

Fig. 5. Effect of donepezil on DMTP performance at the 0-s (A and B) and 8-s delay (C and D) following bilateral microinjections of A β 1-40 into the hippocampus in control, A β -vehicle and A β -memantine groups. (A and C) Percent correct response and (B and D) response time. Donepezil (2.5 mg/kg, p.o.) was administered to all animals in the control, A β -vehicle and A β -memantine groups 1 h before the test sessions. Values indicate the mean \pm S.E. ($n=3$ for control group, $n=4$ for A β -vehicle and A β -memantine groups).

the test session. It appears that donepezil ameliorated the A β -induced impairment of DMTP performance on days 51–72. A one-way ANOVA with repeated measures revealed that there were no significant effects of group on DMTP performance from days 52 to 73 at the 0-s (Fig. 5A for choice accuracy: $F(2,8)=2.996$, $P>0.05$; Fig. 5B for response time: $F(2,8)=3.427$, $P>0.05$) and 8-s delay (Fig. 5C for choice accuracy: $F(2,8)=1.304$, $P>0.05$; Fig. 5D for response time: $F(2,8)=0.218$, $P>0.05$). The effect of donepezil on the A β -induced impairment of DMTP performance was analyzed by comparing the average DMTP performance in the A β -vehicle group from days 51 to 72 when distilled water but not donepezil was administered 1 h before test sessions (Fig. 6). A two-way ANOVA revealed significant effects of delay (Fig. 6A for choice accuracy: $F(4,164)=36.860$, $P<0.0001$; Fig. 6B for response time: $F(4,163)=4.170$, $P<0.01$) and group (Fig. 6A for choice accuracy: $F(2,41)=7.598$, $P<0.01$; Fig. 6B for response time: $F(2,41)=6.547$, $P<0.01$), but not delay \times group interaction (Fig. 6A for choice accuracy: $F(8,164)=1.630$, $P>0.05$; Fig. 6B for response time: $F(8,164)=1.201$, $P>0.05$). A post hoc analysis with the Student–Newman–Keuls test revealed that the A β -vehicle group showed a significant decrease in choice accuracy ($P<0.05$) and an increase in response time ($P<0.05$) compared with the control group. Donepezil significantly ameliorated the A β -induced decrease in choice accuracy ($P<0.05$) and increase in response time ($P<0.05$).

Fig. 7 shows the effects of memantine, donepezil and their combination on the A β -induced impairment of DMTP performance at the 0- or 8-s delay from days 51 to 73 following bilateral microinjections of A β 1-40 into the hippocampus. Bilateral microinjections of A β 1-40 into the

hippocampus in rats caused a significant decrease in choice accuracy (Fig. 7A, $F(5,82)=11.355$, $P<0.05$ by post hoc comparison) and a significant increase in response time (Fig. 7B, $F(5,82)=7.915$, $P<0.05$ by post hoc comparison) in the DMTP task at the 0-s delay. The A β -induced impairment of choice accuracy and response time was ameliorated

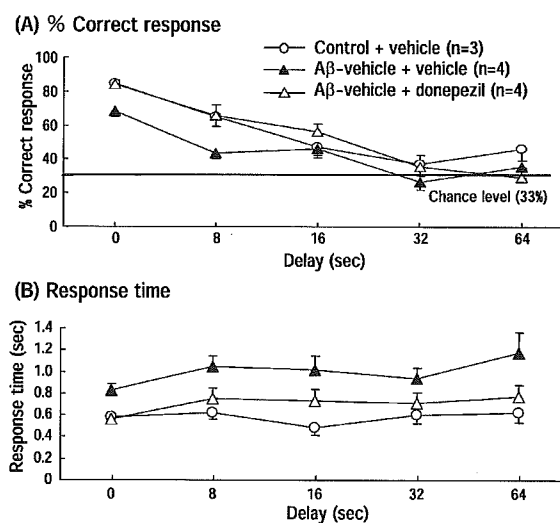


Fig. 6. Effect of donepezil on A β -induced impairment of DMTP performance from days 51 to 73 following bilateral microinjections of A β 1-40 into the hippocampus. (A) Percent correct response and (B) response time. Donepezil (2.5 mg/kg) or the vehicle was administered p.o. 1 h before the DMTP test sessions. Values indicate the mean \pm S.E. ($n=3$ for control group, $n=4$ for A β -vehicle and A β -donepezil groups). A two-way ANOVA revealed a significant effect of group on percent correct response [$F(2,41)=7.598$, $P<0.01$] and response time [$F(2,41)=6.547$, $P<0.01$].

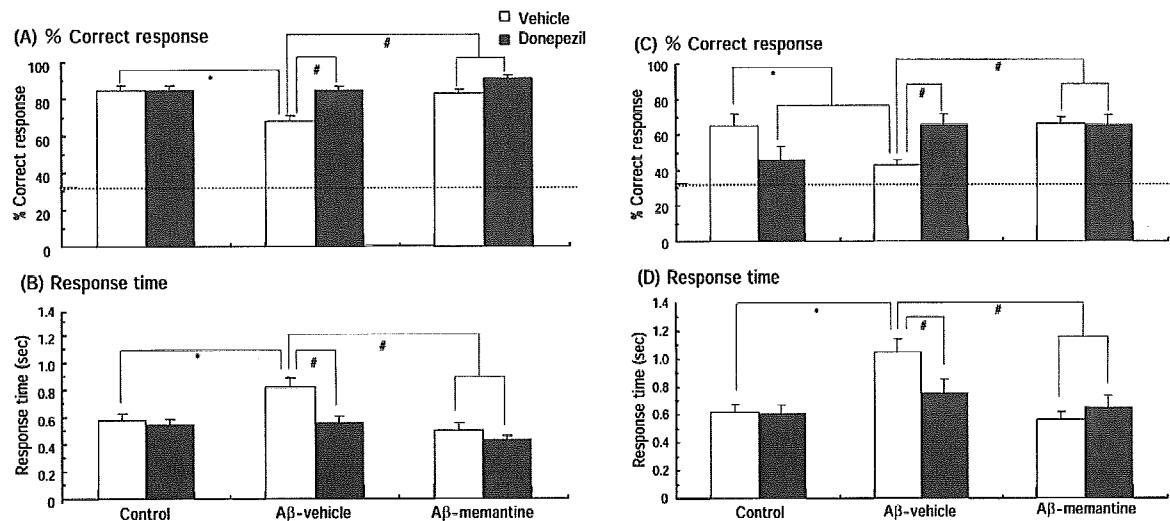


Fig. 7. Effects of memantine, donepezil and their combination on A β -induced impairment of DMTP performance from days 51 to 73 following bilateral microinjections of A β 1-40 into the hippocampus at the 0-s (A and B) and 8-s delay (C and D). (A and C) Percent correct response and (B and D) response time. Memantine (20 mg/(kg day)) was continuously infused s.c. with the Alzet osmotic pump for 4 weeks from 3 days before to 25 days after A β 1-40 infusion. Donepezil (2.5 mg/kg) or distilled water was administered 1 h before the test session. Values indicate the mean \pm S.E. ($n=3$ for control group, $n=4$ for A β -vehicle and A β -memantine groups). * $P<0.05$ vs. control-distilled water group. # $P<0.05$ vs. A β -distilled water group.

by memantine ($P<0.05$) and donepezil ($P<0.05$). Almost the same results were observed at the 8-s delay (Fig. 7C for choice accuracy: $F(5,82)=4.155$, $P<0.01$; Fig. 7D for response time: $F(5,82)=5.007$, $P<0.001$). However, donepezil significantly decreased choice accuracy ($P<0.05$ by post hoc comparison) without affecting the response time at the 0-s delay in control animals although the same treatment in A β -injected rats resulted in an improvement of DMTP performance. The combination of memantine and donepezil failed to produce any additive or synergic effects.

On days 79 and 80 (7 days after the last test session of the DMTP task) after the bilateral microinjections of A β 1-40 into the hippocampus, the locomotor activity of the animals was measured. Locomotor activity in the control, A β -vehicle and A β -memantine groups was 687 ± 33 , 616 ± 58 and 732 ± 38 counts/(60 min), respectively. There was no difference in locomotor activity among the three groups of animals ($F(2,19)=1.394$, $P>0.05$).

Histological examination by Nissl staining indicated A β -induced neurodegeneration in the CA1 and CA3 subfields of the hippocampus. Moreover, it appeared that memantine treatment provided neuroprotection against A β -induced neurodegeneration in the hippocampus (Fig. 8).

4. Discussion

In the present study, we have demonstrated that memantine prevented the development of, while donepezil symptomatically alleviated, A β 1-40-induced short-term memory deficits in rats that received bilateral microinjections of aggregated A β 1-40 into the CA1 and CA3 subfields of the hippocampus.

Although we did not examine the mechanisms underlying A β -induced short-term memory deficits, it has been shown that water-reconstituted A β 1-40, but not water alone or A β 1-28, injected into the hippocampus is associated with marked neurodegeneration that exhibits the characteristics of apoptosis [20]. Furthermore, it has been reported that memantine protects against neuronal degeneration induced by A β 1-40 [19]. Accordingly, it is plausible that prevention by memantine of A β -induced short-term memory impairment may be associated with its protection against A β -induced neurodegeneration in the hippocampus.

Miguel-Hidalgo et al. [19] have reported that neither the acquisition nor retention of the spatial discriminative learning in a T-maze is impaired in A β 1-40-treated animals despite the neurodegeneration of the CA1 subfield of the hippocampus. The discrepancy may be due to the differences in the amount of A β 1-40 injected into the hippocampus, injection site or especially the timing and difficulty of the behavioral task. While Miguel-Hidalgo et al. [19] examined learning and memory on day 8 after the A β injection when we failed to find any impairments of DMTP performance, an impairment of short-term memory was evident in A β 1-40-treated animals more than 50 days after A β injections.

