

学位論文題名

ヒトインターフェロン α による うつ誘発作用機序に関する研究

学位論文内容の要旨

【背景】

interferon (IFN) 製剤はウイルス性肝炎や腫瘍の治療に使用されているが、近年、副作用として精神障害の報告例が増加している。特にうつ症状に関しては自殺企図に至った重篤な症例も報告され、社会的な問題となっている。興味深いことに、IFNによる精神症状の発症報告例はIFN- α 製剤によるものが殆どであり、IFN- β や γ 製剤による報告例は非常に少ない。本研究は、IFN製剤によるうつ誘発作用に焦点を充て、これら製剤間の作用の差異を動物実験において再現すること、さらにその作用機序の解明を目的とした。

1. うつ誘発活性評価法の確立

マウスやラットの強制水泳試験で認められる無動状態は動物の運動活性とは無関係に生じることから、うつの病態モデルと考えられている。本試験法は比較的簡便かつ再現良く評価できるうえ、自発運動試験との組み合わせにより、抗うつ作用を明確に捉えられることから、抗うつ薬のスクリーニング試験として繁用されている。このモデルにおける無動時間の短縮が抗うつ作用を示すことから、無動時間の延長はうつ症状の増悪を反映する作用と考えられた。そこで、強制水泳試験法をうつ症状の検出評価系に応用すべく、繁用されているPorsoltらの方法を一部改良し、すなわち、訓練試行を実施しないことにより、マウスが無動状態を呈しにくい評価法を考案した。この評価法において抗うつ薬の作用は評価可能なうえ、臨床においてうつ誘発作用が報告されている7種類の薬物の無動時間の延長作用を明確に検出できることが明らかとなった。

2. 強制水泳試験におけるヒトIFNの作用

マウス強制水泳試験法の有用性が確認されたので、本法と自発運動量の測定を組み合わせた評価系を用いて、ヒトIFN製剤のうつ症状の誘発作用について検討した。その結果、強制水泳試験においてヒトIFN- α の単回投与(6-60 kIU/kg, i.v.)は用量依存的な無動時間の延長を示した。また、単回投与で作用の弱かった6 kIU/kg, i.v. (臨床用量に相当)においても7日間連投によって統計学的に有意な無動延長作用を示すことが確認された。このことから、ヒトIFN- α は連投によって作用の蓄積性あるいは高感受性を示す可能性が示唆された。一方、ヒトIFN- β および γ はいずれも無動時間に殆ど影響を及ぼさなかった。また、ヒトIFNはいずれもマウスの自発運動量には影響を及ぼさなかったことから、ヒトIFN- α による無動延長作用には運動活性の影響は無いものと判断された。なお、ラット強制水泳試験においてもマウスの場合と同様の結果が得られた。これらのげっ歯類動物において認められたヒトIFNの作用は臨床報告(発現頻度は $\alpha \gg \beta, \gamma$)に一致していたことから、ヒトで認められるうつ作用を反映しているものと考えられた。

3. 強制水泳試験におけるマウス IFN の作用

ヒト IFN- α および β はともに IFN- α/β 受容体を介して作用を発現するが、 α のみが強制水泳において無動延長作用を示す。この理由に、ヒト IFN- α は β および γ と比較して他種への交差反応性が高いことから、ヒト IFN の種特異性の相違による可能性が危惧された。そこで、マウス IFN (α/β 、 β および γ) を用いて評価した結果、いずれも無動時間に殆ど影響を及ぼさなかった。従って、ヒト IFN の作用の相違に種特異性は関与しないこと、ヒト IFN- α による無動延長作用は IFN- α/β 受容体を介していないことが確認された。

