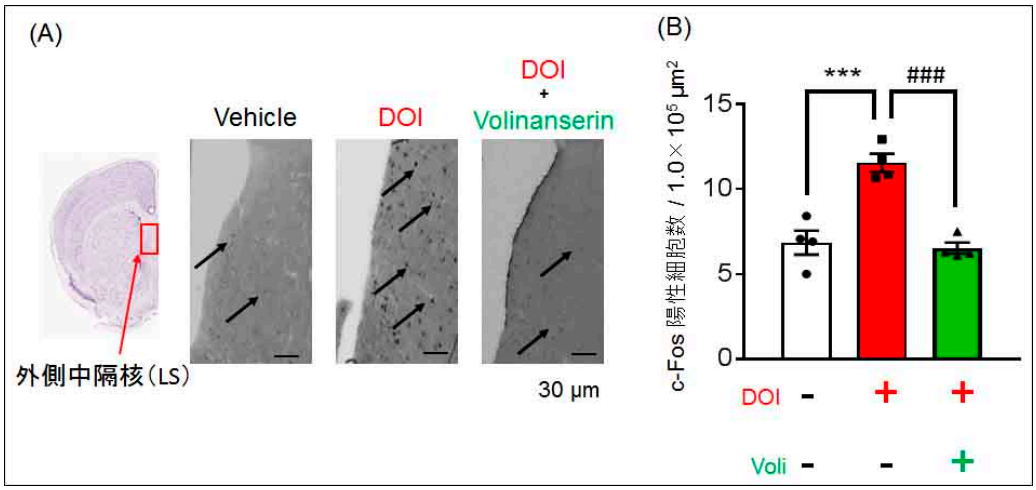
131　5-HT$_{2A}$受容体刺激薬の精神疾患治療薬としての有用性	衣斐　大祐

【目的】うつ病患者の 20～30%は治療抵抗性（難治性）とされている。解離性麻酔薬ケタミンが難治性うつ病に対して即効性と持続性を兼ね備えた抗うつ作用を示すことが報告され、米国では既に臨床で使われ始めている。しかし、ケタミンには精神病様症状を引き起こすなどの副作用が問題視されており、ケタミンの使用は制限されている。最近、幻覚薬として古くから用いられているセロトニン 5-HT$_{2A}$受容体刺激薬の psilocybin にも難治性うつ病に対して即効性と持続性を兼ね備えた抗うつ作用を示すことが報告された。しかし、セロトニン 5-HT$_{2A}$受容体刺激による抗うつ作用発現の分子機構は分かっていない。そこで、本研究ではセロトニン 5-HT$_{2A}$刺激による抗うつ作用発現のメカニズムを解明することを目的とした。

【方法】6～8 週齢の雄性 C57BL6 マウスを用いて、うつ様・不安様行動を調べるために行動薬理学的解析を行った。うつ病モデルマウス作製のためにコルチコステロン長期曝露を行った。神経活性マーカーc-Fos 発現を調べるために、免疫組織化学染色を行った。セロトニン 5-HT$_{2A}$受容体刺激薬として DOI を、セロトニン 5-HT$_{2A}$受容体遮断薬として volinanserin を用いた。

【結果】マウスに DOI を腹腔内投与し、24 時間後にうつ様行動を調べるために強制水泳試験を行ったところ無動時間の短縮が認められた。その作用は volinanserin の前処置により抑制された。次にセロトニン 5-HT$_{2A}$受容体刺激を介する抗うつ作用に関わる脳部位を明らかにするために、神経活性のマーカーである c-Fos タンパクの発現を観察したところ、ストレス感受性などに関わる外側中隔核の c-Fos 発現増加が認められたが、その変化は volinanserin の前処置により消失した。さらにコルチコステロン慢性曝露によるうつ病モデルマウスで認められる強制水泳試験における無動時間の延長は、DOI の急性処置によりコントロールレベルにまで短縮した。以上から、セロトニン 5-HT$_{2A}$受容体刺激による抗うつ作用は、外側中隔核の神経活性化を介して発現している可能性がある。