Consistent with the present findings, previous studies have demonstrated that injection of aggregated A β into the hippocampus results in a delayed (approximately 30 days after the treatment) memory impairment [2,24,31], whereas A β injection into the nucleus basalis impaired cognitive function at 60 days post-injection [8]. Richardson et al. [31] have suggested that delayed behavioral effects are due to damage to neurons following A β -induced activation of glial cells. They showed that aggregated A β was present in the brain

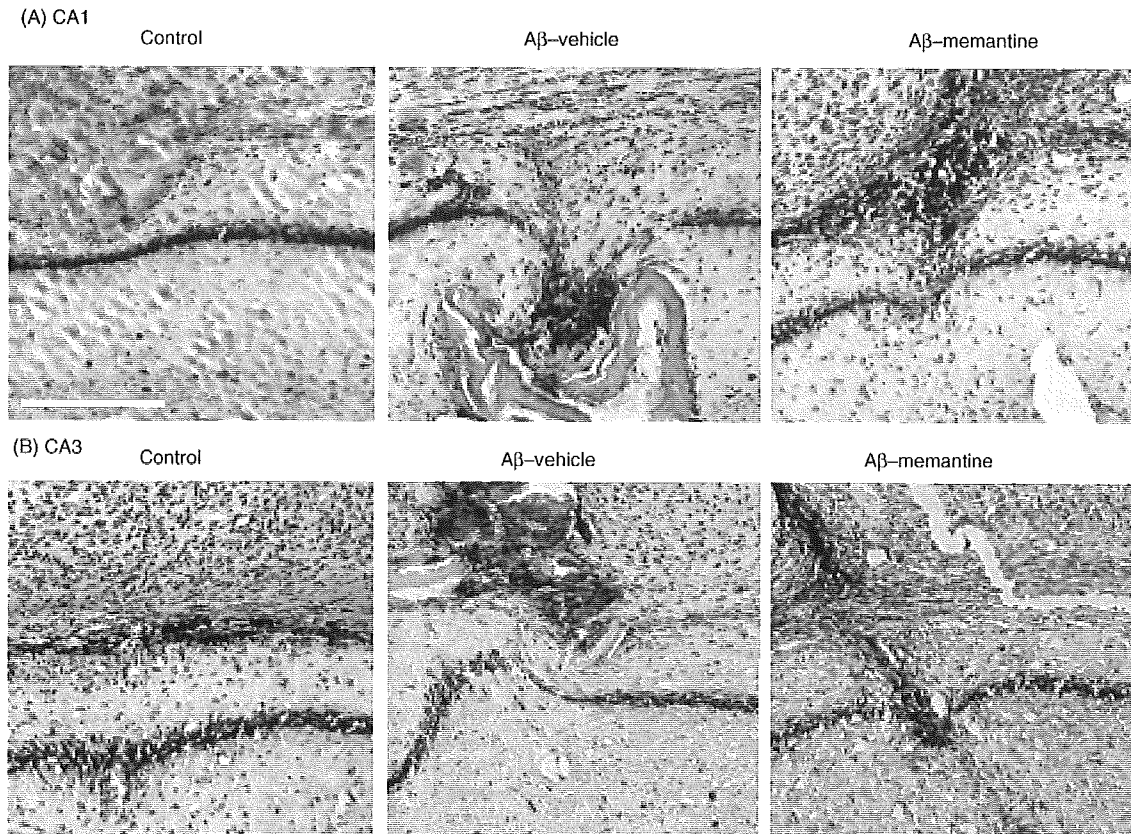


Fig. 8. Micrographs of Nissl-stained sections on day 82 following bilateral microinjections of aggregated A β 1-40 into the CA1 and CA3 subfields of the hippocampus. (A) CA1 and (B) CA3. Scale bar, 200 μ m.

of A β -injected rats 80 days post-injection, and substantial astrogliosis was evident in rats with aggregated A β . In this regard, memantine has been reported to suppress the gliosis in the brain of rats treated with ibotenic acid [11] or A β 1-40 [19].

Under the experimental conditions in the present study, acute oral administration of donepezil almost completely ameliorated the short-term memory deficit on the test day in A β -injected rats, but no ameliorating effects were evident in the next DMTP test session when the animals were administered distilled water but not donepezil, indicating that donepezil produced a symptomatic alleviation of A β -induced short-term memory impairment. Furthermore, it is suggested that cholinergic activation by cholinesterase inhibitors can restore the A β -induced memory dysfunction. This assumption may be consistent with the fact that acute or chronic A β infusion into the brain results in an impairment of the cholinergic neuronal system [8,12,36]. However, it has been reported that donepezil shows high affinity for sigma receptors [13]. Furthermore, an interaction of donepezil with NMDA receptors could be supposed due to the similarities of the chemical structure with ifenprodil. Thus, further investigation with other selective cholinesterase inhibitors

such as rivastigmine [7] is necessary to conclude the effectiveness of cholinesterase inhibitors on A β -induced memory dysfunction.

A recent study has indicated that donepezil protects cortical neurons against glutamate neurotoxicity via α 4 β 2- and α 7-nicotinic acetylcholine receptors [34]. Accordingly, we cannot exclude the possibility that donepezil may have neuroprotective effects on A β -induced memory impairment under different experimental conditions. Continuous infusion of donepezil could lead to neuroprotective effects through the activation of nicotinic and/or muscarinic acetylcholine receptors.

The combination of memantine and donepezil failed to produce any additive or synergic effects on A β -induced short-term memory impairment although a clinical study has demonstrated that memantine treatment resulted in significantly better outcomes than placebo in patients with moderate to severe AD already receiving donepezil [35]. This is probably due to the ceiling effect because each drug showed almost complete amelioration of memory deficits in A β -treated animals. Thus, further studies are required to investigate the effect of co-treatment of memantine with donepezil on A β -induced memory impairment.

Acknowledgements

We would like to thank Drs. Wojciech Danysz and Yoshiharu Yamanishi for critical reading of the manuscript. We also thank Merz Pharmaceuticals and Eisai Co. Ltd. for providing us with memantine and donepezil, respectively. This study was supported in part by Grant-in-aid for Scientific Research 14370031 from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan and by a Grant from the Smoking Research Foundation.

References

- [1] Ahmed MM, Hoshino H, Chikuma T, Yamada M, Kato T. Effect of memantine on the levels of glial cells, neuropeptides, and peptide-degrading enzymes in rat brain regions of ibotenic acid-treated Alzheimer's disease model. *Neuroscience* 2004;126:639–49.
- [2] Cleary J, Hittner JM, Semotuk M, Mantyl P, O'Hare E. Beta-amyloid(1-40) effects on behavior and memory. *Brain Res* 1995;682:69–74.
- [3] Coyle JT, Price DL, DeLong MR. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervations. *Science* 1983;219:1184–90.
- [4] Danysz W, Parsons CG. The NMDA receptor antagonist memantine as a symptomatological and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease: preclinical evidence. *Int J Geriatr Psychiatry* 2003;18:S23–32.
- [5] Dunnett SB. Comparative effects of cholinergic drugs and lesions of nucleus basalis or fimbria-fornix on delayed matching in rats. *Psychopharmacology* 1985;87:357–63.
- [6] Dunnett SB, Evenden JL, Iversen SD. Delayed-dependent short-term memory deficits in aged rats. *Psychopharmacology* 1988;96:174–80.
- [7] Enz A, Gentsch C. Co-administration of memantine has no effect on the in vitro or ex vivo determined acetylcholinesterase inhibition of rivastigmine in the rat brain. *Neuropharmacology* 2004;47:408–13.
- [8] Giovannelli L, Casamenti F, Scali C, Bartolini L, Pepeu G. Differential effects of amyloid peptides β -(1-40) and β -(25-35) injections into the rat nucleus basalis. *Neuroscience* 1995;66:781–92.
- [9] Greenamyre JT, Maragos EF, Albin RL, Penney JB, Young AB. Glutamate transmission and toxicity in Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1988;12:421–30.
- [10] Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992;256:184–5.
- [11] Hart RP, Kwentus JA, Harkins SW, Taylor JR. Rate of forgetting in mild Alzheimer's-type dementia. *Brain Cogn* 1988;7:31–8.
- [12] Itoh A, Akaike T, Sokabe M, Nitta A, Iida R, Olariu A, et al. Impairments of nicotinic signal transduction and long-term potentiation in hippocampal slices of β -amyloid-infused rats. *Eur J Pharmacol* 1999;382:167–75.
- [13] Kato K, Hayako H, Ishihara Y, Marui S, Iwane M, Miyamoto K. TAK-147, an acetylcholinesterase inhibitor, increases choline acetyltransferase activity in cultured rat septal cholinergic neurons. *Neurosci Lett* 1999;260:5–8.
- [14] Kim HC, Yamada K, Olariu A, Tan MH, Jhoo WK, Im DH, et al. Immunocytochemical evidence that β -amyloid (1-42) impairs endogenous antioxidant systems in vivo. *Neuroscience* 2003;119:399–419.
- [15] Kosasa T, Kuriya Y, Matsui K, Yamanishi Y. Inhibitory effect of orally administered donepezil hydrochloride (E2020), a novel treatment for Alzheimer's disease, on cholinesterase activity in rats. *Eur J Pharmacol* 2000;389:173–9.
- [16] Lancot KL, Herrmann N, Yau KK, Khan LR, Liu BA, LouLou MM, et al. Efficacy and safety of cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease: a meta-analysis. *CMAJ* 2003;169:557–64.
- [17] Linn RT, Wolf PA, Bachman DL, Knoefel JE, Cobb JL, Belanger AJ, et al. The 'preclinical phase' of probable Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1995;52:485–90.
- [18] Mattson MP, Barger SW, Cheng B, Lieberburg I, Smith-Swintosky V, Rydel RE. β -Amyloid precursor protein metabolism and loss of neuronal Ca^{2+} homeostasis in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1993;16:409–14.
- [19] Miguel-Hidalgo JJ, Alvarez XA, Cacabelos R, Quack G. Neuroprotection by memantine against neurodegeneration induced by β -amyloid(1-40). *Brain Res* 2002;958:210–21.
- [20] Miguel-Hidalgo JJ, Cacabelos R. β -Amyloid(1-40)-induced neurodegeneration in the rat hippocampal neurons of the CA1 subfield. *Acta Neuropathol* 1998;95:455–65.
- [21] Misztal M, Frankiewicz T, Parsons CG, Danysz W. Learning deficits induced by chronic intraventricular infusion of quinolinic acid—protection by MK-801 and memantine. *Eur J Pharmacol* 1996;296:1–8.
- [22] Miyamoto M, Takahashi H, Kato K, Hirai K, Ishihara Y, Goto G. Effects of 3-[1-(phenylmethyl)-4-piperidiny]-1-(2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-8-yl)-1-propanone fumarate (TAK-147), a novel acetylcholinesterase inhibitor, on impaired learning and memory in animal models. *J Pharmacol Exp Ther* 1996;277:1292–304.
- [23] Nitta A, Itoh A, Hasegawa T, Nabeshima T. β -Amyloid protein-induced Alzheimer's disease animal model. *Neurosci Lett* 1994;160:63–6.
- [24] O'Hare E, Weldon DT, Mantyh PW, Ghilardi JR, Finke MP, Kuskowski MA, et al. Delayed behavioral effects following intrahippocampal injection of aggregated $A\beta_{(1-42)}$. *Brain Res* 1999;815:1–10.
- [25] Parsons CG, Danysz W, Quack G. Memantine is a clinically well tolerated N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist—a review of preclinical data. *Neuropharmacology* 1999;38:735–67.
- [26] Paxinos Q, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed. New York: Academic Press; 1986.
- [27] Penney JB, Maragos EF, Greenamyre JT, Debowey DL, Hollingsworth Z, Young AB. Excitatory amino acid binding sites in the hippocampal region of Alzheimer's disease and other dementias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990;53:14–20.
- [28] Perry EK, Tomlinson BE, Blessed Q, Bergman K, Gibson PH, Perry RH. Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *Br Med J* 1978;2:1457–9.
- [29] Pike CJ, Burdick D, Walencewicz AJ, Glabe CG, Gottman CW. Neurodegeneration induced by β -amyloid peptides in vitro: the role of peptide assembly state. *J Neurosci* 1993;13:1676–87.
- [30] Reisberg B, Doody R, Stoffler A, Schmitt F, Ferris S, Mobius HJ, for the Memantine Study Group. Memantine in moderate to severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2003;348:1333–41.
- [31] Richardson RL, Kim EM, Shephard RA, Gardiner T, Cleary J, O'Hare E. Behavioural and histopathological analyses of ibuprofen treatment on the effect of aggregated $A\beta_{(1-42)}$ injections in the rat. *Brain Res* 2002;954:1–10.
- [32] Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, Mohs R, Friendhoff LT. A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. *Neurology* 1998;50:136–45.
- [33] Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 2001;81:741–66.
- [34] Takada Y, Yonezawa A, Kume T, Katsuki H, Kaneko S, Sugimoto H, et al. Nicotinic acetylcholine receptor-mediated neuroprotection by donepezil against glutamate neurotoxicity in rat cortical neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;306:772–7.
- [35] Tariot PN, Farlow MR, Grossberg GT, Graham SM, McDonald S, Gergel I, for the Memantine Study Group. Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer's disease already receiving donepezil. *JAMA* 2004;291:317–24.
- [36] Tran MH, Yamada K, Olariu A, Mizuno M, Ren XH, Nabeshima T. Amyloid β -peptide induces nitric oxide production in rat hippocampus: association with cholinergic dysfunction and amelioration by

