

モノアミン酸化酵素阻害薬の抗うつ作用, 抗不安作用に 対するリチウム増強効果の作用機序に関する研究

(脳内微小透析法及び恐怖条件付けストレスモデルを用いた
神経化学的, 行動薬理学的研究)

学位論文内容の要旨

モノアミン酸化酵素阻害薬 (MAO 阻害薬) は, うつ病の治療に有効であることが臨床的に報告されている。MAO は type A と type B の 2 つのサブタイプに分類され, MAO-A はドパミン (DA), ノルアドレナリン (NA) とセロトニン (5-HT) を脱アミノ化し, MAO-B は主として DA を脱アミノ化する。MAO 阻害薬はうつ病の治療の他, 最近種々の不安障害の治療にも用いられるが, 選択的 MAO-A 阻害薬はこれらの疾患に有効であり, MAO-A 阻害は MAO 阻害薬の抗うつ・抗不安作用の主な作用機序と考えられている。NA または 5-HT の再取り込みを阻害する抗うつ薬の効果がリチウムで増強されるのと同様に, MAO 阻害薬の抗うつ効果がリチウムにより増強されることが明らかとなった。しかし, MAO 阻害薬の抗うつ効果をリチウムが増強する作用機序はいまだ神経化学的に明らかではない。そこで本研究では, 脳内微小透析実験を用い, リチウムの亜慢性投与が MAO-A 阻害薬による 5-HT, DA, NA の細胞外濃度増加作用を増強するかどうかについて検討した。また, リチウムと MAO-A 阻害薬の併用効果について, 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実験を行った。さらに MAO-B 阻害薬に対するリチウム亜慢性投与の効果も検討し, MAO-A 阻害薬に対する効果と比較した。

実験には, Sprague-Dawley 系雄性ラット (180~280 g) を使用した。リチウム亜慢性投与の実験では, lithium carbonate (Li_2CO_3 ; 固形飼料に 0.05% または 0.2% の濃度で含む) を 1 週間経口投与し, リチウム投与群, 標準飼料投与群ともに 10mM の食塩水を自由摂取させた。薬物は選択的 MAO-A 阻害薬 clorgyline, 選択的 MAO-B 阻害薬 lazabemide を用いた。

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の灌流を開始し, 2 時間後から灌流液を 40 分ごとに 480 分間回収した。サンプル回収開始から 200 分後に clorgyline (10 mg/kg) または lazabemide (10 mg/kg) を腹腔内投与した。回収された透析液を電気化学的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, DA, NA の細胞外濃度を測定した。

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, ラットを再び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。

本研究では、 Li_2CO_3 0.2% 亜慢性投与は、ラット内側前頭前野における細胞外 5-HT 濃度の基礎値を有意に増加させたが、 Li_2CO_3 0.05% 亜慢性投与は、細胞外 5-HT 濃度の基礎値に対して有意な影響を与えなかった。これまでの当研究室の検討では Li_2CO_3 0.2% 含有飼料と Li_2CO_3 0.05% 含有飼料の一週間投与後の血漿リチウム濃度は、それぞれ 0.71 ± 0.05 mEq/L と 0.26 ± 0.01 mEq/L であった。したがって、 Li_2CO_3 亜慢性投与の細胞外 5-HT 濃度基礎値に対する有意な増加作用は、リチウムの臨床的有効血中濃度で認められ、治療濃度以下では認められないことが明らかとなった。

Clorgyline 急性投与はラット内側前頭前野における細胞外 5-HT 濃度を有意に増加させた。さらに、 Li_2CO_3 0.2% 亜慢性投与群では、標準飼料投与群に比べて、clorgyline 急性投与後の内側前頭前野細胞外 5-HT 濃度は有意に高値であった。しかし、 Li_2CO_3 0.05% 亜慢性投与は clorgyline 急性投与後の細胞外 5-HT 濃度を軽度増加させるにとどまり、その効果は有意ではなかった。以上の結果から、臨床的治療濃度をもたらす Li_2CO_3 0.2% 亜慢性投与は clorgyline 10 mg/kg 急性投与の細胞外 5-HT 濃度増加作用に対して相加的に作用したが、臨床的治療濃度以下のリチウム血中濃度をもたらす Li_2CO_3 0.05% 亜慢性投与は、clorgyline 急性投与の細胞外 5-HT 濃度増加作用に有意な影響を与えなかった。

