

- Folstein, M.F., Folstein, S.E., McHugh, P.R., 1975. 'Mini-Mental State.' A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J. Psychiatr. Res.* 12, 189–198.
- George, M.S., Nahas, Z., Kozel, F.A., Li, X., Denslow, S., Yamanaka, K., Mishory, A., Foust, M.J., Bohning, D.E., 2002. Mechanisms and state of the art of transcranial magnetic stimulation. *J. ECT* 18, 170–181.
- Gershon, A.A., Dannon, P.N., Grunhaus, L., 2003. Transcranial magnetic stimulation in the treatment of depression. *Am. J. Psychiatry* 160, 835–845.
- Gur, E., Lerer, B., van de Kar, L.D., Newman, M.E., 2004. Chronic rTMS induces subsensitivity of post-synaptic 5-HT_{1A} receptors in rat hypothalamus. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 7, 335–340.
- Hamilton, M., 1960. A rating scale for depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 23, 56–62.
- Hausmann, A., Schermer, C., Hinterhuber, H., Humpel, C., 2002. Chronic repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) does not affect tyrosine hydroxylase (TH) and dopamine- β -hydroxylase (DBH) expression in rats in vivo. *Synapse* 46, 45–47.
- Kanno, M., Matsumoto, M., Togashi, H., Yoshioka, M., Mano, Y., 2004. Effects of acute repetitive transcranial magnetic stimulation on dopamine release in the rat dorsolateral striatum. *J. Neurol. Sci.* 217, 73–81.
- Kazui, H., Watamori, T.S., Honda, R., Mori, E., 2003. The validation of a Japanese version of the Everyday Memory Checklist. *Brain Nerve* 55, 317–325.
- Keck, M.E., Welt, T., Muller, M.B., Erhardt, A., Ohl, F., Toschi, N., Holsboer, F., Sillaber, I., 2002. Repetitive transcranial magnetic stimulation increases the release of dopamine in the mesolimbic and mesostriatal system. *Neuropharmacology* 43, 101–109.
- Klimke, A., Larisch, R., Janz, A., Vosberg, H., Muller-Gartner, H.W., Gaebel, W., 1999. Dopamine D2 receptor binding before and after treatment of major depression measured by [¹²³I]IBZM SPECT. *Psychiatry Res.* 90, 91–101.
- Lammertsma, A.A., Hume, S.P., 1996. Simplified reference tissue model for PET receptor studies. *NeuroImage* 4, 153–158.
- Landro, N.I., Stiles, T.C., Sletvold, H., 2001. Neuropsychological function in nonpsychotic unipolar major depression. *Neuropsychiatry Neuropsychol. Behav. Neurol.* 14, 233–240.
- Loo, C.K., Mitchell, P.B., 2005. A review of the efficacy of transcranial magnetic stimulation (TMS) treatment for depression, and current and future strategies to optimize efficacy. *J. Affect. Disord.* 88, 255–267.
- Loo, C., Sachdev, P., Elyed, H., McDarmont, B., Mitchell, P., Wilkinson, M., Parker, G., Gandevia, S., 2001. Effect of a 2-to 4-week course of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) on neuropsychologic functioning, electroencephalogram, and auditory threshold in depressed patients. *Biol. Psychiatry* 49, 615–623.
- Macqueen, G.M., Campbell, S., McEwen, B.S., Macdonald, K., Amano, S., Joffe, R.T., Nahmias, C., Young, L.T., 2003. Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 1387–1392.
- Moresco, R.M., Colombo, C., Fazio, F., Bonfanti, A., Lucignani, G., Messa, C., Gobbo, C., Galli, L., Del Sole, A., Lucca, A., Smeraldi, E., 2000. Effects of fluvoxamine treatment on the in vivo binding of [F-18]FESP in drug naïve depressed patients: A PET study. *NeuroImage* 12, 452–465.
- Nomikos, G.G., Zis, A.P., Damsma, G., Fibiger, H.C., 1991. Effects of chronic electroconvulsive shock on interstitial concentrations of dopamine in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology* 105, 230–238.
- Ohnishi, T., Hayashi, T., Okabe, S., Nonaka, I., Matsuda, H., Iida, H., Imabayashi, E., Watabe, H., Miyake, Y., Ogawa, M., Teramoto, N., Ohta, Y., Ejima, N., Sawada, T., Ugawa, Y., 2004. Endogenous dopamine release induced by repetitive transcranial magnetic stimulation over the primary motor cortex: an [¹¹C]raclopride PET study in anesthetized macaque monkeys. *Biol. Psychiatry* 55, 484–489.
- Padberg, F., Zwanzger, P., Thoma, H., Kathmann, N., Haag, C., Greenberg, B.D., Hampel, H., Moller, H.J., 1999. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in pharmacotherapy-refractory major depression: comparative study of fast, slow and sham rTMS. *Psychiatry Res.* 88, 163–171.
- Parsey, R.V., Oquendo, M.A., Zea-Ponce, Y., Rodenhiser, J., Kegeles, L.S., Prata, M., Cooper, T.B., Van Heertum, R., Mann, J.J., Laruelle, M., 2001. Dopamine D2 receptor availability and amphetamine-induced dopamine release in unipolar depression. *Biol. Psychiatry* 50, 313–322.
- Reitan, R.M., 1958. Validity of the Trailmaking Test as an indication of organic brain damage. *Percept. Mot. Skill* 8, 271–276.
- Shah, P.J., Ogilvie, A.D., Goodwin, G.M., Ebmeier, K.P., 1997. Clinical and psychometric correlates of dopamine D2 binding in depression. *Psychol. Med.* 27, 1247–1256.
- Strafella, A.P., Paus, T., Barrett, J., Dagher, A., 2001. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the human prefrontal cortex induces dopamine release in the caudate nucleus. *J. Neurosci.* 21, RC157.
- Strafella, A.P., Paus, T., Fraraccio, M., Dagher, A., 2003. Striatal dopamine release induced by repetitive transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain* 126, 2609–2615.
- Sugishita, M., 2001. Manual for the Wechsler Memory Scale–Revised. Nihon Bunka Kagakusha Co., Ltd., Tokyo.
- Wassermann, E.M., Wang, B., Zeffiro, T.A., Sadato, N., Pascual-Leone, A., Toro, C., Hallett, M., 1996. Locating the motor cortex on the MRI with transcranial magnetic stimulation and PET. *NeuroImage* 3, 1–9.
- Wechsler, D., 1987. Wechsler Memory Scale–Revised Manual. The Psychological Corporation, San Antonio, TX.
- Yoshida, K., Higuchi, H., Kamata, M., Yoshimoto, M., Shimizu, T., Hishikawa, Y., 1997. Dopamine releasing response in rat striatum to single and repeated electroconvulsive shock treatment. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 21, 707–715.

Evidence for involvement of glial cell activity in the control of extracellular D-serine contents in the rat brain

S. Kanematsu, S. Ishii, A. Umino, T. Fujihira, A. Kashiwa, N. Yamamoto, A. Kurumaji, T. Nishikawa

Section of Psychiatry and Behavioral Sciences, Tokyo Medical and Dental University Graduate School, Tokyo, Japan

Received January 7, 2006 / Accepted April 19, 2006 / Published online June 1, 2006
© Springer-Verlag 2006

Summary The continuous intra-cortical infusion of a glia toxin, fluorocitrate, at the concentration of 1 mM caused a decrease in the cortical extracellular contents of an intrinsic coagonist for the N-methyl-D-aspartate (NMDA) type glutamate receptor, D-serine, by peaking at 40 min by –25% but produced an increase in those of glycine and L-serine. The attenuated glial activity by fluorocitrate was verified by a marked reduction in the extracellular glutamine contents. The present findings suggest that a group of glial cells such as a population of the protoplasmic astrocytes could, at least in part, participate differently in the regulation of the extracellular release of D-serine and another NMDA coagonist glycine in the medial frontal cortex of the rat.

Keywords: D-Serine, extracellular contents, fluorocitrate, glia, in vivo microdialysis, medial frontal cortex

Introduction

Compelling evidence has been accumulated indicating that D-serine may be an intrinsic coagonist for the N-methyl-D-aspartate (NMDA) type glutamate receptor in the mammalian brain. Thus, D-serine facilitates various functions of the NMDA receptor by selectively stimulating its glycine site (Danysz and Parsons, 1998) and is present in the tissue and extracellular fluid at high contents throughout life with an NR2B subunit-like distribution (Hashimoto et al., 1992, 1993; Nishikawa, 2005). Importantly, the stimulation of the glycine modulatory site is required for the glutamate-induced neurotransmission (Danysz and Parsons, 1998). Moreover, the selective elimination of D-serine by application of D-amino acid oxidase and D-serine deaminase has been reported to reduce the NMDA-mediated cGMP formation

and long-term potentiation in the rat hippocampus (Mothet et al., 2002; Yang et al., 2003; Kartvelishvily et al., 2006).

These findings suggest that extracellular D-serine may play a pivotal role in the regulation of the NMDA receptor (Nishikawa, 2005). Our previous observations (Hashimoto et al., 1995) that depolarization stimuli including veratrin and a high concentration of potassium ion or cessation of impulse flow by tetrodotoxin failed to increase or decrease the extracellular D-serine contents, respectively, are consistent with the view that D-serine could be liberated into the extracellular fluid in a manner different from classical neurotransmitters (Nishikawa, 2005). Together with the detection of the D-serine-like immunoreactivity in the neurons, astrocytes and oligodendrocytes (Schell et al., 1995; Wako et al., 1995; Yasuda et al., 2001; Williams et al., 2006; Kartvelishvily et al., 2006) and the release of preloaded D-serine from cultured astrocytes (Schell et al., 1995), this view allows us to postulate that some glial cells possibly including the protoplasmic astrocytes (Schell et al., 1995; Kartvelishvily et al., 2006) might participate in the regulation of the extracellular D-serine contents in the brain. To test this possibility, we studied the effects of the continuous local infusion of a selective and reversible glia toxin, fluorocitrate (Clarke, 1991; Fonnum et al., 1997), into the medial prefrontal cortex on the extracellular concentrations of D-serine in the cortical area using an in vivo microdialysis technique.

