

学 位 論 文 題 名

リチウムおよび抗うつ薬の作用機序に関する研究

—モノアミン受容体と連関するアデニル酸シクラーゼ系に対する影響—

学位論文内容の要旨

I は じ め に

リチウムは躁病に対して有効なばかりでなく、躁うつ病相の予防効果、さらには単剤であるいは他の抗うつ薬との併用により抗うつ効果をあわせ持つことが臨床的に確認されているが、このような多彩な臨床効果を説明する薬理学的機序は明らかではない。一方、抗うつ薬の作用機序に関しても、以前の前シナプス性の急性効果を重視する考え方から最近は反復投与後に認められる β -アドレナリン性（ β ）受容体やセロトニン（5-HT）受容体の適応性変化に注目した研究が盛んになっているが、その抗うつ作用との関係ではなお多くの不明な点が残されている。

近年の神経科学の進展により、細胞膜表面上の受容体への刺激を細胞内の二次情報に変換、制御する機構の詳細が明らかにされるようになり、リチウムおよび抗うつ薬の作用機序についてもこのような観点からの検討が必要とされている。著者は、リチウムおよび抗うつ薬の投与によるラット脳の β 受容体および5-HT受容体、さらにこれらの受容体に連関したアデニル酸シクラーゼ活性の変化を検討し、その作用点および作用様式を明らかにすることを試みた。

II 対 象 と 方 法

1. 動物と薬物処理

実験には200～300 gのSprague-Dawley系雄性ラットを用いた。

リチウムは0.2または0.23%の炭酸リチウムを含有した餌として経口的に3ないし4週間投与した。抗うつ薬としては、desipramine, imipramine, amitriptyline, tranylcypromine および iprindole を生理的食塩水に溶解して腹腔内投与した。

2. 放射性リガンド結合実験

ラットを断頭屠殺後、大脳皮質および海馬を氷上にて切り出し、緩衝液中で homogenize し、洗滌、遠心を繰り返して粗膜標品を調整した。 β 受容体、5-HT₁受容体および5-HT_{1A}受

容体に対する結合実験は放射性リガンドとして、それぞれ [^3H] dihydroalprenolol, [^3H] 5-HT および [^3H] 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin ([^3H] 8-OH-DPAT) を用い常法に従って施行した。5-HT₂ 受容体結合実験には [^3H] ketanserin および [^3H] spiperone を用いた。また、アデニル酸シクラーゼの触媒部位および促進性グアニンヌクレオチド結合制御蛋白質 (Gs) の活性化を検討する目的で [^3H] forskolin 結合を施行した。いずれの結合実験も平衡状態に達する時間インキュベートし、急速濾過法にてB/F分離を行った。

3. アデニル酸シクラーゼ活性の測定

膜標品を基質となる [α - ^{32}P] ATP とともにキンキュベートし、生成された [^{32}P] cAMP を、回収率測定のために加えた [^3H] cAMP とともに Dowex, Alumina の二重カラムにて分離し、アデニル酸シクラーゼ活性を測定した。

4. Gi/Go の [^{32}P] ADP-リボシル化反応

大脳皮質膜標品を [α - ^{32}P] NAD とあらかじめ活性化した百日咳毒素 (islet-activating protein, IAP) とともに反応させ、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動施行後、オートラジオグラフィーにて得られたバンドに一致する部位をゲルから切り出して放射活性を測定した。

Ⅲ 結 果

3週間のリチウム経口投与により、ラット大脳皮質の β 受容体数は対照群に比較して有意に減少した。5-HT₁ 受容体数はリチウムの長期投与により海馬で減少、大脳皮質では不変であった。 [^3H] 8-OH-DPAT 結合の結果、および100nM の8-OH-DPAT 存在下での [^3H] 5-HT 結合の結果より、リチウム投与による海馬の5-HT₁ 受容体数の減少は主に5-HT_{1A} 受容体の変化に基づくものであることが示唆された。一方、5-HT₂ 受容体結合はリチウム投与によって変化しなかった。また、imipramine や desipramine の投与は海馬の5-HT₁ 受容体結合に影響を与えなかった。