Clorgyline 急性投与はラット内側前頭前野における細胞外 DA, NA 濃度を有意に増加させた。5-HT に対する効果とは対照的に、 Li_2CO_3 (0.05% 及び 0.2%) 亜慢性投与は細胞外 DA, NA 濃度の基礎値と clorgyline 急性投与後の細胞外 DA, NA 濃度増加作用に対して影響を与えなかった。

恐怖条件付けストレス実験において、2 元配置分散分析では clorgyline の主効果と Li_2CO_3 0.2% 亜慢性投与の主効果が認められたが、両者の交互作用はみられなかった。すなわち、clorgyline のすくみ行動抑制作用に対して Li_2CO_3 0.2% 亜慢性投与は相加的に作用した。一方、 Li_2CO_3 0.05% 亜慢性投与は clorgyline との併用で有意な効果を示さなかった。抗不安作用を示した Li_2CO_3 0.2% 亜慢性投与と clorgyline 10 mg/kg 急性投与の併用は自発運動量に影響を与えなかったことから、freezing の抑制は非特異的な自発運動量増加によるものではないと考えられる。5-HT 神経伝達の促進によってセロトニン系抗不安薬は freezing を抑制すると報告されており、リチウムと clorgyline 併用の相加的効果もこの仮説により説明される。本研究において、clorgyline 急性投与と Li_2CO_3 0.2% 亜慢性投与の併用による相加的な効果は、脳内微小透析実験 (細胞外 5-HT 濃度の増加) と、恐怖条件付けストレス実験 (freezing の抑制) の両面から確かめられた。

一方、MAO-B 阻害薬である lazabemide の急性投与は、細胞外 5-HT, DA, NA 濃度及び freezing に対して影響を与えず、リチウムとの併用でも有意な効果は認められなかった。抗うつ作用及び抗不安作用の作用機序には MAO-B 阻害よりも MAO-A 阻害が強く関与していることが臨床的に示唆されているが、本研究の神経化学的および行動薬理学的結果は MAO-A 阻害の臨床効果における重要性を支持している。

以上の結果から、リチウム亜慢性投与は、臨床的有効血中濃度においてラット内側前頭前野における細胞外 5-HT 濃度の基礎値を増加させ、MAO-A 阻害薬による細胞外 5-HT 濃度増加作用に対して相加的な効果を示した。5-HT 神経伝達の促進が不安を減少させることが報告されている恐怖条件付けストレスにおいて、MAO-A 阻害薬の抗不安作用をリチウム亜慢性投与が増強し

た。MAO-B 阻害薬は細胞外モノアミン濃度及びfreezing に対して効果を示さず，またリチウム亜慢性投与との併用でも効果はみられなかった。本研究の結果から，リチウムによる MAO 阻害薬の抗うつ効果増強作用は，MAO-A 阻害による細胞外 5-HT 濃度増加作用をリチウムがさらに増強することでえられると示唆される。さらに、臨床的にはまだ報告されていないが，MAO-A 阻害薬の抗不安作用をリチウムが増強する可能性が示唆される。

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

モノアミン酸化酵素阻害薬の抗うつ作用，抗不安作用に 対するリチウム増強効果の作用機序に関する研究

(脳内微小透析法及び恐怖条件付けストレスモデルを用いた
神経化学的，行動薬理学的研究)