Materials and methods

The present animal experiments were performed in strict accordance with the guidance of the Tokyo Medical and Dental University and were

Correspondence: Toru Nishikawa, Section of Psychiatry and Behavioral Sciences, Tokyo Medical and Dental University Graduate School, 1-5-45 Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan
e-mail: tnis.psyc@tmd.ac.jp

approved by the Animal Investigation Committee of the Institution. Male Wistar rats (ST strain, Clea Japan, Inc., Japan) at ages ranging from post-natal day 56 weighing 200–230 g were used. The animals were housed at $23.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ in a humidity-controlled room under a 12-hour light/dark cycle and had free access to food and water.

In vivo microdialysis was performed as previously reported with some modifications (Tanii et al., 1990; Nishijima et al., 1996; Hashimoto et al., 1995). Rats were anesthetized with pentobarbital (40 mg/kg, intraperitoneally) and mounted on a stereotaxic frame. A straight-shaped cellulose dialysis tube (3.0 mm in length, 0.16 mm internal diameter, molecular weight cutoff 50,000, EICOM Co. Ltd., Japan) was then implanted into the medial prefrontal cortex (mPFC: A +3.2 mm, V +5.2 mm, L -0.6 mm) according to the atlas of Paxinos and Watson (2005). The

medial prefrontal cortex was chosen because we intended to compare the effects of a gliotoxin on the extracellular D-serine contents with those of an interruption of neural activity by tetrodotoxin which we examined in the D-serine-rich frontal area before (Hashimoto et al., 1995). Two days after surgery, the dialysis probe was perfused with Ringer solution (NaCl, 147 mM; KCl, 4 mM; CaCl_2 , 1.3 mM; pH 7.3) at the flow rate of $2 \mu\text{l}/\text{min}$ in a freely moving rat. After stabilizing for at least 80 min, the dialysate samples were collected every 20 min. The first three samples were used to determine the basal release of each amino acid, and then the Ringer solution with or without fluorocitrate at 1 mM (Largo et al., 1996) was perfused. After termination of the experiments, the location of the dialysis probe was macroscopically verified in each case on 150- μm -thick serial coronal slices.

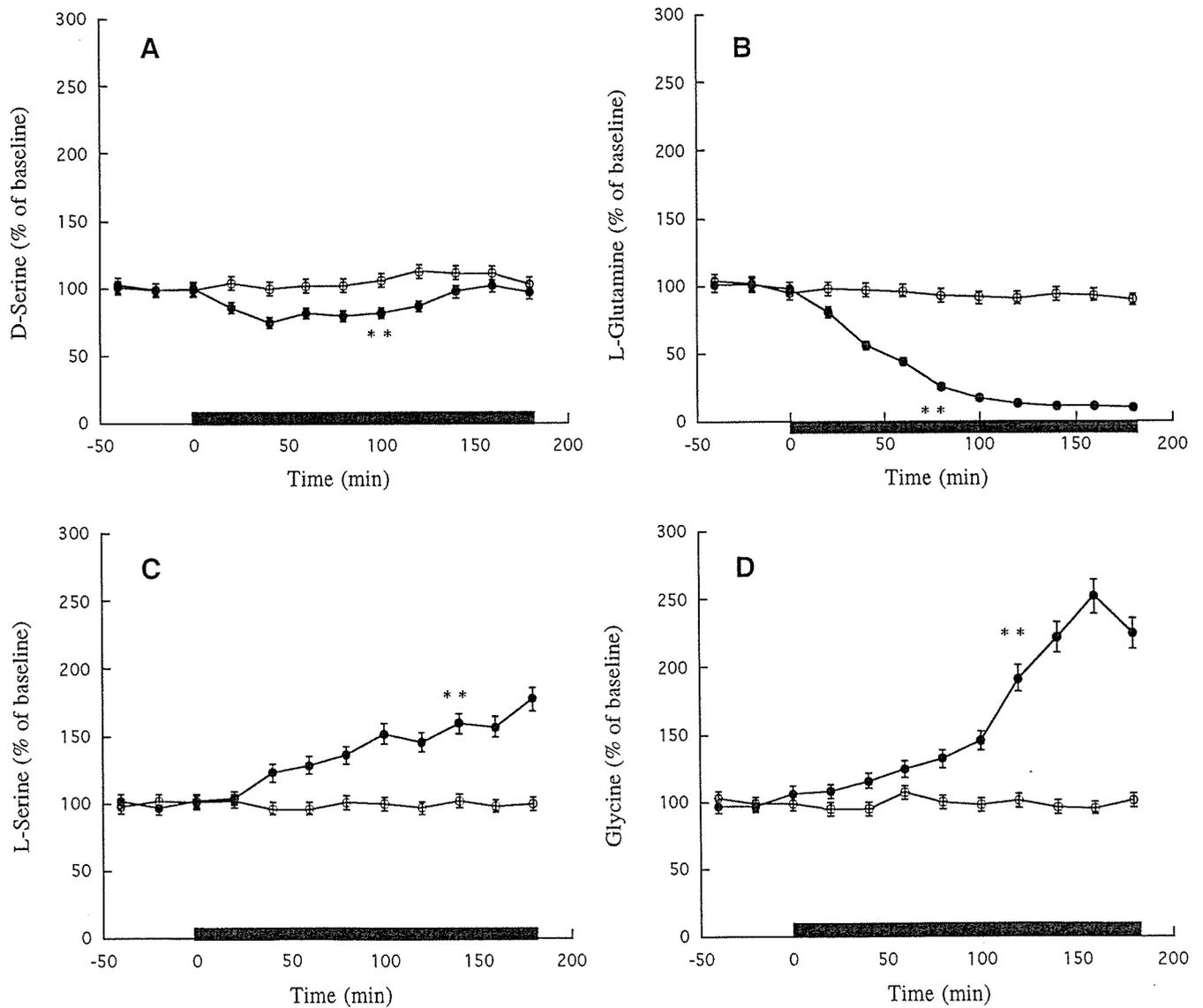


Fig. 1. Effect of fluorocitrate perfusion on the basal extracellular releases of D-serine (A), glutamine (B), L-serine (C) and glycine (D) in the medial frontal cortex (mPFC). The solid black bars indicate the length of application of Ringer solution containing fluorocitrate (1 mM) through the dialysis probe. Results are means with S.E.M. of data obtained from 10–12 animals and expressed as percentages of the basal levels. The area under the curve (AUC) is calculated by adding the areas under the graph of the concentration of the respective amino acid between each pair of every 20-min consecutive observation from 0 to 180 min of treatment. Statistical comparisons were carried out between the control and fluorocitrate-treated groups on the AUC data using the Student's or Cochran-Cox *t*-test. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ as compared to control animals. Control group (○); fluorocitrate-treated group (●)

The collected samples are stored at -80°C until derivatization following the addition of D-homocysteic acid (D-HCA) as the internal standard. For quantification of the amino acids by HPLC with fluorometric detection, an aliquot of each sample was derivatized with *N-tert*-butyloxycarbonyl-L-cysteine and *o*-phthalaldehyde (OPA) for 2 min at room temperature. The derivatized sample was immediately applied to the HPLC system and was analyzed on a 4- μm (particle size) Nova-Pak C18 column (300 \times 3.9 mm) (Waters, Japan). The column was operated at a constant flow-rate of 1.0 ml/min at 35°C . Mobile phase A was 0.1 M acetate buffer (pH 6.0) containing 10% acetonitrile and mobile phase B was the acetate buffer containing 20% acetonitrile. The separation of the amino acid derivatives was performed with a linear gradient from mobile phase A to B in 53 min. The fluorescent amino acid derivatives were detected using a Waters 2475 Multi λ fluorescence detector spectrofluorometer (Waters Co. Ltd., Japan). The excitation and emission wavelengths were 344 and 443 nm, respectively.

The average of the concentrations of each substance during the period preceding the drug treatment (three measurements were performed every 20 min) was used as the control value (=100). Individual data are expressed as percentages of this baseline period. The means with S.E.M. of the results obtained on 10–12 animals were calculated using the corresponding periods.

The areas under the curves (AUC) of the concentration versus time plots for the dialysate amino acids at 0–180 min post-injection were calculated and used as the overall measures of the treatment effects (Hjörth and Sharp, 1991; Matthews et al., 1990). Statistical comparisons were performed between the control and fluorocitrate-treated groups on the AUC data of the various amino acids quantified using the two-tailed Student's (homogeneous variance) or Cochran-Cox (heterogeneous variance) *t*-test.

Results

The basal release of each amino acid was stable for at least 4 hours in the medial frontal cortex. The *in vitro* recoveries for the dialysis probes were 17.7%, 20.0%, 16.0% and 16.5% for D-serine, glycine, L-serine and glutamine, respectively.