DOI 処置後、強制水泳ストレスによる外側中隔核の c-Fos 発現



131. 5-HT$_{2A}$受容体刺激薬の精神疾患治療薬としての有用性

衣斐　大祐

名城大学 薬学部 薬品作用学研究室

Key words：抗うつ薬，難治性うつ病，セロトニン 5-HT$_{2A}$受容体，外側中隔核

緒　言

うつ病患者の約 30%が、抗うつ薬が効きにくい治療抵抗性（難治性）うつ病患者である［1］。さらに抗うつ薬の効果発現までに数週間要する事も現治療薬の問題点である。NMDA 受容体拮抗薬のケタミンは、難治性うつ病に対して即効性と持続性を有する抗うつ作用を示すとして、米国では既に臨床で使われはじめている［2］。しかし、ケタミンは、精神病様症状や依存形成を引き起こすことなどの問題が存在しており［3］、未だその使用は制限されている。最近の臨床研究からセロトニン 5-HT$_{2A}$受容体（以下、5-HT$_{2A}$）刺激薬の psilocybin も治療抵抗性うつ病患者に対して即効性かつ持続性を有する抗うつ作用を示すことが明らかとなったが［4］、その詳細なメカニズムは不明である。さらに最近の臨床報告から、難治性うつ病患者の前頭皮質の 5-HT$_{2A}$発現が低下していること［5］、5-HT$_{2A}$刺激薬による副作用の発生頻度は、低く、安全性が高いことがヒトのメタ解析から明らかとされており［6］、うつ病治療における 5-HT$_{2A}$の意義を明らかにする必要がある。またこれまでの我々の研究から 5-HT$_{2A}$の下流シグナル経路が明らかとなり［7］、このシグナル経路が抗うつ作用に寄与している可能性がある（図 1）。しかし、5-HT$_{2A}$刺激を介した抗うつ作用に関わる詳細な分子機構は何も分かっていない。そこで本研究では、5-HT$_{2A}$刺激を介した抗うつ作用に関わる責任脳領域および 5-HT$_{2A}$下流シグナル伝達経路の解明を目的とする。

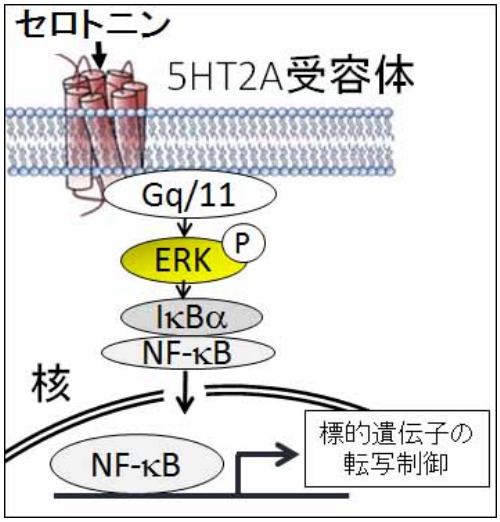


図 1. セロトニン 5-HT$_{2A}$受容体下流シグナル経路

非定型（第二世代）の抗精神病薬の長期間にわたる曝露は、前頭皮質においてセロトニン 5-HT$_{2A}$受容体の密度を低下させ ERK シグナル経路を抑制する。それにより IκBαの発現が低下することにより NF-κB の核への移行と、それにつづく *Hdac2* 遺伝子のプロモーター活性化がひき起こされる。NF-κB に依存的な HDAC2 発現増加は、エピジェネティックな制御を介してシナプスの再構築および可塑性にかかわる遺伝子の発現を抑制し、認知機能に影響をおよぼすことが明らかとなった。

方　法

マウスは、6～8 週齢の C57BL6 雄性マウスを用いた。自由に飲食および飲水可能な環境下で、12 時間毎の明暗サイクルにて飼育･維持を行った。コルチコステロン（20 mg/kg）は 6 週齢のマウスを用いて 3 週間連続的に腹腔内投与した。選択的 5-HT_{2A} 刺激薬として DOI または TCB-2 を、選択的 5-HT_{2A} 遮断薬として volinanserin を、選択的 5-HT_{2C} 遮断薬として SB242084 用いた。行動解析として、うつ様行動の指標に強制水泳試験を、不安様行動の指標に高架式十字迷路試験と novelty–suppressed feeding 試験を、社会性行動を調べるために社会性行動試験および幻覚用行動を調べるために head-twitch 試験をそれぞれ行った。また、活性化脳領域を調べるために、c-Fos タンパクの標識のために免疫組織化学染色を行った。