- inducible nitric oxide synthase inhibitors. *FASEB J* 2001;15:1407–9, doi:10.1096/fj.00-0719fje.
- [37] Tran MH, Yamada K, Nakajima A, Mizuno M, He J, Kamei H, et al. Tyrosine nitration of a synaptic protein synaptophysin contributes to amyloid β -peptide-induced cholinergic dysfunction. *Mol Psychiatry* 2003;8:407–12.
- [38] Willard LB, Hauss-Wegrzyniak B, Danysz W, Wenk GL. The cytotoxicity of chronic neuroinflammation upon basal forebrain cholinergic neurons of rats can be attenuated by glutamatergic antagonism or cyclooxygenase-2 inhibition. *Exp Brain Res* 2000;134:58–65.
- [39] Yamada K, Nabeshima T. Animal models of Alzheimer's disease and evaluation of anti-dementia drugs. *Pharmacol Ther* 2000;88:93–113.
- [40] Yamada K, Tanaka T, Senzaki K, Kameyama T, Nabeshima T. Propentofylline improves learning and memory deficits induced in rats by β -amyloid protein-(1-40). *Eur J Pharmacol* 1998;349:15–22.
- [41] Yamada K, Tanaka T, Han D, Senzaki K, Kameyama T, Nabeshima T. Protective effects of idebenone and α -tocopherol on β -amyloid-(1-42) induced learning and memory deficits in rats: implication of oxidative stress in β amyloid-induced neurotoxicity in vivo. *Eur J Neurosci* 1999;11:83–90.
- [42] Yamada K, Tanaka T, Zou LB, Senzaki K, Yano K, Osada T, et al. Long-term deprivation of oestrogens by ovariectomy potentiates β -amyloid-induced working memory deficits in rats. *Br J Pharmacol* 1999;128:419–27.
- [43] Yankner BA, Duffy LK, Kirschner DA. Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloid β -protein: reversal by tachykinin neuropeptides. *Science* 1990;250:279–82.
- [44] Zajackowski W, Quack Q, Danysz W. Infusion of (+)-MK-801 and memantine—contrasting effects on radial maze learning with entorhinal cortex lesion. *Eur J Pharmacol* 1996;296:239–46.

生化学からみたニコチン性 アセチルコリン受容体とその機能

Neurochemical function of nicotinic receptors in central nerves system

名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学

名城大学薬学部医薬連携実習部門病態解析教授・
名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学客員研究員

Hiroyuki Mizoguchi 溝口博之

Yukihiko Noda 野田幸裕

名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学教授

Toshitaka Nabeshima 鍋島俊隆

Summary

アセチルコリン(ACh)は脳内の神経伝達物質の1つであり、アルツハイマー病(AD)をはじめとする認知症の病態生理に重要である。AChの受容体は、ムスカリン性ACh受容体とニコチン性ACh受容体(ニコチン受容体)の2つに分けられる。ADではいずれの受容体も減少していることが知られているが、特にニコチン受容体の減少がADの病態に深く関わっていることが示唆されている。ニコチン受容体の賦活化は、種々の神経伝達系を増強し、記憶力の改善や注意力の向上を引き起こす。それゆえ、ADの薬物療法の1つに、ニコチン受容体が創薬ターゲットに挙げられ、最近では、アロステリック部位を介したニコチン受容体の機能が注目されている。一方、分子生物学の進歩に伴い、ニコチン受容体に特異的な遺伝子改変マウスが作製された。これらの遺伝子改変動物を用いた研究によって、ニコチン受容体の発現部位やその機能が解明されつつある。

Key words

- ニコチン性アセチルコリン受容体
- 神経伝達物質
- アロステリック部位

I はじめに

近年のニコチン性アセチルコリン受容体(ニコチン受容体)に関する研究は、サブタイプ分類、遺伝子発現機構の解明などをはじめとして急速な進歩を遂げており、ニコチン受容体の薬理学的役割に関して単なる神経伝達物質受容体としての概念を超える多様な機能が提唱されるようになってきた。ニコチン受容体は、運動神経終板、自律神経節ばかりでなく中枢神経系や免疫系においても存在しており、ニコチン受容体の多様な生理機能の制御は、発現部位や種々のニコチン受容体のサブタイプの違いによって異なっていることが指摘されている。臨床においては、アルツハイマー病(Alzheimer's disease; AD)やパーキンソン病(Parkinson's disease; PD)などの神経変性疾患や免疫疾患など種々の疾患においてニコチン受容体が新たな創薬ターゲットとして注目されるようになってきている。ADの中核症状である記憶力障害や認知機能障害が認められる患者の脳において、アセチルコリン(ACh)が結合する受容体であるムスカリン受容体とニコチン受容体のうち、ニコチン受容体数が著しく減少している。ADの早い時期にニコチン受容体の減少が始まること、ニコチン受容体数の減少が認知症症状の重症度と相関すること、老人斑や神経原線維変化

の周囲でニコチン受容体数の減少が著しいことが報告されており¹¹⁻¹³、他の神経伝達系よりもニコチン受容体とADとの関連が強く示唆されている。一方、多くの疫学的研究からADやPDなどの神経変性疾患の発症率はタバコの喫煙率と負の相関があり、喫煙者と比較して非喫煙者ではADやPDが約3倍も高いことが報告されている⁴。ニコチンには、意識レベルや注意力を改善する効果がヒトでも認められ、ニコチンパッチを用いた検討においても認知機能の改善が報告されている^{11,12}。これらの研究は、ニコチン受容体が認知機能に直接関与することを示唆している。最近では、ニコチン受容体上にアロステリック部位が存在することが多数報告され^{23,24}、アロステリック作用を有する新しいリガンドの発見やADの治療薬の開発に向けて注目を浴びている。

本稿では、ニコチン受容体のサブタイプの特徴について生化学、生理学、薬理学的観点から、ADにおける中枢神経系のニコチン受容体の役割について概説する。

II ニコチン受容体の特徴

ニコチン受容体は5つのサブユニットからなるイオンチャンネル型受容体であり、これまでに、少なくとも9つの α サブユニット($\alpha 2 \sim \alpha 10$)と3つの β サブユニット($\beta 2 \sim \beta 4$)とが同定されている⁹。ほとんどの神経のニコチン受容体は α と β の両方のサブユニットにより構成され、その化学量論において、これらのサブユニットの典型的な比は2:3と考えられている。しかし、 $\alpha 7$ 、 $\alpha 8$ 、および $\alpha 9$ サブユニットのみから構成されるサブタイプもある。最近、それぞれのサブユニットやサブタイプの脳内分布が明らかとなり、脳において $\alpha 4\beta 2$ や $\alpha 7$ 受容体が比較的高密度・広範囲に発現していることが確認されている。このようなニコチン受容体は、脳内において神経のシナプス前終末やシナプス後膜に存在し、ドパミン、グルタミン酸、 γ -アミノ酪酸(GABA)などの神経伝達物質の遊離や細胞内シグナル伝達機構の活性化などに関与している。シナプス後膜である細胞体のニコチン受容体を活性化すると、細胞内のカルシウムレベルが上昇し、カルシウムを介するシグナルが核内へ伝達される(図

1)。ニコチン受容体の活性化による細胞内カルシウムレベルの上昇の機構として、電位依存性カルシウムチャネルの活性化による機構、ニコチン受容体を介して直接的に流入する機構、細胞へ流入したカルシウムが引き金になり細胞内カルシウム小胞からのカルシウム放出機構が考えられている。このような細胞内カルシウムレベルの上昇は、PI3K(phosphatidylinositol 3-kinase)/Akt経路の活性化⁷、カルシニューリンの活性化¹⁰、MAPK/ERK(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase)シグナルの活性化¹⁰といったシグナル伝達を亢進させる。特に細胞の生存に関わるPI3K/Akt経路は、*in vitro*実験においてニコチン受容体(特に $\alpha 7$ 受容体)を介した神経保護作用のメカニズムの一端を担っていることが示唆されている⁷。 $\alpha 4$ や $\alpha 7$ 受容体を持続的に活性化すると、NMDA(N-methyl-D-aspartate)受容体刺激によるカルシウム流入により誘発される一酸化窒素ラジカルの産生に対して抑制作用を示すことも報告されている¹⁴。しかし、このようなニコチン受容体を介した細胞内シグナル伝達機構の研究は、ニコチンやニコチン受容体の作動薬の急性効果について主になされており、脳部位別(細胞別)、種差、研究グループによって結果が異なっている。臨床試験や動物個体を用いた*in vivo*実験において、ニコチンやアセチルコリンエステラーゼ(AChE)阻害薬を慢性的に処置すると、ニコチン受容体の脱感作が生じることが報告されている⁹が、ニコチン受容体の細胞内シグナル伝達へのこれら薬物の慢性処置による影響については詳細に検討されていない。