The continuous intra-medial frontal cortex infusion of fluorocitrate at the concentration of 1 mM caused a moderate and significant decrease in the cortical extracellular contents of D-serine by peaking at 40 min by -25% (Fig. 1A). The magnitude of the decrease in the D-serine contents tended to diminish from 100 min after the start of the glia toxin infusion (Fig. 1A). The concentrations of glutamine in the frontal dialysates were markedly decreased to trace levels by the application of fluorocitrate (Fig. 1B). In contrast, the local injection of fluorocitrate elevated the cortical extracellular levels of L-serine (Fig. 1C) and another intrinsic NMDA coagonist, glycine (Fig. 1D), in an infusion-time dependent manner.

Furthermore, the glia toxin infusion produced a variety of abnormal behaviors including hyperlocomotion, intermittent sniffing and rearing, feces eating, and "fighting" style stereotypy. These behavioral changes were observed, at least, from 20 min after the start of the infusion.

Discussion

The present study demonstrates by an *in vivo* microdialysis technique that an intra-medial frontal cortex infusion of a glia toxin, fluorocitrate, reduces the cortical extracellular contents of D-serine and glutamine along with elevating those of L-serine and glycine and eliciting abnormal behavior. The differential effects of fluorocitrate on the levels of the four amino acids in the frontal dialysates seem to deny the possibility that these alterations are due to a non-specific phenomenon.

It is more likely that the fluorocitrate-induced reduction in the extracellular D-serine contents may be attributed to a diminished activity in the glial cells, because, as illustrated in Fig. 1B, the local fluorocitrate infusion produced an almost complete loss of the medial frontal contents of glutamine which has been well established to be exclusively synthesized in and liberated from the glial cells including the astrocytes (Hertz, 2004). The decreasing effects of fluorocitrate on the extracellular glutamine concentrations in this experiment are consistent with those observed in the earlier studies (Largo et al., 1996; Paulsen et al., 1987), and in line with the prior data indicating that fluorocitrate is selectively taken up into the glial cells and inhibits their glycolysis (Clarke, 1991; Fonnum et al., 1997). Fluorocitrate does not appear to lower the extracellular levels of D-serine by directly inhibiting the neuronal activities because we reported that a cessation of nerve impulse traffic in the medial prefrontal cortex by the local infusion of tetrodotoxin increased, but not decreased, the extracellular D-serine contents in the cortical portion (Hashimoto et al., 1995). Moreover, our preceding observations that the elevated brain glycine or L-serine concentrations following the systemic administration of the respective amino acid resulted in the augmented tissue levels of the cortical D-serine (Takahashi et al., 1997) argues against the possibility that the reducing effects of fluorocitrate on the extracellular D-serine contents could solely be due to the fluorocitrate-induced increase in the glycine and L-serine contents.

Unlike the extracellular contents of a glial amino acid, glutamine, those of D-serine were only partially inhibited by fluorocitrate (Fig. 1A and B). This could be explained by the hypothesis that D-serine might be released from not only the glial cells, but also the neurons. Indeed, both types of brain cells exhibit a D-serine-like immunoreactivity (Yasuda et al., 2001; Williams et al., 2006; Karvelishvily et al., 2006). Alternatively, the disturbed glia-neuron interaction by fluorocitrate could modify the possible neuronal release of D-serine. The exact molecular machinery that

plays a physiological role in the release of D-serine is still unclear. Recent *in vitro* experiments (Mothet et al., 2005) pointed out that the calcium ion-dependent and SNARE complex-associated process might mediate the extracellular release of the preloaded [3H]D-serine from the cultured astrocyte prepared from the cerebral cortex of the rat embryo. However, our past *in vivo* observations indicated the presence of calcium-independent carrying mechanisms for the extracellular D-serine liberation by the results that chelation of the calcium ions in the perfusate failed to reduce the extracellular D-serine concentrations in the medial frontal cortex (Hashimoto et al., 1995). These energy-dependent candidate procedures for D-serine release may be affected by the fluorocitrate-induced inhibition of aconitase, a rate-limiting step during glycolysis (Clarke, 1991), in the frontal glial cells. Alternatively, the gliotoxin-induction of the disturbed glial cell metabolism could attenuate the activities of D-serine synthesizing enzymes such as serine racemase (Kartvelishvily et al., 2006; Wolosker et al., 1999), which might lead to a decrease in the amounts of the releasable glial D-serine.

The abnormal behaviors observed in the fluorocitrate-exposed rats in this study could, at least partly, be related to the impaired glutamate neurotransmission in the medial prefrontal cortex, because a reduction in the brain contents of D-serine and glutamine has been shown to elicit a hypoactivity of the NMDA receptor (Mothet et al., 2002; Yang et al., 2003; Kartvelishvily et al., 2006) and the decreased synthesis of the neural glutamate pool (Hertz, 2004), respectively. Interestingly, the behavioral changes during the fluorocitrate infusion seemed to be similar to those following an acute or chronic injection of a dopamine receptor agonist, apomorphine (Kenny and Leonard, 1980). In terms of the proposed important roles of the prefrontal glutamatergic transmission in a wide range of behavioral expressions (Kalia, 2005; Kalivas et al., 2005; Moghaddam, 2002), to clarify the relationships among the D-serine, glutamate and dopamine signaling and the glial functions would be useful for the understanding the pathophysiology of a variety of neuropsychiatric disorders.

In conclusion, the present findings support the view that the glial cells may participate in the maintenance and/or dynamic regulation of the extracellular release of D-serine in the rat medial prefrontal cortex and the changes in the control could be involved in the behavioral abnormalities following glial dysfunctions. Further investigation is needed to clarify the types of glial cells and the molecules that are associated with the extracellular D-serine regulation.

Acknowledgments

This study was partly supported by research grants from the Research Development Corporation of Japan, the Ministry of Health and Wealth, and the Ministry of Education, Science and Culture, Japan.

References

- Clarke DD (1991) Fluoroacetate and fluorocitrate: mechanism of action. *Neurochem Res* 16: 1055–1058
- Danysz W, Parsons AC (1998) Glycine and N-methyl-D-aspartate receptors: physiological significance and possible therapeutic applications. *Pharmacol Rev* 50: 597–664
- Fonnum F, Johnsen A, Hassel B (1997) Use of fluorocitrate and fluoroacetate in the study of brain metabolism. *Glia* 21: 106–113
- Hashimoto A, Nishikawa T, Hayashi T, Fujii N, Harada K, Oka T, Takahashi K (1992) The presence of free D-serine in rat brain. *FEBS Lett* 296: 33–36
- Hashimoto A, Nishikawa T, Oka T, Takahashi K (1993) Endogenous D-serine in rat brain: N-methyl-D-aspartate receptor-related distribution and agin. *J Neurochem* 60: 783–786
- Hashimoto A, Oka T, Nishikawa T (1995) Extracellular concentration of endogenous free D-serine in the rat brain as revealed by *in vivo* dialysis. *Neurosci* 66: 635–643
- Hertz L (2004) Intercellular metabolic compartmentation in the brain: past, present and future. *Neurochem Int* 45: 285–296
- Hjörth S, Sharp T (1991) Effect of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT on the release of 5-HT in dorsal and median raphe-innervated rat brain regions as measured by *in vivo* microdialysis. *Life Sci* 48: 1779–1786
- Kalia M (2005) Neurobiological basis of depression: an update. *Metabolism* 54 [Suppl 1]: 24–27
- Kalivas PW, Volkow N, Seamans J (2005) Unmanageable motivation in addiction: a pathology in prefrontal-accumbens glutamate transmission. *Neuron* 45: 647–650
- Kartvelishvily E, Shleper M, Balan L, Dumin E, Wolosker H (2006) Neuron-derived D-serine: Novel means to activate N-methyl-D-aspartate receptors. *J Biol Chem*: in press
- Kenny M, Leonard BE (1980) Behavioural effects of chronic treatment with apomorphine in combination with neuroleptic drugs. *J Neurosci Res* 5: 291–298
- Largo C, Cuevas P, Semen GG, Martin del Rio R, Herreras O (1996) The effect of depressing glial function in rat brain *in situ* on ion homeostasis, synaptic transmission, and neuron survival. *J Neurosci* 16: 1219–1229
- Matthews JNS, Altman DG, Campbell MJ, Royston P (1990) Analysis of serial measurements in medical research. *Br Med J* 300: 230–235
- Moghaddam B (2002) Stress activation of glutamate neurotransmission in the prefrontal cortex: implications for dopamine-associated psychiatric disorders. *Biol Psychiatry* 51: 775–787
- Mothet JP, Parent AT, Wolosker H, Brady RO Jr, Linden DJ, Ferris CD, Rogawski MA, Snyder SH (2000) D-Serine is an endogenous ligand for the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 4926–4931
- Mothet JP, Pollegioni L, Ouanounou G, Martineau M, Fossier P, Baux G (2005) Glutamate receptor activation triggers a calcium-dependent and SNARE protein-dependent release of the gliotransmitter D-serine. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 5606–5611
- Nishijima K, Kashiwa A, Hashimoto A, Iwama H, Umino A, Nishikawa T (1996) Differential effects of phencyclidine and methamphetamine on dopamine metabolism in rat medial frontal cortex and striatum as revealed by *in vivo* dialysis. *Synapse* 22: 304–312
- Nishikawa T (2005) Metabolism and functional roles of endogenous D-serine in mammalian brains. *Biol Pharm Bull* 28: 1561–1565

