



Title	ラット線条体におけるハロペリドール誘発性ドパミンD2受容体upregulationに対するセロトニン系薬物の影響
Author(s)	石金, 朋人
Description	短縮題名: D2 up-regulationに対する5-HT系の影響
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	乙第5364号
Issue Date	1998-09-30
DOI	https://doi.org/10.11501/3145399
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/51570
Type	doctoral thesis
File Information	000000330591.pdf



ラット線条体におけるハロペリドール誘発性ドパミンD₂受容体
up-regulationに対するセロトニン系薬物の影響

石金 朋人

Effects of serotonergic drugs on the up-regulation of dopamine D₂ receptors
induced by haloperidol in rat striatum

Tomohito Ishikane

指導教官 神経機能学講座精神医学 小山 司教授

①

ラット線条体におけるハロペリドール誘発性ドパミンD₂受容体
up-regulationに対するセロトニン系薬物の影響

石 金 朋 人

Effects of serotonergic drugs on the up-regulation of dopamine D₂ receptors
induced by haloperidol in rat striatum

Tomohito Ishikane

Department of Psychiatry and Neurology,
Hokkaido University School of Medicine,
Sapporo 060, Japan

短縮題名：D₂ up-regulationに対する5-HT系の影響

abstract

We examined the modulatory effect of serotonergic activities on haloperidol-induced up-regulation of dopamine D₂ receptors in rat striatum. Chronic treatment with haloperidol (0.1, 0.5 mg/kg, i.p., 3 weeks) increased the number of dopamine D₂ receptors, while no increase was observed with atypical antipsychotic drugs clozapine (10 mg/kg) and ORG 5222 (0.25 mg/kg). Chronic treatment with MK 212, a nonselective serotonin (5-HT) receptor agonist (2.5 mg/kg), or with citalopram, a 5-HT reuptake inhibitor (10 mg/kg), potentiated the haloperidol (0.1 mg/kg)-induced up-regulation of dopamine D₂ receptor, while that with ($\pm$)-8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT), a 5-HT_{1A} receptor agonist (0.1 mg/kg) had no influence on the dopamine D₂ receptor up-regulation. Coadministration of ritanserin (1 mg/kg), a 5-HT_{2A/2C} receptor antagonist, with a low dose of haloperidol (0.1 mg/kg), but not with a high dose of the agent (0.5 mg/kg) attenuated the dopamine D₂ receptor up-regulation. Drug occupation of 5-HT_{2A} and dopamine D₂ receptors *in vivo* examined using N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) was 69.8% and 45.1%, respectively, after the acute administration of haloperidol (0.1 mg/kg) plus ritanserin (1 mg/kg). This profile, that 5-HT_{2A} receptors are highly occupied compared with dopamine D₂ receptors, was similar to that of clozapine or ORG 5222. These results suggest that potent 5-HT_{2A} receptor antagonism versus weak dopamine D₂ receptor blockade may be involved in the absence of up-regulation of dopamine D₂ receptors after chronic treatment with clozapine or ORG 5222.

Key Words: Up-regulation, dopamine D₂ receptor, atypical antipsychotic drug, serotonin (5-HT)_{2A} receptor, striatum.

はじめに

これまで、haloperidolやchlorpromazineなどの定型（古典的）抗精神病薬は、精神分裂病患者の治療において中心的役割を果たしてきた。その抗精神病効果は主に中枢神経系のドパミン(D)₂受容体遮断作用によると考えられてきたが¹⁾、同時に黒質—線条体系のD₂受容体が持続的に遮断されることによって、しばしばパーキンソン症状や遅発性ジスキネジアなどの錐体外路系副作用が引き起こされる²⁾。しかし、clozapineに代表される非定型抗精神病薬は、ヒトにおける錐体外路症状が少なく³⁾、ラットにおいても錐体外路症状のモデルといわれるカタレプシーの惹起作用が弱いこと⁴⁾を特徴とする。さらに注目すべきは、clozapineはヒトにおける定型抗精神病薬の難治性副作用である遅発性ジスキネジアをほとんど起こさない⁵⁾点である。遅発性ジスキネジアの発現機序としては、黒質—線条体系のD₂受容体数の増加、いわゆるD₂受容体up-regulationが関係すると考えられているが²⁾、神経薬理学的研究においても、定型抗精神病薬の慢性投与で起こる線条体のD₂受容体up-regulationが、clozapineでは起こらないと報告されている⁶⁻⁸⁾。

非定型抗精神病薬の薬理特性に関してはこれまで多くの研究がなされてきたが、その「非定型性」のメカニズムはいまだに明らかにはなっていない。Millerら⁹⁾は、アカシジアや急性ジストニア等の錐体外路系副作用が抗コリン剤で緩和されることから、clozapineの有する強い抗コリン作用が副作用の少なさに寄与するのではないかと推定した。しかし、必ずしもすべての非定型抗精神病薬が強い抗コリン作用を持つわけではなく¹⁰⁾、十分量の抗コリン薬を定型抗精神病薬と併用してもラット線条体におけるD₂受容体数の増加は抑制されない¹¹⁾。従って、少なくともclozapineで錐体外路症状が起こりにくい理由をその抗コリン作用にだけ求めることはできない。D₁受容体阻害作用が非定型抗精神病薬の特異性に関与するとの報告もいくつかみられる¹²⁻¹⁴⁾。しかし、Marinら¹⁵⁾はhaloperidol慢性投与後のD₂受容体数増加はD₁受容体の阻害ではなく刺激によって抑制されると報告しており、相反する結果となっている。また、*in vivo*では非定型抗精神病薬によるラット線条体D₁受容体の占有がほと

んどみられなかったとする報告^{16,17)}もある。

他方、セロトニン(5-HT)系に注目し、その錐体外路系運動機能に対する影響を研究した報告も多数みられている。行動薬理学的研究では、抗精神病薬によって誘発されるカタレプシーが、5-HTニューロンの起始核である縫線核の破壊や5-HT合成阻害薬p-chlorophenylalanine、5-HT受容体阻害薬の投与などによる5-HT機能の抑制で減弱され¹⁸⁻²⁰⁾、5-HT再取込み阻害薬や5-HT受容体刺激薬の投与などの5-HT機能の促進で増強される¹⁹⁾ことが知られており、ドパミン系に対する5-HT系の抑制的な関与が推測される。また、5-HT_{1A}受容体刺激薬がhaloperidol誘発性のカタレプシーを抑制するという報告もみられる²¹⁻²³⁾。臨床的研究でも、5-HT_{2A/2C}受容体阻害薬であるritanserinや5-HT_{1A}受容体刺激薬であるbuspironeが錐体外路系副作用を抑制するという報告^{24,25)}がなされている。しかしながら、動物実験では、抗精神病薬慢性投与によるD₂受容体up-regulationに対する5-HT系薬物の影響に関して必ずしも一致した結果が得られていない^{26,27)}。

これまでに、clozapineを含む一群の非定型抗精神病薬は5-HT_{2A}受容体に対する親和性が高く、D₂受容体に対する親和性がより低いという特徴を持つことが示されてきた^{17,28)}。そこで、本研究では、この特性が非定型抗精神病薬の「非定型性」に深く関与している可能性を考えて、定型抗精神病薬の代表であるhaloperidolと5-HT系薬物の慢性併用投与によるラット線条体D₂受容体数の変化を測定し、D₂受容体up-regulationに対する5-HT系の影響を検討した。さらに、D₂、5-HT₂両受容体に非可逆的に結合することが知られているN-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydro-quinoline(EEDQ)を用いて、*in vivo*における非定型抗精神病薬ならびにhaloperidol、5-HT系薬剤組み合わせ時のD₂、5-HT_{2A}両受容体に対する占有率を測定し、そのプロフィールを定型抗精神病薬のそれと比較し検討を加えた。

本研究の目的は、錐体外路系副作用の少ない非定型抗精神病薬の薬理特性を、D₂受容体up-regulationに対する5-HT系薬物の影響という観点から検討することである。これらの検討が、副作用の少ない分裂病治療薬開発のための基礎的資料として有用であると考えからである。

対象と方法

(1) 実験動物および薬物

実験には、室温22℃，12時間明暗周期（明期；6：30～18：30），摂食，飲水の自由にできる状態で飼育したWistar系雄性ラット(120～160g)を用いた。

投与薬物は，定型抗精神病薬として，haloperidol, chlorpromazine, 非定型抗精神病薬としてclozapine, ORG5222, 5-HT系作用薬として5-HT₂受容体刺激薬MK212, 選択的5-HT再取り込み阻害薬citalopram, 5-HT_{2A/2C}受容体阻害薬ritanserin, 5-HT_{1A}受容体刺激薬8-Hydroxy-2-di-*n*-propylamino tetralin (8-OH-DPAT)を用いた。溶媒には，0.15% tartaric acidを用いた。

(2) 薬物投与方法および膜標品の調製

薬物慢性投与後のD₂受容体数測定実験には，haloperidol (0.1, 0.5mg/kg)，chlorpromazine (10mg/kg)，clozapine (10mg/kg)，ORG5222

(0.25mg/kg) をそれぞれ1日1回3週間腹腔内投与した。また，5-HT系作用薬のD₂受容体up-regulationに対する影響を検討するために，MK212

(2.5mg/kg)，citalopram (10mg/kg)，ritanserin (1mg/kg)，8-OH-DPAT (0.1, 0.2mg/kg) を，それぞれ，haloperidol (0.1, 0.5mg/kg) と併用し，1日1回3週間腹腔内投与した。対照群には同容量の溶媒（0.15% tartaric acid）を投与した。