III ニコチン受容体を介した神経伝達物質の調節

AChは、代表的な興奮性神経伝達物質の1つである。神経シナプス終末部において、ニコチン受容体を介して細胞内カルシウムレベルが上昇すると、シナプス小胞に貯蔵された神経伝達物質が放出される(図2)。ニコチンはドパミン遊離調節に関与していることから、PDにおいて中脳辺縁系ドパミン作動性神経系へのニコチンの影響について多数の研究が行われている。一方、ニコチン

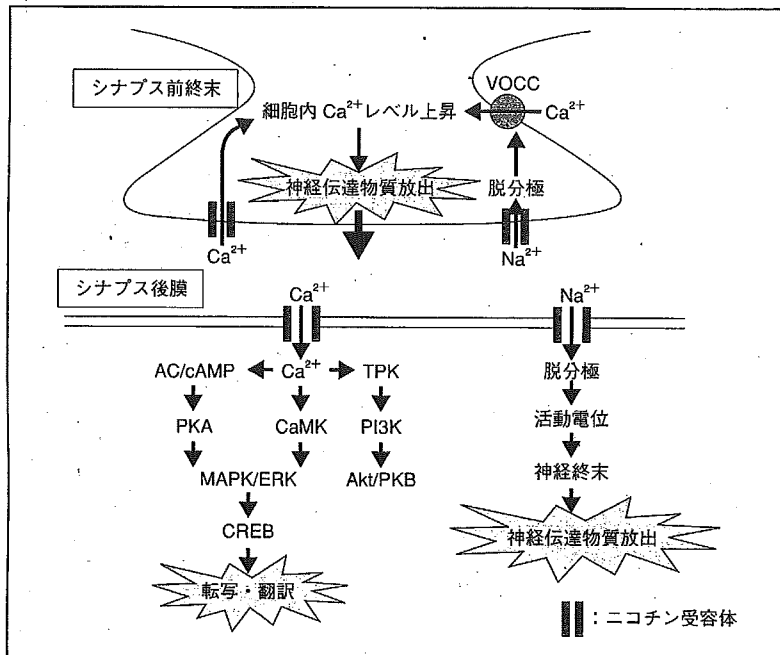


図1 ニコチン受容体の情報伝達機構
 AC: adenylate cyclase, Akt/PKB: protein kinase B, CaMK: Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase, CREB: cAMP-responsive element-binding protein, MAPK/ERK: mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase, PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase, PKA: protein kinase A, TPK: tyrosine protein kinase, VOCC: voltage-operated Ca²⁺ channel
 (文献23)より一部改変, 引用)

自身は、認知機能改善効果のみならず依存性物質として作用することが報告されている。実験動物においてニコチンは依存に関連のある側坐核内のドーパミン遊離を投与後2時間にわたり増加させる¹²⁾。われわれの研究室においては、AChE阻害薬を投与すると、認知機能を司っている海馬内のドーパミン遊離が増加し、この増加が学習記憶改善効果の一端を担っている可能性を見出している。一方、電気生理学的研究においては、ニコチンを中脳スライスに添加すると、一時的にドーパミン作動性神経の発火頻度が増加するが、ニコチン刺激の数分後にはニコチンに対する反応性が減弱する¹³⁾。このようなドーパミン作動性神経の反応性の減弱には、 $\alpha 4\beta 2$ ニコチン受容体の脱感作が関与していることが報告されている¹⁴⁾。ニコチン受容体を介した一時的な神経刺激作用はドーパミン作動性神経だけでなく、GABA作動性神経においても観察される¹⁵⁾。また、腹側被蓋野(ventral tegmental area; VTA)に投射しているグルタミン酸作動性神経のシナプス前終末に存在する $\alpha 7$ 受容体を介して、ニコチンはグ

ルタミン酸の遊離を増加させる¹⁶⁾。このグルタミン酸作動性神経の活性化は、ドーパミン作動性神経やGABA作動性神経とは異なり脱感作を受けないことから、ドーパミン作動性神経の長期的な活性化は、ドーパミン作動性神経に対する直接的な経路とグルタミン酸作動性神経およびGABA作動性神経を介する経路の総和によって生じている可能性が考えられている。以上のように、ニコチン受容体は、発現部位やサブタイプの違いを介してさまざまな神経伝達物質の遊離を調節し、その結果、記憶力の向上、注意力の改善、意識レベルの向上といった作用を示すと考えられる¹⁷⁾(図2)。

Ⅳ ニコチン受容体と allosteric potentiating ligand (APL)

上述したように、ニコチン受容体はカチオンチャネルとして細胞内へのナトリウムやカルシウムイオンの流入を調節することで、神経伝達物質の遊離を調節し、脳機

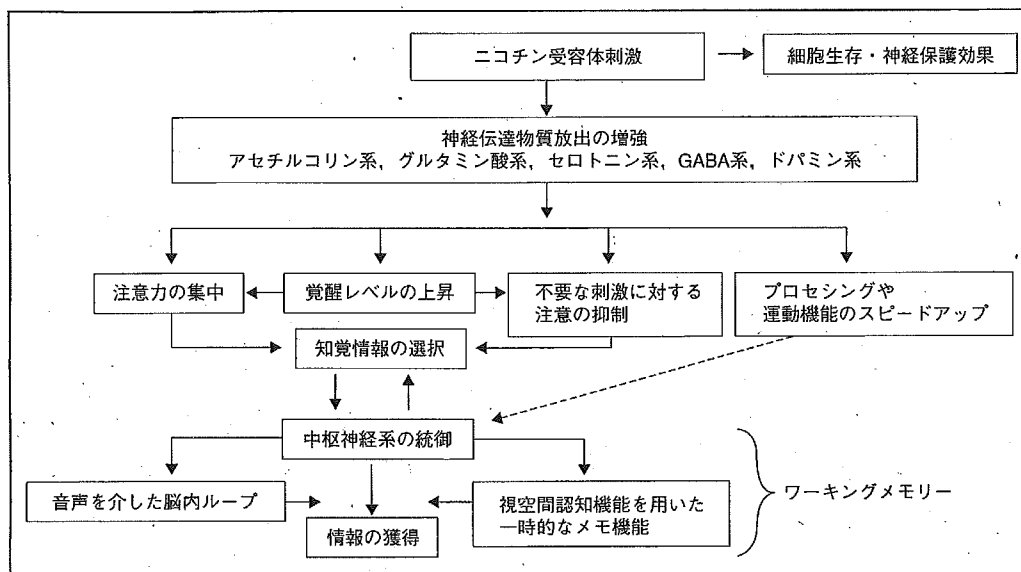


図2 中枢神経系ニコチン受容体の機能

(文献1)および6)より一部改変、引用)

能の維持に重要な役割を担っている。このようなニコチン受容体を介する作用は、AChやニコチンが受容体のニコチン結合部位に作用することにより引き起こされるが、最近、その結合部位以外に、アロステリック結合部位が存在することが多数報告されている²³⁾²⁷⁾。ニコチン受容体上のアロステリック部位は、 α サブユニットの細胞外のN末端ドメイン上に存在すると考えられている²¹⁾。APLの可能性のある代表的なものとして、フィゾスチグミン、リドカイン、ガラントミン、さらに内因性因子としてセロトニンなどが報告されている²¹⁾。PC12細胞において、AChによる電流応答が低濃度のセロトニンを併用すると約60%以上増強し、このセロトニンの増強作用は、 α サブユニットに特異的な中和抗体であるFK1抗体を前処置することによって抑制される²⁾。このことは、セロトニンはニコチン受容体のアロステリック部位に結合することによってACh誘発電流応答を増強する可能性を示唆している。しかし、高用量のセロトニンは、ACh誘発電流応答に対して逆に抑制効果を示すことから、APLとしてのセロトニンの作用について

は詳細な検討が必要である。AChE阻害薬であるガラントミンはAPL作用を有している新しいAD治療薬として注目されている。現在、ADの治療にAChE阻害薬が用いられているが、AChE阻害薬は一般的に長期にわたる治療効果はないといわれている³⁾。動物実験において、ニコチンやニコチン作動薬はAChと同じ結合部位に作用するため、これらを持続的に治療に用いればニコチン受容体の脱感作が生じ、最終的には薬物耐性が発現して薬効が現れにくくなる³⁾。

APL作動薬であるガラントミンは、シナプス前神経終末のニコチン受容体のアロステリック部位に結合し、ACh、グルタミン酸、GABAなどの多様な神経伝達物質の放出を促進する²¹⁾¹⁸⁾。一方、ガラントミンがシナプス後膜のニコチン受容体のアロステリック部位に作用することで $\alpha 4\beta 2$ や $\alpha 7$ 受容体を活性化させる。アミロイド β 蛋白によるグルタミン酸誘発神経細胞死の増強作用に対して、ガラントミンはそれ単独で保護効果を示し、その作用は、ニコチン受容体の下流シグナルであるPI3K/Aktシグナルの増強を介して発現している可能性が報告

特集・アルツハイマー病におけるニコチン性アセチルコリン受容体の意義

されている¹⁰⁾。このようにアロステリック部位を刺激することで、ニコチン受容体に効率よくAChが結合し、ナトリウムやカルシウムイオンの流入が円滑となり神経細胞間の電気的シグナルが促進される。興味深いことに、AD患者に対してガラントミンを36ヵ月間長期投与した臨床試験において、18ヵ月もの間、認知機能の低下が改善されることが報告されている¹⁹⁾。長期にわたり効果が持続したことは、ニコチン受容体の脱感作が認められなかったことを意味しており、allosteric modulatorとしての作用であるニコチン受容体の賦活化や神経伝達物質の遊離の調節およびAChE阻害薬としての作用が総合的に影響したものと考えられる。以上のように、アロステリック部位を介してニコチン受容体の機能を調節することで、ADをはじめとした種々の疾患の治療ができる可能性を秘めており、新たなAPL作動薬の開発やセロトニンに追従する内因性因子の発見が期待される。

