

心臓型脂肪酸結合タンパク質による中枢ドパミン神経活動の調節

山本由似,^a 塩田倫史,^a 大和田祐二,^b 福永浩司^{*,a}

Regulation of Dopaminergic Neuronal Activity by Heart-type Fatty Acid Binding Protein in the Brain

Yui YAMAMOTO,^a Norifumi SHIODA,^a Yuji OWADA,^b and Kohji FUKUNAGA^{*,a}^aDepartment of Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, 6-3 Aramaki-Aoba, Aoba-ku, Sendai 980-8578, Japan, and ^bDepartment of Organ Anatomy, Graduate School of Medicine, Yamaguchi University, 1-1-1 Minamiogushi, Ube 755-8505, Japan

(Received October 8, 2010)

Haloperidol as a potent dopamine D2 receptor (D2R) antagonist was a major tranquilizer to treat schizophrenia patients. However, the D2R blocking action in dorsal striatum is thought to cause extrapyramidal symptoms as adverse effects. However, the pathophysiological mechanism underlying extrapyramidal symptoms induced by chronic treatment of haloperidol remains unclear. We recently found that lacking of heart-type fatty acid binding protein (H-FABP) in the brain aggravate catalepsy behavior induced by haloperidol. Here, we examined neuronal mechanism of augmentation of haloperidol-induced catalepsy in H-FABP null mice. Notably, catalepsy induced by haloperidol, a D2 antagonist, is augmented, whereas catalepsy induced by SCH23390, a D1 antagonist, was not affected in H-FABP null mice. Interestingly, haloperidol-induced acetylcholine (ACh) release in the dorsal striatum was markedly enhanced in H-FABP null mice compared to wild mice. We also defined the co-localization of D2R with H-FABP in the ACh interneurons in the striatum. Taken together, H-FABP regulates dopaminergic neuronal activity through interaction with D2R in rodent brain. The increased ACh release in the striatum accounts for haloperidol-induced catalepsy.

Key words—extrapyramidal symptom; catalepsy; haloperidol; dopamine D2 receptor; heart-type fatty acid binding protein

1. はじめに

統合失調症は、青年期（20代）に多く発症する妄想・幻覚を主症状とした精神疾患である。生涯有病率が約0.85%（120人に1人）と高い罹患率を示し、躁うつ病と並んで患者数の多い疾患である。幻覚や妄想、思考の障害（陽性症状）、自発性の低下、感情の平板化（陰性症状）などを主要な症状とする。発症の詳細な原因はいまだ不明で、遺伝的要因と環境要因のいずれもが関与している可能性がある。統合失調症陽性症状発現には、中脳腹側被蓋野から前頭皮質、辺縁系へ投射するドパミン神経の顕著な機能亢進が関与すると考えられ、ドパミン仮説が提唱

されている。¹⁻³⁾ このドパミン神経の過剰興奮に対して、ドパミン神経シナプス後膜に存在するドパミンD2受容体を遮断する抗精神病薬が陽性症状の軽減に有効である。¹⁾ しかし抗精神病薬は、中脳黒質緻密部（Substantia nigra pars compacta）から線条体へ投射しているドパミン神経の遮断により、錐体外路系運動障害を発現する。⁴⁾ 抗精神病薬の長期投与により誘発される錐体外路系障害や遅発性ジスキネジアのような副作用の機序を明らかにすることは、錐体外路系疾患の病態を理解するために重要である。

近年、統合失調症のエンドフェノタイプの1つとして知られるプレパルスインヒビション（PPI）の異常を制御する遺伝子として、脳型脂肪酸結合タンパク質（B-FABP）が同定された。さらに、統合失調症患者死後脳での遺伝子発現解析及びSNP解析から、B-FABP遺伝子が統合失調症の発症に影響する可能性が示されている。⁵⁾ B-FABPは多価不飽和

^a東北大学大学院薬学研究科薬理学分野（〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉6-3）、^b山口大学大学院医学系研究科器官解剖学分野（〒755-8505 山口県宇部市南小串1-1-1）