薬物最終投与の1週間後に断頭し，氷上にて線条体と前頭皮質を切り出し，-70℃にて保存した。これらの組織を5mM EDTAを含む50mM Tris/HCl buffer(pH 7.7, 25℃)中でpolytron(set 6.5, 20秒)を用いてhomogenizeし，49,000xgで10分間遠沈後，同bufferにて洗浄，再遠沈した。得られたペレットを，50mM Tris/HCl buffer(pH 7.4, 25℃)にて再度洗浄，遠沈し，この最終ペレットを上記buffer中で懸濁し，膜標品としてD₂受容体結合実験に供した。

急性薬物投与後の受容体占有率を検討した実験では，chlorpromazine (10mg/kg)，haloperidol (0.1, 0.5mg/kg)，clozapine (10mg/kg)，ORG5222 (0.25mg/kg)，ritanserin (1mg/kg) を，それぞれ単独または併用にて腹腔内投与し，その1時間後にEEDQ (8mg/kg, 4mg/ml ethanol/water

1:1 solution) を腹腔内投与した。対照群には、それぞれ、同量の溶媒を投与した。EEDQ投与の24時間後に断頭し、線条体と前頭皮質を切り出し、 -70°C にて保存した。この組織を前述の方法と同様にhomogenizeし、洗浄後に得られたペレットを50mM Tris/HCl buffer(D₂受容体結合実験： $\text{pH}7.4, 25^{\circ}\text{C}$ ；5-HT₂受容体結合実験： $\text{pH}7.7, 25^{\circ}\text{C}$)にて再度洗浄，遠沈し，この最終ペレットを上記buffer中で懸濁し膜標品とした。

(3) 慢性薬物投与後のD₂受容体数の測定

D₂受容体の標識には $[^3\text{H}]$ spiperoneを用い，Matsubaraら¹⁷⁾の方法にしたがって0.01～0.32 nMの範囲で6段階に濃度展開して，0.1%アスコルビン酸，120mM NaCl，5mM KCl，2mM CaCl₂，1mM MgCl₂，50nM ketanserinを含むincubation buffer中で，膜標品と結合させた。37°Cで15分間incubationした後，Whatman GF/Bフィルター上で吸引濾過して反応を停止させ，液体シンチレーションカウンターで濾紙上の β 線を測定した。1 μM (+)-butaclamol存在下での結合量を非特異的結合量とした。蛋白濃度は，Lowry²⁹⁾の方法によって測定した。

$[^3\text{H}]$ spiperone飽和結合実験の結果をIBM版LIGANDを用いてScatchard解析することで，最大結合量(B_{max})と解離定数(K_d)を算出した。

(4) 急性薬物投与後のD₂, 5-HT_{2A}受容体占有率の測定

線条体のD₂受容体と前頭皮質の5-HT₂受容体の占有率の測定はMatsubaraら¹⁷⁾の方法に従い， $[^3\text{H}]$ spiperone， $[^3\text{H}]$ ketanserinをそれぞれ標識化合物として用い，1 μM の(+)-butaclamol, 2 μM のmethysergide存在下での結合量をそれぞれ非特異的結合量とした。抗精神病薬を前処置した群(薬物/EEDQ併用群)では，抗精神病薬が結合している受容体はEEDQによる不活化を免れることになるので，この群からEEDQ単独投与群を引いた特異的結合量が抗精神病薬の結合している受容体数を表わす。この受容体数の全受容体数に対する割合をその薬物の受容体占有率とするが，薬物投与による受容体数の変化を相殺するため，全受容体数は薬物単独投与群とEEDQ群との差で表わした。よって，受容体占有率は次の式により算出した；受容体占有率(%) = (薬物/EEDQ併用群 - EEDQ群) ÷ (薬物単独群 - EEDQ群) × 100。

(5) 統計学的解析

データの解析には一元配置分散分析に基づく Duncan の多重比較を用い、危険率5%以下を有意とみなした。

結 果

(1) 抗精神病薬慢性投与後のD₂受容体数の変化

定型抗精神病薬のhaloperidol(0.1, 0.5mg/kg)およびchlorpromazine(10mg/kg)は、線条体のD₂受容体数を対照群に比して有意に増加させたが、非定型抗精神病薬であるclozapine(10mg/kg)およびORG5222(0.25mg/kg)では有意な変化はみられなかった (Fig.1) . 一方、D₂受容体に対する結合親和性(K_d)は、いずれの処置群も対照群と有意差はみられなかった (データ省略) . 尚、飽和曲線はいずれの群においても一相性であり、0.3nM以上で飽和していた。

(2) Haloperidol慢性投与によるD₂受容体数増加に対する5-HT系薬物の影響

5-HT₂受容体刺激薬MK212(2.5mg/kg)や選択的5-HT再取り込み阻害薬citalopram(10mg/kg)の慢性投与では、単独でD₂受容体数に影響を与えなかったが、haloperidol(0.1mg/kg)と併用した場合、haloperidolによって引き起こされるD₂受容体の増加をさらに有意に増強した (Fig.2,3) . データは示さないが、この増強はhaloperidol(0.5mg/kg)との慢性併用投与でも認められた。

5-HT_{2A/2C}受容体阻害薬ritanserin(1mg/kg)の慢性投与はそれ自体ではD₂受容体数に影響を与えず、haloperidol 0.5mg/kgとの併用投与でも、haloperidolによるD₂受容体数の増加に影響を与えなかった (Fig.4) . しかし、haloperidol 0.1mg/kgとの併用投与ではD₂受容体up-regulationを有意に抑制した (Fig.5) .

一方、5-HT_{1A}受容体刺激薬8-OH-DPAT 0.1mg/kgの慢性併用投与は、haloperidol 0.1mg/kgによって起こるD₂受容体のup-regulationに影響を与えなかった (Fig.6) . データは示さないが、8-OH-DPATを0.2mg/kgに増量しても同様の結果であった。

以上の実験において, $[^3\text{H}]\text{spiperone}$ 結合の K_d 値はすべての処置群で対照群と有意な差はみられなかった(データ省略)。尚, 飽和曲線はいずれの群においても一相性であり, 0.3nM 以上で飽和していた。

(3) 抗精神病薬のin vivoにおける D_2 , $5\text{-HT}_2\text{A}$ 受容体占有率の検討

$5\text{-HT}_2\text{A}/2\text{C}$ 受容体阻害薬ritanserin 1mg/kg をhaloperidol 0.5mg/kg と併用投与した場合は, $5\text{-HT}_2\text{A}$ 受容体 75.6% , D_2 受容体 73.6% といずれの受容体に対しても高い占有率を示した。一方, 同用量のritanserinをhaloperidol 0.1mg/kg と併用投与した場合は, $5\text{-HT}_2\text{A}$ 受容体に対する占有率は 69.8% と高値であったのに対し, D_2 受容体に対する占有率は 45.1% と比較的低かった

(Table)。これは D_2 受容体に対する占有率が $5\text{-HT}_2\text{A}$ に対するものより明らかに低いという点で, 非定型抗精神病薬であるclozapineやORG5222における各受容体占有率の結果と類似していた。

haloperidol ($0.1, 0.5\text{mg/kg}$) 単独投与による D_2 受容体の占有率は, それぞれ 44.3% , 68.0% であり, ritanserinを併用投与した場合と差は認められなかった(Table)。

考 察

定型抗精神病薬の慢性投与が線条体 D_2 受容体のup-regulationを引き起こすことはよく知られており³⁰⁻³²⁾, それが遅発性ジスキネジア等の錐体外路性副作用の出現に関連すると考えられているが, 本研究でも, 代表的な定型抗精神病薬であるhaloperidolとchlorpromazineの慢性投与で D_2 受容体up-regulationが起こることが確認された。一方, 非定型抗精神病薬であるclozapineの慢性投与は, 錐体外路系の運動障害や³⁾遅発性ジスキネジアを引き起こすことが少なく^{2,5)}, ラット線条体における D_2 受容体数の増加を起こさないとされているが^{33,34)}, 本研究でも, clozapineのこの特性が確認されるとともに, 非定型抗精神病薬候補薬であるORG5222もまたこの特徴を持つことが明らかになった。

脳内の 5-HT 系とドパミン系が機能的に重要な相関をしていることは, これまでに多くの生化学的²⁶⁾, 電気生理学的³⁵⁻³⁷⁾, 行動薬理学的^{22,38,39)}研究によって指摘されてきた。錐体外路系の運動機能に関しては, 抗精神病薬によって誘

発されるカタレプシーは5-HT機能の抑制で減弱され¹⁸⁾, 5-HT機能の促進で増強される¹⁹⁾と報告されている. また, 5-HT_{1A}受容体刺激薬である8-OH-DPATがhaloperidolによって誘発されたカタレプシーを抑制するという報告もみられる²¹⁻²³⁾. 精神分裂病患者を対象とした臨床研究でも, haloperidolによる錐体外路系副作用が, 5-HT_{2A/2C}受容体阻害薬であるritanserinの併用投与で減少したとする報告⁴⁰⁾や5-HT_{1A}受容体刺激薬であるbuspironeが, 抗精神病薬の錐体外路系副作用を抑えたという報告もみられる²⁵⁾. これらは, 一見, 相反する結果に思えるが, 5-HTニューロンの起始核である縫線核における5-HT自己受容体が主に5-HT_{1A}型であり, ニューロンの発火を調節していること⁴¹⁾を考えると, 5-HT_{1A}受容体刺激は結果的に5-HT機能を低下させることになり, 5-HT系の抑制が錐体外路症状の軽減につながるという点で一致している.