遺伝子改変マウスにより明らかになったニコチン受容体サブタイプの生体内での異なった役割

近年、分子生物学的技術の著しい発展により、ニコチン

ン受容体サブユニットの変異マウスが開発され、多くの研究者によって種々のニコチン受容体サブタイプの生体内における機能について研究されている²⁰⁾(表1)。 $\alpha 7$ サブユニット欠損マウスの脳において、 α -bungarotoxin($\alpha 7$ サブユニット構成ニコチン受容体阻害剤)結合活性が著しく低下しているが、ニコチン結合活性はあまり変化していない。一方、ニコチン結合活性は $\alpha 4$ サブユニットの欠損では著明に低下し、 $\beta 2$ サブユニットの欠損ではほとんど消失する。このことから、脳のニコチン誘発反応のほとんどは $\alpha 4\beta 2$ 受容体由来と考えられる。 $\beta 2$ あるいは $\beta 4$ サブユニットの欠損では正常に出生・発育するが、これら遺伝子を両方欠損させると出生後しばらくして死亡する。 $\alpha 3$ の単独欠損でも同様に生後死に至る。これらのことから、 $\beta 2$ と $\beta 4$ サブユニットは代償機能を持ち、自律神経系において $\alpha 3$ サブユニットと共役していることが示唆されている⁹⁾。一方、 $\alpha 4$ あるいは $\alpha 7$ サブユニットを欠損しても普通に出生・発育する⁹⁾。

脳において $\alpha 4\beta 2$ や $\alpha 7$ 受容体が比較的高密度・広範囲に発現していることから、これらサブユニットを欠損させたマウスを用いた研究を取り上げ、その機能について以下に紹介する。

表1 ニコチン受容体サブユニット遺伝子改変マウスに認められるニコチンの効果

サブユニットの欠損	基本的な機能変化	ニコチンによる行動学的変化	生存
$\alpha 3$	自律神経系機能不全、巨大膀胱症、瞳孔散大、 上頸神経節のアセチルコリン反応の変化	ND	生後1~7日
$\alpha 4$	高親和性ニコチン結合能の低下	ニコチンの抗侵害効果の減弱	正常
$\alpha 7$	海馬神経のニコチン電流応答の脱感作の欠損	行動に変化なし	正常
$\alpha 7$ Leu247Thr	海馬神経のニコチン電流応答の脱感作の遅延	ND	生後24時間
$\alpha 9$	蝸牛の内毛細胞の分布の異常	蝸牛反応の抑制	正常
$\beta 2$	高親和性ニコチン結合能の低下、ニコチン誘起 ドパミン遊離の低下、老化現象	Passive avoidance潜在時間の増加 ニコチン自己投与の低下 ニコチンの抗侵害効果の減弱	正常
$\beta 3$	線条体シナプトソーム中の α -conotoxin MII 感受性受容体の低下	自発運動量の増加	正常
$\beta 4$	上頸神経節におけるニコチン電流応答の減弱	ND	正常
$\beta 2/\beta 4$	自律神経系機能不全	ND	生後1~3週

ND: not determined

(文献9)より一部改変、引用)

1. $\alpha 4$ および $\beta 2$ サブユニット欠損マウス

ニコチンは新規環境下における探索運動を抑制するが、習慣性環境下ではドーパミン作動性神経系の活性化により運動量を増加させる。 $\beta 2$ サブユニット欠損マウスは、野生型マウスと比較して習慣性環境下における自発運動量が減弱しており、 $\alpha 4$ サブユニット欠損マウスはニコチンの自発運動抑制効果が減弱していることが報告されている²⁰⁾²¹⁾。これらの結果は、 $\alpha 4$ および $\beta 2$ サブユニットを含むニコチン受容体は自発運動において重要な役割を果たしていることを示唆している。この要因の1つとして、野生型マウスをニコチン刺激するとシナプトソームからドーパミンやGABAが遊離されるのに対し、 $\beta 2$ サブユニット欠損マウスではそのようなニコチンの作用は認められないことから、 $\beta 2$ サブユニットがニコチン刺激による神経伝達物質の遊離に関与していることが示唆される。興味深いことに、 $\beta 2$ サブユニット欠損マウスは、老齢に伴い海馬CA3領域の神経細胞死や皮質の萎縮といった神経変性が野生型マウスと比較して増加していることが確認されている²⁰⁾。それゆえ、水迷路試験や恐怖条件付け試験などの学習記憶試験において、 $\beta 2$ サブユニット欠損マウスは野生型マウスと比較して明らかな学習記憶障害を示す。 $\alpha 4$ サブユニット欠損マウスは、メタンフェタミン誘発神経変性に対するニコチンの保護効果が消失していることが報告されている²⁰⁾。これらの結果は、 $\alpha 4$ および $\beta 2$ サブユニット欠損マウスが、ADやPDを代表としたドーパミン作動性神経系の神経変性疾患モデルとして有用である可能性を示している。

2. $\alpha 7$ サブユニット欠損マウス

中枢神経系において胎児13日目より $\alpha 7$ サブユニットmRNAの発現が確認されていることから、 $\alpha 7$ 受容体は脳の発達段階に関与している可能性が示唆されている。 α -bungarotoxin感受性チャネルによって神経の成長が調節されていること、 $\alpha 7$ 受容体を介したカルシウムイオン流入は細胞機能の調節に影響を及ぼすことが報告されている⁹⁾。しかし、 $\alpha 7$ サブユニット欠損マウスは野生型マウスと比較して、脳の細胞数や層構造に大きな違いが認められず、皮質一次体性感覚野のバレル構造も存在

する。海馬における神経細胞の局在や海馬内神経ネットワークに異常がないことも報告されている⁹⁾。それゆえ、胚形成時期における $\alpha 7$ サブユニットは細胞移動や脳の発育にとってさほど影響を示さない可能性が考えられている。 $\alpha 7$ サブユニットを部分的に改変することで、作用薬の親和性の増強や脱感作の減少が認められる遺伝子改変マウス($\alpha 7$ Leu247Thr)では、皮質一次体性感覚野の広範囲にわたってアポトーシスが誘導され、生後24時間以内に死に至ると報告されている⁹⁾。 $\alpha 7$ サブユニットに脱感作が急速に起こるのは、ACh受容体刺激による莫大なカルシウムイオン流入を調節する役割を担っており、脱感作はその後生じる莫大なカルシウムイオン流入に対する防衛的連絡応答として働き、莫大なカルシウムイオン流入による神経細胞死に対して保護的に働いていると考えられている⁹⁾²²⁾。

VI おわりに

近年、分子生物学的手法の発展により、脳内におけるニコチン受容体に関する研究が進展しており、受容体の個々のサブタイプの局在や機能の違いなどが解明されつつある。ニコチン受容体は学習・記憶といった脳機能に最も深く関与する受容体といっても過言ではなく、ADをはじめ、統合失調症、PD、注意欠損多動障害に認められる学習障害に共通したターゲット受容体である。今後、ニコチン受容体のサブタイプの研究やアロステリック部位を介したニコチン受容体の機能解析が進み、こうした研究が種々の疾患治療に大いに役立つことを期待する。

文献

- 1) Newhouse PA, Potter A, Singh A: Effects of nicotinic stimulation on cognitive performance. *Curr Opin Pharmacol* 4: 36-46, 2004
- 2) Pereira EF, Hilmas C, Santos MD, et al: Unconventional ligands and modulators of nicotinic receptors. *J Neurobiol* 53: 479-500, 2002
- 3) 下濱 俊: ニコチン性アセチルコリン受容体を介したアルツハイマー病の新しい治療; Nicotinic APL (allosteric potentiating ligand) による神経保護作用とガラントミ

- ン. 老年精医誌 15 : 1077-1090, 2004
- 4) Fratiglioni L, Wang HX : Smoking and Parkinson's and Alzheimer's disease ; Review of the epidemiological studies. *Behav Brain Res* 113 : 117-120, 2000
 - 5) Wilson AL, Langley LK, Monley J, et al : Nicotine patches in Alzheimer's disease ; Pilot study on learning, memory, and safety. *Pharmacol Biochem Behav* 51 : 509-514, 1995
 - 6) 木原武士, 下濱 俊 : アルツハイマー病とニコチン性アセチルコリン受容体. *D&N Trends* 6 : 4-5, 2005
 - 7) Kihara T, Shimohama S, Sawada H, et al : Alpha 7 nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block a beta-amyloid-induced neurotoxicity. *J Biol Chem* 276 : 13541-13546, 2001
 - 8) Maelicke A : Allosteric modulation of nicotinic receptors as a treatment strategy for Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 11 : 11-18, 2000
 - 9) Cordero-Erausquin M, Marubio LM, Klink R, et al : Nicotinic receptor function ; New perspectives from knockout mice. *Trends Pharmacol Sci* 21 : 211-217, 2000
 - 10) 中山 均 : 神経細胞型ニコチン受容体と関連する細胞内シグナル伝達機構. *医学のあゆみ* 210 : 665-668, 2004
 - 11) 赤池照紀, 久米利明 : 神経変性疾患とニコチン受容体. *医学のあゆみ* 210 : 687-690, 2004
 - 12) Di Chiara G : Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol* 393 : 295-314, 2000
 - 13) Pidoplichko VI, DeBiasi M, Williams JT, et al : Nicotine activates and desensitizes midbrain dopamine neurons. *Nature* 390 : 401-404, 1997
 - 14) Picciotto MR, Zoli M, Rimondini R, et al : Acetylcholine receptors containing the beta 2 subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine. *Nature* 391 : 173-177, 1998
 - 15) Mansvelder HD, Keath JR, McGehee DS : Synaptic mechanisms underline nicotine-induced excitability of brain reward areas. *Neuron* 33 : 905-919, 2002
 - 16) Corrigan WA, Coen KM, Adamson KL : Self-administered nicotine activates the mesolimbic dopamine system through the ventral tegmental area. *Brain Res* 653 : 278-284, 1994
 - 17) Schratzenholz A, Pereira EF, Roth U, et al : Agonist responses of neuronal nicotinic acetylcholine receptors are potentiated by a novel class of allosterically acting ligands. *Mol Pharmacol* 49 : 1-6, 1996
 - 18) Sharp BM, Yatsula M, Fu Y : Effects of galantamine, a nicotinic allosteric potentiating ligand, on nicotine-induced catecholamine release in hippocampus and nucleus accumbens of rats. *J Pharmacol Exp Ther* 309 : 1116-1123, 2004
 - 19) Raslind MA, Peskind ER, Truyen L, et al : The cognitive benefits of galantamine are sustained for at least 36 months ; Long-term extension trial. *Arch Neurol* 61 : 252-256, 2004
 - 20) Picciotto MR, Caldarone BJ, Brunzell DH, et al : Neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit knockout mice ; Physiological and behavioral phenotypes and possible clinical implications. *Pharmacol Ther* 92 : 89-108, 2001
 - 21) Ross SA, Wong JY, Clifford JJ, et al : Phenotypic characterization of an $\alpha 4$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit knock-out mouse. *J Neurosci* 20 : 6431-6441, 2000
 - 22) Ospina JA, Broide RS, Acevedo D, et al : Calcium regulation of agonist binding to $\alpha 7$ -type nicotinic acetylcholine receptors in adult and fetal rat hippocampus. *J Neurochem* 70 : 1061-1068, 1998
 - 23) 北村佳介, 高田和幸, 谷口隆之, 他 : ニコチン性受容体と神経伝達. *D&N Trends* 4 : 4-5, 2005

