ II mGluR の鬱病及び不安障害における役割を検討するため、MGS0039 を用いて、鬱病及び不安障害の動物モデル試験を実施した。

鬱病のモデル試験であるラット強制水泳試験において、MGS0039 は腹腔内投与で 1mg/kg から有意且つ用量依存的な抗鬱様作用を示した(Fig.1(a))。また同試験の行動解析において climbing には影響を与えず swimming を上昇させた(Fig.1(b))ことから、MGS0039 の強制水泳試験における抗鬱様作用にセロトニン神経系活性化が関与する事が示唆された。また、

別の鬱病のモデル試験であるマウス尾懸垂試験においても MGS0039 の腹腔内投与で 1mg/kg から有意な抗鬱様作用を示した(Fig.1(c))。

不安障害モデル試験の一つであるガラス玉覆い隠し行動試験において、MGS0039 は腹腔内投与で 3mg/kg から有意な抗不安様作用を示した(Fig.1(d))。

以上の結果から、グループ II mGluR antagonist が抗鬱及び抗不安様作用を有することが明らかとなった。

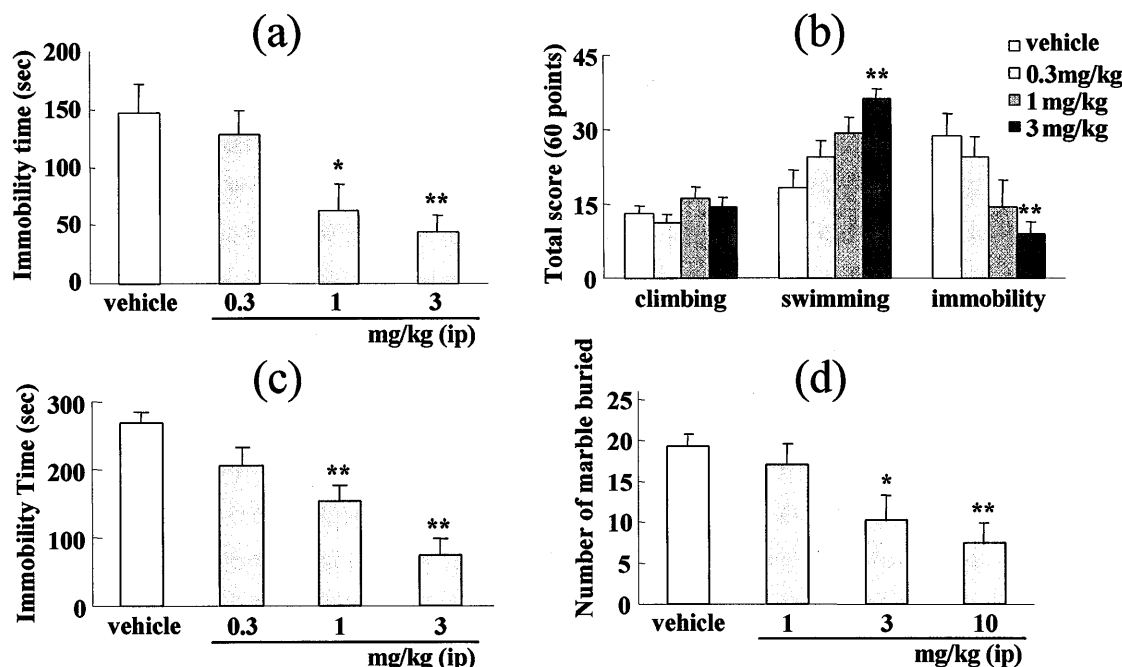


Fig. 1 Antidepressant and anxiolytic effects of MGS0039

Antidepressant effects of MGS0039 were evaluated by both the method duration of immobility (a) and by the time-sampling technique (b) in the forced swimming test and in the tail suspension test (c). Anxiolytic effect of MGS0039 was determined by the marble burying test (d). Data represent mean \pm SEM. vehicle: 1/15 phosphate buffer (pH=8) ip: intraperitoneal *: $P<0.05$, **: $P<0.01$ vs vehicle (Dunnett's test) N=8-15

3. グループ II mGluR antagonist の抗鬱様作用の作用機序の解明

作用機序を解明するために既知の知見や実験結果から以下の二点に着目した。

①グループ II mGluR antagonist は強制水泳試験において swimming 行動が上昇し、ガラス玉覆い隠し行動試験において薬理作用を示した。これら行動試験で認められた薬理作用的特徴からグループ II mGluR antagonist の抗鬱様作用にセロトニン神経系活性化が関与するのではないかと考えた。

②グループ II mGluR は主に神経終末に自己受容体として発現することから、その受容体の遮断はグルタミン酸放出量の増加を起こす。近年、シナプス後部のグルタミン酸受容体である AMPA 受容体 potentiator に抗鬱様効果があることが報告されている。更に、別のグループ II mGluR antagonist である LY341495 が抗無快感症様作用を有し、これが AMPA 受容体刺激を介する事が示唆されている。これらの知見からグループ II mGluR antagonist の抗鬱様作用が AMPA 受容体刺激を介しているのではないかと考えた。

グループ II mGluR antagonist によるセロトニン神経活動の変動を、電気生理学的手法及びマクロダイアリシス法を用いて検討した。背側縫線核(DRN)におけるセロトニン神経の発火頻度は MGS0039 の投与により有意に増加した(Fig.2(a))。また、その投射先の一つで