大脳皮質のアデニル酸シクラーゼ活性の β 受容体アゴニストによる上昇はリチウム投与によって有意に抑制された。しかし、GTP の非水解性アナログである guanylyl-5'-ylimidodiphosphate (Gpp(NH)p) による上昇においてはリチウム投与群と対照群に差を認めなかった。海馬のフォルスコリン刺激性アデニル酸シクラーゼ活性の5-HT による抑制はリチウム、desipramine, tranlycypromine の長期投与によっていずれも影響を受けなかった。また、海馬のアデニル酸シクラーゼ活性の Gpp(NH)p による抑制はリチウム投与によって有意な変化を

認めなかった。

大脳皮質における [^3H] forskolin 結合は、いずれの実験条件においても、リチウムまたは desipramine の投与により影響を受けなかった。また、IAP による [^{32}P] ADP-リボシル化反応を指標としてみた Gi/Go 量はリチウムまたは各種抗うつ薬長期投与によって変化しなかった。

V 考 察

抗うつ薬や電気痙攣療法の抗うつ作用の生化学的背景として現在最も一般的に考えられている効果は、それらの反復処置後に引き起こされる β 受容体-アデニル酸シクラーゼ系の適応性変化である。リチウムは躁病に対して有効なだけでなく、単剤でまた他の抗うつ薬との併用により抗うつ効果を有することが明らかにされているので、 β 受容体-アデニル酸シクラーゼ系に対する影響を検討することは重要な課題である。今回の実験結果からは、リチウムの長期投与が大脳皮質の β 受容体数の減少と β 受容体アゴニストによるアデニル酸シクラーゼ活性上昇の低下を引き起こすことが明らかとなった。すなわち、リチウムは β 受容体-アデニル酸シクラーゼ系に対して他の多くの抗うつ薬と同様の変化をもたらす。この変化はリチウムの持つ多彩な臨床効果の一部、ことに抗うつ作用を説明するものであるかもしれない。

一方、リチウムの長期投与は海馬の 5-HT_1 受容体数も減少させるが、この変化は主に 5-HT_{1A} 受容体の減少に基づくものであった。しかしながら 5-HT_{1A} 受容体を介する海馬のアデニル酸シクラーゼ活性の抑制はリチウム投与によっても有意な変化を認めず、その意義については今後の検討が必要であろう。

また、受容体以後の G 蛋白およびアデニル酸シクラーゼの触媒部位に対するリチウムおよび抗うつ薬の影響は今回の検討では明らかにすることができなかったが、今後さらに精緻な方法を用いて検討する余地があると思われる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 山 下 格

副 査 教 授 石 橋 輝 雄

副 査 教 授 菅 野 盛 夫

リチウム (Li) は躁病に対して有効なばかりでなく、躁うつ病相の予防効果、さらには単剤であるいは他の抗うつ薬との併用により抗うつ効果をあわせ持つことが臨床的に確認されているが、このような多彩な臨床効果を説明する薬理学的機序は明らかではない。一方、三環系抗うつ薬をはじめとする多くの抗うつ薬の作用機序についても不明な点が少なくない。本研究ではラット脳の β -アドレナリン性 (β) 受容体およびセロトニン (5-HT) 受容体、さらにこれらの受容体に連関したアデニル酸シクラーゼ (AC) 系に対して、Li および抗うつ薬の投与が及ぼす影響を検討し、これらの躁うつ病治療薬の作用点ならびに作用様式を明らかにすることを試みた。

【方法】実験には Sprague-Dawley 系の成熟雄性ラットを用いた。Li は 0.2 または 0.23% の炭酸 Li を含有した餌として経口的に 3 ないし 4 週間、抗うつ薬としては、desipramine, imipramine, amitriptyline, tranlycypromine または iprindole を生理的食塩水に溶解して 1 日 1 ないし 2 回、1 ~ 3 週間腹腔内投与した。大脳皮質および海馬の粗膜標品を調整し、以下の実験を施行した。