アルツハイマー病の病態とその治療戦略

鍋・島 俊 隆*

I. アルツハイマー病の現状と病態

図1は65歳以上の認知症（痴呆）老人の将来推計です。現在、日本の社会は166万人の認知症患者を抱え、女性と男性の比は約2対1になっています。これが2036年になると355万人になります。この対策が緊急の課題になっております。

Gersingらの報告によると、認知症患者の中でアルツハイマー病の患者は55%と半数以上を占めます。脳血管性認知症はリスクファクターがよくわかってきてコントロール可能になりましたが、アルツハイマー病はまだ対策が十分できておらず、重点的に研究を行う必要があると思われま

す。アルツハイマー病は記憶障害が中核にありますから、記銘力、空間的・時間的見当識の障害が出ます。そして進行性の神経変性疾患です。ですから、この進行をどうとめるかが治療戦略の1つになります。病理学的、神経学的変化としては、アミロイドβ (Aβ) 蛋白の異常な産生と沈着があります。Aβ蛋白が変性性・進行性の認知症に関与しているということで、将来の戦略はAβ蛋白を

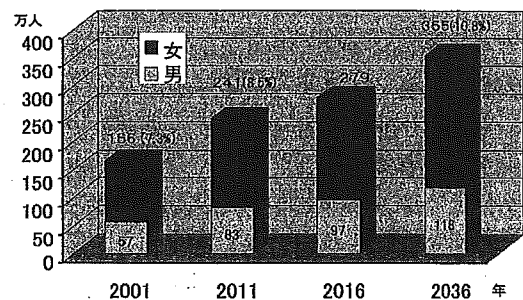


図1 65歳以上の認知症（痴呆）性老人の将来推計
%：65歳以上の人口に占める割合
東京武蔵野病院 大塚俊男 (2001)

ターゲットとするのが、原因療法につながると考えられます。それから、Aβ蛋白はタウ蛋白のリン酸化を異常に引き起こすこともわかっており、その結果、神経原線維変化が起こり、神経がよじれて死んでいきます。ですから、ターゲットをAβ蛋白に絞ることが非常に大事なのです。

アルツハイマー病では脳神経細胞が萎縮・脱落し、脳の血流量やブドウ糖利用率も低下します。脳血流は酸素とブドウ糖を脳に運んでいます。脳のエネルギーは酸素とブドウ糖からできるATPに依存しているのです。脳機能が落ちてきます。

それから、神経伝達関係では、アルツハイマー病の初期からコリン作動性神経系の障害が認められています。現在の治療はここをターゲットにしているわけですが、病気が進んでくると神経細胞がどんどん死んでいく病気ですから、モノアミン作動性神経系、GABA作動性神経系、グルタミン酸作動性神経系に影響が出てきます。ですから、これらをターゲットとする薬も最近が開発されて

2004年7月10, 11日, 東京にて開催。出席は約1,000名。
Pathophysiological changes in Alzheimer disease and pharmacotherapeutic strategy.

*名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・医学部附属病院薬剤部

〔〒466-8560 愛知県名古屋市昭和区鶴舞町65〕

Toshitaka Nabeshima : Department of Neuropsychopharmacology and Hospital Pharmacy, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65, Tsurumicho, Showa-ku, Nagoya, Aichi, 466-8560 Japan.

おります。

II. 補充療法

1. コリン作動薬

薬物療法の可能性について表1にまとめました。時間が限られているため、本日は表1の太字の部分のみに触れます。原因療法として、他にタウ蛋白のリン酸化を抑えるとか再生医療もありますが、これらは将来のことになると思われま

す。抗認知症(痴呆)薬の発売状況ですが、1993年にアセチルコリンエステラーゼ阻害薬 tacrine がアメリカの市場に初めて出ました。ところが、肝毒性が非常に強く、現在では使われなくなりました。3年後に donepezil が出て、2004年4月現在、62カ国で販売されています。Donepezil に続いてノバルティスが開発した rivastigmine がヨーロッパを中心に80カ国で市場に出ています。日本ではまだです。それから galantamine が2000年にヤンセンファーマから出て、56カ国で使われています。日本では2004年7月現在、申請準備中です。

以上はコリンエステラーゼ阻害薬ですが、他の作用機序として、グルタミン酸作動性神経の過活動をコントロールする memantine が26カ国で認可されています。日本ではサントリーと第一製薬が共同開発中です。

アルツハイマー病の初期の段階からコリン作動性神経系はダメージを受けやすくなります。マイネルト基底核から投射しているコリン作動性神経系、それから中核から投射しているコリン作動性神経系のダメージが初期から出てくるということ

で、それを表したのが表2のデータです。コリンアセチルトランスフェラーゼ—アセチルコリンの合成酵素ですが、コントロールと比較すると62%減少しています。それに比べて、アセチルコリンの分解酵素であるアセチルコリンエステラーゼの減少は少ない。その結果、実際に合成がどれだけできたかを表す指標は53%減っています。脳脊髄液でのアセチルコリンの量は約半分になってしまいコリン作動性神経系の dysfunction が起きているわけです。ご存じのように、パーキンソ

表1 アルツハイマー病の薬物療法の可能性

○補充療法
1. コリン作動薬
2. コリン作動薬以外の神経伝達機能改善薬
○対症療法
1. 抗炎症薬
2. エストロゲン補充療法
3. 抗酸化剤
4. 抗高脂血症薬(スタチン)
○原因療法
1. 抗アミロイドβ蛋白療法
・アミロイドβ蛋白の生成抑制 [AEBSF (セリンプロテアーゼ阻害剤)]
・アミロイドβ蛋白の凝集抑制 (iododoxorubicin, rifampicin)
・アミロイドβ蛋白の分解促進 (ミクログリア細胞による分解酵素分泌)
・ワクチン療法
2. 抗タウリン酸化療法
3. 再生医療
・再生誘導療法 (神経栄養因子・イムノフィリンリガンド療法)
・細胞補充療法 (遺伝子療法・ヒト胚性幹細胞療法)

表2 アルツハイマー病患者の前頭皮質におけるコリン作動性神経系のパラメータ減少

	ChAT μM/h/g protein	AChE μM/h/g protein	Ratio	Ach synthesis dpm/min/mg protein	Ach levels in CSF extracell. nM
Control subject	6	.25	24	6.2	33-300
Patients with					
Alzheimer disease	2.3	.18	13	2.9	15-152
%Decrease	62	28	46	53	48

ChAT, choline acetyltransferase ; AChE, acetylcholinesterase ; Ach, acetylcholine ; CSF, cerebrospinal fluid
武田雅俊ら, 臨床精神薬理 3 (2000)

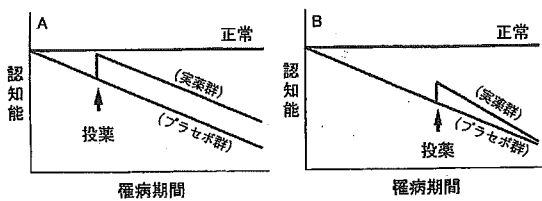


図2 補充療法

ン病ではドパミン作動性神経に dysfunction が起こっていて、ドパミンの補充療法が行われます。そこで、コリン作動性神経系についても補充療法ができないかという考えで開発が進められているわけです。

正常老化ですと少しずつ認知機能が落ちますが、生活を営む上では、あまり問題はありせん。ところが、アルツハイマー病の方は神経変性性の疾患ですから、認知機能がどんどん落ちてきます。補充療法の概念として、落ちてきたところで診断を受けたときに、アセチルコリンを補充すると、知的機能が回復して、図2Aのように、うまくいけばプラセボ群よりも認知機能が常に高く、パラレルにいくわけです。しかし、現在の抗認知症薬はそういうわけにはいなくて、大体が図2Bのように一時上げますが、最終的にはコントロールの群とプラセボ群とで同じような経過をたどってしまいます。

アセチルコリンを増やす戦略として、たとえば、アセチルコリンの合成を増やす方法が考えられます(図3)。アセチルコリンはアセチル CoA とコリンからできますから、コリンを補充すればアセチルコリンが増えるでしょうし、コリンの再吸収 (uptake) を増やすということも考えられます。

アセチルコリンはシナプスの小胞に蓄えられており、神経刺激が来ると小胞がシナプス終末まで動いて遊離・放出されます。この量を増やしてやっても良いことになります。

そうすれば、シナプスの後ろの神経にある受容体にくっつくアセチルコリンの量を増やすようにコントロールできます。アセチルコリンのかわりになる化合物、たとえばムスカリンやニコチン受容体の作動薬を作っても良いわけです。

放出されたアセチルコリンは、普通は必要量の

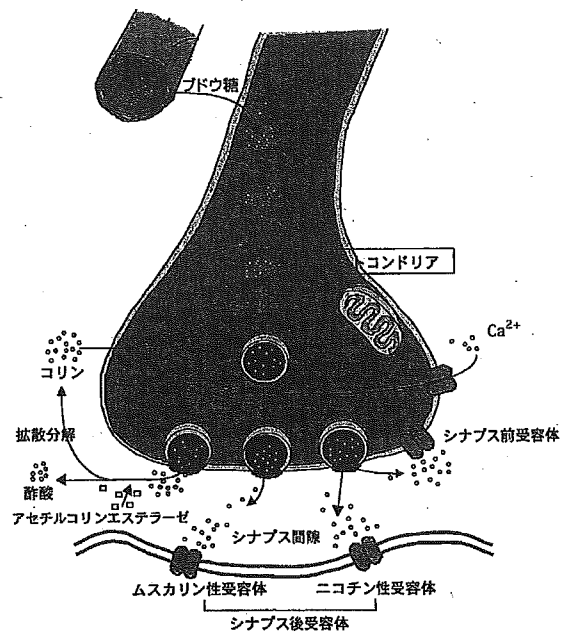


図3 アセチルコリン作動性神経系終末

大体10倍から5倍ぐらい出ます。たとえば神経刺激により1万個ぐらい神経伝達物質が遊離されます。ところが、シナプス後膜の受容体に結合して利用されるのは1,000~2,000個なので残りの9,000~8,000個はアセチルコリンエステラーゼで分解されてしまいます。ですから、この分解を防いでやれば、シナプス後受容体にくっつくチャンスが増えるわけです。遊離されるアセチルコリンは普通は1万個ですが、表2で示しましたように、アルツハイマー病の方でも約5,000個は出てきます。しかし、要るのは1,000個から2,000個ですから、分解を防いでしまえば、5,000個が受容体にくっつくチャンスが増えるはずで。そういうことで、この分解を防いでやれば、正常な神経機能が営まれるであろうと考えるわけです。

