

感覚情報処理機能障害に対するガラントミンの有効性とそのメカニズム

吾郷由希夫

Beneficial Effect of Galantamine on Sensory Information-processing Deficits

Yukio AGO

Laboratory of Medicinal Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University,
1-6 Yamada-oka, Suita 565-0871, Japan

(Received May 31, 2010)

Clinical studies show that galantamine, a weak acetylcholine (ACh) esterase inhibitor and allosteric potentiator of nicotinic ACh receptors (nAChRs), improves negative and cognitive symptoms in schizophrenia, while donepezil, a potent ACh esterase inhibitor, does not. We have recently found that galantamine, but not donepezil, reversed isolation rearing-induced deficits of prepulse inhibition (PPI), sensory information-processing deficits, in mice. In addition, we unexpectedly found that the galantamine-induced improvements in PPI deficits were prevented by the muscarinic ACh receptor (mAChR) antagonists scopolamine and telenzepine (preferential for M₁ subtype), but not by the nAChR antagonists. Galantamine, like donepezil, increased extracellular ACh levels in the prefrontal cortex. However, donepezil, unlike galantamine, inhibited M₁-mAChR-mediated Ca²⁺ signal in human neuroblastoma SH-SY5Y. These results suggest that galantamine improves isolation rearing-induced PPI deficits *via* an activation of mAChRs and the difference in the effect on the PPI deficits between galantamine and donepezil is due to that in their action on M₁-mAChRs. The possible mechanisms for the beneficial effect of galantamine are discussed in a model of isolation rearing-induced PPI deficits.

Key words—galantamine; donepezil; schizophrenia; prepulse inhibition; acetylcholine (ACh)

1. はじめに

近年の臨床研究から、統合失調症における認知機能障害の程度とコリンアセチルトランスフェラーゼの活性低下の程度が相関すること、¹⁾ 統合失調症患者の死後脳において、ニコチン性 ACh 受容体 (nACh 受容体) の α_7 , β_2 , β_4 サブユニットや M₁, M₄ ムスカルリン性 ACh 受容体 (mACh 受容体) の発現レベルが低下している例が見い出され、²⁻⁷⁾ 統合失調症病態における ACh 神経機能低下の関与が示唆されている。すなわち、統合失調症の認知機能障害の改善に ACh 神経系の賦活化が有効である可能性が考えられ、最近の臨床試験において、欧米でアルツハイマー病治療薬として認可されている ACh エステラーゼ阻害薬ガラントミンの有効性が見い出されている。⁸⁾ しかしながら、強力な ACh エ

ステラーゼ阻害作用を有するドネペジルは統合失調症患者の注意障害や認知機能障害に対してなんら作用を示さないことが報告されており、⁹⁾ 両薬物の作用の違い、また薬効の分子機構は不明である。本稿では、このような臨床研究の知見を基に、ガラントミンの注意障害、認知機能障害改善作用の作用機構を前臨床レベルで追究したわれわれの研究成果について紹介する。

2. 感覚情報処理障害モデルマウスに対するガラントミン、ドネペジルの作用

プレパルスインヒビション (PPI) とは、聴覚性驚愕反応試験において、突然の音刺激 (パルス) に対する驚愕反応が、刺激の直前に小さな音刺激 (プレパルス) を差し挟むことにより抑制される現象のことを指す (Fig. 1).¹⁰⁾ PPI は認知機能との関連が示唆されており、¹¹⁾ また統合失調症患者ではこの PPI の減弱が認められ、注意障害や情報処理障害を反映していると考えられている。¹²⁾ われわれは、統合失調症の一部の病態で認められるような、ドパミン (DA) 神経機能亢進を反映する DA 受容体作動