- Paulsen RE, Contestabile A, Villani L, Fonnum F (1987) An in vivo model for studying function of brain tissue temporarily devoid of glial cell metabolism: the use of fluorocitrate. *J Neurochem* 48: 1377–1385
- Paxinos G, Watson C (2005) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 5th ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam
- Schell MJ, Molliver ME, Snyder SH (1995) D-serine, an endogenous synaptic modulator: localization to astrocytes and glutamate-stimulated release. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 3948–3952
- Takahashi K, Hayashi F, Nishikawa T (1997) In vivo evidence for the link between L- and D-serine metabolism in rat cerebral cortex. *J Neurochem* 69: 1286–1290
- Tanii Y, Nishikawa T, Umino A, Takahashi K (1990) Phencyclidine increases extracellular dopamine metabolites in rat medial frontal cortex as measured by in vivo dialysis. *Neurosci Lett* 112: 318–323
- Wako K, Ma N, Shiroyama T, Semba R (1995) Glial uptake of intracerebroventricularly injected D-serine in the rat brain: an immunocytochemical study. *Neurosci Lett* 185: 171–174
- Williams SM, Diaz CM, Macnab LT, Sullivan RK, Pow DV (2006) Immunocytochemical analysis of D-serine distribution in the mammalian brain reveals novel anatomical compartmentalizations in glia and neurons. *Glia* 53: 401–411
- Wolosker H, Blackshaw S, Snyder SH (1999) Serine racemase: a glial enzyme synthesizing D-serine to regulate glutamate-N-methyl-D-aspartate neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 13409–13414
- Yang Y, Ge W, Chen Y, Zhang Z, Shen W, Wu C, Poo M, Duan S (2003) Contribution of astrocytes to hippocampal long-term potentiation through release of D-serine. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 15194–15199
- Yasuda E, Ma N, Semba R (2001) Immunohistochemical evidences for localization and production of D-serine in some neurons in the rat brain. *Neurosci Lett* 299: 162–164

VI

抗精神病薬の作用機序

濱村貴史・山本直樹・黒田安計・西川 徹

1 抗精神病薬作用とドパミン系ニューロン

a ドパミン系伝達遮断作用

クロルプロマジンとは1952年にLaboritにより臨床に導入され、DelayとDenikerらによって統合失調症治療への応用が報告された。その後、同時期に使用され始めたレセルピンにノルエピネフリンやドパミンなどのモノアミン枯渇作用があることがわかり、またその頃パーキンソン病の患者の線条体でドパミンが減少していることが明らかになった。そのため、レセルピンの抗精神病作用や錐体外路症状誘発がドパミンの減少と関係していると考えられるようになった。クロルプロマジンでもレセルピン同様の抗精神病作用や錐体外路症状がみられることから、クロルプロマジンの薬理作用についてもドパミンとの関係が注目されていた。しかしながら、当初の動物実験では抗精神病薬の投与で脳内のドパミンそのものの量は変化しないと報告されていた。1963年CarlssonとLindqvistは、ドパミンやノルエピネフィリンの代謝物の3-methoxytyramineとnormetanephrineの測定系を開発し、クロルプロマジンやハロペリドールをマウスに投与すると脳内のドパミン代謝物の濃度が著しく上昇することを発見した。この効果は抗精神病作用のない構造類似体であるプロメサジンではみられず、また臨床的に治療力価の高いハロペリドールのほうがクロルプロマジンに比べて効果が強力であった。彼らは、これらの結果をドパミンの受容体が抗精神病薬によって遮断され、その結果代償的にドパミンの産生や放出が高まることによって生じた現象であると解釈した。その後、抗精神病薬の投与によりドパミン代謝が亢進することが放射性同位元素を使った実験で確かめられた。また、抗精神病薬がドパミン伝達を阻害しているという結果も蓄積された。代表的なものとしては、抗精神病薬で誘発されるカタレプシーがDOPA (3, 4-dihydroxyphenylalanine) で拮抗されることや、アポモルフィンなどのドパミン作動薬で誘発される移所運動や常同行動を抗精神病薬が抑制するなどの行動

薬理的な実験がある (Creese et al., 1978)。

b 抗精神病薬のドパミン受容体に対する親和性

1970年代に受容体結合実験が行われるようになり、抗精神病薬についても種々の受容体に対する結合能が調べられた。その結果、抗精神病薬がもつドパミンD₂受容体への結合親和性が、実際臨床における統合失調症に対する治療効果と強い正の相関を示していることが明らかになった (Seeman et al., 1976; 西川, 2003)。現在臨床的に使用される抗精神病薬は基本的にドパミンD₂受容体への高い結合親和性をもち、ドパミンD₂受容体を介するドパミン伝達の遮断がこれらの薬物の抗幻覚妄想作用に最も関係していると考えられている (図15)。

薬理生化学的特性によりドパミン受容体はD₁, D₂の2種類に分けられていたが、1988年のドパミンD₂受容体のクローニング以降、次々にドパミン受容体の亜型が同定された。現在ではドパミン受容体の亜型は、分子生物学的分類に統一されており、D₁, D₂の2つの受容体群に大きく分類されている (Gingrich & Caron, 1993; Sokoloff & Schwartz, 1995)。ヒトでは現在までにD₁~D₅の5種類のドパミン受容体が報告され、いずれも7回の膜貫通部位をもつG蛋白共役型受容体で、D₁群 (D₁, D₅) では第3番目の細胞内ループが短くC末端が長く、その逆にD₂群 (D₂, D₃, D₄) では第3番目の細胞内ループが長くC末端部の短いという特徴がある。表9に各々のドパミン受容体の特徴と代表的な抗精神病薬の親和性についてまとめた (Grandy et al., 1989; Dearry et al., 1990; Van Tol et al., 1991; Sunahara et al., 1991; Sokoloff et al., 1992)。

D₁群のうちD₁受容体に比較的親和性の高い抗精神病薬には、クロルプロマジン、フルフェナジン、チオリダジンなどがあり、ハロペリドール、フルフェナジンはD₅受容体にもある程度の親和性がある。一方、D₂群ではほとんどの抗精神病薬はD₂, D₃両受容体に対して高い親和性を示すが、一般にD₂受容体に対する親和性が、D₃に対するそれよりも、2~20倍程度高い。D₄受容体に対しては、スピペロン、ネモナブリドなどが親和性が高い。

c 作用部位による特徴

脳内ドパミン系ニューロンはその分布から、中脳線条体系、中脳辺縁皮質系、隆起漏斗系、脳室周囲系、不確帯視床下部系、嗅球体系、間脳脊髄系、網膜系などに分類される (表10)。その中で、黒質から尾状核-被殻に至る中脳線条体系の背側部、腹側被蓋野から側坐核、嗅結節、分界条床核などに至る中脳線条体系の腹側部、さらに黒質・腹側被蓋野から前頭前野、扁桃核、梨状皮質などに分布する中脳辺縁皮質系、などが抗精神病薬との関係が深いと考えられる (図16)。また視床下部弓

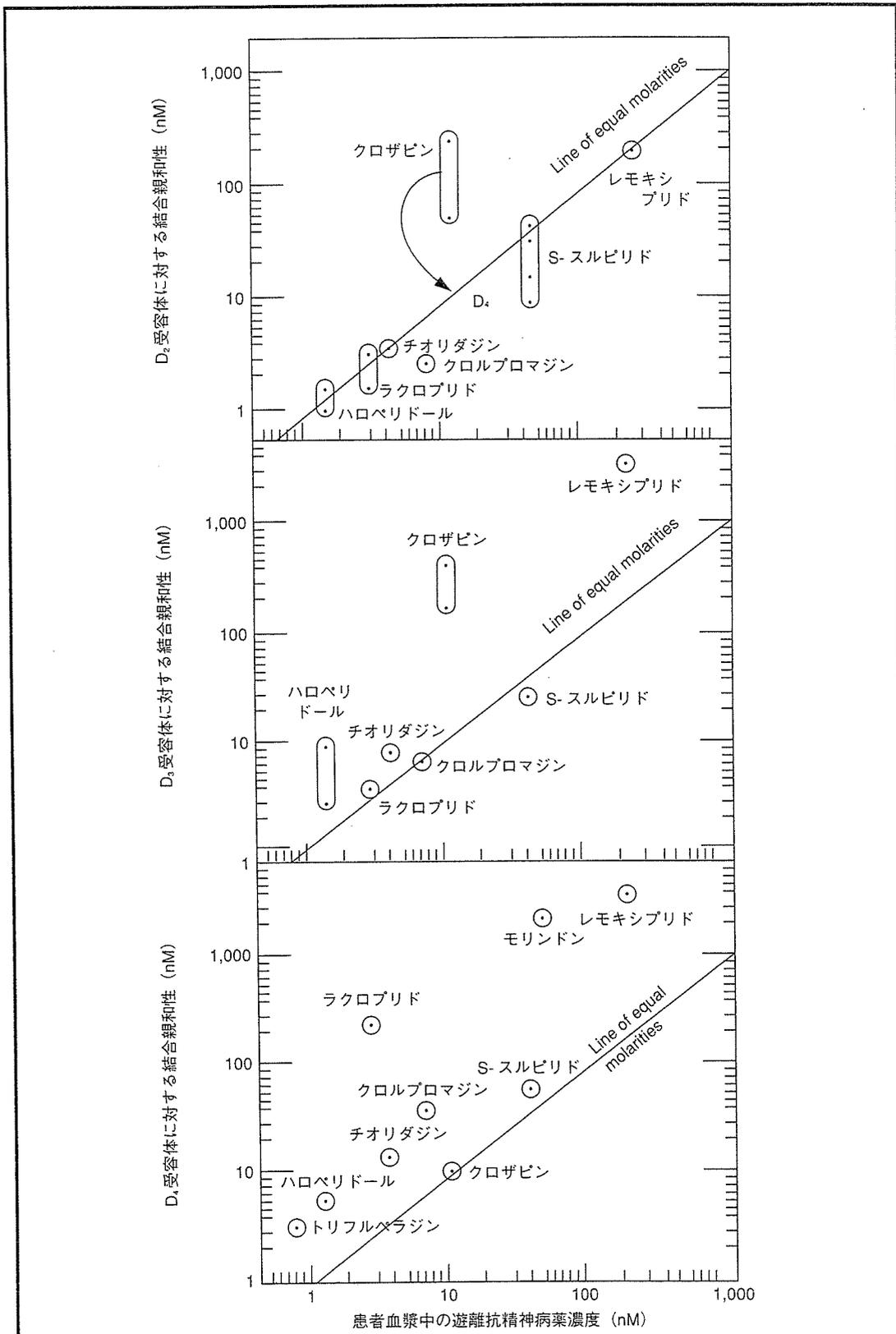


図15 抗精神病薬のドパミンD₂, D₃, D₄受容体に対する結合親和性 [Seeman, 1992を改変]
 縦軸に解離定数 (nM), 横軸に抗精神病薬服薬中の患者血漿中の遊離抗精神病薬濃度 (nM) が示されている。培養細胞上に発現させたラットあるいはヒトの受容体が実験に用いられている。クロザピンはD₂受容体に対する値をそのままプロットすると直線から外れているが、代わりにD₄受容体に対する値を用いるとよい相関を示すことが矢印で示されている。