結　果

1.　セロトニン 5-HT_{2A} 受容体刺激薬による抗うつ行動と幻覚様行動

セロトニン 5-HT_{2A} 刺激薬の DOI または TCB-2 をマウスに腹腔内投与した、24 時間後に強制水泳試験を 15 分間行ったところ、DOI および TCB-2 はともに強制水泳試験での無動時間の短縮を示した（図 2）。この作用は少なくとも 3 日間は継続して認められた。以上から、セロトニン 5-HT_{2A} 刺激薬の単独処置は即効性と持続性を兼ね備えた抗うつ作用を示すことが示唆された。さらにセロトニン 5-HT_{2A} 刺激薬による抗うつ作用は、5-HT_{2A} 選択的拮抗薬の volinanserine の前処置によって消失したが（図 2）、5-HT_{2C} 選択的拮抗薬の SB242084 の前処置では影響を受けなかった。セロトニン 5-HT_{2A} 刺激薬は、前頭皮質のセロトニン 5-HT_{2A} 受容体の刺激を介して幻覚行動を引き起こすことが報告されている［8］。そこで、本研究では抗うつ作用を示した 0.1 mg/kg の DOI による head-twitch 反応を DOI 投与直後から 30 分間調べたところ、この用量の DOI では幻覚様行動は引き起こされなかった。以上から、抗うつ作用を示す 5－HT_{2A} 刺激薬の用量では幻覚様行動を引き起こさない可能性が示唆された。

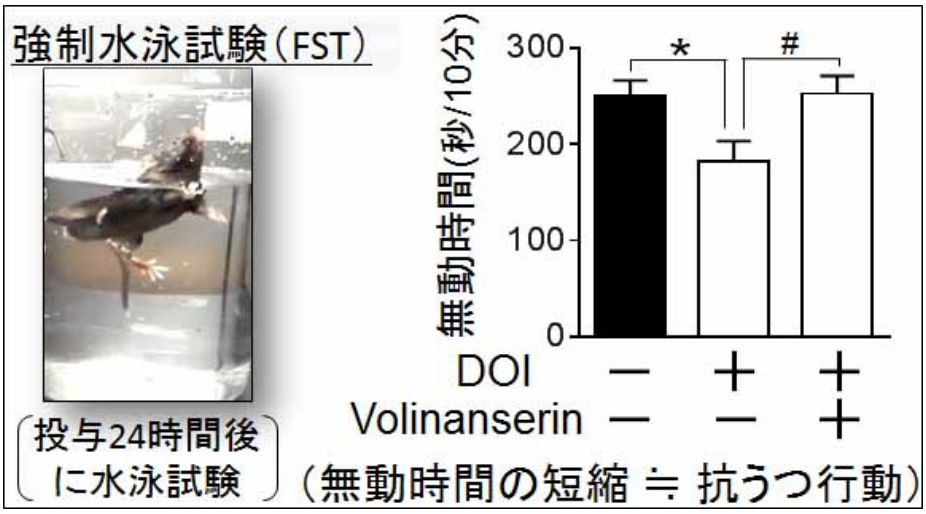


図 2.　強制水泳試験における 5-HT_{2A} 刺激薬の作用

マウスに 5-HT_{2A} 刺激薬の DOI を処置し、24 時間後に強制水泳試験を行った。5-HT_{2A} 遮断薬の volinanserin は、DOI 処置の 30 分前に前処置した。$^{*}p<0.05$、$^{\#}p<0.05$、median with interquatile range（n = 13～30）。F（2,57）= 9.77 p = 0.0076（One-way ANOVA followed by Dunn's test）。

