

論文の内容の要旨

論文題目 不安・ストレス反応における脳内セロトニン 5-HT_{2c}受容体の機能に関する研究

氏 名 原 田 勝 也

現代社会はストレス社会とも呼ばれ、不安障害やうつ病（多くの場合不安症状を伴う）などのストレス関連疾患は増加の一途を辿っている。また、高齢化社会の進展に伴って、老人性の不安・うつや認知症の随伴症状としての不安・うつも著明に増加することが予想され、抗不安薬へのニーズは高まっていくと思われるが、既存薬はいずれも問題点を有しており、新規抗不安薬に対するニーズは高い。

そこで本研究においては、5-HT_{2c}受容体を選択的に遮断する薬物を創出して既存の不安モデルで評価することにより、全く新しいタイプの抗不安薬を創出しようと考えた。さらに、不安障害の一種で、戦争・天災・凶悪犯罪などの強烈なストレスを受けた後に発症する PTSD（外傷後ストレス障害）に対しては決定的な治療法がなく、社会問題ともなっていることから、本疾患の動物モデルを作製・解析し、新規治療薬のターゲット創出を試みた。

第1章 新規選択的 5-HT_{2c}受容体拮抗薬 FR260010 の抗不安作用

1960年代に chlordiazepoxide が導入されて以降、ベンゾジアゼピン（BZD）系の薬物が不安障害の治療に用いられてきたが、明確な有効性を示す一方で、眠気・ふらつき・筋弛緩・依存性などの副作用が問題となっている。これらの問題点がなく、不安選択的な薬物として1980年代以降に buspirone を初めとする 5-HT_{1A}受容体アゴニストが登場したが、即効性がないなどの点から BZD 系薬物に取って代わるまでには至らなかった。また、抗うつ薬として世に登場した選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）が、1990年代後半から不安障害の治療にも用いられるようになってきたが、やはり作用発現に時間がかかる上に既存薬とは異なる副作

用を有することから、即効性がある副作用の少ない抗不安薬に対するニーズは依然として高いと考えられる。

セロトニン受容体サブタイプの1つである5-HT_{2C}受容体に対してアゴニスト作用をもつ1-(m-chlorophenyl)-piperazine (m-CPP) をヒトに投与すると不安を惹起することから、脳内5-HT_{2C}受容体の過活動が不安に関与していることが示唆されている。ジアリルアミン誘導体のスクリーニングを行った結果、新規5-HT_{2C}受容体拮抗薬FR260010 (*N*-[3-(4-methyl-1*H*-imidazol-1-yl)phenyl]-5,6-dihydrobenzo[*h*]quinazolin-4-amine dimethanesulfonate) を発見した。FR260010はヒト5-HT_{2C}受容体に対して高い親和性 (K_i: 1.10 nM) を示し、ヒト5-HT_{2A}受容体 (K_i: 386 nM) および他の神経伝達物質受容体に対して高い選択性を示した。またFR260010は細胞内カルシウムアッセイにおいて、ヒト5-HT_{2C}受容体に対してアゴニスト作用を示さず、セロトニンの作用に拮抗した。さらにFR260010は、脳内5-HT_{2C}受容体の活性化によって生じると考えられているm-CPP誘発ラット運動量低下 (ID₅₀: 1.89 mg/kg, p.o.) およびm-CPP誘発ラット摂餌量低下 (ID₅₀: 2.84 mg/kg, p.o.) を用量依存的に抑制し、脳内で5-HT_{2C}受容体拮抗薬として作用することが明らかとなった。

そこで、げっ歯類の不安モデルと副作用モデルを用いて、FR260010の薬理作用プロファイルを他クラスの抗不安薬であるdiazepam (BZD系) およびbuspirone (5-HT_{1A}受容体アゴニスト) と比較した。FR260010 (0.1-3.2 mg/kg, p.o.) およびdiazepam (1-10 mg/kg, p.o.) は、用いた全ての不安モデル (ラット高架式十字迷路試験、ラット社会的相互作用試験、マウス明暗箱試験、マウスホールボード試験) において抗不安作用を示したが、buspirone (0.32-10 mg/kg, p.o.) はいずれのモデルにおいても有意な作用を示さなかった。一方、副作用モデルにおいては、FR260010とbuspironeは高用量までほとんど作用を示さなかったのに対し、diazepamは薬効用量付近で麻酔増強・協調運動障害といった副作用を惹起した。

以上の結果から、FR260010は良好な経口吸収性および脳内移行性を有する強力な新規5-HT_{2C}受容体選択的拮抗薬であり、既存のBZD系抗不安薬や5-HT_{1A}受容体アゴニストの有する問題点の解決された、新規抗不安薬候補となりうる可能性が示唆された。