4. ヒト IFN- α の作用における中枢 opioid 系の関与について

げっ歯類やヒトにおいて、ヒト IFN- α による精神症状の発現に中枢 opioid 系の関与が示唆されている。そこで、強制水泳試験におけるヒト IFN- α の作用に opioid 系が関与するかどうか検討を行った。その結果、ヒト IFN- α は中枢内投与 (50 IU/head, i.cist.) でも無動延長作用を示し、この作用は非選択的受容体拮抗薬 naloxone によって拮抗された。従って、ヒト IFN- α は直接中枢 opioid 系に影響を及ぼしていることが推察された。また、ヒト IFN- α による作用は δ および κ 受容体拮抗薬 (naltrindole および nor-BNI) では拮抗されず、 μ および $\mu 1$ 受容体拮抗薬 (β -FNA および naloxonazine) によって拮抗された。従って、ヒト IFN- α によるマウス無動時間の延長作用には中枢 opioid μ 受容体、特に $\mu 1$ 受容体が関与していることが明らかとなった。さらに、ヒト IFN- α (60 kIU/kg, i.v.) はマウス tail-pressure 法において鎮痛活性を示したことから、ヒト IFN- α は opioid 受容体作動活性を有することが確認された。なお、IFN- β および γ は鎮痛活性を示さなかった。また、opioid 作動薬である morphine (1mg/kg, s.c.) はヒト IFN- α (60 kIU/kg, i.v.) とほぼ同等の無動延長作用および鎮痛活性を示すこと、両薬物の作用はいずれも $\mu 1$ 受容体拮抗薬により拮抗されたことから、ヒト IFN- α および morphine によるこれらの作用には共通のメカニズムの関与するものと考えられた。さらに、ラット視床/視床下部膜標本を用いた in vitro 受容体結合実験において、ヒト IFN- α は [3 H]-DAMGO (opioid μ 受容体作動薬) の結合を阻害したが、IFN- β および γ はいずれも阻害しないことから、ヒト IFN- α は opioid μ 受容体に対して直接結合活性を有することが明らかとなった。

5. 強制水泳時のマウス脳内 monoamine 動態

マウス強制水泳試験では、水泳開始 3-4 分後より無動を呈する動物が現れ、6 分後では殆どが無動状態となる。その際、脳内 monoamine の代謝はいずれも水泳開始前に比べて亢進する。ヒト IFN- α 投与では、水泳開始 6 分後において対照群との間に差は殆ど認められなかったが、無動状態が引き起こされる開始 2 分後では norepinephrine (NE) および dopamine (DA) の代謝は亢進していた。opioid 系は特に DA 神経機能と関連性の高いこと、うつ症状の成因に monoamine 神経機能の低下が関与していることを考慮すると、ヒト IFN- α は opioid 系を介して NE および DA 代謝を過剰に亢進させた結果、これら神経機能の低下をもたらし、結果として対照群より早い時点 (水泳開始 2 分後) から無動状態を引き起こした可能性が考えられた。

【結論】

Porsolt 原法を改良したマウス強制水泳試験法と自発運動試験を組み合わせたうつ誘発作用の検出評価系において、ヒト IFN- α は無動延長作用を引き起こすことを明らかにした。そのメカニズムとして、ヒト IFN- α は中枢 opioid μ 受容体の刺激を介して NE および DA 代謝の過剰亢進を引き起こした結果、これらの神経機能の低下をもたらし、強制水泳試験において無動延長作用を示すものと推察された。本評価で認められたヒト IFN- α の作用は臨床におけるうつ症状を反映しているものと考えられ、本研究はヒト IFN- α によるうつ誘発症状の作用機序解明の一端を担っているものと考えられる。

学位論文審査の要旨

主査	教授	長澤滋治
副査	教授	野村靖幸
副査	助教授	高橋和彦
副査	助教授	大熊康修

学位論文題名

ヒトインターフェロン α による

うつ誘発作用機序に関する研究

近年、ウイルス性肝炎や腫瘍の治療にインターフェロン（IFN）製剤が用いられているが、その副作用として精神障害の報告例が増加している。特にうつ様症状に関しては自殺企図に至った重篤な症例も報告され、社会的な問題となりつつある。IFNには α 、 β および γ の3つのタイプがあるが、興味深いことに、IFNによる精神症状の発症報告例はIFN- α 製剤によるものが殆どであり、IFN- β や γ 製剤による報告例は非常に少ない。