抗精神病薬投与によるD₂受容体のup-regulationに対する5-HT系の影響に関してはさまざまな議論がなされている. Sallerら²⁶⁾は, 5-HT_{2A}受容体阻害薬とhaloperidolの併用投与がD₂受容体のup-regulationを抑制したと報告しているが, Youngら²⁷⁾は, 5-HT_{1A}受容体刺激薬buspirone, 5-HT_{2A/2C}受容体阻害薬mesulergine, 5-HT₃受容体阻害薬ICS 205-930のいずれも, haloperidolによるD₂受容体の増加には影響を与えなかったという相反する報告をしている.

本研究では, 5-HT₂受容体刺激薬や5-HT再取り込み阻害薬の投与によって5-HT機能を促進すると, haloperidol誘発性のD₂受容体up-regulationが増強され, 反対に, 5-HT_{2A/2C}受容体阻害薬によって5-HT機能を抑制すると, up-regulationは減弱することが明らかにされた. しかしながら, この減弱は, haloperidolを0.1mg/kgの用量でritanserin 1mg/kgと併用した時にだけみられ, 0.5mg/kgの併用ではみられなかった. この際の*in vivo*における受容体の占有率を確認してみると, ritanserin 1mg/kgとhaloperidol 0.1mg/kgの併用投与では5-HT_{2A}受容体の占有率は69.8%と, D₂受容体の45.1%に比較して明らかに高かったのに対し, haloperidol 0.5mg/kgの併用投与ではそれぞれ75.6%, 73.6%と両者に対して同等に高い占有率を示していた. この受容体占有率のパターンを定型ならびに非定型抗精神病薬と比較してみると, 前者は5-HT_{2A}受容体占有率がD₂受容体のそれに対して優位であるという点で, clozapineや

ORG5222などの非定型抗精神病薬に類似しており、後者は両者にほぼ同等に高い占有率を示すという点で、定型抗精神病薬であるchlorpromazineに類似しているといえる。この結果は、5-HT_{2A}受容体の遮断がD₂受容体の遮断より十分強い場合にのみD₂受容体のup-regulationが抑制されるということを示唆している。この点を考慮にいと、Saller²⁶⁾とYoung²⁷⁾の報告の相違がよく説明される。つまり、前者は0.25mg/kgのhaloperidolを5-HT_{2A}阻害薬と併用したためD₂受容体のup-regulationは抑制されたが、後者は2mg/kgと高用量のhaloperidolを5-HT_{2A/2C}受容体阻害薬と併用したためup-regulationは抑制されなかったと考えられる。さらに、これまで報告された神経生化学的研究からも、5-HT_{2A}受容体とD₂受容体に対する阻害能の比が抗精神病薬慢性投与によるD₂受容体up-regulationの形成に関係している可能性が示唆される。Saller²⁶⁾らは、5-HT_{2A}受容体阻害薬であるICI169,369 10mg/kgの併用投与はhaloperidol 0.25mg/kgの急性投与による線条体ドパミン代謝の代償性の増加をさらに増強したと報告しているが、これに反して、Lappalainenら⁴²⁾は、0.5mg/kgのritanserinの併用投与は0.5mg/kgのhaloperidol慢性投与によって起こるドパミン代謝の低下に影響を与えなかったと報告している。この相違に関しても、前者では5-HT_{2A}受容体遮断能がD₂受容体遮断能より十分強いのに対して、後者ではD₂受容体遮断能が強すぎたと考えられる。Wadenberg⁴³⁾は、D₂受容体阻害薬であるraclopride(16mg/kg)誘発性のカタレプシーがritanserin(0.13-2.0mg/kg)によっては抑制されなかったと報告しているが、これも同様の機序が想定可能である。

今回の結果から導き出される一つの仮説として、5-HT_{2A}受容体の遮断が縫線核に働くことでドパミン神経系に影響を及ぼし、錐体外路症状の発現を抑制していることが考えられる。背側縫線核の破壊によって黒質のドパミン代謝の増加がみられるという報告があるが^{44,45)}、これはドパミン神経系が背側縫線核からの5-HT系によって抑制的な調節を受けていることを示唆するものである。また、ritanserinの急性投与が中脳ドパミン神経系の発火頻度を増加させるという報告³⁶⁾や、ドパミン受容体刺激薬の投与がhaloperidolによって起こるD₂受容体の増加を抑制したという報告⁴⁶⁾もある。これらを総合して考えると、5-

HT_{2A}受容体遮断薬によって起こったドパミン系の機能促進がD₂受容体のup-regulationを抑制するという機序が考えられる。KapurとRemington⁴⁷⁾は、5-HT_{2A}拮抗作用が錐体外路症状の軽減にいかに関わっているかについて二つの仮説を提唱している。第一は、5-HT_{2A}受容体遮断薬が5-HTのドパミン系に対する抑制を解除することで結果的に錐体外路症状を緩和させるというもので、ドパミン系を直接介した機序である。第二は5-HT_{2A}受容体遮断作用がドパミン系には直接影響を与えず、アセチルコリンあるいはGABA系を介して錐体外路症状の出現閾値を上昇させるというものである。本研究の結果は、第一の仮説との関連の可能性を示唆しているが、第二の仮説との関連については明らかではない。一方、Lucasら⁴⁸⁾は、最近、脳内透析法を用いた動物実験でhaloperidol誘発性カタレプシーがritanserinによって緩和された状態でも、線条体におけるドパミン放出量に変化が認められないことから、第二の仮説を支持する報告を行っている。今後、この機序についてはさらなる検討が必要と思われる。また、5-HT_{2C}受容体に関しては、この受容体が脈絡叢などの比較的限局した脳内分布を示し大脳皮質においては受容体レベルでは検出不可能な程度しか発現されていないため、十分な検討が行えなかったが、今回のritanserinの効果についてはその関与も否定できない。5-HT_{2A}と5-HT_{2C}受容体の親和性に差がある薬物を用いての検討が今後必要であると考えられる。

一方、5-HT_{1A}受容体刺激薬は、haloperidolなどのD₂受容体遮断薬誘発性のカタレプシーを減弱させることが報告されているが、本研究では5-HT_{2A}受容体遮断薬併用の場合と異なり、5-HT_{1A}受容体刺激薬8-OH-DPATの併用によってhaloperidolによるD₂受容体up-regulationは有意に抑制されなかった。これまでの研究でも、trifluoperazine 1mg/kgの慢性投与によるD₂受容体up-regulationが、5-HT_{1A}受容体刺激薬buspirone 3mg/kgの併用によって抑制されたという報告⁴⁹⁾がある一方、haloperidol 2mg/kgによるD₂受容体up-regulationが5mg/kg buspirone併用投与で影響を受けなかったという相反する報告²⁷⁾が行われている。この理由は本研究では明らかにできなかったが、autoreceptorを介する機序であるため、ドパミン系に対する脱抑制が弱くD₂受容体遮断作用にマスクされやすい可能性や、他の神経伝達物質を介するため、

5-HT_{2A}受容体遮断薬とは異なるメカニズムが働く可能性も想定される。今後、8-OH-DPATをより高濃度まで展開したり、他の5-HT_{1A}受容体刺激薬を用いた検討が必要と思われる。

本研究からは、5-HT_{2A}受容体遮断能がD₂受容体に対する遮断よりも十分強い場合には、慢性投与におけるD₂受容体のup-regulationが抑制されるという結果が得られた。この所見は、一群の非定型抗精神病薬はD₂受容体遮断能に比して相対的に強い抗5-HT_{2A}作用を持つことで特徴づけられるというこれまでの報告^{17,28)}をさらに支持するものである。この特性により、非定型抗精神病薬は錐体外路系副作用が少なく、慢性投与時に線条体D₂受容体のup-regulationを起こさないという特徴を持つと考えられる。しかし、5-HT_{2A}受容体の遮断能がD₂受容体のそれよりどの程度強ければD₂受容体up-regulationは抑制されるのか、言い換えれば、D₂受容体の占有率がどの程度以上になると5-HT_{2A}受容体の遮断による抑制が効かなくなるのかという点については、今後さらなる検討が必要と思われる。非定型抗精神病薬の候補物質が続々と開発されている現在、薬用量の設定と深く関わるこれらの問題は、PETによるヒトの*in vivo*でのD₂、5-HT_{2A}受容体占有率測定と相まって、今後ますます臨床的に重要な意味を持つてくると考えられる。

結 語

非定型抗精神病薬の薬理作用における5-HT系の役割を明らかにすることを目的に、5-HT系作用薬とhaloperidolを併用して、その慢性投与時のD₂受容体数の変化と急性投与時のD₂、5-HT₂受容体に対する占有率を測定し、以下の結果を得た。

1. 非定型抗精神病薬の候補物質であるORG 5222の慢性投与は、clozapineと同様に、ラット線条体におけるD₂受容体数の変化を起こさなかった。これは、ORG 5222が錐体外路症状が少ないという非定型抗精神病薬の特性を有している可能性を示唆する。
2. 5-HT₂受容体刺激薬MK212や選択的5-HT再取り込み阻害薬citalopramの慢性併用投与は、haloperidolによるD₂受容体up-regulationをさらに有意に

増強した。

3. 5-HT_{2A/2C}受容体阻害薬であるritanserinの慢性併用投与は, haloperidol (0.5mg/kg)によるD₂受容体up-regulationには影響を与えなかったが, より低用量のhaloperidol(0.1mg/kg)によるD₂受容体up-regulationは有意に抑制した。