大阪大学大学院薬学研究科薬物治療学分野 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-6)

e-mail: ago@phs.osaka-u.ac.jp

本総説は、平成 21 年度日本薬学会近畿支部奨励賞 (生物系薬学) の受賞を記念して記述したものである。

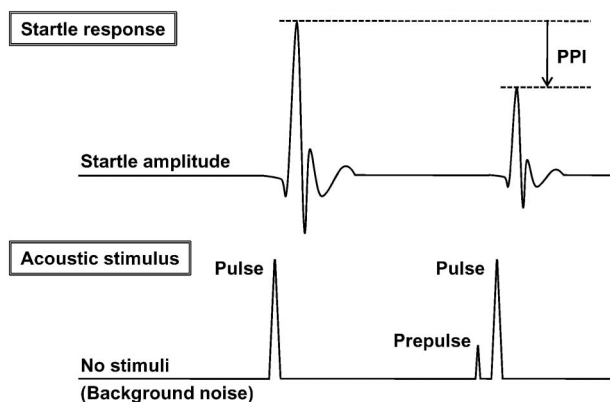


Fig. 1. Prepulse Inhibition of the Acoustic Startle Response
Prepulse inhibition (PPI) refers to the normal inhibition of the startle response when a weak stimulus (the prepulse) immediately precedes an intense startling stimulus (the pulse). The PPI of startle is an operational measure of the pre-attentive filtering process known as sensorimotor gating, and abnormalities in pre-attentive information processing may be predictive of, or lead to, complex cognitive deficits in schizophrenia.

薬アポモルヒネ誘発 PPI 障害モデルマウス, そして精神疾患の病態発現において重要な因子である環境因子や発達因子の影響を備えた長期隔離飼育誘発 PPI 障害モデルマウスにおいて, ガランタミンが有意な改善作用を示すことを見出した (Fig. 2).¹³⁾ 一方ドネペジルに関しては, アポモルヒネ誘発 PPI 障害を改善したものの, 長期隔離飼育誘発 PPI 障害に対しては作用を示さなかった. 以上の成績は, 統合失調症の認知機能障害がガランタミンにより改善されるがドネペジルによっては影響を受けないとの臨床報告^{8,9)}と一致しており, 長期隔離飼育モデルの PPI 障害を指標とする作用解析がガランタミンの認知機能障害改善作用のメカニズム研究に有用であることを示している.

3. ガランタミンの PPI 障害改善作用における ACh 受容体の関与

ガランタミンは, ドネペジルと同様にアルツハイマー病治療薬として開発された ACh エステラーゼ阻害薬であるが, その *in vitro* 阻害活性はドネペジルと比較して 50–100 倍程度低い.^{14,15)} 一方で α_7 及び $\alpha_4\beta_2$ -nACh 受容体のアロステリック活性化作用を有している.¹⁶⁾ そこでまず, ガランタミンの長期隔離飼育誘発 PPI 障害改善作用における nACh 受容体の関与について, 非選択的 nACh 受容体アンタゴニストであるメカミラミン, 並びに選択的 α_7 -nACh 受容体アンタゴニストであるメチルリカコニチンを用いて検討を行ったが, ガランタミンの PPI

障害改善作用は, これら薬物によっては拮抗されなかった.¹³⁾ 一方で, 非選択的 mACh 受容体アンタゴニストであるスコポラミン, 並びに M_1 受容体に親和性の高い mACh 受容体アンタゴニスト, テレンゼピンによりほぼ完全に抑制されることを認めた. つまりガランタミンの PPI 障害改善作用における M_1 -mACh 受容体の関与が明らかとなった.