申請者は、IFN製剤によるうつ誘発作用に焦点を充て、これら製剤間の作用の差異を動物実験において再現することを解明することを試みた。薬物に起因したうつ症状を動物で検出する試験系は殆ど報告されていなかった。マウスやラットの強制水泳試験において認められる無動状態は動物の運動活性とは無関係に生じることから、うつの病態モデルと考えられている。そこで、強制水泳試験法をうつ症状の検出評価系に応用すべく、マウスが無動状態を呈しにくい評価法を考案した。このマウス強制水泳試験法を用い既存薬物による抗うつ作用およびうつ誘発作用の検出を試みた。その結果、本評価法においても抗うつ薬の作用は評価可能なこと、うつ誘発作用の臨床報告がある薬物の無動時間延長作用を明確に検出できることが明らかとなった。

そこで、ヒトIFN- α 、 β および γ 製剤のうつ症状の誘発作用について検討した。その結果、ヒトIFN- α の単回投与（6-60 KIU/kg）は用量依存的な無動時間の延長を示し、60 KIU/kgでは統計学的な有意差が認められた。また、単回投与で作用の弱かった低用量（6 KIU/kg、臨床用量に相当）の7日間連投によっては統計学的に有意な無動時間の延長作用が認められた。一方、ヒトIFN- β および γ はいずれも無動時間に殆ど影響を及ぼさなかった。これらげっ歯類に認められたIFNの作用は臨床

報告（発現頻度は $\alpha \gg \beta, \gamma$ ）に一致していたことから、ヒトで認められるうつ作用を反映しているものと考えられた。

次に、強制水泳試験で認められたヒト IFN- α の作用におけるオピオイド系の関与について、各種オピオイド受容体拮抗薬を用いて拮抗試験を行った。その結果、非選択的受容体拮抗薬 naloxone によってヒト IFN- α の作用は拮抗され、中枢移行性の低い naloxone methiodide では拮抗されなかった。したがって、ヒト IFN- α による無動時間の延長作用には中枢オピオイド系の関与している可能性が示唆された。オピオイド受容体には δ 、 κ および μ の3つのサブタイプが存在することから、ヒト IFN- α による作用の特異性について選択的受容体拮抗薬を用いて精査した。その結果、 μ 受容体拮抗薬および $\mu 1$ 受容体拮抗薬により拮抗された。したがって、ヒト IFN- α によるマウス無動時間の延長作用には中枢オピオイド μ 受容体、特に $\mu 1$ 受容体が関与していることが明らかとなった。

次にヒト IFN- α のオピオイド作動薬としての鎮痛活性について検討した。ヒト IFN- α (6-60 KIU/kg) はマウスにおいて弱いながら用量依存的な鎮痛活性を示した。したがって、ヒト IFN- α はオピオイド受容体作動活性を有することが確認された。オピオイド作動薬である morphine も軽微ながら、統計学的に有意な鎮痛作用を示す用量 (1mg/kg) においてマウス強制水泳試験における無動時間を延長させることから、両薬物によるこれらの作用には共通の作用機序が関与しているものと考えられた。ラット組織膜標本を用いた *in vitro* 受容体結合実験において、ヒト IFN- α はオピオイド μ 受容体に対して直接結合活性を有することが明らかとなった。

ヒト IFN- α 投与では、水泳開始 6 分後において対照群との間に差は殆ど認められなかったが、無動状態が引き起こされる水泳開始 2 分後ではノルエピネフリンおよびドパミンの代謝回転の亢進が認められた。ヒト IFN- α はオピオイド系を介してカテコールアミン代謝を過剰に亢進させ、結果として対照群より早い時点（水泳開始 2 分後）から無動状態を引き起こした可能性が考えられた。以上の結果からヒト IFN- α は中枢オピオイド $\mu 1$ 受容体の刺激を介してカテコールアミン代謝の過剰亢進を引き起こし、その結果、カテコールアミン神経機能の低下をもたらし、強制水泳試験における無動時間の延長作用を示すものとする。

上記の研究成果は、ヒト IFN α によるうつ誘発作用に関する研究領域において重要な知見であり、博士（薬学）の学位を受けるに値する業績と評価した。