4. 5-HT_{1A}受容体刺激薬である8-OH-DPATの慢性併用投与はhaloperidol (0.1mg/kg)によるD₂受容体up-regulationには影響を与えなかった。

5. 5-HT_{2A/2C}受容体阻害薬ritanserin(1mg/kg)とhaloperidol(0.5mg/kg)併用投与時の*in vivo*における受容体占有率は, D₂,5-HT_{2A}両受容体に対して同等に高値を示し, 定型抗精神病薬 chlorpromazineの示す占有率と類似していたが, ritanserin(1mg/kg)とhaloperidol(0.1mg/kg)併用投与時には, 5-HT_{2A}受容体に対する占有率がD₂受容体に対するものより明らかに高値であり, 非定型抗精神病薬clozapineやORG5222の示す占有率と類似していた。

以上の結果から, 錐体外路症状が少なく遅発性ジスキネジアを起こしにくいという非定型抗精神病薬の臨床的特性は, D₂受容体遮断能に比較して5-HT_{2A}受容体遮断能が強いこと, 換言すればあまり高くないD₂受容体占有率とそれに比較して十分高い5-HT_{2A}受容体占有率を有するという薬理学的特徴によるものである可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり, ご指導とご校閲を賜りました北海道大学医学部精神医学講座 小山 司教授に深謝いたします。また, この研究を終始ご指導くださいました久住一郎助手, ならびに神経化学研究室内の諸先生のご指導, ご協力に心より感謝いたします。

文 献

- 1) Seeman P, Lee T, Chau-Wong M, Wong K (1976) : Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature* 261 : 717-719.
- 2) Klawans HL, Goetz CG, Perlik S (1980) : Tardive dyskinesia: review and update. *Am J Psychiatry* 137 : 900-908.
- 3) Angst J, Bente D, Berner P, Heimann H, Helmchen H, Hippus H (1971) : Das klinische Wirkungsbild von Clozapin (Untersuchung mit dem AMP-system). *Pharmakopsychiat* 4 : 201-211.
- 4) Stille G, Hippus H (1971) : Kritische Stellungnahme zum Begriff der Neuroleptika (Anhand von pharmakologischen und klinischen Befunden mit Clozapine). *Pharmakopsychiat.* 4 : 182-191.
- 5) Casey DE (1989) : Clozapine: neuroleptic-induced EPS and tardive dyskinesia. *Psychopharmacol (Berl)* 99(suppl) : S47-53.
- 6) Lee T, Wang SW (1984) : Loxapine and clozapine decrease serotonin (S₂) but do not elevate dopamine (D₂) receptor numbers in the rat brain. *Psychiatry Res* 12 : 277-285.
- 7) Rupniak NMJ, Hall MD, Mann S, Fleminger S, Kilpatrick G, Jenner P, Marsden CD (1985) : Chronic treatment with clozapine, unlike haloperidol, does not induce changes in striatal D-2 receptor function in the rat. *Biochem. Pharmacol* 34 : 2755-2763.
- 8) Jenner P, Marsden CD (1987) : Chronic pharmacological mani-

- pulation of dopamine receptors in brain. *Neuropharmacol* 26: 931-940.
- 9) Miller RJ, Hiley CR (1974) : Anti-muscarinic properties of neuroleptics and drug-induced parkinsonism. *Nature (Lond.)* 248 : 596-597.
- 10) Leysen JE, Janssen PMF, Schotte A, Luyten WHML, Megens AAHP (1993) : Interaction of antipsychotic drugs with neurotransmitter receptor sites in vitro and in vivo in relation to pharmacological and clinical effects: role of 5-HT₂ receptors. *Psychopharmacol* 112 : S40-S54.
- 11) Boyson SJ, McGonigle P, Luthin GR, Wolfe BB, Molinoff PB (1988): Effects of chronic administration of neuroleptic and anticholinergic agents on densities of D₂ dopamine and muscarinic cholinergic receptors in rat striatum. *J Pharmacol Exp Ther* 244 : 987-993.
- 12) Andersen PH, Nielsen EB, Grønvald FC, Braestrup C (1986) : Some atypical neuroleptics inhibit [³H]SCH 23390 binding in vivo. *Eur J Pharmacol* 120 : 143-144.
- 13) Alter CA, Boyar WC, Wasley A, Gerhardt SC, Liebman JM, Wood PL (1988) : Dopamine neurochemical profile of atypical antipsychotics resembles that of D-1 antagonists. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 338 : 162-168.
- 14) Farde L, Nordstrom AL, Wiesel FA, Pauli S, Halldin C, Sedvall G

- (1992) : Positron emission tomographic analysis of central D₁ and D₂ dopamine receptor occupancy in patients treated with classical neuroleptics and clozapine. Arch Gen Psychiatry 49 : 538-544.
- 15) Marin C, Chase TN (1993) : Dopamine D₁ receptor stimulation but not dopamine D₂ receptor stimulation attenuates haloperidol-induced behavioral supersensitivity and receptor up-regulation. Eur J Pharmacol 231 : 191-196.
- 16) McQuade RD, Ford D, Duffy RA, Chipkin RE, Iorio LC, Barnett A (1988) : Serotonergic component of SCH23390: in vitro and in vivo binding analysis. Life Sci 43 : 1861-1869.
- 17) Matsubara S, Matsubara R, Kusumi I, Koyama T, Yamashita I (1993) : Dopamine D₁, D₂ and serotonin₂ receptor occupation by typical and atypical antipsychotic drugs *in vivo*. J Pharmacol Exp Ther 265 : 498-508.
- 18) Kostowski W, Gumulka W, Czlonkowski A (1972) : Reduced cataleptogenic effects of some neuroleptics in rats with lesioned midbrain raphe and treated with p-chlorophenylalanine. Brain Res 48 : 443-446.
- 19) Carter CJ, Pycock CJ (1977) : Possible importance of 5-hydroxytryptamine in neuroleptic-induced catalepsy in rats. Br J Pharmacol 60 : 267-268.
- 20) Hicks P (1990) : The effect of serotonergic agents on haloperidol-

induced catalepsy. Life Sci 47 : 1609-1615.

- 21) Broekkamp CL, Oosterloo SK, Berendsen HH, van Delft AM (1988) : Effect of metergoline, fenfluramine, and 8-OH-DPAT on catalepsy induced by haloperidol or morphine, Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 338 : 191-195.
- 22) Invernizzi RW, Cervo L, Samanin R (1988) : 8-hydroxy-2-(DI-N-propylamino) tetralin, a selective serotonin_{1A} receptor agonist, blocks haloperidol-induced catalepsy by an action on raphe nuclei medianus and dorsalis. Neuropharmacol 27 : 515-518.
- 23) McMillen BA, Scott SM, Davanzo EA (1988) : Reversal of neuroleptic-induced catalepsy by novel aryl-piperazine anxiolytic drugs. J Pharm Pharmacol 40 : 885-887.
- 24) Gelders YD, Ceulemans M-L, Hoppenbrouwers M-L, Reyntjens A, Mesotten F (1985) : Ritanserin, a selective serotonin antagonist in chronic schizophrenia. In IVth World Congress of Biology Psychiatric Abstracts : 338.
- 25) Goff DC, Midha KK, Brotman AW, McCormick S, Waites M, Amico ET (1991) : An open trial of buspirone added to neuroleptics in schizophrenic patients. J Clin Psychopharmacol 11 : 193-197.
- 26) Saller CF, Czupryna MJ, Salama AI (1990) : 5-HT₂ receptor blockade by ICI 169369 and other 5-HT₂ antagonists modulates the

- effects of D-2 dopamine receptor blockade. J Pharmacol Exp Ther 253 : 1162-1170.
- 27) Young KA, Zavodny R, Hicks PB (1991) : Subchronic buspirone, mesulergine and ICS 205-930 lack effects on D1 and D2 dopamine binding in the rat striatum during chronic haloperidol treatment. J Neural Transm 86 : 223-228.
- 28) Meltzer HY, Matsubara S, Lee J-C (1989) : Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin₂ pKi values. J Pharmacol Exp Ther 251 : 238-246.
- 29) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) : Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193 : 265.
- 30) Rupniak NMJ, Kilpatrick G, Hall MD, Jenner P, Marsden CD (1984): Differential alterations in striatal dopamine receptor sensitivity induced by repeated administration of clinically equivalent doses of haloperidol, sulpiride or clozapine in rats. Psychopharmacol 84 : 512-519.
- 31) Seeger TF, Thal L, Gardner E (1982) : Behavioral and biochemical aspects of neuroleptic-induced dopaminergic supersensitivity: studies with chronic clozapine and haloperidol. Psychopharmacol 76 : 182-187.
- 32) Severson JA, Robinson HE, Simpson GM (1984) : Neuroleptic-

- induced striatal dopamine receptor supersensitivity in mice:
relationship to dose and drug. *Psychopharmacol* 84 : 115-119.
- 33) Creese I, Snyder SH (1980) : Chronic neuroleptic treatment and
dopamine receptor regulation. *Adv Biochem Psychopharmacol* 24 :
89-94.
- 34) Wilmot CA, Szczepanik AM (1989) : Effects of acute and chronic
treatments with clozapine and haloperidol on serotonin (5-HT₂) and
dopamine (D₂) receptors in the rat brain. *Brain Res* 487 : 288-298.
- 35) Fibiger HC, Miller JJ (1977) : An anatomical and electrophysiological
investigation of the serotonergic projection from the dorsal
raphe nucleus to the substantia nigra in the rat. *Neuroscience* 2 :
975-989.
- 36) Ugedo L, Grenhoff J, Swensson TH (1989) : Ritanserin, a 5-HT₂
receptor antagonist, activates midbrain dopamine neurons by
blocking serotonergic inhibition. *Psychopharmacol* 98 : 45-50.
- 37) Kelland MD, Freeman AS, Chiodo LA (1990) : Serotonergic
afferent regulation of the basic physiology and pharmacological
responsiveness of nigrostriatal dopamine neurons. *J Pharmacol Exp
Ther* 253 : 803-811.
- 38) Balsara JJ, Jaelhav JH, Chandorkar AG (1979) : Effects of drugs
influencing central serotonergic mechanisms or haloperidol-induced
catalepsy. *Psychopharmacol* 22 : 67-69.