*e-mail: fukunaga@mail.pharm.tohoku.ac.jp

本総説は、日本薬学会第130年会シンポジウムGS05で発表したものを中心に記述したものである。

脂肪酸の細胞内取込み・輸送に関与していることから、統合失調症の病態生理に多価不飽和脂肪酸の細胞内輸送の異常が関与していると考えられる。

社会行動機能低下による患者の社会復帰の困難さ等の観点から、副作用の少ない治療薬の創製はさらに重要な課題である。本稿では、特に D2 受容体拮抗作用を有する抗精神病薬によって誘発される、錐体外路系運動機能障害の発現メカニズムについてこれまでの知見を概説し、さらに、多価不飽和脂肪酸と抗精神病薬誘発性運動機能障害との関連について、筆者らの最新の知見を交えて紹介する。

2. ハロペリドールによる錐体外路系運動障害

ハロペリドールは、覚せい剤のアンフェタミンによる運動量亢進に対して拮抗する化合物として発見された、ブチロフェノン系の抗精神病薬である。⁶⁾ 中枢の D2 受容体遮断作用が強く、不安、緊張、興奮状態、幻覚や妄想などの症状に優れた効果を発現するため、臨床で統合失調症、躁病の治療に汎用されている抗精神病薬の 1 つである。ハロペリドールは、統合失調症の陽性症状を軽減することから、定型抗精神病薬として広く知られている。副作用の問題から、2000 年頃より、統合失調症治療の第一選択薬はリスペリドン、オランザピンなどに代表される非定型抗精神病薬に取って代わられた。しかし、定型抗精神病薬は非定型抗精神病無効例などに著効を示す例もあることから、定型抗精神病薬を臨床で用いる機会は少なくないと言える。

ハロペリドールを始めとした定型抗精神病薬は非定型抗精神病薬に比べ、遅発性ジスキネジア（口周部の不随意運動、頭部、四肢、体幹の不随意運動等）や、薬剤性パーキンソン症候群等の種々の錐体外路系運動障害を強く呈することが知られている。⁷⁻⁹⁾ しかし、その発症メカニズムは解明されていない。その発生機序は諸説あるが、錐体外路系におけるドパミン神経機能の過剰な抑制が、抗精神病薬による運動機能障害の原因の 1 つとして強く支持されている。

黒質—線条体ドパミン神経路は錐体外路性運動機能の調節を司っており、^{10,11)} この黒質—線条体ドパミン神経が選択的に変性・脱落することでパーキンソン病の主症状である運動症状（振戦、筋固縮、無動、姿勢調節障害）を発現する。¹¹⁾ 線条体の GABA 作動性中型有棘（medium-sized spiny; MS）神経は、

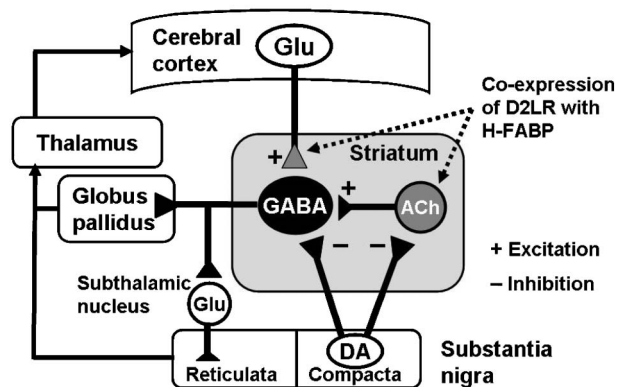


Fig. 1. Neuronal Network Regulating the Extrapyramidal Motor Functions in the Basal Ganglia

H-FABP is highly expressed in the terminals of glutamatergic neurons from cerebral cortex and ACh interneurons in the striatum. ACh, acetylcholine; DA, dopamine; GABA, gamma-aminobutyrate; Glu, glutamate.

