

抗不安作用におけるモノアミン酸化酵素阻害薬の 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

モノアミン酸化酵素阻害薬 (monoamine oxidase inhibitor, MAO 阻害薬) 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. 不安の動物モデルにおいてはこれまで MAO 阻害薬の抗不安作用はほとんど報告されたことがない. 当教室では, これまで不安の動物モデルである恐怖条件付けストレスを用いた行動薬理学的研究で, 選択的セロトニン(5-hydroxytryptamine, 5-HT)再取り込み阻害薬, 5-HT_{1A} アゴニスト, L-5-hydroxytryptophan がすくみ行動を抑制することを報告してきた. 恐怖条件付けモデルでは, 5-HT 神経伝達の促進が不安行動を減弱させることが示唆されている. MAO 阻害薬は脳で細胞外 5-HT 濃度を増加させることが報告されており, 恐怖条件付けストレスにおいて MAO 阻害薬が抗不安作用をもたらす可能性が考えられる.

本研究では, 恐怖条件付けストレスによって誘発される freezing (すくみ行動) に対する MAO 阻害薬の抗不安作用を行動薬理的に検討した. MAO には A と B の 2 つのサブタイプが存在するため, 選択的 MAO-A 阻害薬と選択的 MAO-B 阻害薬, 非選択的 MAO 阻害薬の freezing に対する効果を比較した. さらに, MAO-A 阻害薬と MAO-B 阻害薬の併用の効果についても検討した. また, MAO 阻害薬の細胞外 5-HT 濃度に対する影響を脳内微小透析法を用いて検討した.

実験には Sprague-Dawley 系雄性ラット (230~270 g) を使用した. 使用薬剤としては, 選択的 5-HT_{1A} 受容体アゴニスト tandospirone, 非可逆的非選択的 MAO 阻害薬 tranylcypromine と phenelzine, 非可逆的選択的 MAO-A 阻害薬 clorgyline, 非可逆的選択的 MAO-B 阻害薬 selegiline, 可逆的選択的 MAO-A 阻害薬 Ro41-1049 と可逆的選択的 MAO-B 阻害薬 lazabemide を用いた.

恐怖条件付けストレスとは電撃ストレス (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 分間の観察時間のうち, freezing がみられる時間を百分率 (% Freezing) に計算しスコアとして表した.

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。

脳内微小透析法では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40分ごとに400分間回収した。サンプル回収開始から120分後に薬物またはvehicleを腹腔内投与した。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。

恐怖条件付けストレス実験において、選択的5-HT_{1A}受容体アゴニスト tandospirone, 非選択的MAO阻害薬 tranylcypromine と phenelzine は freezing の出現を有意に抑制した。選択的MAO-A阻害薬あるいは選択的MAO-B阻害薬の単独投与は、それぞれMAO-AあるいはMAO-Bを選択的に十分阻害する投与量において、freezingの出現に影響を与えなかった。興味深い事に、これらのMAO阻害薬が可逆的であるか非可逆的であるかにかかわらず、MAO-A阻害薬とMAO-B阻害薬の併用投与は有意にfreezingの出現を抑制した。本研究では、4種類のMAO-A阻害薬とMAO-B阻害薬の4通りの併用投与 (clorgyline と selegiline, clorgyline と lazabemide, Ro41-1049 と selegiline, Ro41-1049 と lazabemide) において再現性よく同様な結果が得られた。Freezingの出現を抑制する用量で、非選択的MAO阻害薬、MAO-A阻害薬とMAO-B阻害薬の併用投与はホームケージ内での自発運動量に影響を与えなかった。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。これらの結果は、恐怖条件付けモデルにおける非選択的MAO阻害薬の抗不安作用が、MAO-AとMAO-Bの両方を同時に阻害することによってもたらされることを示している。

脳内微小透析実験では、clorgyline と selegiline の併用投与は内側前頭前野において顕著に細胞外5-HT濃度を増加させ、各薬剤の単独投与の効果よりも有意な高値を示した。したがって、MAO阻害薬の抗不安作用は、細胞外5-HT濃度の増加と関連している可能性が示唆される。

以上の結果から、不安の動物モデルである恐怖条件付けストレスにおいて、MAO阻害薬の急性投与が抗不安作用を示すことが明らかになった。非選択的MAO阻害薬の抗不安作用発現においては、MAO-AとMAO-Bの両方を阻害することがより効果的であることが示唆された。MAO阻害薬の抗不安作用の作用機序として、細胞外5-HT濃度増加作用を介する中枢における5-HT系の神経伝達促進の関与が考えられた。

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モノアミン酸化酵素阻害薬の 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、
行動薬理学的、神経化学的研究－