第2章 新規PTSDモデルラットとしてのsingle-prolonged stress (SPS) 負荷ラットの解析

PTSDは、生命を脅かすような出来事を自分自身が体験または目撃すること (外傷体験) により発症する不安障害の一種であり、外傷の再体験によるフラッシュバック、外界からの刺激に対する回避や鈍麻、慢性的な過覚醒や反応の亢進などを中核症状とするが、既存の抗うつ薬や抗不安薬による治療では十分な効果が認められない。PTSDに対する本質的治療薬を創出するためには、その病態を反映した動物モデルの構築ならびにその病態の解析が不可欠である。

SPS (拘束ストレス2時間、強制水泳20分、休憩15分、エーテル麻酔を連続して負荷する) は、PTSDの動物モデルとして提唱されているものの1つである。SPSを負荷されたラットは、PTSD患者に特異的な神経生物学的変化である視床下部-下垂体前葉-副腎皮質 (HPA) 系の過剰抑制を示し、少なくとも病態の一面を反映していることが報告されているので、本モデルを作製して、神経内分泌学的、行動学的および電気生理学的にさらに詳細な解析を行った。

SPS 負荷の 1 週間後に dexamethasone test を実施したところ、確かに HPA 系の過剰抑制が観察された。SPS 負荷後の血漿中 corticosterone 濃度は一旦急上昇した後、1 週間以内に負荷前のレベルに戻った。血漿中の corticosterone 濃度が高い状態が持続すると海馬の神経細胞死を生じることが知られているが、SPS 負荷ラットにおいては、海馬において明確な神経細胞死は生じていなかった。SPS 負荷 1 日および 1 週間後の時点で行動試験（音驚愕反応、モリス水迷路、文脈的恐怖条件付け）を行ったところ、1 日後にはいずれの試験においても変化なく、1 週間後のみにおいて、音驚愕反応の亢進、空間学習能低下および不安関連行動の増加が見られた。一方、電気生理学的には、SPS 負荷 1 週間後の海馬 CA1 領域での長期増強（LTP）と長期抑制（LTD）はいずれも減弱しており、シナプス可塑性が著しく障害を受けていた。また、SPS 負荷の 1 週間後では扁桃体の LTP も減弱していた。

次にグルココルチコイド受容体（GR）の拮抗薬である RU40555（17-beta-hydroxy-11-beta-/4-[methyl]-[1-methylethyl]aminophenyl/-17-alpha-[prop-1-ynyl]estra-4-9-diene-3-one）を SPS 負荷の 5 分前に投与すると、1 週間後の恐怖条件付けの亢進と海馬 CA1 領域での LTP の減弱が有意に抑制された。

以上の結果から、SPS 負荷ラットは神経内分泌学的にも行動学的にも PTSD 患者の臨床病態に近い症状を示し、PTSD モデルとして有用であること、並びにその発症の少なくとも一部に SPS 負荷による GR の活性化が関与していることが示唆された。

第 3 章 SPS 負荷ラットの遺伝子発現解析による新規 PTSD 治療薬の標的候補探索

PTSD は既存の向精神薬によって治療が行われているものの、患者に特異的な変化に基づいて合理的にデザインされた薬物は存在しない。第 2 章の研究で解析した SPS 負荷ラットは、少なくとも PTSD の病態の一部を反映していると考えられることから、SPS 負荷後に起きるラット脳内の遺伝子発現変化を DNA マイクロアレイにより調べ、PTSD 様症状発現の原因となり治療薬の標的となりうる分子の探索を行った。

SPS 負荷の 1 日および 1 週間後のラットおよび対照ラットの脳（不安関連部位として海馬・扁桃体・前部帯状皮質の 3 部位を選択）より RNA を抽出し、同一マイクロアレイ上（二色法）で遺伝子発現レベルを比較した。SPS 負荷ラットにおける不安関連行動の変化のパターンと同様、SPS 負荷 1 日後には発現に変化がなく、1 週間後においてのみ変化した遺伝子は 3 部位で 31 個見出された。その多くが機能不明である中で、不安との関連が多く報告されている 5-HT_{2C} 受容体を候補遺伝子として選択し、まずリアルタイム PCR 法を用いて、扁桃体で受容体 mRNA の発現増加が起きていることを確認した。次に、選択的 5-HT_{2C} 受容体拮抗薬 FR260010（1-10 mg/kg, s.c.）を恐怖条件付け試験の 30 分前に投与したところ、SPS 負荷ラットの不安増強は有意に抑制された。一方、FR260010 は SPS 負荷ラットの電気刺激感受性に影響を与えなかった。

以上の結果から、SPS 負荷ラットの不安関連行動の増加に脳内 5-HT_{2C} 受容体の活性化が関与していることが明らかとなり、本受容体の新規 PTSD 治療薬の薬物標的としての可能性が示唆された。