

【課程外】

博士（人間科学）学位論文

**脳機能障害問題行動動物モデルを用いた
アニラセタム有用性の行動薬理学的検討**

Mode of action mechanisms of aniracetam
on the cerebral dysfunction-elicited
behavioral abnormalities in rodents

2002年7月

早稲田大学大学院 人間科学研究科

田中 雄四郎

Tanaka、 Yushiro

目次

略語表	4
緒言	5-7
使用薬物一欄	8
第一章 脳機能障害誘発問題行動の動物モデルの検討	9-49
第1節 老齢ラットにおける概日リズム障害	9-21
1-1 序論	
1-2 実験材料及び実験方法	
1-3 実験成績	
1-4 考察	
第2節 初老期ラットにおける Scopolamine 誘発注意障害	22-27
2-1 序論	
2-2 実験材料及び実験方法	
2-3 実験成績	
2-4 考察	
第3節 初老期ラットにおける Apomorphine 誘発注意障害	28-31
3-1 序論	
3-2 実験材料及び実験方法	
3-3 実験成績	
3-4 考察	
第4節 老齢ラットにおけるうつ症状モデル	32-41
4-1 序論	
4-2 実験材料及び実験方法	
4-3 実験成績	
4-4 考察	
第5節 5-HT _{2A} 誘発幻覚様症状モデル	42-49
5-1 序論	
5-2 実験材料及び実験方法	
5-3 実験成績	
5-4 考察	

第二章 脳機能障害誘発問題行動の動物モデルに対する aniracetam の 有用性の行動薬理的検討	50-76
第1節 老齢ラットにおける概日リズム障害	51-57
1-1 序論	
1-2 実験材料及び実験方法	
1-3 実験成績	
第2節 初老期ラットにおける scopolamine 及び apomorphine 誘発注意障害	58-60
2-1 序論	
2-2 実験材料及び実験方法	
2-3 実験成績	
第3節 老齢ラットにおけるうつ症状モデル	61-64
3-1 序論	
3-2 実験材料及び実験方法	
3-3 実験成績	
第4節 5-HT _{2A} 誘発幻覚様症状モデル	65-69
4-1 序論	
4-2 実験材料及び実験方法	
4-3 実験成績	
第5節 考察	70-76
総括及び結論	77-80
謝辞	81
引用文献	82-95

略語表

ACh	acetylcholine
ADL	activity of daily living (日常生活動作)
AMPA	-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid
ChAT	choline acetyltransferase
CRT	choice reaction time
DA	dopamine
DOI	(±)-1-(4-iodo)-2,5-dimethoxyphenyl)-2-aminopropane
FST	forced swimming test (強制水泳試験)
GABA	-aminobutyric acid
5-HIAA	5-hydroxyindole acetic acid
5-HT	5-hydroxytryptamine、serotonin
5-HTP	5-hydroxy-L-tryptophan
HTR	head-twitch response (首振り運動)
LDTg	laterodorsal tegmental nucleus (橋背外側被蓋核)
MAO	monoamine oxidase
mACh	muscarinic acetylcholine
mGlu	metabotropic glutamate (代謝調節型グルタミン酸)
nACh	nicotinic acetylcholine
PPTg	pedunculo pontine tegmental nucleus (中脳脚橋被蓋核)
PSD	post stroke depression
QOL	quality of life (生活の質)
SCN	suprachiasmatic nucleus (視交叉上核)
SHR	spontaneously hypertensive rat
SHRSP	stroke-prone spontaneously hypertensive rat
SSRI	selective serotonin reuptake inhibitor
VTA	ventral tegmental area (腹側被蓋野)
WKY	Wistar Kyoto rat

緒言

我が国における人口の高齢化率は2000年の日本人総人口のうち約17%が65歳以上の老年者であり、2020年には老年者の割合は25.5%、4人に1人が老人になると予測されている(厚生白書1997)。高齢者は加齢に伴う種々の心身機能の低下や障害が生じ、加齢と共にそれらの変化は著しくなり、特に注目されるのが中枢神経系の変化で、大脳皮質や小脳皮質などの部分での神経細胞数の減少が顕著となる(朝長正徳1978)。高齢者社会では脳機能低下や障害が誘因となって生じる痴呆症の患者数が増加すると見られており、中でも80歳を過ぎると4-5人に1人が痴呆となり、将来的には300万人を超える痴呆患者が出現すると予想されている(小阪憲司1997)。痴呆を起こす疾患をWHOのICD-10ではアルツハイマー型痴呆、脳血管性痴呆、その他一次性、二次性に脳障害を起こす疾患と規定されており(融道男ほか、1993)、従来我が国では脳血管性痴呆が多いとされていたが近年では欧米と同様にアルツハイマー型痴呆の比率が増加してきている。

脳血管障害により生ずる痴呆は虚血、梗塞、出血などを原因とする脳組織の障害により出現する痴呆であり、発生機序としては局所性病変でありながら広範な精神神経症候を引き起こす。これには1)局所性脳病変が継時的に多発し、症状が全般化する場合であり、小血管病変多発によるピンスワンガー病や多発性の大きな完全梗塞による多発梗塞性痴呆がこれにあたる。また2)局所性病変でありながら全般的症候を発現するような重要な部位での場合であり、大脳連合野と大脳辺縁系や上行性網様賦活体系との繊維連絡の遮断や、海馬・内側視床などの回路中継核病変によって生じる痴呆が考えられている(山口、高山1999)。尚、広範囲な脳梗塞や重症脳卒中では痴呆症候よりも高度の運動障害、複数の大脳皮質症候、すなわち寝たきり、四肢麻痺、植物状態などを示すことが多く、これら重症脳血管性障害は脳血管性痴呆とは区別される(Drachman 1993)。脳の局所性病変による痴呆の症状は従って、記憶障害や見当識障害等の知的機能障害を意味する中核症状と、意識・意欲障害や情緒障害等の随伴する精神症状や徘徊などの行動異常を含む周辺症状に大別される。周辺症状の意識障害は覚醒 睡眠リズムも障害されている事が多く、意識混濁を生ずる。認知障害を伴う意識障害である譫妄は、精神運動興奮、幻覚、妄想、不安、抑うつ、不穏、興奮・攻撃などをしばしば伴う活動過剰型譫妄と、逆に反応が低下し、傾眠傾向を示す活動減少型譫妄がある。譫妄では軽度から中程度の意識低下があり、見当識障害や認知障害、幻覚・妄想等がみられる。夜間譫妄のみられるものでは覚醒 睡眠リズム障害が基本にある。