- 39) Kulikov AV, Kolpakov VG, Maslova GB, Kozintsev I, Popova NK (1994) : Effects of selective 5-HT_{1A} agonists and 5-HT₂ antagonists on inherited catalepsy in rats. *Psychopharmacol* 114 : 172-174.
- 40) Bersani G, Grispini A, Marini S, Pasini A, Valducci M, Ciani N (1986) : Neuroleptic-induced extrapyramidal side effects: clinical perspectives with ritanserin (R 55667), a new selective 5-HT₂ receptor blocking agent. *Curr Ther Res* 40 : 492-499.
- 41) Arborelius L, Chergui K, Murase S, Nomikos GG, Hook BB, Chouvet G, Hacksell U, Svensson TH (1993) : The 5-HT_{1A} receptor selective ligands, (R)-8-OH-DPAT and (S)-UH-301, differentially affect the activity of midbrain dopamine neurons. *Arch Pharmacol* 347 : 353-362.
- 42) Lappalainen J, Hietala J, Koulu M, Syvalahti E (1990) : Neurochemical effects of chronic co-administration of ritanserin and haloperidol: comparison with clozapine effects. *Eur J Pharmacol* 190 : 403-407.
- 43) Wadenberg M-L (1992) : Antagonism by 8-OH-DPAT, but not ritanserin, of catalepsy induced by SCH 23390 in the rat. *J Neural Transm* 89 : 49-59.
- 44) Dray A, Gonye TJ, Oakley NR, Tanner T (1976) : Evidence for the existence of raphe projection to the substantial nigra in rat brain. *Brain Res* 113 : 45-57.

- 45) Nicolaou NM, Garcia-Munoz M, Arbuthnot GW, Eccleston D (1979): Interactions between serotonergic and dopaminergic systems in rat brain demonstrated by small unilateral lesions of the raphe nuclei. *Eur J Pharmacol* 57 : 295-305.
- 46) List SJ, Seeman P (1979) : Dopamine agonists reverse the elevated DA-neuroleptic binding in neuroleptic pretreated rats. *Life Sci* 24 : 1447-1452.
- 47) Kapur S, Remington G (1996) : Serotonin-dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. *Am J Psychiatry* 153 : 466-476.
- 48) Lucas G, Bonhomme N, Deurwaerdere PD, Moal ML, Spampinato U (1997) : 8-OH-DPAT, a 5-HT_{1A} agonist and ritanserin, a 5-HT_{2A/C} antagonist, reverse haloperidol-induced catalepsy in rats independently of striatal dopamine release. *Psychopharmacol* 131 : 57-63.
- 49) McMillen BA (1985) : Comparative chronic effects of buspirone or neuroleptics on rat brain dopaminergic neurotransmission. *J Neural Transm* 64 : 1-12.