黒質緻密部のドパミン神経からの抑制性入力と、大脳皮質のグルタミン酸神経からの興奮性入力を受けている (Fig. 1)。線条体からの出力は 2 種類あり、サブスタンス P 含有 GABA 神経からの直接路と、エンケファリン含有 GABA 神経からの間接路から構成される。D1 受容体はサブスタンス P 含有 GABA 神経に、D2 受容体はエンケファリン含有 GABA 神経に発現している。直接路はモノシナプス性に淡蒼球内節へ抑制線維を投射し、間接路は淡蒼球外節、視床下核を介して黒質網様部及び淡蒼球内節へと投射する。いずれも視床を経て大脳皮質へ至り、大脳皮質からグルタミン酸が放出されて再度線条体を興奮させ、大脳皮質-基底核-視床ループを形成している。大脳基底核の活動は、これら 2 経路の拮抗的な入力のバランスによって調節され、視床、大脳皮質運動野の活動性を制御している。

一方、パーキンソン病のような病態時には、黒質緻密部のドパミン神経からの抑制性入力欠落することから、直接路の活動が低下し、間接路が亢進する。その結果、淡蒼球外節からの抑制性入力低下し、視床下核からの興奮性出力が増加する。このような線条体出力系の異常により、視床、大脳皮質の活動性が抑制され、運動量減少、筋緊張亢進につながると思われる。ハロペリドール等の抗精神病薬は、線条体 D2 受容体を遮断してパーキンソン病様の錐体外路障害を引き起こすと考えられている。^{11,12)} 線条体内には興奮性アセチルコリン介在神経が存在する。線条体の MS 神経は、ドパミン神

経とアセチルコリン神経からそれぞれ抑制と興奮の調節を受けており、抗精神病薬の線条体 D2 受容体遮断によって、相対的にアセチルコリン神経活動が優位になる。このため、薬剤性パーキンソン症候群の副作用軽減に、抗コリン薬が用いられており、オランザピンやクエチアピンでは、抗コリン作用が比較的強いことが知られている。ハロペリドールは上記の薬理作用以外にも、それ自身のドパミン神経毒性によって、遅発性運動障害を引き起こすことが知られている。脳内若しくは肝臓において産生されるハロペリドール代謝物 4-(4-chlorophenyl)-1-[4-(4-fluorophenyl)-4-oxobutyl]pyridinium ion (HPP⁺) はドパミン神経細胞に豊富に存在するニューロメラニンに結合する。そのため、ドパミン神経細胞以外の神経細胞で HPP⁺ が消失した後も、ドパミン神経細胞ではニューロメラニンに結合した HPP⁺ が徐々に放出される。このように、ドパミン神経細胞は長期間 HPP⁺ に曝露されることから、HPP⁺ 細胞毒性はドパミン神経特異的に発現することが示唆されている。¹³⁾

パーキンソン病や薬剤性パーキンソン症候群で見られる錐体外路系運動障害の動物モデルとして、ハロペリドール誘導カタレプシーが用いられる。カタレプシーは黒質からのドパミン神経活動低下と線条体の内在性アセチルコリン (ACh) 神経活動の亢進により惹起されるが細胞内機序については不明である。線条体ニューロンにおいて、D2 受容体は最初期遺伝子である c-fos あるいはその遺伝子産物 Fos タンパク質発現を常に抑制的に制御している。ハロペリドールによって D2 受容体が遮断されると、Fos 発現が上昇する。¹⁴⁾ また、c-fos の発現には NMDA 受容体が促進的に働いており、D2 受容体と NMDA 受容体は c-fos の発現に対して抑制と興奮の相反した制御を行っている。ハロペリドールによるカタレプシーの発現には、非受容体型チロシキナーゼの Fyn を介した NMDA 受容体サブユニットの NR2B のチロシリン酸化が必須であること、¹⁵⁾ ハロペリドール慢性投与によって、線条体の NMDA 受容体発現亢進が起こることが知られている。¹⁶⁾ ハロペリドールによるカタレプシーは、D2 受容体と NMDA 受容体のバランスの破綻によって生じる。実際に、NR2B 遮断薬のイフェンプロジルあるいは CP-101606 投与により、ハロペリドール