脳血管障害やアルツハイマー病の患者は記憶・学習障害を引き起こすだけでなく、覚醒度、注意力等の低下や睡眠障害も引き起こす。これは中枢アセチルコリン(ACh)神経系の機能低下や機能不全に起因すると思われる (Broks et al. 1988; Dellu et al. 1991; Kojima et al. 1983; Little et al. 1995; Muir et al. 1994; Perry et al. 1978; 1985; 1990; Perry and Perry 1995; Voytko et al. 1994)。また、睡眠 - 覚醒リズム障害は徘徊、夜間譫妄などの行動障害と関連し、この障害は自発性や意欲の欠如、譫妄、抑うつ等精神状態の基本的事柄に關与すると思われる(Mishima and Hishikawa 1997; Witting et al.1990)。

脳血管障害後の精神症候の1つにうつ症状の発現があり、脳卒中発作直後および慢性期患者の30 - 50%に認められ(Robinson and Starkstein 1990)、神経生化学的研究では中枢セロトニン(5-HT)神経系の機能低下が患者脳部位や、脳脊髄液中で報告されている(Bryer et al. 1992; Gottfries et al. 1994)。その一方で、上行性ドパミン(DA)神経経路の機能低下や機能不全が脳梗塞後遺症のうつ病患者で確認されている(Brown and Gershon 1993; Chemerinski and Robinson 2000; Gottfries et al. 1994; Mann and Kapur 1995; Nierenberg et al. 1998)ことから、DAが直接的に又は間接的に他の神経伝達物質システムと相互作用をもち、脳血管障害後に生じるうつとの関連性を示している。

このように脳血管障害患者は、中枢ACh神経系のみならず、5-HT神経系、DA神経系などの機能低下や機能不全、さらに相互ネットワークの機能異常が生じている可能性が示唆され、それらの結果として記憶障害・見当識障害等の中核症状と、意識障害・意欲障害・情緒障害・徘徊等の周辺症状を呈し、その後の日常生活動作(ADL)減少や、生活の質(QOL)の低下を招きかねない。

痴呆患者の中核症状に有効な薬剤はなく、周辺症状である異常行動や精神症状に対して既存の向精神病薬が処方されているが、必ずしも活動性の変化が統合された方向での改善に結びつかない場合もある。高齢者で脳障害のある患者ではこれら薬剤によりかえって痴呆の悪化や他の新たな精神症状を発現するといった副作用を誘発する可能性が生じる(山本、渡辺、1996)。2-Pyrrolidinone誘導体である aniracetam (図 - 1) は F. Hoffmann-La Roche社で合成・開発され、動物実験で優れた抗健忘効果(Martin and Haefely 1993)を示し、安全性においても一般薬理試験で副作用を示唆するような作用は報告されていない(Himori et al. 1986)。その作用機序は脳内ACh神経系賦活作用、脳内グルコース利用率改善やATP産生促進などによる脳エネルギー代謝改善、グルタミン酸受容体調節によるシナプス伝導効率促進作用等によるとされている(Martin and Haefely 1993)。

従って、本研究は脳血管障害患者に発現する周辺症状に注目し、1) 脳機能全般が低下している老齡ラット並びに中枢作動薬投与による一過性の脳機能不

全ラットが痴呆患者の周辺症状に類似した症状を発現するか否かと、中枢 ACh 神経系、DA 神経系並びに 5-HT 神経系の関与を検討すると同時に、2) 新規脳機能改善薬で 2-pyrrolidinone 誘導体ある aniracetam の有効性をこれら動物モデルを用いて行動薬理的に評価した。本研究で用いた動物モデルは 1) 睡眠 - 覚醒リズム障害モデルとして老齢ラットにおける概日リズム障害、2) 譫妄 - 妄想様モデルとして薬物誘発注意障害、3) うつ症状モデルとして強制水泳試験、4) 幻覚様症状モデルとして薬物誘発首振り運動である。なお、本実験で使用した薬物の薬理学的特性の一覧を表 - 1 に示す。

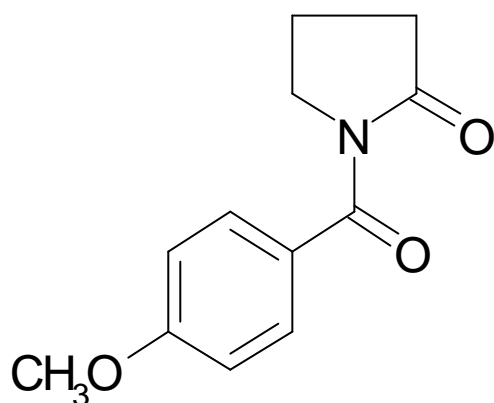


図 - 1 Aniracetam の化学構造式

表 - 1 使用薬物一覧表

コリン作用薬

ムスカリン様アセチルコリン[mACh]作動薬

Physostigmine(コリンエステラーゼ阻害剤)