4. ガランタミンの mACh 受容体活性化機構の解析

長期隔離飼育誘発 PPI 障害に対するガランタミンの改善作用に, mACh 受容体の活性化が関与することを示したが, 一方で, ガランタミンは mACh 受容体に対して親和性を持たないことから, 本受容体の活性化は, 脳内におけるシナプス間隙での ACh 遊離量の増加を介した間接的な作用と推察される. しかしながら, マウスにおいてガランタミンの脳内 ACh 量に対する作用を検討した報告はみられない. これは, 本化合物の ACh エステラーゼ阻害活性が低いこと, nACh 受容体に対するアロステリック活性化作用が重要であるとの仮説による. そこで, ACh 神経の投射先の 1 つであり PPI の機能調節に重要な役割を担っている大脳皮質前頭前野¹⁷⁾に着目し, 細胞外 ACh 量に対するガランタミンの作用について *in vivo* 脳微小透析法を用いて検討した.

大脳皮質前頭前野において, ガランタミンは PPI 障害を改善させた用量において, 投与後 20–60 分の時点で基礎遊離値から約 10–15 倍程度にまで細胞外 ACh 量を増加させた (Fig. 3).¹⁸⁾ またドネペジルに関しても約 20 倍もの上昇が認められた. 興味深いことに, ドネペジルによる細胞外 ACh 量の増加は, 灌流液中にあらかじめコリンエステラーゼ阻害薬であるネオスチグミンを加えておくことで大幅に抑制されたものの, ガランタミンによる増加は, ネオスチグミンの影響をほとんど受けなかった. つまり, ガランタミンによる細胞外 ACh 遊離量増加に, ACh エステラーゼ阻害以外の作用が関与している



吾郷由希夫

大阪大学大学院薬学研究科薬物治療学分野助教, 博士 (薬学). 2003 年大阪大学大学院薬学研究科修士課程修了. '05 年大阪大学大学院薬学研究科助手. '07 年同研究科助教, 現在に至る. 研究テーマ: 精神神経疾患における環境因子の役割.

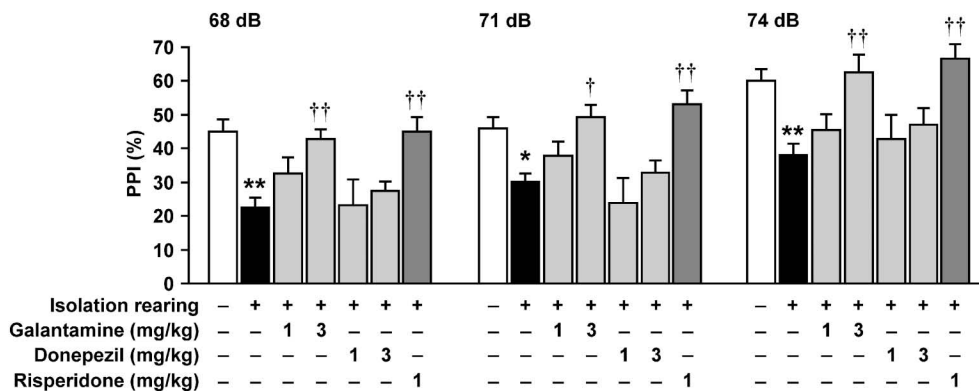


Fig. 2. Effects of Galantamine and Donepezil on Isolation Rearing-induced Deficits in PPI of the Acoustic Startle Response in Mice. Mice were housed either in groups of five or six per cage or isolated for more than 6 weeks before experiments. Galantamine (1, 3 mg/kg), donepezil (1, 3 mg/kg), and risperidone (1 mg/kg) were injected *i.p.* 30 min before the experiments. The test session consisted of startle trials (40 ms burst of 120 dB white noise), no-stimulus trials (only the background noise) and PPI trials [a prepulse (20 ms burst of white noise at 68, 71 or 74 dB intensity) preceded the 120 dB startle pulse (40 ms) by 100 ms]. Data are expressed as the mean \pm S.E.M. of 10–20 mice. * p <0.05, ** p <0.01, compared with group-reared mice; † p <0.05, †† p <0.01, compared with the vehicle treatment group of isolation-reared mice. Reproduced from ref. 13 with permission from Springer.