による線条体における c-fos の発現が抑制され、同時にカタレプシー行動も顕著に減弱した。¹⁷⁾

3. 心臓型脂肪酸結合タンパク質欠損マウスにおけるカタレプシーの増強

ドコサヘキサエン酸 (DHA)、エイコサペンタエン酸 (EPA)、アラキドン酸 (AA) のような多価不飽和脂肪酸は不溶性であるため、細胞内での脂肪酸の移動には、これらと結合し、輸送する脂肪酸結合タンパク質 (fatty acid binding protein; FABP) の存在が必要である。すべての臓器で多様な FABP が発現している。脳では主に脳型 (B-)、心臓型 (H-)、表皮型 (E-) FABP が発現している。¹⁸⁾ B-FABP, E-FABP は胎生期か出生直後のグリア細胞に強く発現し、成熟期脳では発現が低下するのに対し、H-FABP は胎生期の脳において発現は認められず、成熟期脳の神経細胞に主に発現し、神経細胞での脂肪酸の取込みや輸送に参与している。¹⁹⁾

D2 受容体は細胞内第 3 ループ内の 29 アミノ酸残基の有無によって long 型と short 型に分けられるが、私達は、H-FABP が D2 受容体 (long 型; D2L 受容体) の細胞内第 3 ループ内の 29 アミノ酸残基に特異的に結合することを見出した。²⁰⁾ 面白いことに、D2L 受容体欠損マウスのみで、ハロペリドールによるカタレプシーが完全に消失し、^{21,22)} D2 受容体刺激薬であるアポモルフィンによる自発運動亢進が消失した。²³⁾ これらのことは、線条体を介する錐体外路系運動調節には D2L 受容体が関与していることを示唆している。私達は、H-FABP が D2L 受容体に特異的に結合することから、H-FABP が線条体でドパミン神経活動を調節することを予測した。

Figure 2 において、H-FABP 欠損マウスを用いて、ハロペリドール及び D1 受容体拮抗薬の SCH23390 誘発性カタレプシー反応をそれぞれ検討した。カタレプシーの測定は、3.5 cm の高さに水平に渡した直径 2 mm の鉄棒にマウス前肢を強制的に掛けさせ、不自然な体勢を保持した時間を最大 2 分間として観察した。低用量の各薬物を腹腔内に処置した後、1 時間後にカタレプシー反応を測定した。さらにその後、1 時間の休薬時間を設けたのち、中用量及び高用量の薬物を連続的に投与し、同様にカタレプシー反応を測定した。ハロペリドールを投与した際のカタレプシー反応は野生型マウスに