ムスカリン様アセチルコリン[mACh]拮抗薬

Scopolamine(中枢作用性)、Butylscopolamine(末梢作用性)

ニコチン様アセチルコリン[nACh]作動薬

Nicotine

ニコチン様アセチルコリン[nACh]拮抗薬

Mecamylamine

ドパミン[DA]作用薬

作動薬

Apomorphine(D₁/D₂)、Bromocriptine(D₂)

拮抗薬

Haloperidol(D₁/D₂)、Sulpiride(D₂)、Tiapride(D₂)

セロトニン[5-HT]作用薬

作動薬

5-hydroxy-L-tryptophan(5-HTP、セロトニン前駆物質)、Quipazine(取り込み抑制剤)、Tandospiron(5-HT_{1A})、(±)-1-(4-Iodo)-2,5-dimethoxyphenyl)-2-aminopropane (DOI; 5-HT_{2A/2C})

拮抗薬

Cyproheptadine(非選択的)、Ketanserin(5-HT_{2A/1C})、Ritanserin(5-HT_{2A/2C})、Ondansetron(5-HT_{3A})、Metoclopramide(5-HT_{3A/DA} D₂)、Tropisetron(5-HT₃)、2-Methylserotonin(5-HT₃)

抗うつ薬

Fluoxetine(選択的セロトニン再取り込み抑制剤)、Imipramine(セロトニン、ノルアドレナリン再取り込み抑制剤)、Nortriptyline(ノルアドレナリン再取り込み抑制剤)、Mianserin(非定型抗うつ薬)

モノアミン酸化酵素[MAO]抑制剤

Moclobemide(A型モノアミン酸化酵素抑制剤)、Lazabemide(B型モノアミン酸化酵素抑制剤)

-Amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid[AMPA]拮抗剤

2,3-Dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(*F*)quinoxaline [NBQX]

脳代謝賦活剤

Nefiracetam

() ; 受容体サブタイプ、またはその特性

第一章 脳機能障害誘発問題行動の動物モデルの検討

脳血管障害やアルツハイマー病による脳機能低下や不全は神経精神症状、いわゆる問題行動を発現する。本節では問題行動のうち特に概日リズム障害、注意・覚醒障害、うつ様症状並びに幻覚に注目しこれら神経精神様症状に関連する神経伝達物質との関連性を検討する目的で、老齢ラットまたは中枢作動薬投与による一過性の脳機能不全ラットを用い、中枢 ACh 神経系、DA 神経系並びに 5-HT 神経系の関与とこれら動物が病態動物モデルに成り得るかを行動薬理学的検討を行った。

第 1 節 老齢ラットにおける概日リズム障害

1-1 序論

老齢期の脳血管障害またはアルツハイマー病は神経精神疾患、認知障害、概日リズム障害等が発現し、時間的規定や時間記憶の不全は睡眠障害、リズム障害、夜間問題行動として現れ、特に睡眠 - 覚醒リズム障害は徘徊、夜間譫妄、激高などの行動障害と関連し、概日リズム障害はとりわけそれら問題行動、精神状態の基本的事柄と思われる(Mishima and Hishikawa 1997; Otomo et al. 1991; Witting et al.1990)。また、行動障害を含むこれら症状はリハビリテーションの妨げになり、結果として ADL の減少や、QOL の低下を招く(Hutter et al.1995)。

動物実験及びヒトにおいて、中枢 ACh 神経系の機能低下は行動の時間的規定や時間記憶に重要であろうと思われ(Ingilis et al. 1994; Ono et al. 1995)、多発性、またはピンズワングー性の脳血管性痴呆の患者やアルツハイマー病の患者では脳内の ACh 量の減少、ACh 合成酵素(choline acetyltransferase; ChAT)活性の低下、ムスカリン性 ACh(mACh)受容体の減少が報告され(Gottfries et al. 1994; Sakurada et al. 1990; Tohgi et al. 1996)、概日リズム障害、睡眠障害、行動異常が見られる(Katsunuma et al. 1998; Mishima and Hishikawa 1997; Otomo et al. 1991; Perry and Perry1995)。動物モデルでも中枢コリン神経系は行動の時間的規定や時間記憶に関連し、これらの機能低下や機能不全は概日リズムが障害される (Mistlberger et al. 1990; Ono et al. 1995; Shibata et al. 1994a)。

本節では、全般的な中枢神経系の機能不全である老齢ラットとこの機能が正常である若齢ラットを用い、給餌制限による概日リズム変化、すなわち制限

給餌性期待行動概日リズム変化について比較検討を行い、老齢ラットでみられる制限給餌概日リズム障害に対し中枢 DA、mACh、ニコチン性 ACh(nACh)、5-HT 神経系の関与、並びに興奮性アミノ酸がイオン調節型 -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) 受容体を介して ACh を遊離する事が知られている (Giovannini et al. 1993; Kendrick et al. 1996)ため、AMPA 受容体の関与についても検討を行った。

1-2 実験材料並びに実験方法

使用動物：実験には雄性ウイスター系ラット（日本チャールスリバー社）を使用し、1 ケージ 3 匹で飼育した。実験には室温 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、定時間照明（7:30-19:30）の環境で、自由給水、自由給餌（CRF-1、日本チャールスリバー社）下、少なくとも 1 週間の予備飼育を行った後実験に使用した。