アセチルコリン作動性神経の活動をアップする薬はいろいろあります。たとえばアセチルコリンの合成量を増やすためにコリンの取り込みを増やしたり、レシチンみたいな前駆物質を増やします。シナプス前神経にあるアセチルコリンの自己受容体をブロックしてアセチルコリンの遊離を増やします。しかし、こういう薬はすべてドロップアウトしました。そして残ったのがアセチルコリンエステラーゼ阻害薬の donepezil, galantamine

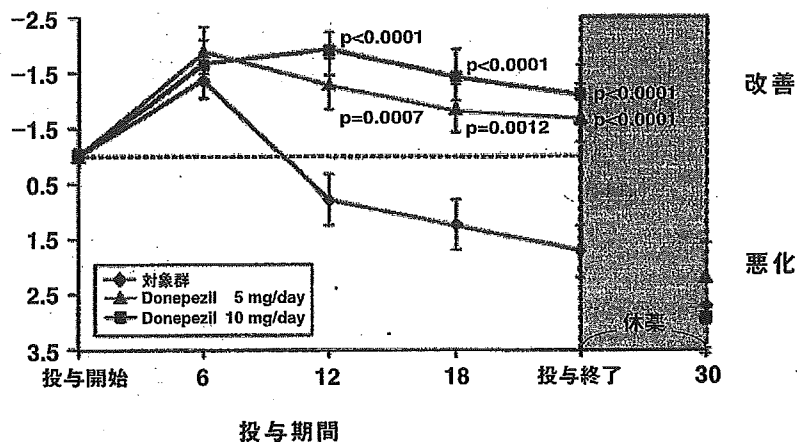


図4 認知機能検査
ベースラインよりのADAS-cog変動平均

で、本日はこの2つについてお話しします。

Donepezilのネズミの脳での実験を紹介し
ます。脳に透析チューブを植え込み、透析液を還流
させる in vivo dialysis を行うと、透析液の中にア
セチルコリンが回収されてきます。それを経時的
に計ります。昔は1点1点、ネズミを殺して脳の
中のアセチルコリンを計らなければいけなかつた
のですが、今は1匹のネズミを生かしたまま、経
時的にアセチルコリンの量を計れます。Donepe
zilの用量に応じて、記憶に大切な海馬でのアセ
チルコリンが増えてくることが確認されました。
増えてきたアセチルコリンがシナプスの後ろの受
容体にくっついて神経機能を回復させることにな
ります。

図4はアメリカにおける最初の臨床治験のデー
タです。アルツハイマー病の方を1群150人選
び、対照群（プラセボ群）でも、初
期は介護したり、問診したりして患者さんとの接
触がふえるものですから、少し認知機能が良くな
ります。ところが、神経変性性の疾患ですから、
治験を続けてくうちにどんどん悪くなります。
Donepezil投与群では5 mg, 10mgと、認知機能
が投与前のベースラインよりも、ずっと24週間、
高いわけです。ところが、残念なことに、6週間
休薬すると、コントロールレベルにストンと落ち
てしまいます。これが補充療法の欠点です。

ヨーロッパではすでに5年以上使っています。

連続して donepezil を投与していると、むしろ結
構長く認知機能が保たれるという結果が出ていま
す。これはシナプスの間隙に、恒常的にアセチル
コリンが多いですから、ムスカリン受容体を連続
的に刺激する結果、細胞壊死を防ぐという現象が
起こっているのではないかと考えられます。これ
を証明する in vitro の研究もあります。

図5は12週間 donepezil を投与し、2週間休薬
して、その後また donepezil を投与した結果で
す。プラセボ群ですと認知機能 (ADAS-Cog) が
大体1年で8ポイント落ちると言われていますが、斜
めの直線はそのシミュレーションのライン
です。Donepezil は大体38週ぐらいは投与を始
めたときと同じレベルの認知機能を保っています。
ですから、donepezil 投与により1年ぐら
いは入院しなくてすむことになります。その結果、
患者さんや介護の方のQOLが高くなり、医療経済
的にも非常に助かるわけです。そういう点で、アセ
チルコリンエステラーゼ阻害薬を用いる意味があ
るのではないかとということです。

図5の治験で donepezil を24週間行い、6週間
休薬しましたが、再度 donepezil を始めても、認
知症の進行を抑制することはできませんでした。
この結果から、効きにくくなったということで
donepezil を途中でやめることは、非常に問題が
あります。続けていればそのままプラセボ群とパ
ラレルに知的機能を保つことができますから、休

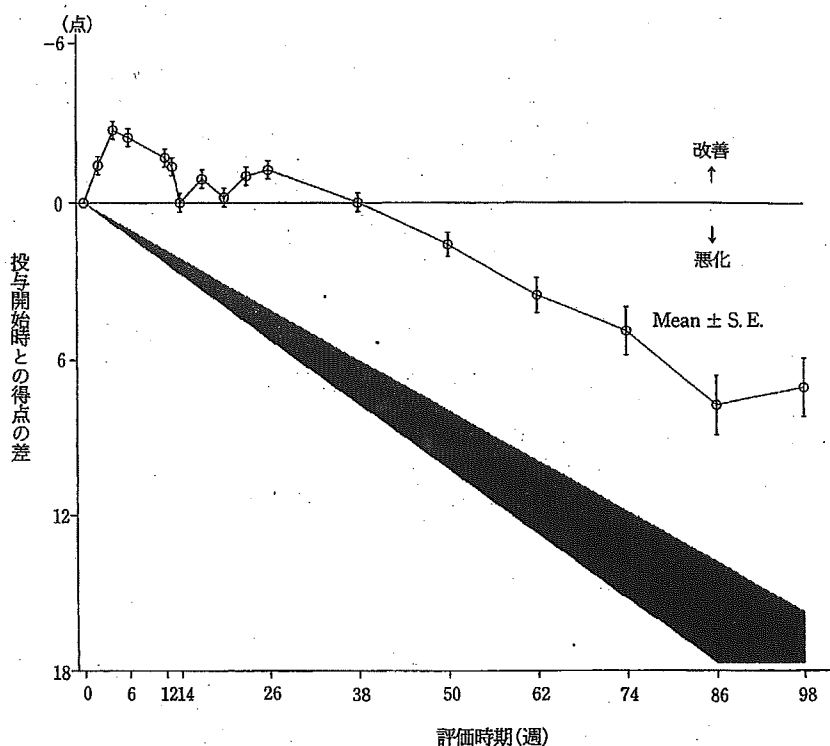


図5 継続長期投与の ADAS-cog の経時変化 (中間成績)
 図中の帯 ■■■ は、未治療のアルツハイマー型痴呆患者の ADAS-cog スコアの進行度を示す。
 Rogers, S. L. et al.: Eur. Neuropsychopharmacol., 8 : 67-75, 1998.

薬は非常に危険であると考えられます。ですから、私ども名古屋名大学病院では、認知症外来で薬剤師が介護の方にどのように薬を服用すべきであるかという指導を行っています。

パーキンソン病やアルツハイマー病で、ニコチン受容体もコントロールと比べると非常に減少します。ですから、このニコチン受容体も考えて治療をしなければいけません。

ニコチン受容体は、神経の後ろ、前、周りなどいろいろなところに局在しています。シナプス前神経のニコチン受容体が非常に大事なのは、コリン作動性神経系以外にも局在し、他のモノアミン系の神経伝達物質、それから GABA などの遊離をコントロールしているからです。ニコチン受容体を刺激すると、神経伝達物質が遊離されますから、神経症状や認知機能をコントロールできるのです。

認知機能には表3のような神経伝達物質が関与

表3 アルツハイマー病の臨床症状と神経伝達物質

- Cognitive deficit →Glutamate, Acetylcholine, Dopamine
 - Short-term memory
 - Language
 - Orientation in time and space
 - Functional deficit
 - Activities of daily living
 - Self organization
 - Behavioural deficit →Serotonin, GABA, Dopamine
 - Depression
 - Anxiety, aggressive behavior, hallucinations
- Nicotinic deficit may also affect other transmission systems, due to loss of modulatory potential ("plasticity")

By A. Maelicke, Univ. Mainz Med. Sch.

しています。これらのさまざまな物質をコントロールできる薬が望まれます。それから、精神行動障害にはセロトニン、GABA、ドパミンといった神経伝達物質が関わっています。

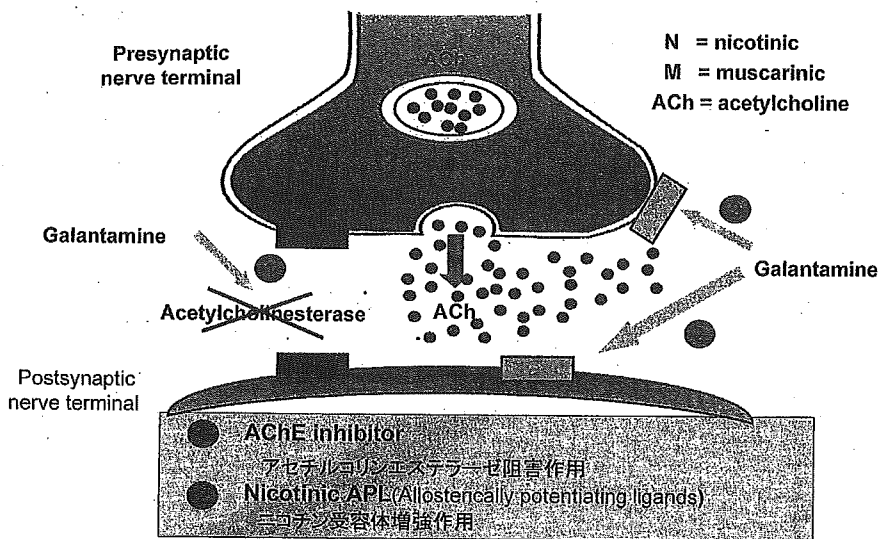


図6 Galantamine によるコリン作動性神経系の活性化：2つの異なる機序
By A. Maelicke

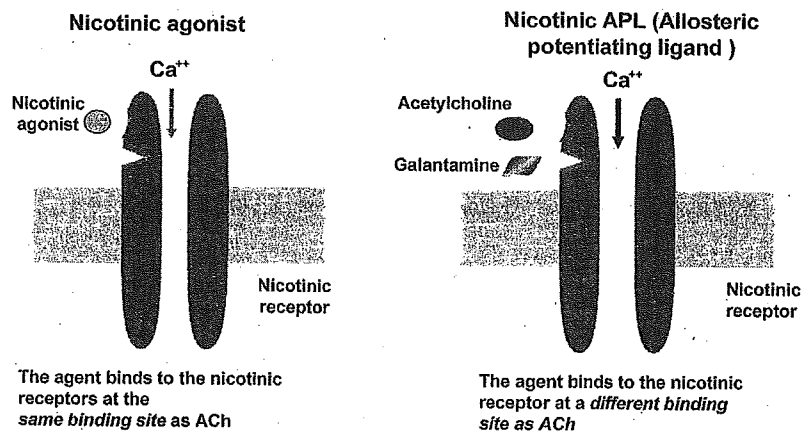


図7 Galantamine はニコチン性の APL である
(APL はニコチン受容体のアセチルコリン結合部位には結合しない)
By A. Maelicke, Univ. Mainz Med. Sch.