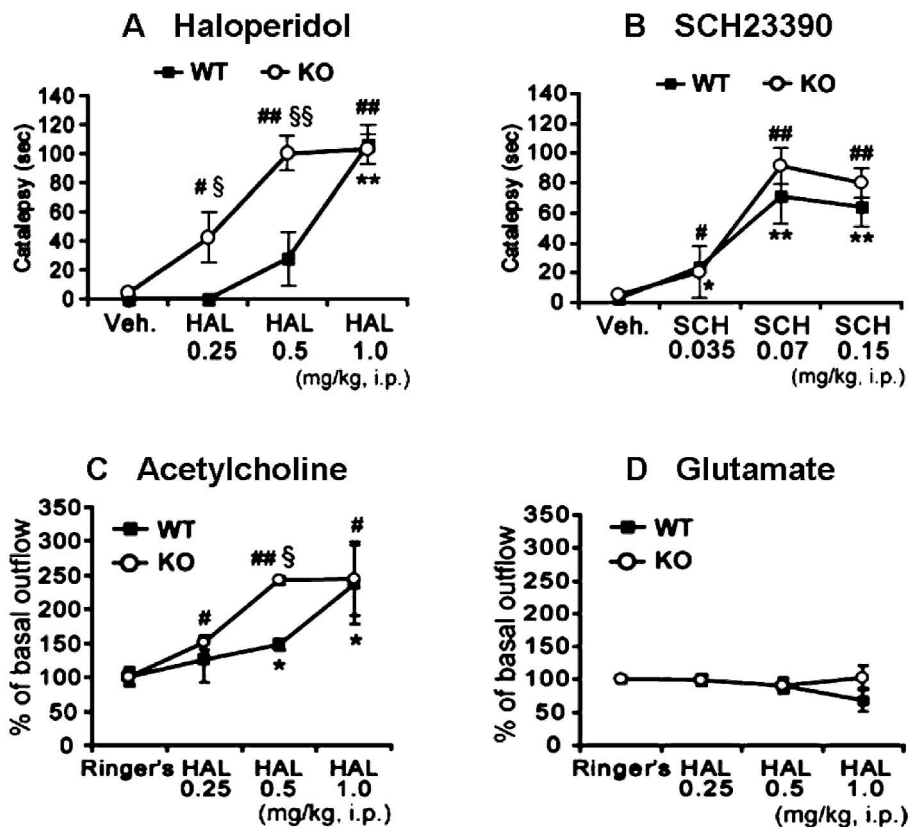


Fig. 2. Catalepsy Behavior and ACh/Glu Release Induced by Haloperidol and SCH23390 in H-FABP KO and Wild-type Mice

A, H-FABP KO mice exhibited strong haloperidol-induced catalepsy compared with wild-type mice. Each bar of points represents the mean \pm S.E.M. $**p < 0.01$, versus vehicle treated (Veh.) wild-type mice; $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, versus vehicle-treated (Veh.) H-FABP KO mice. $\$p < 0.05$, $$$p < 0.01$ in H-FABP KO versus wild-type mice at the same dosage. B, SCH23390-induced catalepsy did not differ significantly between wild-type and H-FABP KO mice. Each bar of points represents the mean \pm S.E.M. $*p < 0.05$ and $**p < 0.01$ versus vehicle-treated (Veh.) wild-type mice; $*p < 0.05$ and $**p < 0.01$ versus vehicle-treated (Veh.) H-FABP KO mice. WT, wild-type mice; KO, H-FABP KO mice. C, D, Extracellular ACh and Glu concentrations in the dorsal striatum seen in freely moving animals following intraperitoneal haloperidol administration. Each bar of points represents the mean \pm S.E.M. $*p < 0.05$, versus vehicle treated (Veh.) wild-type mice; $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, versus vehicle-treated (Veh.) H-FABP KO mice. $\$p < 0.05$ in H-FABP KO versus wild-type mice at the same dosage. (modified from Ref. 23).

比べ H-FABP 欠損マウスでは、低用量のハロペリドールで顕著なカタレプシー反応が得られた。しかし、最大反応は変わらなかった。一方、SCH23390 誘導カタレプシー反応は、野生型、H-FABP 欠損マウスで相違はみられなかった。このことは、H-FABP が線条体において D2L 受容体の機能を調節していることを示唆している。

このことを確認するために、線条体における H-FABP と D2L 受容体が共局在する部位を検討した。H-FABP は、大脳皮質から線条体への興奮性グルタミン神経の神経終末と、線条体のアセチルコリン神経の細胞体に強く発現していた (Fig. 1)。これらの部位では D2L 受容体と共局在していた。次に、線条体におけるハロペリドール誘発のアセチルコリン放出をマイクロダイアリシス法で検討した。カタレプシーと同じ用量で、ハロペリドールはアセチルコリン放出を促進した。H-FABP 欠損マウス

ではカタレプシー同様に、用量依存的にアセチルコリン放出を促進した。一方、グルタミン酸放出はハロペリドール投与によって影響を受けなかった。以上の結果から、H-FABP は線条体アセチルコリン神経で D2L 受容体と相互作用することによってアセチルコリン遊離を調節して錐体外路系運動を調節することが示された。²³⁾

4. おわりに

本稿で概説したように、ハロペリドールに代表される定型抗精神病薬によって誘発される錐体外路系運動機能障害は、アセチルコリン神経活動亢進が関与している。H-FABP 欠損マウスでは D2L 受容体の機能異常により、アセチルコリン神経活動が異常に亢進していることが示された。EPA などの多価不飽和脂肪酸は統合失調症の精神症状を改善することが報告されている。EPA は H-FABP と結合することから、統合失調症の発症及び定型抗精神病薬