実験方法：若齢（9 週齢）及び老齢（30 ヶ月齢前後）ラットを用い、制限給餌誘発期待行動は Shibata らの方法(1994a)に準じて行った。すなわち、各ラットは環境に順化させる目的で横 21cm、縦 32cm、高さ 26cm のプラスチック製ラット用ゲージに 1 週間単独飼育を行った。その後、24 時間絶食を行った後（Day 0）制限給餌を行った。すなわち、Day 1 より Day 6 までの 6 日間、13:30 より 1 時間自由摂餌とし、Day 7 に再び絶食にした(図 - . 2)。運動量はニューロサイエンス社製 AB システムで 1 時間間隔で記録した。

実験期間中は自由給水とした。一日摂餌量は給餌制限開始前（Day-6 から-2）と給餌制限期間中（Day 2 から 6）に測定し、それぞれ平均して求めた。Nefiracetam 及び physostigmine は 1 日 1 回、Day 1 より Day 7 まで 7 日間、給餌終了直後（14:30）に投与した。また各種受容体拮抗薬は Day 5 から Day 7 までの 3 日間投与とし、Day 5、6 については給餌終了直後（14:30）に、Day 7 については 10:30 に投与した。制限給餌誘発期待行動(mealtime-associated anticipatory activity : %カウント)は 24 時間の総運動量に対する給餌開始 2 時間前の運動量（11:30-13:30）と規定した。尚、実験室の明期は 7:30-19:30 とした。簡略化したタイム スケジュールを図 - 2 に示す。

使用薬物並びに投与方法：Nefiracetam はスイス・ロシュ社で合成されたものの供与を受け、その他の薬物は physostigmine hemisulfate、mecamylamine hydrochloride(以上 Sigma)、scopolamine hydrobromide(東京化成)、2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(F)quinoxaline disodium (NBQX)、ketanserin tartrate(以上 Research Biochemicals)、haloperidol(ゼレネ - ス注射剤、大日本製薬)を使用した。

Physostigmine、scopolamine、ketanserin、haloperidol、mecamylamine は

0.9%生理食塩液に溶解し、体重 1kg 当たり 1ml の割合で腹腔内投与し、NBQX はりん酸緩衝用食塩液に溶解し、慢性的に左側脳室に植え込んだカニューレ(ブレグマより - 1.4mm、左側 2.0mm、深さ 5.0mm) により覚醒ラットに 3 μ l 投与した (Nakamura et al. 2000)。Nefiracetam は Tween 80 を含有する 0.25%カルボキシメチルセルロース溶液(0.25%CMC 溶液)に体重 1kg 当たり 5ml になるよう用時懸濁し、経口投与した。コントロールは 0.25%CMC 溶液、0.9%生理食塩液またはりん酸緩衝用食塩液を溶媒とし、各薬剤と同一投与スケジュールで投与した。

統計解析：同一個体を時間軸で検討する場合は繰り返しのある一元配置分散分析 (ANOVA) を行った後 Ryan-Einot-Gabriet-welsch 法の多重比較を、又群間比較の場合は、Student の t-test 又は一元配置分散分析後に Dunnett の t-test による多重比較を行い、いずれも P 値が 0.05 以下を統計的に有意差ありとした。尚、%変換されたデータはいずれも逆正弦変換をした値を用いた。