ある内側前頭前野(mPFC)でのセロトニン放出量も増加していた(Fig.2(b))。以上の結果から、グループ II mGluR antagonist がセロトニン神経系の活動を活性化させることが示された。

グループ II mGluR antagonist の抗鬱様作用及びセロトニン神経系活性化が AMPA 受容体を介しているかを検討するため同受容体 antagonist の NBQX を用いて検討した。マウス尾懸垂試験におけるグループ II mGluR antagonist の抗鬱様作用は、NBQX の 10mg/kg によって有意に拮抗された(Fig.2(c))。同様にグループ II mGluR antagonist の内側前頭前野でのセロトニン放出量増加は、NBQX 前処置により抑制された(Fig.2(d))。

以上の結果から、グループ II mGluR antagonist の抗鬱様作用の発現には、AMPA 受容体刺激を介したセロトニン神経系の活性化が関与することが示唆された。

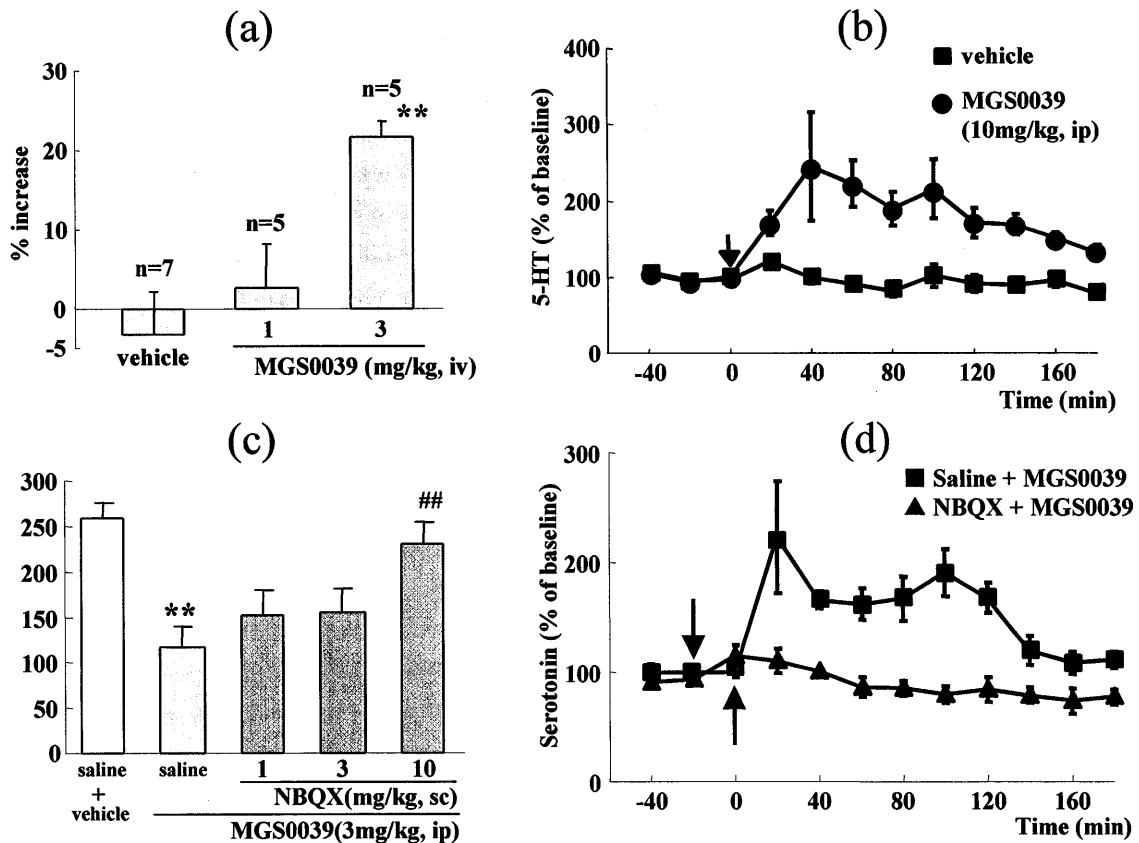


Fig. 2 Effects of MGS0039 on serotonergic neurons and AMPA receptor mediation

MGS0039 increased the firing rate of DRN serotonergic neurons (a) and extracellular serotonin concentration in the mPFC (b). NBQX, AMPA receptor antagonist, attenuated MGS0039-induced reduction of immobility time in the tail suspension test (c) and MGS0039-induced enhancement of extracellular serotonin concentration in the mPFC (d). Data represent mean \pm SEM. vehicle: 1/15 phosphate buffer (pH=8) iv: intravenous sc: subcutaneous ip: intraperitoneal **: $P < 0.01$ vs vehicle or saline+vehicle, #: $P < 0.01$ vs saline+MGS0039 (Dunnett's test) N=5-18

まとめ

本研究において以下のことを明らかとした。

- ・ MGS0039 はグループ II mGluR に選択的な競合的 antagonist であった。
- ・ グループ II mGluR antagonist は動物モデル試験において抗鬱及び抗不安様作用を示した。
- ・ グループ II mGluR antagonist の抗鬱様作用の発現には AMPA 受容体刺激を介したセロトニン神経系の活性化が関与することが示唆された。