による錐体外路系運動障害の発現に対し、多価不飽和脂肪酸摂取によって改善することが期待される。

謝辞 本研究の一部は日本学術振興会科学研究費補助金により行われたものであり、ここに深謝致します。

REFERENCES

- 1) Seeman P., *Pharmacol. Rev.*, **32**, 229–313 (1981).
- 2) Seeman P., *Synapse*, **1**, 133–152 (1987).
- 3) McKenna P. J., *Psychiatry*, **151**, 288–301 (1987).
- 4) Casey D. E., *CNS Drugs*, **5**, 1–12 (1996).
- 5) Watanabe A., Toyota T., Owada Y., Hayashi T., Iwayama Y., Matsumata M., Ishitsuka Y., Nakaya A., Maekawa M., Ohnishi T., Arai R., Sakurai K., Yamada K., Kondo H., Hashimoto K., Osumi N., Yoshikawa T., *PLoS Biol.*, **5**, 2297 (2007).
- 6) Janssen P. A., Niemegeers C. J., Schellekens K. H., *Arzneimittelforschung*, **15**, 104–117 (1965).
- 7) Gerlach J., Casey D. E., *Acta Psychiatr. Scand.*, **77**, 369–378 (1988).
- 8) Chakos M. H., Mayerhoff D. I., Loebel A. D., Alvir J. M., Lieberman J. A., *Psychopharmacol. Bull.*, **28**, 81–86 (1992).
- 9) Beasley C. M., Dellva M. A., Tamura R. N., Morgenstern H., Glazer W. M., Ferguson K., Tollefson G. D., *Br. J. Psychiatry*, **174**, 23–30 (1999).
- 10) Alex K. D., Pehek E. A., *Pharmacol. Ther.*, **113**, 296–320 (2007).
- 11) Nomoto M., Iwata S., Kaseda S., *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **117**, 111–122 (2001).
- 12) Ohno Y., Ishida-Tokuda K., Ishibashi T., Sakamoto H., Tagashira R., Horisawa T., Yabuuti K., Matsumoto K., Kawabe A., Nakamura M., *Pol. J. Pharmacol.*, **49**, 213–219 (1997).
- 13) Kawashima H., Iida Y., Kitamura Y., Saji H., *Neurotox. Res.*, **6**, 535–542 (2004).
- 14) Adams M. R., Brandon E. P., Chartoff E. H., Idzerda R. L., Dorsa D. M., McKnight G. S., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 12157–12161 (1997).
- 15) Hattori K., Uchino S., Isosaka T., Maekawa M., Iyo M., Sato T., Kohsaka S., Yagi T., Yuasa S., *J. Biol. Chem.*, **281**, 7129–7139 (2006).
- 16) Agovic M. S., Yablonsky-Alter E., Lidsky T. I., Banerjee S. P., *Eur. J. Pharmacol.*, **587**, 181–186 (2008).
- 17) Yanahashi S., Hashimoto K., Hattori K., Yuasa S., Iyo M., *Brain Res.*, **1011**, 84–93 (2004).
- 18) Owada Y., Yoshimoto T., Kondo H., *J. Chem. Neuroanat.*, **12**, 113–122 (1996).
- 19) Owada Y., Abdelwahab S. A., Kitanaka N., Sakagami H., Takano H., Sugitani Y., Sugawara M., Kawashima H., Kiso Y., Mobarakeh J. I., Yanai K., Kaneko K., Sasaki H., Kato H., Saino-Saito S., Matsumoto N., Akaike N., Noda T., Kondo H., *Eur. J. Neurosci.*, **24**, 175–187 (2006).
- 20) Takeuchi Y., Fukunaga K., *J. Neurochem.*, **85**, 1064–1074 (2003).
- 21) Usiello A., Baik J. H., Rougé-Pont F., Picetti R., Dierich A., LeMeur M., Piazza P. V., Borrelli E., *Nature*, **408**, 199–203 (2000).
- 22) Wang Y., Xu R., Sasaoka T., Tonegawa S., Kung M. P., Sankoorikal E. B., *J. Neurosci.*, **20**, 8315–8314 (2000).
- 23) Shioda N., Yamamoto Y., Watanabe M., Binas B., Owada Y., Fukunaga, K., *J. Neurosci.*, **30**, 3146–3155 (2010).