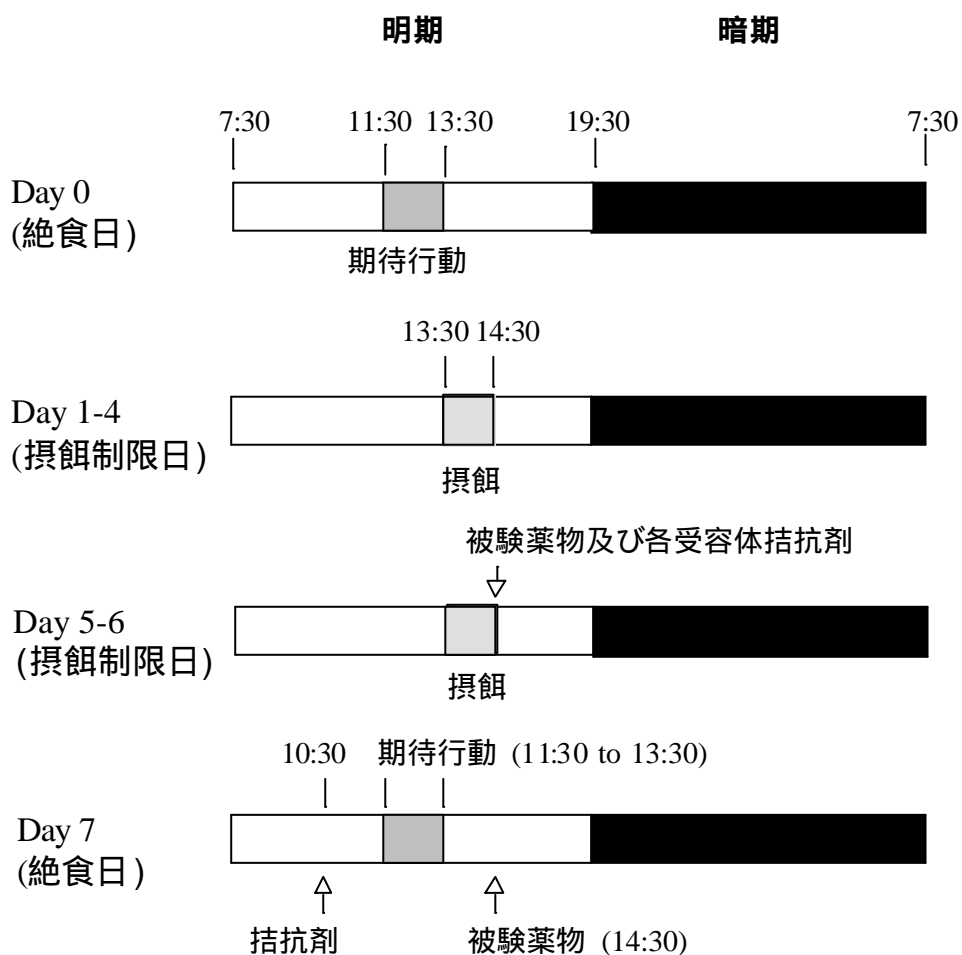


図 - 2 実験スケジュール

1-3 実験成績

1-3-1 若齢及び老齢ラットでの概日リズム並びに制限給餌誘発期待行動の比較

自由給餌条件下では若齢及び老齢ラット共、暗期の行動量が高い特異的な夜間行動パターンのリズムを示した。しかし、老齢ラットの暗期及び1日の総行動量は若齢ラットに比較して著しく低値であった。従って、老齢ラットの暗期に対する明期の活動量(L/D ratio)は若齢ラットに比較して高値であった(図 - 3、4)。制限給餌期間の Day 6 及び Day 7 において、若齢ラットの明期の活動量は制限給餌前に比較して著明に増加し、暗期及び総1日行動量は減少した。若齢ラットで認められた明期の活動量増加は主に制限給餌誘発期待行動の発現並びに摂食行動そのものと思われる。また、暗期及び総1日行動量の減少は制限給餌によるため暗期行動量の著しい低下によるものと推定された。その結果、暗期に対する明期の活動量(L/D ratio)は著明に増加した。一方老齢ラットにおいて、制限給餌を行っても明期の行動量増加は認められず暗期行動量減少も僅かであり、総1日行動量も変化は見られなかった。7日間の制限給餌は若齢ラットで制限給餌誘発期待行動を発現し、給餌開始2時間前から給餌開始直前までの行動量は Day -1 に比較し Day 6、7 で各々約 3.5、10 倍と高値を示した。これに対し、老齢ラットでの制限給餌誘発期待行動の発現は微弱であり(図 - 3)、老齢により制限給餌誘発期待行動は障害された。この事は老化による脳機能全般の低下が概日リズムを障害し、行動の時間的規定や時間記憶が若齢ラットに比較して機能不全に陥ったことを示している。尚、摂餌量は自由給餌、制限給餌下共に若齢ラットの比較して老齢ラットではわずかに低値を示したが両群間で差は認められず、制限給餌では、若齢、老齢ラット共摂餌量は自由給餌期間の約 40%であった(表 - 2)。

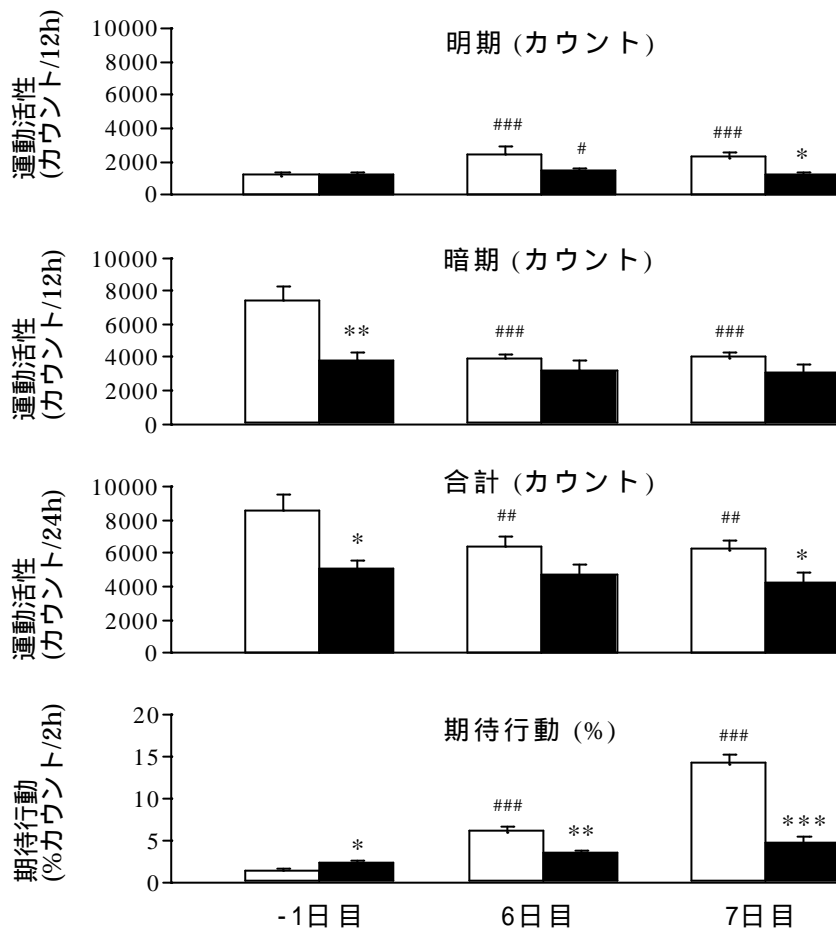


図 - 3 若齢及び老齢ラットの明期、暗期、総運動活性及び制限給餌誘発期待行動の比較。昼間及び夜間運動量はそれぞれ明期(7:30-19:30)、暗期(19:30-7:30)の行動量を測定し、期待行動(%カウント/2時間)は1日総運動量に対する11時30分から2時間の総運動量の割合を示す。データは1群6-7匹の平均値±標準誤差で表示し、白カラムは若齢ラット、黒カラムは老齢ラットを示す。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$ vs 若齢ラット、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ 、### $P < 0.001$ vs 対応する実験-1日目の値。