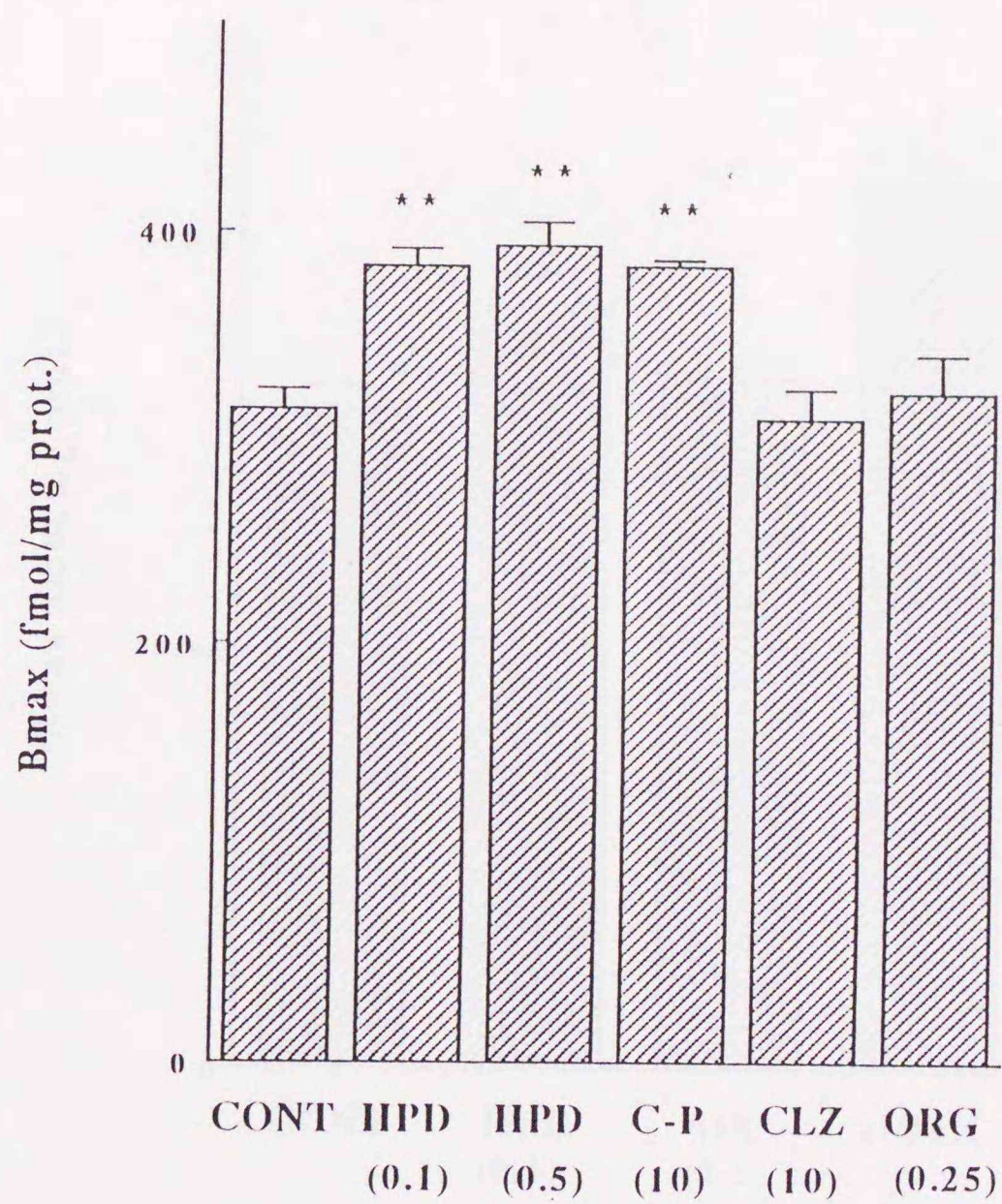


Fig. 1
石金 朋人

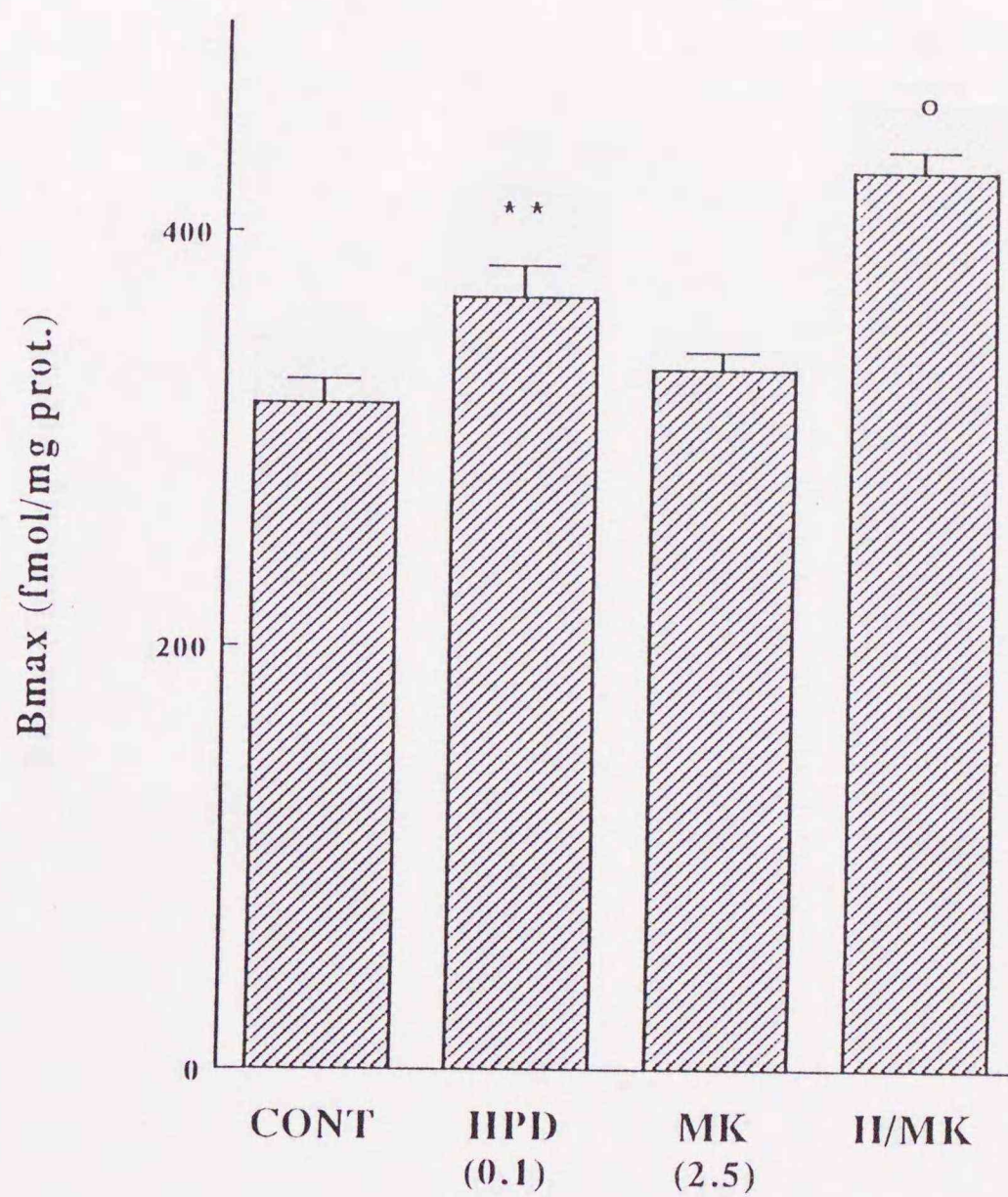


Fig.2
石金 朋人

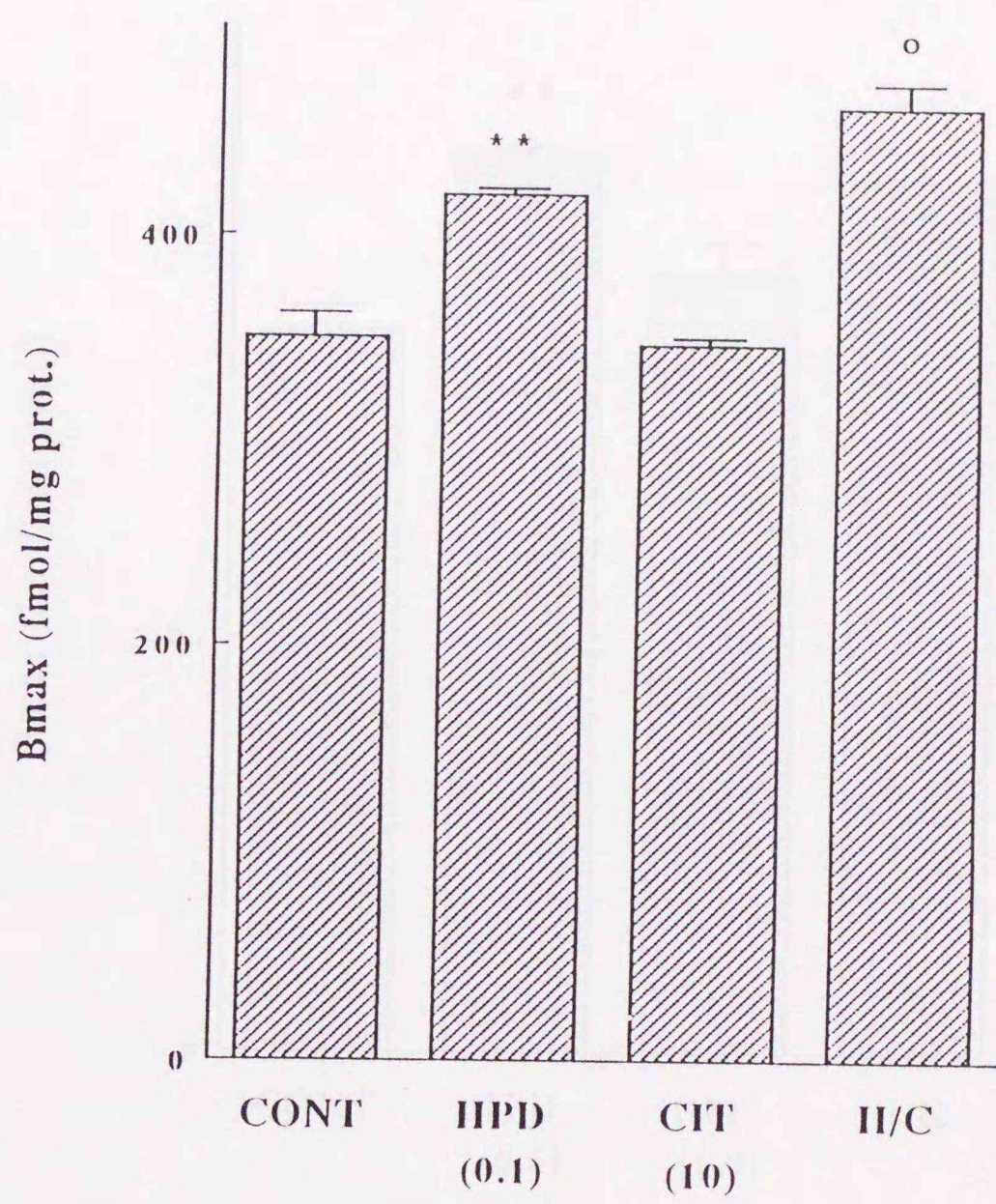


Fig. 3
石金 朋人

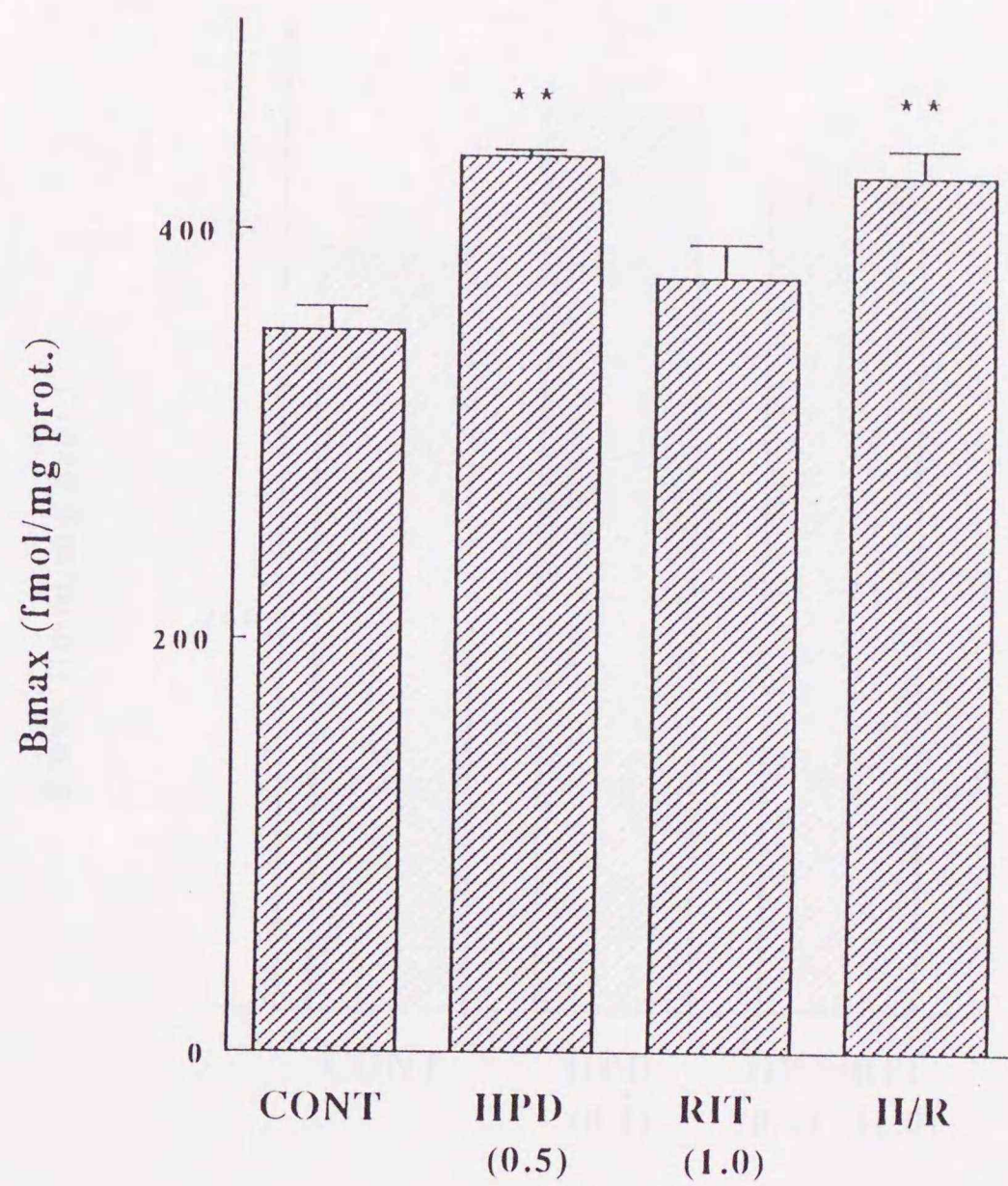


Fig.4
石金 朋人

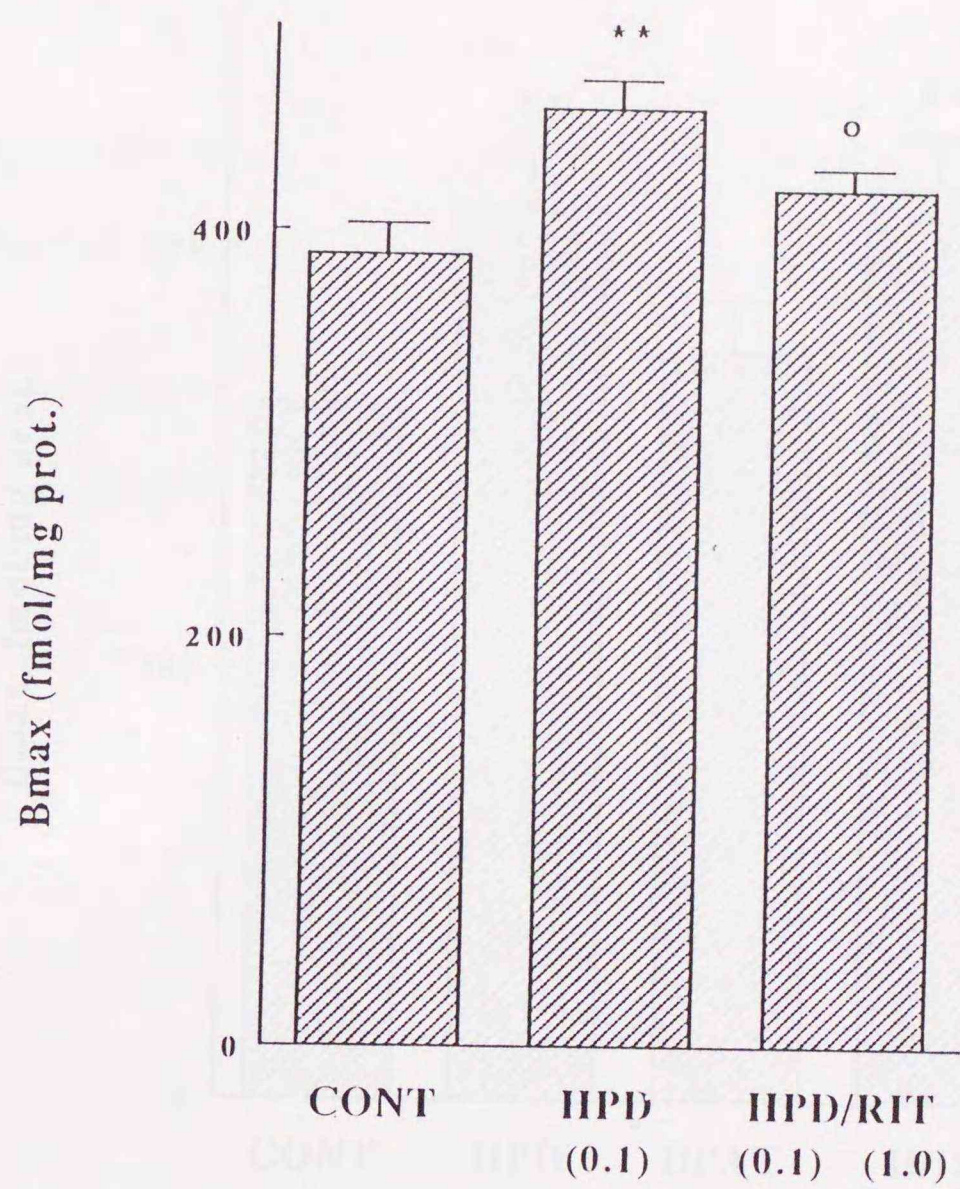


Fig.5
石金 朋人

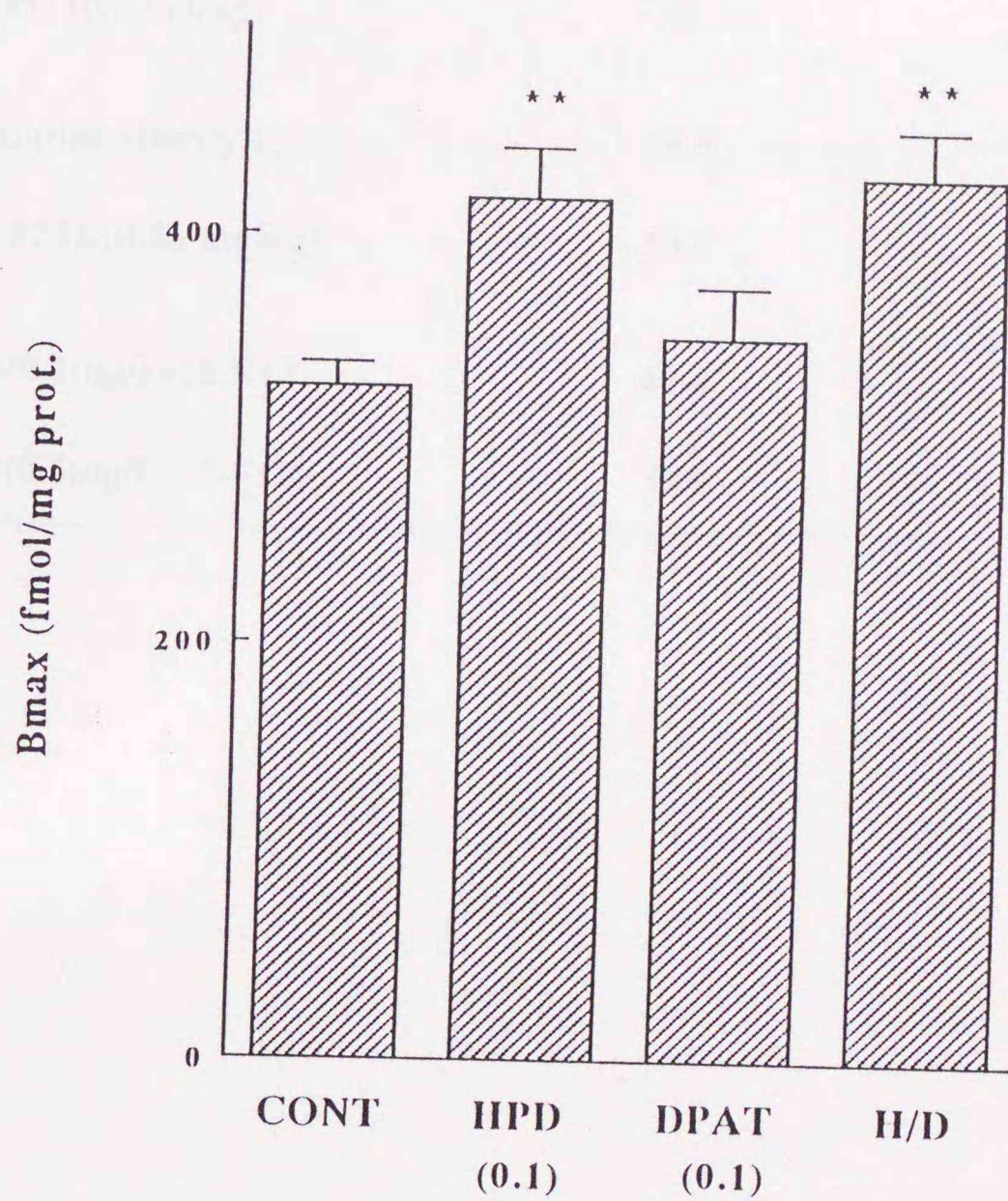


Fig.6
石金 朋人

Percent occupation of 5-HT_{2A} and D₂ receptors by various drugs *in vivo*

DRUG	5-HT ₂ (%)	D ₂ (%)
C-P (10 mg/kg)	63.4	61.4
HPD (0.1 mg/kg)	0	44.3
HPD (0.5 mg/kg)	0	68.0
Clozapine (10mg/kg)	50.5	10.9
ORG 5222 (0.25 mg/kg)	83.7	43.8
HPD(0.1mg/kg)&RIT	69.8	45.1
HPD(0.5mg/kg)&RIT	75.6	73.6

Fig. 2 Effects of chronic treatment with clozapine (C-P), MK212 (MK) and clozapine/MK212 (MK) on the densities of 5-HT_{2A} and D₂ receptors in rat striatum. Animals were treated once a day for 3 weeks with vehicle (CONT), HPD (0.1 mg/kg, i.p.), MK (2.5 mg/kg, i.p.) or HPD and MK (0.1 mg/kg and 2.5 mg/kg, respectively, i.p.), and were decapitated one week after the last injection. Each value is the mean $\pm$ S.E.M. (n = 6). **p < 0.01 vs. CONT, *p < 0.05 vs. HPD.

Figure legends

Fig.1 Effects of chronic treatment with haloperidol (HPD), chlorpromazine (C-P), clozapine (CLZ) and ORG5222 (ORG) on the densities of dopamine D₂ receptors in rat striatum. Animals were treated once a day for 3 weeks with vehicle (CONT), HPD (0.1, 0.5 mg/kg, i.p.), C-P (10 mg/kg, i.p.), CLZ (1 mg/kg, i.p.) or ORG5222 (0.25 mg/kg, i.p.), and were decapitated one week after the last injection. The total number of binding sites (B_{max}) and the dissociation constant (K_d) for [³H]spiperone were estimated from saturation experiments using Scatchard analysis. Each value is the mean $\pm$ S.E.M (n = 6). **p < 0.01 vs. CONT.