モノアミン酸化酵素阻害薬 (monoamine oxidase inhibitor, MAO 阻害薬) 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明らかとなってきたが、不安の動物モデルにおける MAO 阻害薬の抗不安作用はこれまで報告されたことがない。本研究では、恐怖条件付けストレスによって誘発される freezing (すくみ行動) を指標として MAO 阻害薬の抗不安作用を評価し、その作用機序を解明していくことを目的とした。

恐怖条件付けストレスによって誘発される freezing に対する MAO 阻害薬の抗不安作用を行動薬理学的に検討した。MAO には A と B の 2 つのサブタイプが存在するため、MAO-A 阻害薬と MAO-B 阻害薬、非選択的 MAO 阻害薬の freezing に対する効果を比較した。その結果、選択的 MAO-A 阻害薬あるいは選択的 MAO-B 阻害薬の単独投与は、それぞれ MAO-A あるいは MAO-B を選択的に十分阻害する投与量において、freezing の出現に影響を与えなかった。非選択的 MAO 阻害薬は freezing の出現を有意に抑制した。さらに、MAO-A 阻害薬と MAO-B 阻害薬の併用の効果についても検討した。その結果、MAO-A 阻害薬と MAO-B 阻害薬の併用投与は有意に freezing の出現を抑制した。4 種類の MAO-A 阻害薬と MAO-B 阻害薬の 4 通りの併用投与において再現性よく同様な結果が得られた。Freezing の出現を抑制する用量で、非選択的 MAO 阻害薬、MAO-A 阻害薬と MAO-B 阻害薬の併用投与はホームケージ内での自発運動量に影響を与えなかった。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たと考えられた。また、MAO 阻害薬の細胞外 5-HT 濃度に対する影響を脳内微小透析法を用いて検討した。その結果、MAO-A 阻害薬と MAO-B 阻害薬の併用投与は内側前頭前野において顕著に細胞外 5-HT 濃度を増加させ、併用投与は各薬剤の単独投与よりも有意に強い効果を示した。したがって、MAO 阻害薬の抗不安作用は、細胞外 5-HT 濃度の増加と関連している可能性が示唆される。

以上の結果から、不安の動物モデルである恐怖条件付けストレスにおいて、MAO 阻害薬の急性投与が抗不安作用を示すことが明らかになった。非選択的 MAO 阻害薬の抗不安作用発現においては、MAO-A と MAO-B の両方を阻害することがより効果的であることが示唆された。MAO 阻害薬の抗不安作用の作用機序として、細胞外 5-HT 濃度増加作用による中枢 5-HT 系の神経伝達促進の関与が考えられた。

質疑応答では、本間教授から、MAO 阻害薬の可逆性の定義について質問があった。これに対して申請者は、脳切片で検討した *ex vivo* の研究で、可逆的 MAO 阻害薬を投与されたラットの脳切片は灌流により MAO 阻害活性を失う点から説明した。さらに細胞内と細胞外での MAO の役割についての質問があった。これに対して申請者は、MAO は主として細胞内のミトコンドリア外膜で作用することを説明した。また、MAO-A 阻害薬と MAO-B 阻害薬の併用効果について脳内微小透析実験と行動薬理学的実験の結果の間には時間的な相関があるのではないかという指摘があった。これに対して申請者は、今後の実験でさらに明らかにしたいと回答した。次いで吉岡教授から、細胞外 5-HT 濃度増加作用における MAO-A 阻害薬の想定される作用部位と MAO-A 阻害薬の抗不安作用の臨床報告の結果について質問があった。これに対して申請者は、5-HT 作動性神経以外の細胞内 MAO-A の関与の可能性と、真に選択的な MAO-A 阻害薬の抗不安作用は臨床的には報告されていないことを回答した。さらに小山教授から、可逆的 MAO-A 阻害薬の選択性についての質問があり、申請者は欧米で用いられている可逆的 MAO-A 阻害薬である moclobemide と brofaromine について言及し、前者の代謝物の一部は MAO-B 阻害活性を有し、後者は 5HT 再取り込み阻害作用を有するため、MAO-A 阻害薬としての選択性は低いと回答した。さらに MAO-A 阻害薬と MAO-B 阻害薬の併用による顕著な細胞外 5HT 濃度増加における MAO-B の基質である β -phenylethylamine の関与の可能性についての質問があった。これに対して申請者は、MAO-B 阻害によって脳内の β -phenylethylamine 濃度が増加し、5-HT 遊離が刺激されることが作用機序である可能性が考えられると回答した。

この論文は、MAO 阻害薬の抗不安作用を検出し、抗不安作用発現には MAO-A と MAO-B の両方を阻害することが重要であるという治療戦略の確立に寄与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。