表 - 2 若齢及び老齢ラットの制限給餌前後の1日当たりの給餌量の比較

群	制限給餌前	制限給餌中	制限給餌前に対する割合(%)
若齢ラット	21.6 ± 0.53	8.6 ± 0.46	39.8
老齢ラット	19.3 ± 1.77	7.8 ± 0.89	40.3

データは制限摂餌前 (Days -6 to -2) と 制限給餌期間中 (Days 2 to 6) の1日摂餌量(g/ラット/日)の平均値 ± 標準誤差(n=4-9 rats/group)を示す。

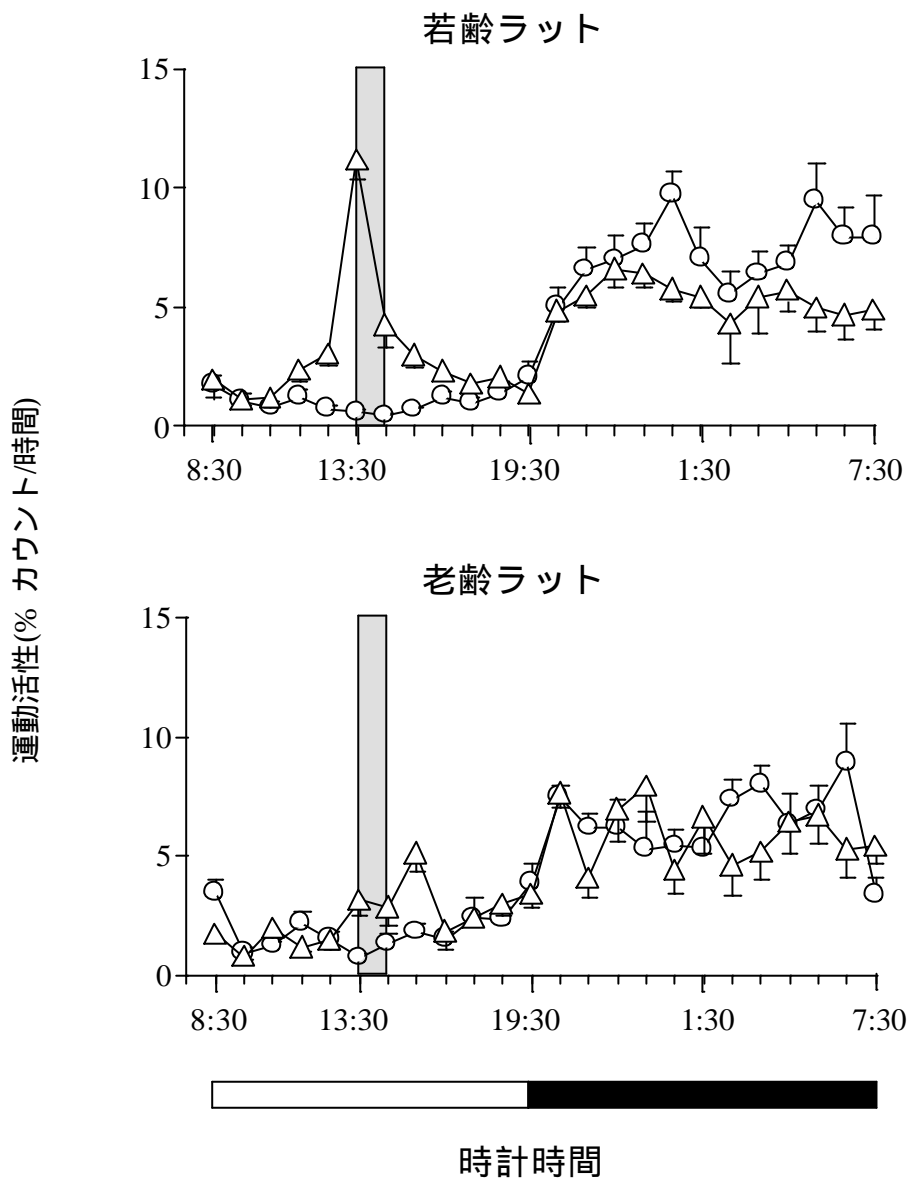


図 - 4 若齢及び老齢ラットの日内運動活性変化の比較。 印は実験-1 日目、
 印は実験 7 日目を、ドットカラムは 13 時 30 分から 1 時間の自由給餌時間示し、
 X 軸白カラム及び黒カラムはそれぞれ明期(7:30-19:30)、暗期(19:30-7:30)を示す。
 データは 1 群 6-7 匹の平均値 ± 標準誤差を示す。

1-3-2 老齡ラットの制限給餌誘発期待行動障害に対する ACh 系薬剤

老齡ラットは制限給餌前及び制限給餌中でも暗期に行動量が増加する特異的な夜間行動パターンのリズムを示すが、制限給餌誘発期待行動は認められなかった。しかし、mACh 作動薬である physostigmine 0.1 mg/kg の 7 日間に亘る連続投与は老齡ラットで発現した制限給餌誘発期待行動の障害を改善し、明期行動量を増加させた。しかし、改善効果の認められた用量で流涎等の副作用が発現した。中枢 ACh 神経賦活作用を示すラセタム系薬剤である nefiracetam 10 mg/kg は老齡ラットに認められる制限給餌誘発期待行動に対し増加傾向を示したが有意な改善作用は認められなかった(表 - 3、図 - 5)。

一方、mACh 拮抗剤である scopolamine (0.1 mg/kg i.p.)、nACh 拮抗剤の mecamylamine (3 mg/kg i.p.)両剤の 3 日間に亘る単独投与は制限給餌性期待行動に対し何ら作用を及ぼさなかった(図 - 5)。今回使用した各薬剤は明・暗期の行動量に対し影響を与えず(表 - 3)、摂餌量も影響しなかった。