モノアミン酸化酵素阻害薬 (MAO 阻害薬) は，うつ病の治療に有効であることが臨床的に報告されている。さらに，MAO 阻害薬の抗うつ効果がリチウムにより増強されることが明らかとなった。本研究では，MAO 阻害薬のリチウムによる増強効果の作用機序を解明するために脳内微小透析実験と conditioned fear stress (CFS) 実験を用い，リチウムと MAO 阻害薬の併用効果について検討した。一週間の Li_2CO_3 0.2% 亜慢性投与は，ラット内側前頭前野における細胞外セロトニン濃度の基礎値を有意に増加させ，標準飼料投与群に比べて，clorgyline 急性投与後の内側前頭前野細胞外 5-HT 濃度も有意に増加させた。 Li_2CO_3 0.05% 亜慢性投与は軽度増加させるにとどまった。以上の結果は，臨床的治療濃度を惹起するリチウム亜慢性投与は MAO-A 阻害薬による細胞外 5-HT 濃度増加作用に対して相加的に作用することを示している。 Li_2CO_3 亜慢性投与は clorgyline 急性投与後の細胞外ドパミン (DA)，ノルアドレナリン (NA) 濃度増加作用に対して影響を与えなかった。CFS 実験において，clorgyline のすくみ行動抑制作用に対して Li_2CO_3 0.2% 亜慢性投与は相加的に作用したが， Li_2CO_3 0.05% 亜慢性投与は clorgyline との併用で有意な効果を示さなかった。MAO-B 阻害薬である lazabemide の急性投与は，細胞外 5-HT, DA, NA 濃度及び freezing に対して影響を与えず，リチウムとの併用でも有意な効果は認められなかった。以上の結果から，リチウムによる MAO 阻害薬の抗うつ効果増強作用は，MAO-A 阻害による細胞外 5-HT 濃度増加作用をリチウムがさらに増強することでえられることが示唆される。

質疑応答では，本間教授から，freezing が出現する過程にどのように 5-HT は関与しているのかについて，リチウム亜慢性投与単独でも抗不安作用を有するかどうかについて質問があった。これに対して申請者は，セロトニン神経伝達の促進は本実験では記憶に影響しているというよりも不安を減弱していると考えられること，リチウム亜慢性投与で軽度ではあるが有意な抗不安作用がみられたことを回答した。次いで吉岡教授から，実験動物に食塩水を摂取させた意義と効果について，リチウムの血中濃度が臨床的に有効な濃度であ

るかについて、リチウム亜慢性投与による細胞外 5-HT 濃度増加のメカニズムについて、リチウムが血液脳関門を通過する機序について、細胞外 5-HT 濃度増加による副作用発現の可能性について、MAO-B 阻害薬投与で細胞外 DA 濃度が変化しなかった機序について質問があった。これに対して申請者は、NaCl を負荷することで腎臓の遠位尿細管からのリチウムの再吸収が阻害されるため腎機能障害が起きにくくなること、0.2%Li₂CO₃ 亜慢性投与により血中リチウム濃度は臨床的治療濃度になること、リチウムによる細胞外 5-HT 濃度増加の機序として縫線核での firing の増加の可能性が考えられること、文献的にリチウムを数日間投与した後に縫線核を電気刺激することで海馬での 5-HT 放出が増加すること、リチウムは、voltage sensitive Na⁺ channel, Na,K-ATPase を介して脳内に取り込まれること、MAO-A 阻害薬とリチウムの併用は相加的に細胞外 5-HT 濃度を増加させることから、併用時に注意をすれば臨床で比較的安全に使用可能であり、かつ MAO-A 阻害薬の最大効果を増強し、難治性うつ病の治療に有効である可能性があること、人とは異なりラット脳では主に MAO-A により DA が代謝されるため、MAO-B 阻害薬急性投与時に細胞外 DA 濃度の変化がみられないことを回答した。

この論文は、MAO-A 阻害薬に対するリチウムの併用投与が、特異的な 5-HT 神経伝達促進による抗うつ効果増強作用を介して、難治性うつ病の治療の有効性を高める可能性を確認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、うつ病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。