表9 抗精神病薬とヒトDA受容体サブタイプ

	D ₁ ファミリー		D ₂ ファミリー		
	D ₁	D ₅	D _{2S} /D _{2L}	D ₃	D ₄
アミノ酸数	446	477	414/443	400	387
染色体	5q	4p	11q	3q	11p
イントロン	-	-	+	+	+
脳内 mRNA 分布	前頭葉皮質 線条体 側坐核 嗅結節	海馬 視床下部	線条体 側坐核 嗅結節 下垂体	嗅結節 側坐核	前頭葉皮質 扁桃体 中脳
抗精神病薬の親和性 (K _i ; nM)					
ブロムペリドール	214 (R)		1.9	25	35
クロルプロマジン	73	133	2.8	6.1	37
clozapine	141 ~ 540 (R)	250	56 ~ 138 ~ 190	180 ~ 280	9 (R) ~ 40
フルフェナジン	21	14	0.5		46
ハロペリドール	27 ~ 270 (R)	48	0.45-1	7.8	5.1 (R)
モサプラミン	143 (R)		0.84	2.1	3.2
ネモナブリド	> 5,000 (R)		0.16	0.26	0.31
プリモジン	> 1,000 (R)		1.2 (R) ~ 2.4	1.8 ~ 3.7	22 ~ 43 (R)
リスペリドン	620 (R)		5.9	14	16
スピベロン	220	4,500	0.05 ~ 0.069	0.61	0.08
スルペリド	36,000	77,270	9.2 ~ 31 ~ 46	25	52 (R)
チオリダジン	100	300	3.3	7.8	12 (R)
ゾテピン	25 (R)		8 (R)	11	5.8 ~ 26
ドパミン	2,340	228	2.89 (R) ~ 474	25	28 (T)

主として CHO 細胞に発現させたヒト受容体による結果を示す。

R; rat brain membrane, T; canine brain or pig pituitary membrane

(Dearry et al., 1990; Sokoloff et al., 1992; Van Tol et al., 1991; Sunahara et al., 1991; Sidley & Monsma, 1992; Schotte et al., 1995; Sokoloff & Schwartz, 1995; Roth et al., 1995; 米村他, 1997 などをもとにまとめたもの)

状核や脳室周囲の諸核から、正中隆起・下垂体に至る隆起漏斗系は抗精神病薬でみられる高プロラクチン血症に関与する。ドパミン受容体に対する抗精神病薬の親和性は、*in vitro*の実験では脳の部位による違いはないと報告されているが、*in vivo*の実験ではドパミンの投射系によって抗精神病薬投与に対する反応性に差がみられる。電気生理学的実験、線条体のドパミン受容体の刺激で出現する常同行動に対する拮抗作用、*in vivo*での受容体結合実験などの結果から、ハロペリドールやクロルプロマジンをはじめ多くのいわゆる定型抗精神病薬は中脳線条体系、中脳辺縁皮質系の両方にその作用が及ぶことが知られている。一方でclozapine、リスペリドンなどのいわゆる非定型抗精神病薬は中脳線条体系への影響が少ないことが知られている。

最初期遺伝子c-fosの蛋白発現を指標とした神経活動の評価では、側坐核や線条

表10 主なドパミンニューロンの投射系 [Björklund & Lindvall, 1984 を改変]

投射系	神経細胞体	神経終末
1. 中脳線条体系	A9, 一部は A8 (腹側部) および A10 (前内側部) A10, 一部は A9 および A8 A10 A9	尾状核-被殻 側坐核 嗅結節, 分界条床核 淡蒼球, 視床下部
2. 中脳辺縁皮質系	A10 A10, A9 A10 (一部は A8) A9 A10, A9 A10 A10, A9	前頭前野, 上嗅領皮質 扁桃体, 梨状葉皮質, 傍嗅領皮質 内嗅領皮質 前部帯状回 海馬 中隔, 外側手綱核 背側縫線核, 青斑核
3. 脳質周囲系	中脳中心灰白質, 視床下部 (A11)	中脳中心灰白質, 視床, 視床下部
4. 不確帯視床下部系	不確帯, 脳質周囲視床下部 (A11, A13, A14)	不確帯, 中隔, 視床下部
5. 隆起漏斗系	視床下部弓状核および脳質周囲諸核 (A12, A14)	正中隆起, 下垂体後葉および中間葉
6. 嗅球体系	嗅球 (A16)	嗅糸球
7. 間脳脊髓系	視床下部, 不確帯, 視床下部 (A11)	脊髓
8. 網膜系	主として網膜内顆粒層	アマクリン細胞周辺

A10: 腹側被蓋野, A9: 黒質, A8: 赤核後野の細胞群を示す。



抗精神病薬の作用機序

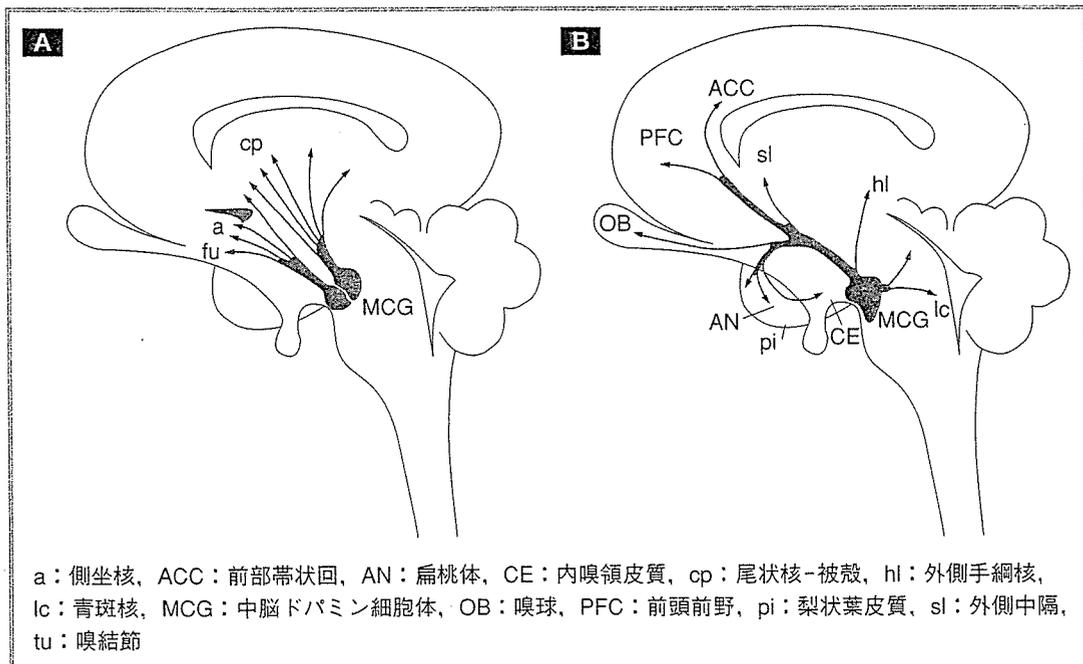


図16 中脳線条体系 (A) と中脳辺縁皮質系のドパミンニューロンの投射 [Björklund & Lindvall, 1984 を改変]

体内側部では定型、非定型のいずれの薬物の急性投与でも Fos 蛋白の発現がみられ、またリスペリドンを除くほとんどの抗精神病薬で外側中隔にも Fos 蛋白が誘導された。この結果は、これらの薬物の標的部位が側坐核や線条体内側部であることを支持するものであり、加えて外側中隔も重要であることを示している。線条体背外側部と側坐核での Fos 蛋白の発現を比べると、定型抗精神病薬では線条体背外側部での発現が側坐核での発現に比べて強く、逆に非定型抗精神病薬では側坐核での Fos 蛋白の発現が線条体背外側部に比べて強かった。定型抗精神病薬が線条体背外側部で Fos 蛋白を強く誘導することは、これらの薬物で比較的良好にみられる錐体外路系の副作用と関係すると考えられる。一方、clozapine をはじめとする多くの非定型抗精神病薬によって、側坐核や線条体内側部に加えて前頭前野での Fos 蛋白の誘導がみられ、これらの薬物の脳内標的部位として興味をもたれる (Robertson et al., 1994 ; Ohashi et al., 2000)。SPECT (single-photon emission computed tomography) による臨床研究でも、定型抗精神病薬では線条体、側頭葉の両部位で ^{123}I -epidepride (D_2 並びに D_3 受容体に結合する) の高い占拠率が観察されるが、それに対し clozapine では線条体の占拠率は 50%程度と低く側頭葉では高いという脳内の部位差を示したという報告がある (Pilowsky et al., 1997)。錐体外路症状などの副作用が clozapine などの抗精神病薬で出現しにくい理由の1つには、このような薬物の作用する部位の違いが関係している可能性がある。