表 - 3 老齡ラットにおけるアセチルコリン作動薬及び拮抗薬の運動活性に対する効果

使用薬物 及び投与量	期間 (カウント数)	運動活性		
		実験-1日目	実験6日目	実験7日目
溶媒投与群 -	明期	1759 ± 246	1920 ± 225	1623 ± 209
	暗期	4923 ± 773	4032 ± 396	3920 ± 440
	総1日量	6683 ± 984	5953 ± 500	5543 ± 579

Physostigmine 0.1 mg/kg s.c.	明期	1591 ± 221	2048 ± 227 ^b	2117 ± 282 ^b
	暗期	4718 ± 625	3207 ± 483 ^c	3308 ± 530 ^c
	総1日量	6309 ± 792	5255 ± 661 ^b	5425 ± 796 ^b

Nefiracetam 10 mg/kg p.o.	明期	1659 ± 492	1770 ± 257	1769 ± 483
	暗期	4717 ± 719	3324 ± 443	3690 ± 674
	総1日量	6376 ± 957	5094 ± 659	5460 ± 1129

溶媒投与群 -	明期	1515 ± 295	1913 ± 429	2131 ± 481
	暗期	4308 ± 760	3381 ± 565 ^b	3244 ± 548 ^b
	総1日量	5823 ± 1035	5295 ± 924	5376 ± 953

Scopolamine 0.1 mg/kg s.c.	明期	1263 ± 299	2022 ± 182 ^a	1569 ± 176
	暗期	3852 ± 599	3646 ± 482	3225 ± 627
	総1日量	5116 ± 807	5668 ± 606	4794 ± 634
<hr/>				
溶媒投与群 -	明期	1394 ± 221	1832 ± 381	1875 ± 425
	暗期	4023 ± 537	3464 ± 491	3429 ± 518
	総1日量	5417 ± 665	5297 ± 809	5304 ± 840
<hr/>				
Mecamylamine 3 mg/kg s.c.	明期	1314 ± 232	1783 ± 351	1458 ± 285
	暗期	3741 ± 589	2679 ± 506 ^b	3430 ± 582
	総1日量	5054 ± 791	4462 ± 819	4888 ± 782

データは1群4-6匹の平均値±標準誤差を示す。a $P < 0.05$ 、b $P < 0.01$ 、c $P < 0.001$ vs 対応する実験-1日目の値。

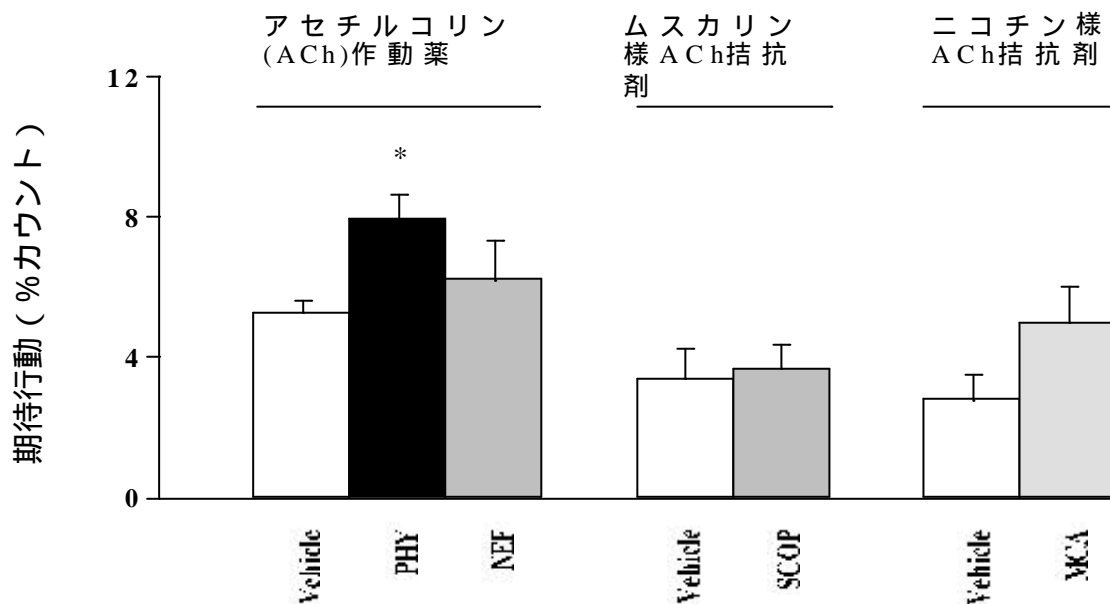


図 - 5 老齡ラットの制限給餌誘発期待行動に対するアセチルコリン (ACh) 作動薬及び拮抗薬の効果 (実験7日目)。データは1群4-6匹のラットの期待行動 (% カウント) の平均値 ± 標準誤差を示す。* $P < 0.05$ vs 溶媒投与群。Vehicle ; 溶媒投与群、PHY ; physostigmine(0.1 mg/kg s.c.)、NEF ; nefiracetam(10 mg/kg p.o.)、SCOP ; scopolamine(0.1 mg/kg i.p.)、MCA ; mecamylamine(3 mg/kg i.p.)