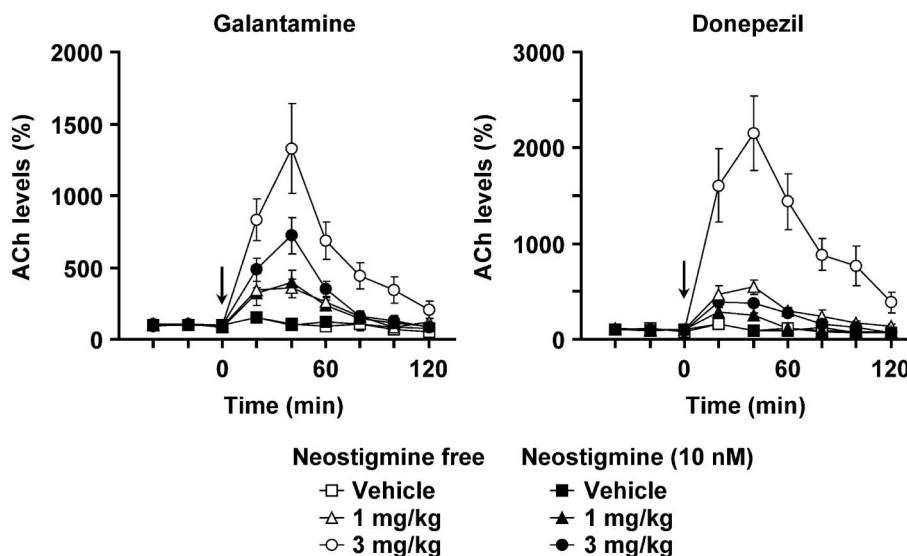


Fig. 3. Effects of Galantamine and Donepezil on Extracellular ACh Levels in the Prefrontal Cortex of Mice. Galantamine or donepezil at doses of 1 and 3 mg/kg were injected *i.p.* at 0 min (arrow). Ringer's solution was perfused with or without neostigmine at 10 nmol/l in the probe. Data are expressed as the mean \pm S.E.M. from 3–7 mice. Repeated measures two-way analysis of variance indicated that galantamine significantly increased prefrontal ACh levels [interaction (treatment \times time): $F_{16,96}=6.245, p<0.0001$ and $F_{16,72}=8.092, p<0.0001$ for absence and presence of neostigmine respectively]. Donepezil also increased prefrontal ACh levels ($F_{16,88}=13.444, p<0.0001$ and $F_{16,80}=9.023, p<0.0001$ for absence and presence of neostigmine respectively). Reproduced from ref. 18 with permission from John Wiley and Sons.

ことが推測された。ACh 遊離に関しては、mACh 受容体が促進的に制御していることが報告されているが、¹⁹⁾ ガランタミンの細胞外 ACh 遊離量増加作用に対して、テレンゼピンは全く影響を与えなかった。一方で ACh 遊離の調節については、ACh 受容体以外に DA やセロトニンといった他の神経系を介した二次的な作用が考えられる。実際、*in vitro* 実験系において、ガランタミンはカルシウム活性化型カリウムチャンネルの阻害作用によりカテコラミン遊

離を促進することが報告されており、²⁰⁾ また DA-D₁ 受容体アゴニストは脳皮質前頭前野や海馬において ACh 遊離上昇を引き起こすことが知られている。²¹⁾ これらの点と関連し、ガランタミンが脳皮質において細胞外 DA 遊離量を増加させること、また選択的 DA-D₁ 受容体アンタゴニスト SCH23390 が一部ガランタミンの細胞外 ACh 遊離量増加作用を抑制することを見出した (Fig. 4)。¹⁸⁾ 一方 SCH23390 は、ドネペジルによる細胞外 ACh 遊離