Robertson らは抗精神病薬投与により誘導される Fos 蛋白陽性細胞数の部位差 (側坐核-背外側線条体) を atypical index と名付け、この値が大きいものほど非定型性が強いことを提唱している。濱村らのグループは、2003年の時点で日本で用いられているほとんどの抗精神病薬について atypical index を求め clozapine と比較した (図 17) (Oka et al., 2004 ; 濱村と黒田, 2003))。その結果従来薬でもピパンペロンなどは高い非定型性を有することが明らかになった。

d depolarization inactivation

ハロペリドールなどの抗精神病薬の慢性投与によって、ドパミン神経細胞が常に脱分極している状態となり、その結果通常の脱分極性の刺激には反応しなくなってしまうことが電気生理学的な実験で知られている。これは depolarization block あるいは depolarization inactivation と呼ばれており、抗精神病薬は後シナプス側におけるドパミン受容体遮断に前シナプス側の depolarization block によるドパミン系ニューロンの活動の抑制が加わってより強力な効果を発揮すると考えられる。PET (positron emission tomography) を用いた実験などの結果では抗精神病薬の D_2 受容体への結合は速やかに起こるが、臨床的には投与開始から十分な効果が発現するまでに時間がかかることが指摘されている。depolarization block はこの抗精神病薬の作用発現までの時間差を説明するにも都合がよい。興味深いことに

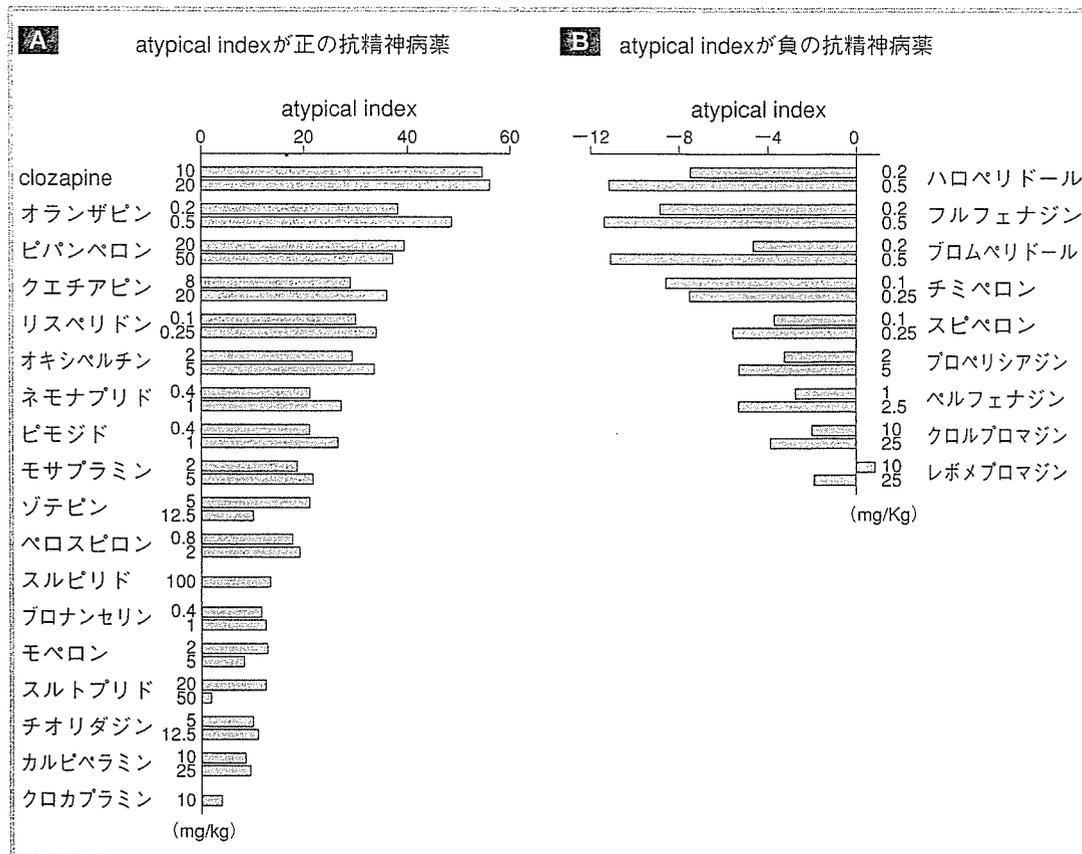


図17 各種抗精神病薬の atypical index [Oka et al., 2004 を改変]
 Aは atypical index が正の値を示した抗精神病薬で、値が大きいほど非定型性が高い可能性を示す。第二世代抗精神病薬はすべてここに含まれるが従来薬でもピバンペロンは高値を示した。Bは atypical index が負の値になった群で代表的な定型的抗精神病薬はここに属する。
 atypical index : Fos陽性細胞数 (側座核 - 線条体背外側部)

depolarization blockが誘導される脳部位は抗精神病薬の種類によって異なっている。ハロペリドールなどの定型抗精神病薬では線条体および辺縁領域に投射するドパミン系ニューロンに depolarization block を引き起こすが、clozapineでは辺縁系ドパミンニューロンにのみ depolarization block が起こる。したがって、抗精神病薬が共通して depolarization block を起こす辺縁領域に投射するドパミン系ニューロンが、抗精神病作用の発現に関与すると考えることができる。

e ドパミン系の耐性形成

抗精神病薬の連続投与で錐体外路症状などには耐性が生じるが、一方で抗精神病作用には耐性が生じないことが指摘されている。この現象から考えると、抗精神病薬を動物に連続投与した際、抗ドパミン作用に耐性を生じない部位が抗精神病作用と関係していると推測することが可能である。実際にラットやサルで、抗精神病薬投与による脳内各部位でのドパミン代謝の指標が検討され、著しい部位差が見いだ

された (Roth, 1983)。すなわち、線条体や辺縁系では抗精神病薬の急性投与によってドパミン代謝が亢進し、慢性投与ではその亢進が軽減ないしは正常化するが、前頭葉や前部帯状回などの大脳皮質では、慢性投与後もドパミン代謝の亢進が続いていることが示された。同様の結果は統合失調症患者の死後脳でも報告されており、長期にわたって抗精神病薬を服用していた症例では側頭葉、帯状回および前頭葉眼窩部で有意にドパミン代謝が亢進していたが、被殻や側坐核では対照群に比べて変化がなかった (Bacopoulos et al., 1979)。これらの結果からは、耐性の形成されにくい前頭葉や帯状回が抗精神病作用の発現と関係が深いと推定されている。

2 非定型抗精神病薬の作用

a 「第二世代」抗精神病薬と「非定型」抗精神病薬

前述したように、現在まで広く臨床的に使われてきたハロペリドールやクロルプロマジンなどの抗精神病薬は一般に定型抗精神病薬と総称される。これに対し、(1) パーキンソン症候群などの錐体外路症状の出現が少ない、(2) 陽性症状のみならず陰性症状に対しても効果がみられる、(3) 血清プロラクチンの上昇が少ない、(4) 定型抗精神病薬に反応しない症例にも効果がみられる、などの特徴をもつ薬物は非定型抗精神病薬と総称される。さらに、上述の辺縁系でのドパミン遮断作用が中脳線条体系に対して強い点や、抗ドパミン作用に比べて抗セロトニン作用が強い点なども非定型抗精神病薬の特徴とされる。抗DA作用と抗5-HT_{2A}作用を特徴とする抗精神病薬はセロトニン-ドパミン拮抗薬 (serotonin-dopamine antagonist, SDA) と総称され、現在の薬物開発の主流となっている。clozapineが非定型抗精神病薬の原型とされるが、現在さらに引き続いて多くの薬物が開発されてきている。本書では、clozapineが現時点 (2006年4月) で臨床使用されていないわが国において、リスペリドン以降に市販された抗精神病薬を第二世代抗精神病薬、それよりも前のものを第一世代抗精神病薬としている。しかし、例えば第一世代に属するゾテピンは、薬理的には抗ドパミン作用と5-HT_{2A/2C}受容体遮断作用をもち、非定型抗精神病薬としてのSDAの特性を有する。そこで、本項では作用機序からみた「定型」および「非定型」の表記も用いることとする。

b 非定型抗精神病薬とD₂受容体-PET studyの成果

Fardeらは定型抗精神病薬を服用し、精神症状が改善している統合失調症患者の被殻D₂受容体占拠率をPETで測定して、精神症状の改善には70%の占拠率が必要で、これが80%を超えると錐体外路症状が出現することを報告した (Farde et al.,