2.　うつ病モデルマウスにおけるセロトニン 5-HT$_{2A}$ 刺激薬による抗うつ作用

うつ病患者では HPA 軸のフィードバッグ破綻により血中の糖質コルチコイド（コルチゾール）レベルの上昇が認められている［9］。その臨床データに基づいたうつ病モデルマウスとして、糖質コルチコイド（コルチコステロン）を 6 週齢から 3 週間、連続的に投与されたコルチコステロン投与マウスがうつ病モデルマウスとして広く用いられている［10］。本研究でも既報に基づいて、コルチコステロン投与マウスをうつ病モデルマウスとして用いた。コルチコステロン投与マウスは、高架式十字迷路、novelty-suppressed feeding 試験、強制水泳試験および社会性行動試験において、不安様およびうつ様行動の増加、さらに社会性行動の障害を示したが、それら情動行動異常は 0.1 mg/kg の DOI の投与によりコントロール群レベルまで改善した。このことは、うつ病モデルマウスで認められる行動異常に対しても 5-HT$_{2A}$ 刺激薬は治療効果を示すことが示唆された。

3.　セロトニン 5-HT$_{2A}$ 刺激薬による抗うつ作用に関わる脳領域の探索

セロトニン 5-HT$_{2A}$ 刺激薬による抗うつ作用に関わる脳領域を調べるために強制水泳試験終了後、灌流固定により脱血・固定を行い、免疫組織化学染色により、神経活性のマーカーである c-Fos タンパクの染色を行った。不安・うつ様行動や抗うつ作用に関わる様々な領域において c-Fos 染色を行ったところ、外側中隔核における c-Fos 陽性細胞数が 0.1 mg/kg の DOI 処置によって有意に増加していた。一方、前頭前皮質や室傍核における c-Fos 陽性細胞数は溶媒処置コントロール群と DOI 処置群で変化は認められなかった。また、DOI 処置後、強制水泳試験において認められる外側中隔核での c-Fos 陽性細胞数の増加は 5-HT$_{2A}$ 選択的拮抗薬の volinanserine の前処置によってコントロールレベルにまで戻った。

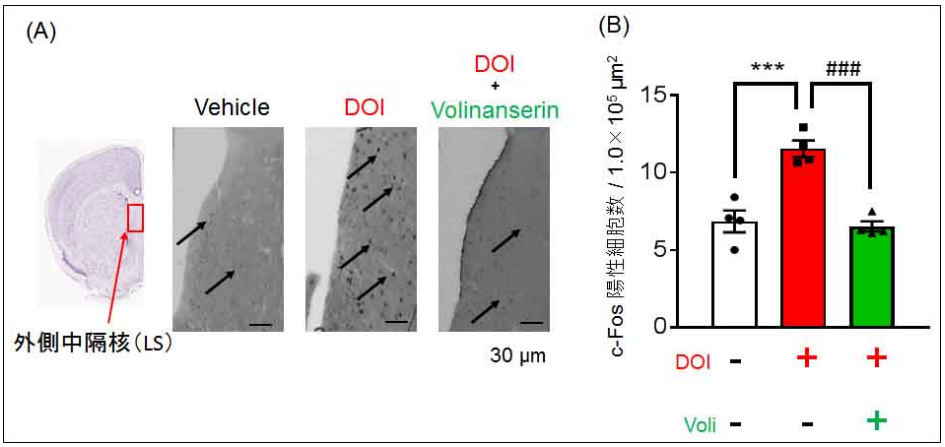


図 3.　外側中隔核の c-Fos 発現における 5-HT$_{2A}$ 刺激薬の影響

マウスに 5-HT$_{2A}$ 刺激薬の DOI を処置し、24 時間後に強制水泳試験を行った。さらにその 1 時間半後に潅流固定により脳サンプルを得た。また 5-HT$_{2A}$ 遮断薬の volinanserin は DOI の 30 分前に処置した。

$^{***}p < 0.001$、$^{###}p < 0.001$、means±SEM（n = 4）。F（2,57）= 27.09 p = 0.0002（One-way ANOVA followed by Bonferroni's test）。Arrows indicate the c-Fos posiive cells。

考　察

強制水泳試験において 5-HT$_{2A}$ 刺激薬の DOI は、無動時間の短縮を示し、抗うつ作用を示すことが示唆された。また、コルチコステロン慢性処置によるうつ病モデルマウスで認められる不安様行動やうつ様行動も DOI の急性投与により改善された。さらに DOI 処置 24 時間後に強制水泳試験を施した後、灌流固定を行い、神経活性のメーカーである c-Fos タンパクを染色したところ溶媒処置コントロール群と比較して、外側中隔核における c-Fos 陽性細胞数の有意な増加が認められた。さらに、その変化は 5-HT$_{2A}$ 拮抗薬 volinanserin の前投与により消失した。以上から、DOI による抗うつ作用およびそれに伴う外側中隔核における神経活性は、5-HT$_{2A}$ 依存的に生じていることが明らかとなった。また本研究では示していないが、DOI による強制水泳試験での無動時間の短縮は、少なくとも 3 日間以上持続することを明らかにしている。以上より、DOI の急性投与は、即効性と持続性を兼ね備えた抗うつ作用を示すことが示唆され