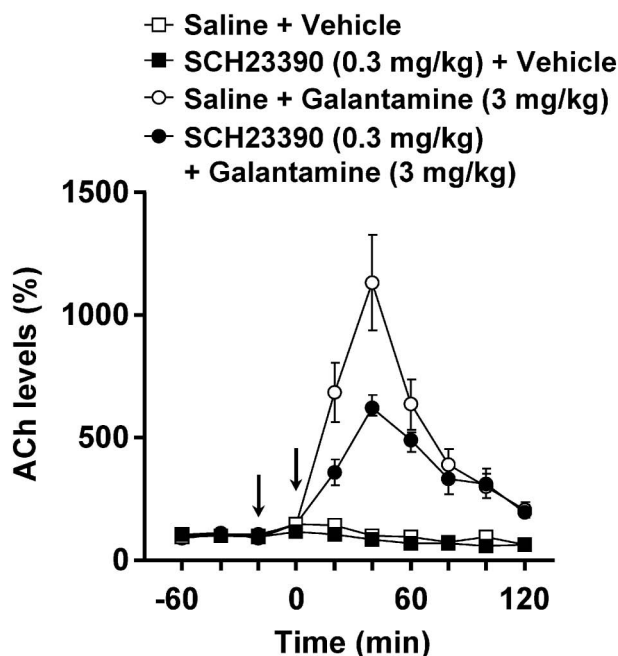


Fig. 4. Effect of Dopamine D₁ Receptor Antagonist SCH23390 on Galantamine-Induced Increase in Prefrontal ACh Levels in Mice

Ringer's solution was perfused without neostigmine in the probe. Galantamine (3 mg/kg) was injected *i.p.* at 0 min (right arrow). SCH23390 (0.3 mg/kg) was injected *i.p.* 20 min before galantamine treatment (left arrow). Data are expressed as the mean \pm S.E.M. from 3–4 mice. Repeated measures two-way analysis of variance indicated that SCH23390 attenuated galantamine-induced increase in ACh levels, although SCH23390 itself did not affect basal extracellular ACh levels [interaction (treatment \times time): $F_{9,54} = 1.214$, $p > 0.05$ and $F_{9,54} = 5.465$, $p < 0.0001$ for basal and galantamine-induced increase respectively]. Reproduced from ref. 18 with permission from John Wiley and Sons.

量増加作用に対しては影響を与えなかった。以上の成績から、ガラタミンが ACh エステラーゼ阻害作用に加え、DA 遊離上昇に引き続く DA-D₁ 受容体の活性化により脳内 ACh 遊離を促進し、mACh 受容体の活性化を引き起こす可能性が明らかとなった。

5. ガラタミンとドネペジルの M₁-mACh 受容体シグナルに対する作用

最後に、ガラタミンと同様に細胞外 ACh 遊離量を増加させるドネペジルが PPI 障害を改善しない点について検討を加えた。近年、ドネペジルは M₁-mACh 受容体に結合親和性を有することが報告されており、²²⁾ ガラタミンとドネペジルの薬理作用の差異が、本研究で認めた M₁-mACh 受容体に対する作用の違いによることが示唆された。そこで両薬物の薬理作用の差異における M₁-mACh 受容体の役割を明らかにする目的で、*in vitro* 系での M₁-

mACh 受容体刺激による細胞内 Ca²⁺ 濃度増加に対する影響について検討した。ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞は、M₁, M₂ 及び M₃-mACh 受容体を発現していることが知られており、^{23,24)} mACh 受容体作動薬であるカルバコール処置によって細胞内 Ca²⁺ 濃度増加が認められ、さらに本作用はテレンゼピンにより拮抗された。ドネペジル前処置は用量依存的にカルバコール誘発 Ca²⁺ 濃度増加を抑制したが、ガラタミンは本 Ca²⁺ 濃度増加に対して影響を示さなかった。