① 大脳皮質における β 受容体結合実験 ($[^3\text{H}]$ dihydroalprenolol) ② 大脳皮質および海馬における 5-HT 受容体結合実験 ($[^3\text{H}]$ 5-HT, $[^3\text{H}]$ 8-OH-DPAT, $[^3\text{H}]$ ketanserin, $[^3\text{H}]$ spiperone) ③ 大脳皮質における AC 活性 ④ 海馬における AC 活性の 5-HT による抑制 ⑤ 大脳皮質における $[^3\text{H}]$ forskolin 結合 ⑥ 百日咳毒素 (IAP) による $[^{32}\text{P}]$ ADP-リボシル化反応

【結果】3 週間の Li 投与により、ラット大脳皮質の β 受容体数は対照群に比較して有意に減少した。5-HT₁ 受容体数は Li 投与により海馬で減少し、大脳皮質では不変であった。 $[^3\text{H}]$ 8-OH-DPAT 結合の結果、および 100 nM の 8-OH-DPAT 存在下での $[^3\text{H}]$ 5-HT 結合の結果より、Li 投与による海馬の 5-HT₁ 受容体数の減少は主に 5-HT_{1A} 受容体の変化に基づくものであることが示唆された。

大脳皮質の AC 活性の β 受容体アゴニストによる上昇は Li 投与によって有意に抑制された。

しかし、guanylyl-5'-ylimidodiphosphate (Gpp(NH)p) による上昇は Li 投与群と対照群に差を認めなかった。海馬のフォルスコリン刺激性 AC 活性の 5-HT による抑制は Li, desipramine, tranlycypromine のいずれの投与によっても影響を受けなかった。

大脳皮質における [^3H] forskolin 結合は、いずれの実験条件においても、Li または desipramine の投与により影響を受けなかった。また、IAP による [^{32}P] ADP-リボシル化反応を指標としてみた Gi/Go 量は Li または各種抗うつ薬長期投与によって変化しなかった。

【考察と結語】抗うつ薬や電気痙攣療法の抗うつ作用の生化学的背景として現在最も一般的に考えられている効果は、それらの反復処置後に引き起こされる β 受容体-AC 系の適応性変化である。今回の実験結果からは、Li の長期投与が大脳皮質の β 受容体数の減少と β 受容体アゴニストによる AC 活性上昇の低下を引き起こすことが明らかとなった。すなわち、Li は β 受容体-AC 系に対して他の多くの抗うつ薬と同様の変化をもたらす。この変化は Li の持つ多彩な臨床効果の一部、ことに抗うつ作用を説明するものであるかもしれない。

一方、Li の長期投与は海馬の 5-HT_{1A} 受容体数も減少させるが、この変化は主に 5-HT_{1A} 受容体の減少に基づくものであった。しかしながら 5-HT_{1A} 受容体を介する海馬の AC 活性の抑制は Li 投与によっても有意な変化を認めず、その意義については今後の検討が必要であろう。

〈質疑応答〉問：Li 投与により受容体数が減少しているが affinity に変化がないことはどのように考えるか？

答：大脳皮質の β 受容体、海馬の 5-HT_{1A} 受容体とも、Li による前シナプス性の効果に対する適応性の変化として、各受容体数が減少したものと推定している。

問：NaF は実際の生体内には高濃度では存在しないが、この点については？

答：AC 系のどのコンポーネントが変化しているかを検討する probe のひとつとして用いた。NaF は Gs に直接作用して cAMP 産成を促すことが報告されている。

問：PI 系に対する Li の効果との関係は？

答：本研究では PI 系に対する Li の影響は検討していない。In vitro では治療的濃度で PI 代謝回転が抑制されることが報告されている。一方、AC 活性に対する抑制効果はそれよりも高濃度で認められ、AC に対する in vitro での効果はむしろ Li 治療の際の毒性と関連しているかもしれない。