た。本研究により、抗うつ薬の新たな分子標的として 5-HT_{2A} が有用である可能性が示された。

共同研究者・謝辞

本研究の実施にあたり、名城大学大学院薬学研究科 薬品作用学研究室の平松正行博士と学生を含む多くの研究室員および Virginia Commonwealth University School of Medicine の Javier Gonzalez-Maeso 博士に御支援を賜り、深く感謝申し上げます。本稿を終えるにあたり、本研究に御支援を賜りました上原記念生命科学財団に心より感謝申し上げます。

文　献

1) Al-Harbi KS. Treatment-resistant depression: therapeutic trends, challenges, and future directions. Patient Prefer Adherence. 2012 ;6:369-88. Epub 2012 May 1. PMID: 22654508 DOI: 10.2147/PPA.S29716
2) Singh I, Morgan C, Curran V, Nutt D, Schlag A, McShane R. Lancet Psychiatry. 2017 May;4(5):419-426. Epub 2017 Apr 5. PMID: 28395988 DOI: 10.1016/S2215-0366(17)30102-5
3) Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, Krystal JH. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. Biol Psychiatry. 2000 Feb 15;47(4):351-4. PMID: 10686270
4) Baeken C, De Raedt R, Bossuyt A. Is treatment-resistance in unipolar melancholic depression characterized by decreased serotonin$_2$A receptors in the dorsal prefrontal-anterior cingulate cortex? Neuropharmacology. 2012 Jan;62(1):340-6. Epub 2011 Aug 5. PMID: 21839754 DOI: 10.1016/j.neuropharm.2011.07.043
5) Carhart-Harris RL, Bolstridge M, Rucker J, Day CM, Erritzoe D, Kaelen M, Bloomfield M, Rickard JA, Forbes B, Feilding A, Taylor D, Pilling S, Curran VH, Nutt DJ. Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: an open-label feasibility study. Lancet Psychiatry. 2016 Jul;3(7):619-27. Epub 2016 May 17. PMID: 27210031 DOI: 10.1016/S2215-0366(16)30065-7
6) Reiche S, Hermle L, Gutwinski S, Jungaberle H, Gasser P, Majić T. Serotonergic hallucinogens in the treatment of anxiety and depression in patients suffering from a life-threatening disease: A systematic review. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2018 Feb 2;81:1-10. Epub 2017 Sep 22. PMID: 28947181 DOI: 10.1016/j.pnpbp.2017.09.012
7) Ibi D, de la Fuente Revenga M, Kezunovic N, Muguruza C, Saunders JM, Gaitonde SA, Moreno JL, Ijaz MK, Santosh V, Kozlenkov A, Holloway T, Seto J, García-Bea A, Kurita M, Mosley GE, Jiang Y, Christoffel DJ, Callado LF, Russo SJ, Dracheva S, López-Giménez JF, Ge Y, Escalante CR, Meana JJ, Akbarian S, Huntley GW, González-Maeso J. Antipsychotic-induced *Hdac2* transcription via NF-κB leads to synaptic and cognitive side effects. Nat Neurosci. 2017 Sep;20(9):1247-1259. Epub 2017 Aug 7. PMID: 28783139
8) González-Maeso J, Weisstaub NV, Zhou M, Chan P, Ivic L, Ang R, Lira A, Bradley-Moore M, Ge Y, Zhou Q, Sealfon SC, Gingrich JA. Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT(2A) receptor-mediated signaling pathways to affect behavior. Neuron. 2007 Feb 1;53(3):439-52. PMID: 17270739
9) Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. Neuron. 2002 Mar 28;34(1):13-25. PMID: 11931738
10) Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LA, Fuchs E. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. J Neurosci. 1997 Apr 1;17(7):2492-8. PMID: 9065509