6. おわりに

本研究は、統合失調症の認知機能障害に対するガラタミンとドネペジルの作用が異なっているという臨床での情報から、神経薬理学的な研究を行い、ガラタミンの新しい作用機構を明らかにしたものである (Fig. 5)。すなわち、PPI 障害モデルの中で、長期隔離飼育誘発モデルにおいてのみ、臨床での両薬物の作用プロファイルの違いが再現できることを見出し、ガラタミンが M₁-mACh 受容体を介して PPI 障害を改善させることを明らかにした。またそのメカニズムとして、ガラタミンが ACh エステラーゼ阻害作用に加え、DA-D₁ 受容体活性化を介して大脳皮質前頭前野の細胞外 ACh 量を増加させることを示した。現在われわれは、さらに M₁-mACh 受容体アゴニスト *N*-デスメチルクロザピンが PPI 障害を改善すること、また長期隔離飼育マウス脳において M₁-mACh 受容体機能が特異的に低下していることを見出ししている。これらの成績は、隔離飼育といった環境的ストレスによって誘発される感覚情報処理機能障害において、mACh 受容体、特に M₁ 受容体の機能調節が密接に関与していることを示唆するものである。

統合失調症において、認知機能障害の重要性は強く認識されており、患者の QOL 向上を目指す上で疾患の中核症状と考えられている。これまで統合失調症での PPI 障害、あるいは認知機能障害においては、DA 並びにセロトニン神経系に焦点をあてた研究が多く、両神経系を標的とした治療薬の開発が中心となっており、ACh 神経系の機能的役割は解明されていなかった。本研究の成果は、統合失調症の病態生理基盤、あるいはその治療戦略における ACh 神経系、特に mACh 受容体制御の重要性を提唱し得るものと考えられる。

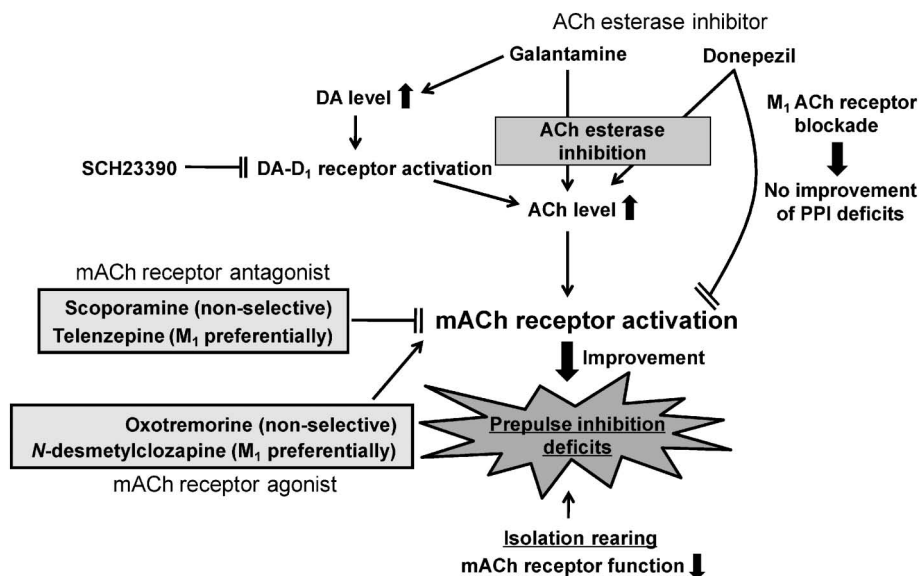


Fig. 5. Proposed Mechanism for the Improvement by Galantamine of Isolation Rearing-induced PPI Deficits

謝辞 本研究を遂行するにあたり、終始温かい御指導、御鞭撻を賜りました大阪大学大学院薬学研究科松田敏夫教授を始めとする諸先生方、御協力を頂きました薬物治療学分野（旧：複合薬物動態学分野）の皆様にご心より感謝申し上げます。