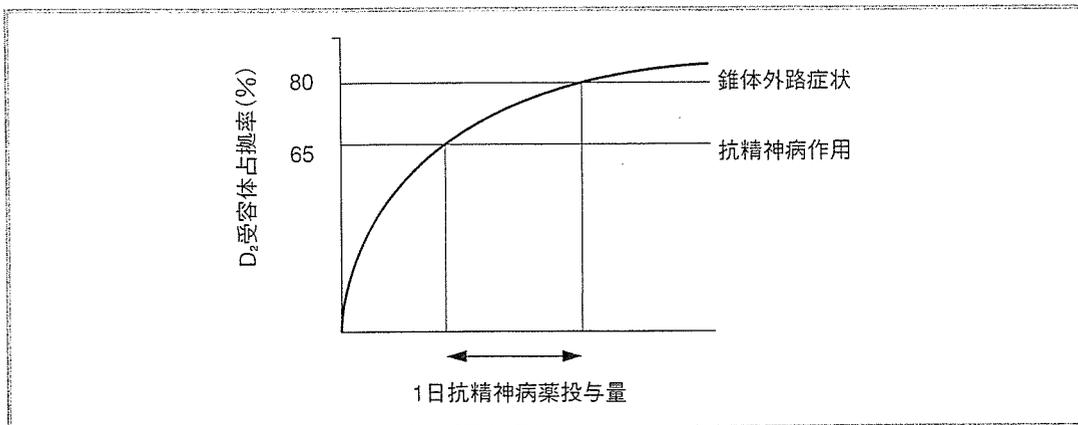


図18 ドパミンD₂受容体占拠率と抗精神病薬の臨床用量〔Nyberg et al, 1999を改変〕
 臨床上有用な（抗精神病作用を示すが錐体外路症系副作用はない）抗精神病薬の投与量はD₂受容体の占拠率が65～80%になる用量で規定される。

1992)。この結果はNordstromらにより racloprideを用いた二重盲検試験で確認された（Nordstrom et al, 1993）。しかし唯一の例外は非定型薬の clozapine で、抗精神病作用を示す投与量でもPETで測定したD₂受容体占拠率は25～50%程度に留まっていた。このため clozapine に特徴的なドパミンD₄受容体や5-HT_{2A}受容体拮抗作用の抗精神病作用が注目を集め、選択的5-HT_{2A}受容体拮抗薬やD₄拮抗薬の抗精神病作用の臨床治験が精力的に行われたが、後述のようにこれらの薬物の抗精神病作用は証明されなかった。SeemanとTollericoはPET studyで用いるD₂受容体標識リガンドによって clozapine の占拠率の結果が異なることに注目している。例えば clozapine のようにD₂受容体に親和性の低い薬物の脳内での受容体占拠率を測定する場合、用いられる放射性リガンドの親和性は一般に clozapine よりはるかに大きい。このため、定常状態では結合していた clozapine が放射性リガンドによって置き換えられるため、本来の結合より見かけ上D₂受容体の占拠率が低く見積もられている可能性を指摘した（Seeman & Tollerico, 1998）。さらにD₂受容体の占拠率PET研究で一般に用いられる raclopride を加えるとD₂受容体に結合している clozapine は数分で受容体から解離するのに対し、定型的抗精神病薬は結合したままであることを示した（Seeman & Tollerico, 1999）。つまり clozapine 占拠率の結果は、用いた放射性リガンドによる技術的なエラーで、実際には臨床的に有効な濃度では clozapine もD₂受容体も60%以上占拠されていることを示した。ここに至り抗精神病薬作用の必要条件としてD₂受容体拮抗作用があらためて広く受け入れられるようになった。KapurとSeemanはD₂受容体の占拠率が約65%を超えると抗精神病作用が生じ、72%を超えると血中プロラクチンが上昇し、78～80%を超えると錐体外路症状が出現すると報告している（図18）（Kapur & Seeman, 2001）。

さてこのようなPET Studyの結果を理解する際に注意しなければいけない点をいくつか提起しておきたい。第1点はこの理論は抗精神病薬が有効であった症例に

ついでのみあてはまる理論であり、無効な症例については説明できないこと。第2点はある抗精神病薬が無効な場合も第二、第三の抗精神病薬が有効であることが本書のアルゴリズムからも明らかであるが、D₂拮抗作用はすべての抗精神病薬に共通するためD₂受容体結合のみでこの事実を説明できないこと。第3点は線条体のD₂占拠率のみで錐体外路症状ばかりでなく抗精神病作用をも説明していることに限界である。線条体のD₂占拠率が80%を超えると錐体外路症状が出ることは線条体が錐体外路症状の責任部位であるので十分理解可能であるが、抗精神病作用の責任部位ははまだ定説はなく側頭葉や辺縁系である可能性のほうが高い。側頭葉や辺縁系においてもリスペリドンやオランザピンは線条体とほぼ同様なドパミンD₂受容体の占拠率を示した報告はあるが (Farde et al., 1997 ; Yasuno et al., 2001), 線条体のように臨床効果と占拠率を二重盲検で検討した研究はなく今後の検討が待たれる。

C 非定型抗精神病薬と錐体外路症状

急性錐体外路症状の多くは線条体ドパミン受容体の遮断によるドパミン系とアセチルコリン系の不均衡により生じる。第二世代抗精神病薬は錐体外路系副作用が少ないが、その機序は一様ではなく個々の薬物の薬理特性によっている。その薬理特性の主なものとして①ドパミンD₂受容体への親和性 (低親和性), ②5-HT₂受容体拮抗作用, ③抗コリン作用の3要素が挙げられる (表11, 図19)。全般的な錐体外路症状発現頻度に注目するとクエチアピン ≧ オランザピン > ペロスピロン ≒ リスペリドンの順に発生頻度は少なく, パーキンソン症状, 急性ジストニアやアカシジアの発現頻度もおよそこの順で少ない。遅発性ジスキネジアは第二世代抗精神病薬では発生頻度が少ないことが報告されているが, 遅発性ジストニアについてはclozapine以外では議論がある。また前述したように従来薬 (第一世代薬) のなかで錐体外路系副作用が少なく, かつては非定型薬に分類されていたものにピパンペロン, チオリダジン, ゴテピン, スルピリドなどがある。

①ドパミン受容体への親和性: 抗精神病薬はドパミンD₂受容体に結合し遮断的に作用するが, その親和性には強弱がある。SeemanとTallericoは内因性のドパミンと比較し, これより高い親和性をもつ抗精神病薬を“tight”, 弱い親和性をもつものを“loose”と分類した (Seeman & Tallerico, 1998)。D₂受容体に親和性が内因性のドパミンより小さい“loose”な抗精神病薬は, 線条体内因性ドパミン放出が増加すると, D₂受容体に結合している抗精神病薬は, すみやかに内因性ドパミンに置換される。このためドパミン神経伝達が保たれ錐体外路症状を惹起しにくい。D₂受容体親和性の最も低い抗精神病薬はクエチアピンでclozapineよりもさらに親和性が低い。

表11 抗精神病薬の非定型性を規定する薬理特性

	loose D ₂	5-HT ₂ 受容体拮抗作用	抗コリン作用
clozapine	++	++	++
クエチアピン	++	+	±
オラザピン	+	+	+
ピバンベロン	+	++	-
リスベリドン	-	++	-
ペロスピロン	-	+	-
ゾテピン	-	+	±
チオリアジン	-	-	++
スルピリド	+	-	-

〔濱村と黒田, 2003 を改変〕



②5-HT₂拮抗作用：5-HT₂拮抗薬である ritanserin は抗精神病薬による錐体外路症状を緩和する (Bersani et al., 1990)。これは縫線核から線条体に投射するセロトニン作動性神経は線条体ドパミン放出を抑制しているが、5-HT₂拮抗によりこの抑制がはずれドパミン放出が増加することによる (Muramatu et al., 1988) (図19)。

③抗コリン作用：線条体の介在神経であるコリン作動性神経は、ドパミンD₂受容体が抗精神病薬により遮断されると過活動となる。過剰に放出されたアセチルコリンは線条体の投射性GABA作動性神経をムスカリンM₁受容体を介して活性化し、錐体外路症状を引き起こす一因となる。抗コリン作用はこのM₁受容体を拮抗することによりパーキンソン症状を改善する (図19)。抗コリン作用は急性の錐体外路症状の軽減には有効であるのに対して遅発性ジスキネジアには増悪因子と考えられてきたが、clozapine やオランザピンは抗コリン作用を有するにもかかわらず遅発性ジスキネジアは少ない。D₂受容体親和性の低い“loose”な抗精神病薬では抗コリン作用を有することは急性錐体外路症状を軽減し、遅発性ジスキネジアについては悪影響を与えない可能性がある。

clozapine

1958年に開発され、主としてヨーロッパで抗精神病作用があることが報告されたが、1970年代にclozapineによると考えられる無顆粒球症で死亡例が出てから使用されなくなっていた。1980年代になって、定型的な抗精神病薬による治療に抵抗性の症例に対する効果が見直され、米国では1990年代になって再び使用されるようになった。わが国では現在のところ使用されていないが、治療抵抗性の症例や遅発性ジスキネジアなどの遅発性症候群を合併しやすい症例が良い適応であると考えられ、再評価が進められている。米国で、入院中の統合失調症患者に対する大規模なハロペリドールとの二重盲検の結果が報告されたが、それによると治療抵抗性