Galantamine は、アセチルコリンエステラーゼの阻害作用を他のコリンエステラーゼ阻害作用と同じように持っています。しかし donepezil 等と比べ、この作用は非常に弱く、何十分の1という数値です。ところが、galantamine はシナプス前神経のニコチン受容体をモジュレーションして、神経伝達物質の遊離を促進します(図6)。他のモノアミンの遊離も円滑にするわけです。それから、シナプス後神経のニコチン受容体の修飾もします。

どう修飾するかといいますと、ニコチン受容体はカルシウムの流入を調整していますが、アセチルコリンやニコチン作動薬がニコチン受容体にくっつくと、細胞内へカルシウムが入って神経伝達が起こります(図7)。ニコチン作動薬は直接受容体にくっつくわけです。ところが、ニコチン作動薬ではあまり良い結果が出ていません。しかし galantamine は、ニコチン受容体の周りのアロステリックサイトにくっつき、内在性のアセチルコリンの結合を円滑にします。その結果、チャネル

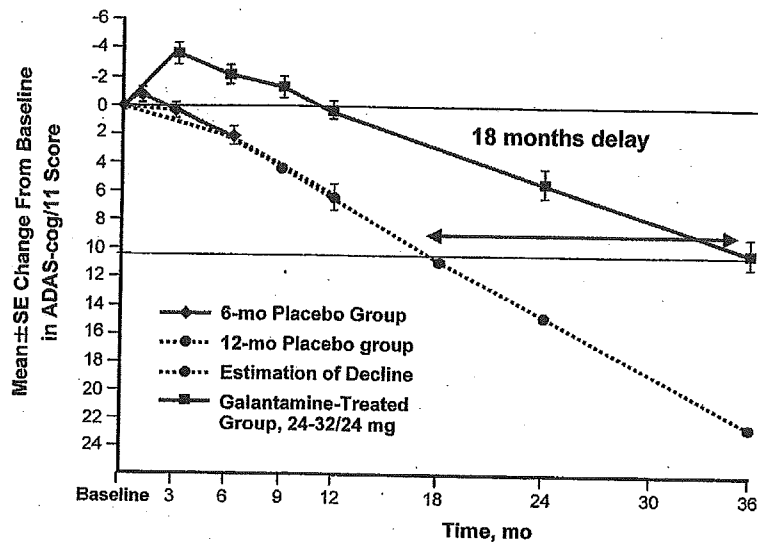


図8 Galantamineによる認知機能改善効果は少なくとも36ヵ月間持続する
Raskind, M. A. et al. : Arch. Neurol., Vol. 61, FEB 2004.

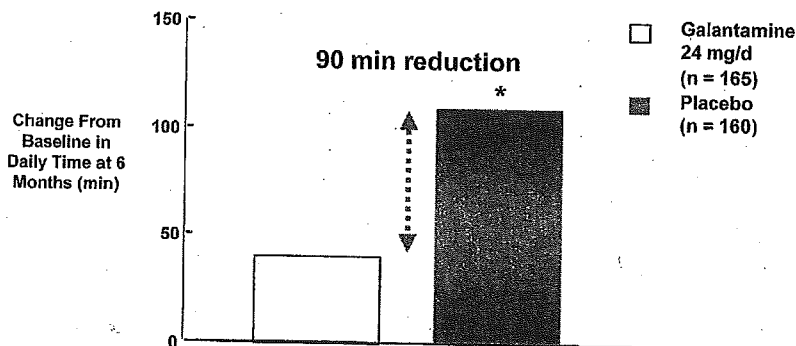


図9 Galantamineによる介護に必要な1日当たりの時間の変化
*P<.001 vs baseline.

Lilienfeld, S., Parys, W. : Dement Geriatr Cog Disord., 11(suppl.1) : 19-27, 2000.

Wilcock, G. et al. : World Alzheimer Congress, 2000.

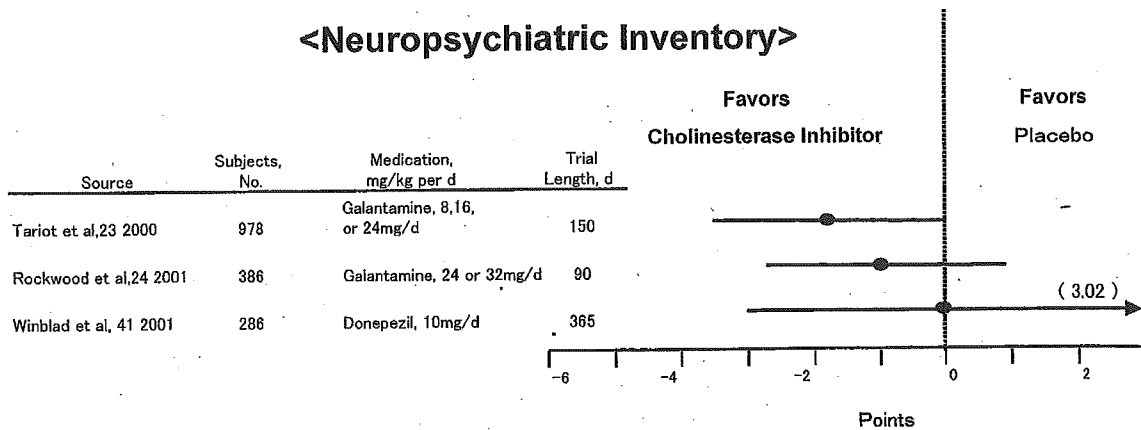
がうまく開き、カルシウムの流入を促進します。そのようなコントロールの仕方をする薬ですから、結果として、アセチルコリンの作用を強めます。アロステリックに作用して、アセチルコリンが受容されやすくします。そういうことで、galantamineはAPL (allosteric potentiating ligand) と言われております。

図8が治験データです。ADAS-Cogで36ヵ月見えています。プラセボ群ですと認知機能が12ヵ月で7くらい下がっています。18ヵ月以降の線はシ

ミュレーションです。Galantamine群では投与前のベースラインより上がります。10ポイントADAS-Cogが下がるのにプラセボ群では18ヵ月、galantamine群では36ヵ月かかります。両者の違いが18ヵ月です。18ヵ月遅くなります。投与後3年くらいはうまくコントロールできるのではないかというデータです。

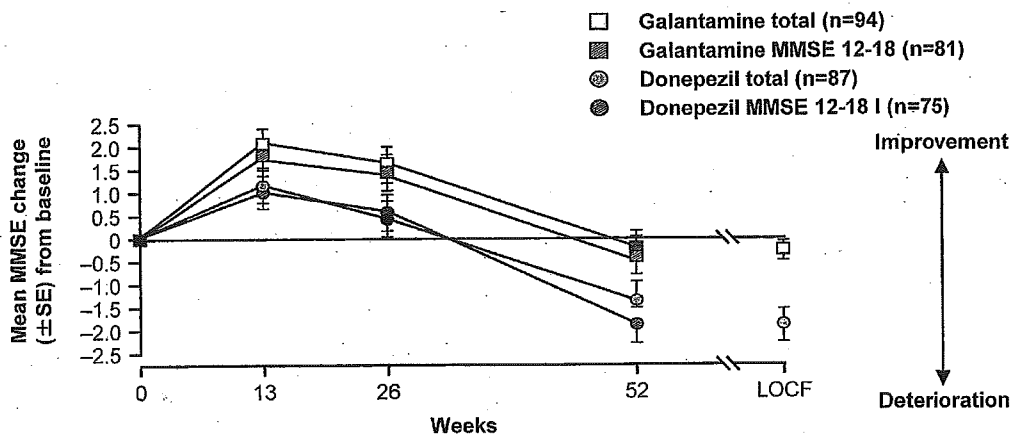
図9では、介護の方がどれくらい1日に時間を使うかを調べた結果を示しました。アルツハイマー病ですと、治療を始めてから6ヵ月後、120分

<Neuropsychiatric Inventory>



The weighted mean difference method

図10 アルツハイマー病の神経精神症状に対するアセチルコリンエステラーゼ阻害薬の効果のメタ解析
JAMA January 8, Vol. 289, No. 2210-216, 2003.



Between-group difference

	NS	P<0.1	P≤0.1	P<0.1
Total				
MMSE 12-18	P≤0.05	P≤0.005	P≤0.005	P≤0.005

図11 Galantamine と donepezil の長期間投与における効果の比較 (MMSE スコア12~18の患者)

LOCF=last observation carried forward; MMSE=Mini-Mental State Examination; NS=not significant; SE=standard error.

Wilcock, et al.: Drugs Aging 20(10), 2003.

くらい介護しています。ところが, galantamine を24mg/day 投与している群では, 30分くらいと, 約90分も違いが出ています。

図10は不安, 妄想, 意欲低下にどのような影響があるかを見ています。Galantamine 群, donepezil 群で, 投与期間が違うので直接比べられませんが, donepezil を投与してもだんだん悪くなっていきます。プラセボに似てあまり効いていません。Galantamine は不安, 妄想, 意欲低下に効く

というデータです。

図11は galantamine と donepezil とを長期間投与したときの比較試験です。MMSE を用いて評価しています。Galantamine 群は投与52週くらいまで投与前のベースラインにとどまっているのに対して, donepezil では52週では落ちてきており, 有意差が認められています。

図12は galantamine と donepezil を長期間投与したときのレスポンスの比率の変化を見ていま