REFERENCES

- 1) Powchik P., Davidson M., Haroutunian V., Gabriel S. M., Purohit D. P., Perl D. P., Harvey P. D., Davis K. L., *Schizophr. Bull.*, **24**, 325–341 (1998).
- 2) Friedman J. I., *Psychopharmacology*, **174**, 45–53 (2004).
- 3) Crook J. M., Tomosakovic-Crook E., Copolov D. L., Dean B., *Biol. Psychiatry*, **48**, 381–388 (2000).
- 4) Crook J. M., Tomosakovic-Crook E., Copolov D. L., Dean B., *Am. J. Psychiatry*, **158**, 918–925 (2001).
- 5) Dean B., Crook J. M., Opeskin K., Hill C., Keks N., Copolov D. L., *Mol. Psychiatry*, **1**, 54–58 (1996).
- 6) Freedman R., Adams C. E., Leonard S., *J. Chem. Neuroanat.*, **20**, 299–306 (2000).
- 7) Freedman R., Hall M., Adler L. E., Leonard S., *Biol. Psychiatry*, **38**, 22–33 (1995).
- 8) Schubert M. H., Young K. A., Hicks P. B., *Biol. Psychiatry*, **60**, 530–533 (2006).
- 9) Friedman J. I., Adler D. N., Howanitz E., Harvey P. D., Brenner G., Temporini H., White L., Parrella M., Davis K. L., *Biol. Psychiatry*, **51**, 349–357 (2002).
- 10) Graham F., *Psychophysiology*, **12**, 238–248 (1975).
- 11) Bitsios P., Giakoumaki S. G., Theou K., Frangou S., *Neuropsychologia*, **44**, 2494–2499 (2006).
- 12) Swerdlow N. R., Light G. A., Cadenhead K. S., Sprock J., Hsieh M. H., Braff D. L., *Arch. Gen. Psychiatry*, **63**, 1325–1335 (2006).
- 13) Koda K., Ago Y., Kawasaki T., Hashimoto H., Baba A., Matsuda T., *Psychopharmacology*, **196**, 293–301 (2008).
- 14) Sweeney J. E., Puttfarcken P. S., Coyle J. T., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **34**, 129–137 (1989).
- 15) Isoma K., Ishikawa M., Ohta M., Ogawa Y., Hasegawa H., Kohda T., Kamei J., *Jpn. J. Pharmacol.*, **88**, 206–212 (2002).
- 16) Samochocki M., Höffle A., Fehrenbacher A., Jostock R., Ludwig J., Christner C., Radina M., Zerlin M., Ullmer C., Pereira E. F., Lübbert H., Albuquerque E. X., Maelicke A., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **305**, 1024–1036 (2003).
- 17) Bubser M., Koch M., *Psychopharmacology*, **113**, 487–492 (1994).
- 18) Yano K., Koda K., Ago Y., Kobayashi H., Kawasaki T., Takuma K., Matsuda T., *Br. J.*

- Pharmacol.*, **156**, 173–180 (2009).
- 19) Li Z., Bonhaus D. W., Huang M., Prus A. J., Dai J., Meltzer H. Y., *Eur. J. Pharmacol.*, **572**, 129–137 (2007).
- 20) Alés E., Gullo F., Arias E., Olivares R., García A. G., Wanke E., López M. G., *Eur. J. Pharmacol.*, **548**, 45–52 (2006).
- 21) Di Cara B., Panayi F., Gobert A., Dekeyne A., Sicard D., De Groote L., Millan M. J., *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **10**, 383–399 (2007).
- 22) Snape M. F., Misra A., Murray T. K., De Souza R. J., Williams J. L., Cross A. J., Green A. R., *Neuropharmacology*, **38**, 181–193 (1999).
- 23) Slowiejko D. M., Levey A. I., Fisher S. K., *J. Neurochem.*, **62**, 1795–1803 (1994).
- 24) Serra M., Mei L., Roeske W. R., Lui G. K., Watson M., Yamamura H. I., *J. Neurochem.*, **50**, 1513–1521 (1988).