Fig.2 Effects of chronic treatment with haloperidol (HPD), MK212 (MK) and haloperidol/MK212 (H/M) on the densities of dopamine D₂ receptors in rat striatum. Animals were treated once a day for 3 weeks with vehicle (CONT), HPD (0.1 mg/kg, i.p.), MK (2.5 mg/kg, i.p.) or HPD and MK (0.1 mg/kg and 2.5 mg/kg, respectively, i.p.), and were decapitated one week after the last injection. Each value is the mean $\pm$ S.E.M (n = 6). **p < 0.01 vs. CONT. °p < 0.05 vs. HPD.

Fig.3 Effects of chronic treatment with haloperidol (HPD), citalopram (CIT) and haloperidol/citalopram (H/C) on the densities of dopamine D₂ receptors in rat striatum. Animals were treated once a day for 3 weeks with vehicle (CONT), HPD (0.1mg/kg, i.p.), CIT (10mg/kg, i.p.) or HPD and CIT (0.1mg/kg and 10mg/kg, respectively, i.p.), and were decapitated one week after the last injection. Each value is the mean $\pm$ S.E.M (n = 6). **p<0.01vs.CONT. ^op<0.05vs.HPD.

Fig.4 Effects of chronic treatment with haloperidol (HPD), ritanserin (RIT) and haloperidol/ritanserin (H/R) on the densities of dopamine D₂ receptors in rat striatum. Animals were treated once a day for 3 weeks with vehicle (CONT), HPD (0.5mg/kg, i.p.), RIT (1.0mg/kg, i.p.) or HPD and RIT (0.5mg/kg and 1.0mg/kg, respectively, i.p.), and were decapitated one week after the last injection. Each value is the mean $\pm$ S.E.M (n = 6). **p<0.01vs.CONT.

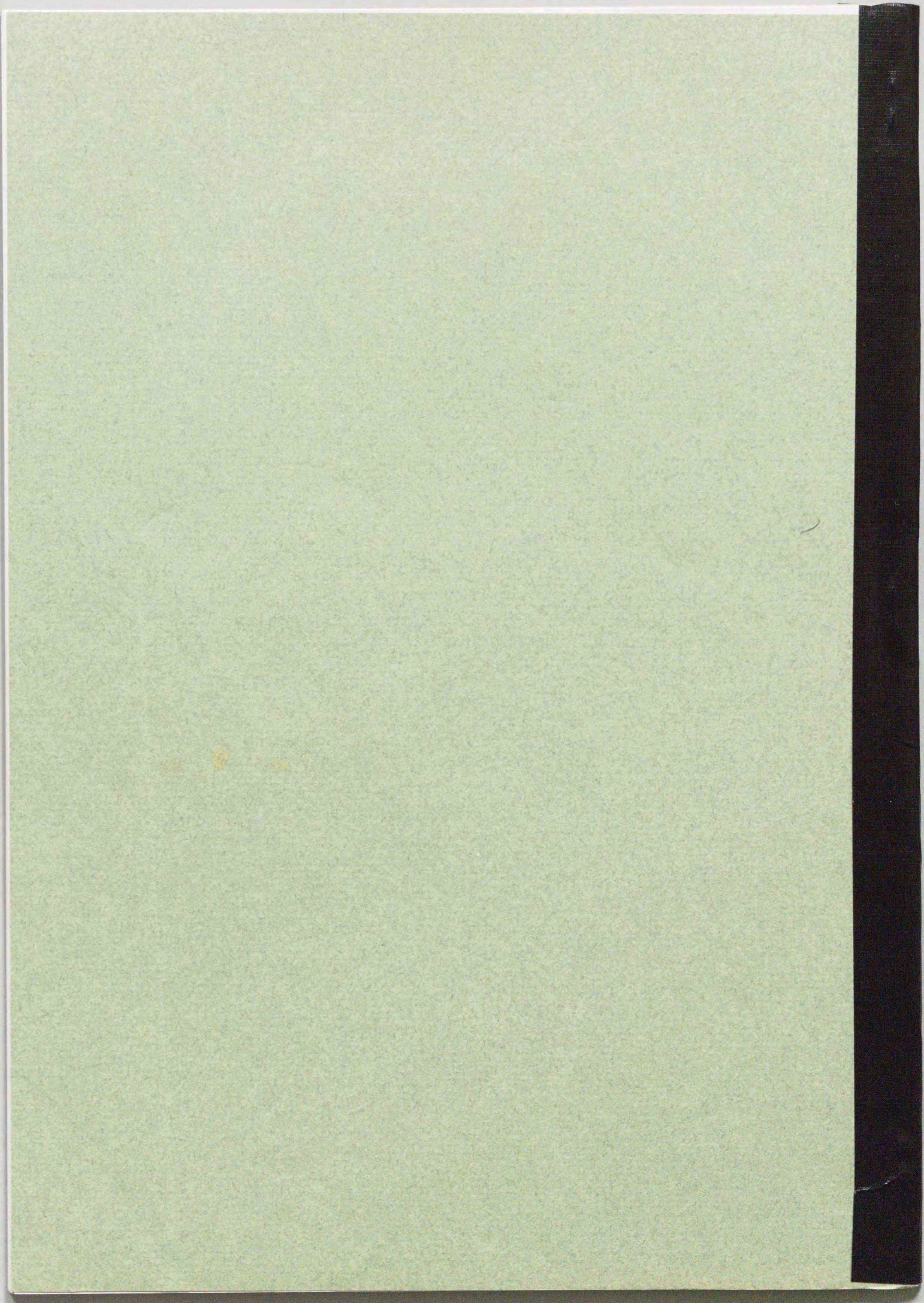
Fig. 5 Effects of chronic treatment with haloperidol (HPD), ritanserin (RIT) and haloperidol/ritanserin (H/R) on the densities of dopamine D₂ receptors in rat striatum. Animals were treated once a day for 3 weeks with vehicle (CONT), HPD (0.1mg/kg, i.p.) or HPD and RIT (0.1mg/kg and 1.0mg/kg, respectively, i.p.), and were decapitated one week after the last injection. Each value is the mean $\pm$ S.E.M (n = 8). **p<0.01vs.CONT. ^op<0.05vs.HPD.

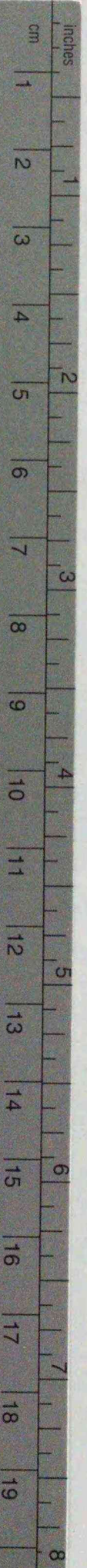
Fig. 6 Effects of chronic treatment with haloperidol (HPD), 8-OH-DPAT (DPAT) and haloperidol/8-OH-DPAT (H/D) on the densities of dopamine D₂ receptors in rat striatum. Animals were treated once a day for 3 weeks with vehicle (CONT), HPD (0.1mg/kg, i.p.), DPAT (0.1mg/kg, i.p.) or HPD and DPAT (0.1mg/kg and 0.1mg/kg, respectively, i.p.), and were decapitated one week after the last injection. Each value is the mean $\pm$ S.E.M (n = 6). **p<0.01vs.CONT.

Table Percent occupation of 5-HT_{2A} and dopamine D₂ receptors by various drugs *in vivo*. Animals received test compound or vehicle i.p. 1h before EEDQ (8mg/kg) i.p. and were decapitated 24h after the EEDQ injection. Percent receptor occupation was calculated by the following equation.

$$\% \text{ occupation} = \{(\text{drug/EEDQ}) - (\text{EEDQ})\} / \{(\text{drug}) - (\text{EEDQ})\} \times 100$$

C-P: chlorpromazine, HPD: haloperidol, CLZ: clozapine, RIT: ritanserin

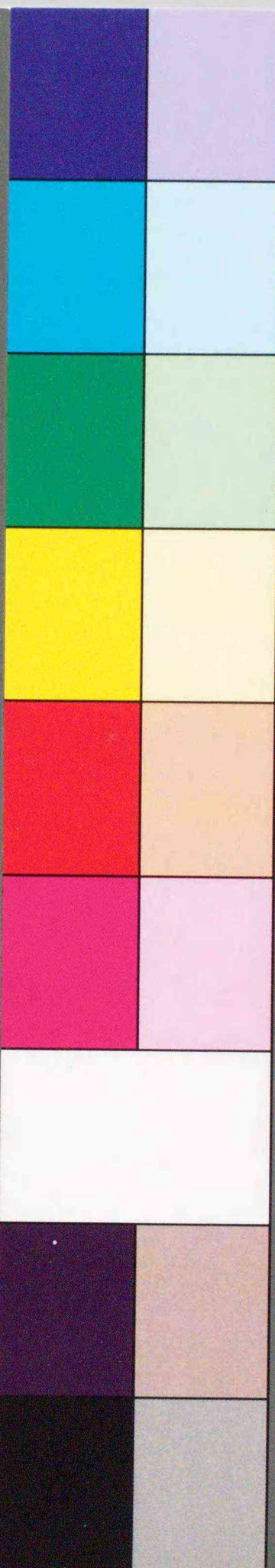




Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