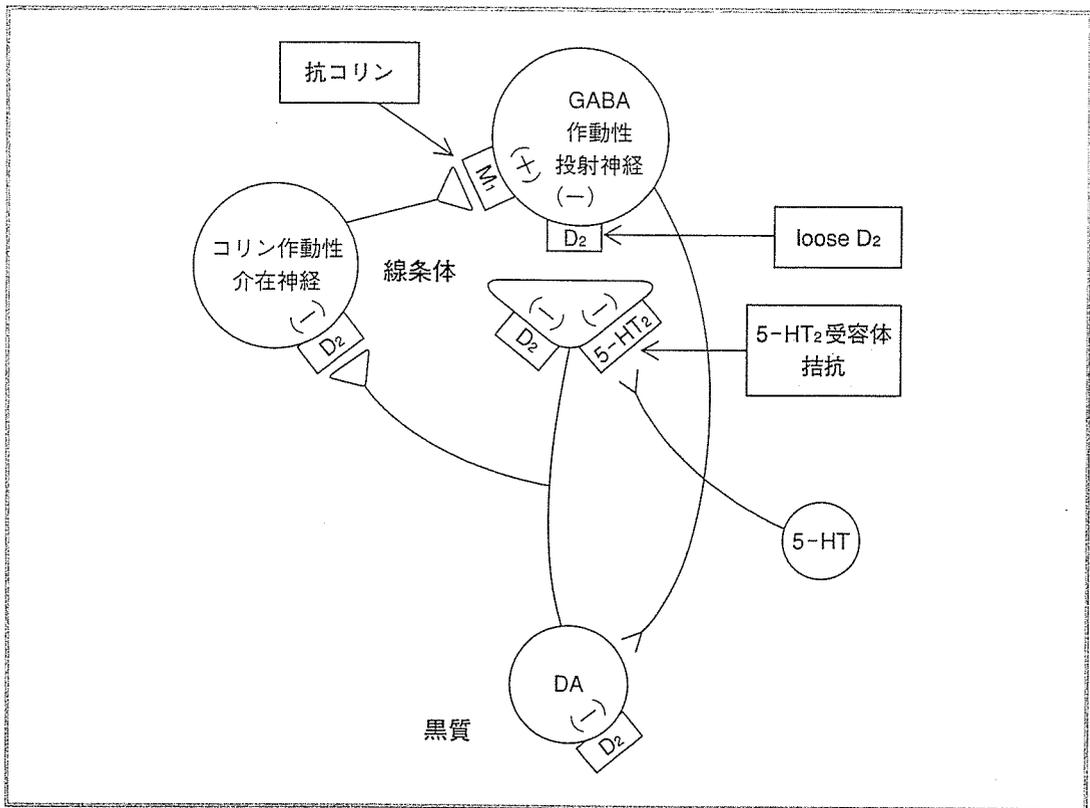


図19 黒質線条体路のD₂、5-HT₂、M₁受容体による制御と非定型性を規定する3要因
〔濱村と黒田, 2003より〕

の統合失調症の患者に対して clozapine がハロペリドールに勝る症状の改善と入院期間の短縮を示したという。その試験中、顆粒球減少は117例中3例で出現し、いずれも服薬を中止することで改善がみられた (Rosenheck et al., 1997)。

clozapine のもつ薬理作用については近年精力的に研究が進められているが、典型的な抗精神病薬が示す動物でのカタレプシーの誘発や、アポモルフィン、アンフェタミンで起こる異常行動に対する拮抗作用は弱い。これらの特徴は、clozapine がD₂受容体に対して典型的な抗精神病薬ほど強力な結合能を示さない (K_i = 50 ~ 150 nM) ことと関係していると考えられている。また clozapine はセロトニン2A (5-HT_{2A})、ヒスタミンH₁、ムスカリン性アセチルコリン受容体、α₁、α₂アドレナリン受容体などにも親和性が高い。clozapine は前述のドパミン受容体のサブタイプのうちではD₄受容体に最も親和性が高いことが報告された。これらの clozapine の薬理的なプロフィールから、D₂だけではなく5-HT_{2A}に対する効果も抗精神病作用として重要であると考えられるようになった。また一方で、D₄受容体に対する効果を重要と考える仮説に基づき、後述のD₄選択的拮抗薬の開発が進められた。

4 リスペリドン、ペロスピロン、クエチアピン

リスペリドンはclozapineとともに非定型抗精神病薬の代表であるが、抗セロトニン作用（特に抗5-HT_{2A}作用）に重点をおいて開発された薬物である。当初、ハロペリドールなどと同じブチロフェノン系薬物としてピバンペロンが合成されたが、これが抗5-HT_{2A}をもち、臨床的には抗焦燥作用、感情調整作用、抗自閉作用、徐波睡眠増加作用などがみられ、錐体外路症状の発現も少ないことが明らかとなった。その後、より強力な抗5-HT_{2A}作用をもつsetoperoneや、抗5-HT_{2A}作用は強いがほとんど抗D₂作用をもたないritanserinが開発され、さらに強力な抗D₂作用と抗5-HT_{2A}作用をもち生物学的利用率の高い薬物としてリスペリドンが開発された（原田，1983）。リスペリドンのもつ受容体結合能に関するプロフィールはclozapineに類似しているが、リスペリドンのD₂や5-HT_{2A}受容体に対する親和性はclozapineに比して高い。リスペリドンはクロザピンと同様に α_1 、 α_2 アドレナリン受容体やヒスタミン-1（H₁）受容体にも親和性が高く、clozapineに比べるとムスカリン性アセチルコリン受容体や5-HT₃受容体に対する親和性は低い。またclozapine同様D₄受容体に対しても親和性がある。海外で行われた慢性統合失調症患者への投与では、リスペリドンは1日4～8mgの範囲で全PANSS（Positive and Negative Syndrome Scale for Schizophrenia）スコア上の改善が最も優れていた。また副作用に関しては1日12mg以下ではハロペリドールの1日10mg投与群と比べて錐体外路症状の出現は有意に少なかったと報告されている（Peuskens & Resperidone Study Group, 1995）。すなわち、リスペリドンで錐体外路系副作用が出現しにくいという利点は、高用量投与ではみられなくなる。

わが国でも同様にSDAの開発が活発に行われている。ペロスピロンは5-HT_{2A}受容体に高い結合活性を示し、ついでD₂受容体、5-HT_{1A}受容体などに高い親和性を示す（大野，1995；大野，2000）。ハロペリドールを対照薬とした二重盲検比較試験の結果では、最終全般改善度についてはハロペリドールと同等に有効であった。さらに感情的引きこもり、運動減退、感情鈍麻などの陰性症状に該当するBPRS項目でペロスピロンはハロペリドールに比べて統計学的に有意に改善度が高く、試験開始から1、6週間後の錐体外路症状スコアも有意に少なかった（村崎他，1997b）。またモサプラミンを対照とした二重盲検比較試験では、最終全般改善度においてペロスピロンはモサプラミンと同様の有効率を示した。投与開始から2ないし3週間後の錐体外路症状の出現も有意に少なく抗パーキンソン薬の併用も投与開始から2ないし6週間で有意に少なかったと報告されている（工藤他，1997）。

クエチアピンはclozapineと比較的類似した各種受容体への結合能を示すが、ムスカリン性アセチルコリン受容体に対する親和性は低い。これまでの治験でクロロプロマジンと同等の治療効果を示し、大規模な二重盲検の結果でも抗精神病作用が確認された（Hirsch et al., 1993；Small et al., 1997；Sharma, 2001）。

f オランザピン

clozapineは従来の定型抗精神病薬に抵抗性の症例に対して効果があり、また錐体外路症状や遅発性ジスキネジアなどの副作用が少ないとされる。しかし造血機能に対する副作用が臨床の間では問題になり、そのためclozapineと同様の効果を持ちなおかつ副作用の少ない薬物が開発されてきた。オランザピンはclozapine構造類似体であり、 $D_1 \sim D_4$ 、 $5-HT_{2, 3, 6}$ 、ムスカリン性アセチルコリン受容体（サブタイプ1～5）、 α_1 アドレナリン受容体など多くの受容体に親和性を示す。このような薬理特性はMARTA（multi-acting-receptor-targeted-antipsychotics）として位置づけされている、欧米で大規模な症例でハロペリドールとの比較試験の結果が報告された。それによると、6週間による投与でオランザピンはハロペリドールに比べて有意に陰性症状を改善し、錐体外路症状も少なく、また無効な症例も少なかったという。また52週にわたる調査では、高用量でハロペリドールに比べ意欲欠如、無感情などの項目の改善度で優れていたという結果であった（Tollefson et al., 1997a；Tollefson & Sanger., 1997b）。ただし、両者で作用効果に大きな差が認められず、体重増加や医療コストの面を考慮すべきであるとする最近の報告もある（Rosenheck et al., 2003）。なお、非定型抗精神病薬の副作用としての、耐糖能異常、高脂血症・体重増加等のmetabolic syndromeについてはあらためて他章で詳述する。

g アリピプラゾール（ドパミン部分作動薬）

アリピプラゾール（OPC-14597）はわが国において開発された新規抗精神病薬で、ドパミン D_2 受容体部分作動薬という抗精神病薬としては初めての作用機序を有する薬物である（融，2004）。アリピプラゾールは D_2 ドパミン受容体に結合するが部分作動薬としての活性を有するため、すべての線条体 D_2 受容体に結合しても機能的には D_2 刺激作用が残存する。このため臨床用量では80%以上の線条体 D_2 受容体に結合するが（Yokoi et al., 2002）、錐体外路症状の出現頻度は偽薬群と同等である（Marder et al., 2003）。部分作動薬として何パーセントの内活性（固有活性）を有するかは D_2 受容体の密度やセカンドメッセンジャー系とのカップルにより左右されるのでヒトでの値は明らかでない。統合失調症患者に抗精神病薬を投与し抗精神病作用はあるが錐体外路症状が出ない状態では線条体 D_2 受容体は約9%に内因性ドパミンが結合していると推測されている（Frankle et al., 2004）ので、アリピプラゾールが95%以上 D_2 受容体に結合しても錐体外路症状が出ないことから推測すると線条体においては相対力価は10%かそれより少し大きい程度と推測できる。作動薬としての行動への作用を評価する動物モデルでは、片側線条体6-OHDA処置でドパミンを枯渇させたラットに対してアリピプラゾールは回転運