1-3-3 老齡ラットの制限給餌誘発期待行動障害に対する DA、5-HT 及び AMPA 拮抗剤

DA D₂ 拮抗剤である haloperidol (0.1 mg/kg ip.)それ自体は制限給餌性期待行動に何ら影響を及ぼさなかった。しかし haloperidol は Day 7 においても特異的な夜間行動パターンのリズムを示すが、暗期、明期及び 1 日の行動量は Day -1 に比較して著しく低下し、本剤による行動抑制が観察された。5-HT₂ 拮抗剤の ketanserin (1 mg/kg i.p.)は概日運動活性リズム、暗期、明期及び 1 日の行動量に影響しなかった。しかし、老齡ラットでの制限給餌誘発期待行動の障害を著しく回復し、その効果はmACh 作動薬の physostigmine と同様であった(図 - 6、表 - 4)。なお、haloperidol、ketanserin は溶媒投与群と比較して摂食量に著しい差は認めなかった。AMPA 拮抗剤の NBQX (1 μg/rat)脳室内投与は行動並びに行動量に何ら影響せず、概日運動活性リズムの回復は認められなかったが(図 - 6、表 - 4)、摂餌量は著明に減少した。

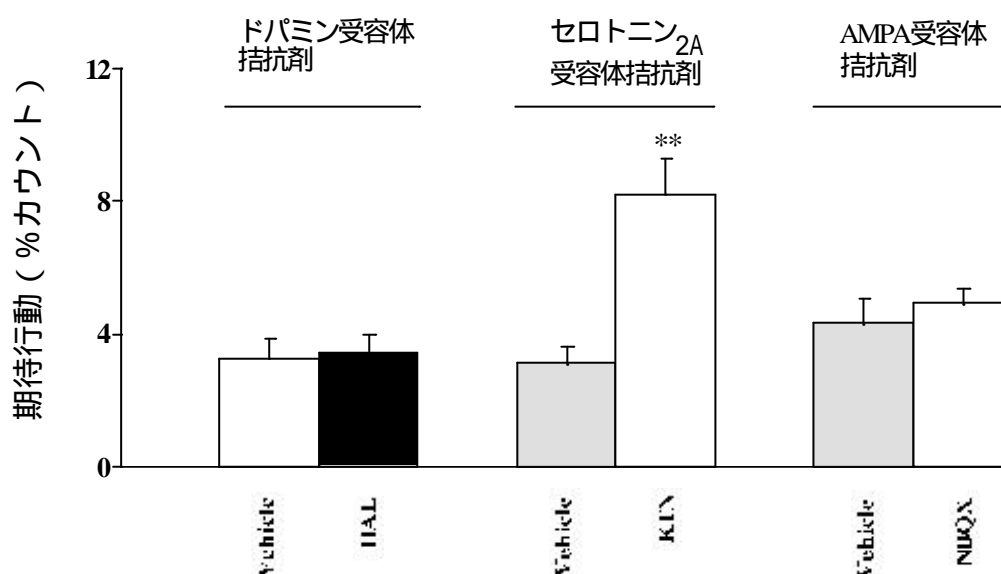


図 - 6 老齡ラットの制限給餌誘発期待行動に対するドパミン受容体拮抗剤、セロトニン_{2A}受容体拮抗剤、AMPA受容体拮抗剤の効果(実験7日目)。データは1群4-6匹のラットの期待行動(%カウント)の平均値±標準誤差を示す。
** $P < 0.01$ vs 溶媒投与群。Vehicle ; 溶媒投与群、HAL ; haloperidol (0.1 mg/kg i.p.)、KTN ; ketanserin (1 mg/kg i.p.)、NBQX ; NBQX (1 μg/rat i.c.v.)。

表 - 4 老齡ラットにおける haloperidol、ketanserin、NBQX の運動活性に対する効果

使用薬物 及び投与量	期間 (カウント数)	運動活性		
		実験-1日目	実験6日目	実験7日目
溶媒投与群 -	明期	1650 ± 144	1711 ± 179	1759 ± 147
	暗期	4338 ± 578	3575 ± 447	4074 ± 444
	総1日量	5988 ± 622	5286 ± 573	5834 ± 437
Haloperidol 0.1 mg/kg i.p.	明期	1103 ± 120	1073 ± 164	657 ± 110* ^b
	暗期	4973 ± 438	2712 ± 289 ^c	2818 ± 324 ^c
	総1日量	6077 ± 483	3785 ± 393 ^b	3475 ± 385* ^b

Vehicle -	明期	1586 ± 138	1650 ± 163	1679 ± 148
	暗期	4413 ± 495	3602 ± 379	3923 ± 405
	総1日量	5998 ± 526	5252 ± 486	5602 ± 436
Ketanserin 1 mg/kg i.p.	明期	1456 ± 155	1706 ± 156	1432 ± 143
	暗期	4558 ± 320	3093 ± 288 ^c	3055 ± 482 ^c
	総1日量	6014 ± 427	4799 ± 419 ^b	4486 ± 598 ^b

Vehicle -	明期	1529 ± 197	2532 ± 185 ^b	1891 ± 251
	暗期	4958 ± 333	4906 ± 976	4183 ± 884
	総1日量	6487 ± 460	7438 ± 1013	6074 ± 1089
NBQX 1 µg/rat i.c.v.	明期	1481 ± 257	2415 ± 225 ^b	2275 ± 255 ^b
	暗期	5556 ± 667	4394 ± 577	4654 ± 408
	総1日量	6487 ± 460	7438 ± 1013	6074 ± 1089

データは 1 群 4-6 匹の平均値±標準誤差を示す。 * $P < 0.05$ vs 溶媒投与群。 a $P < 0.05$ 、 b $P < 0.01$ 、 c $P < 0.001$ vs 対応する実験-1日目の値。

1-4 考察

ヒトを含む哺乳動物の概日リズムの同調因子は大きく光同調と光以外の光非同調の 2 つに大別される (Moore and Card 1985)。光は視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus:SCN) 依存性リズムを同調させるのに対し、光非同調性リズムは制限給餌や methamphetamine 投与により誘導され、SCN 非依存性リズムと考えられている (柴田、渡辺 1994)。今回、1 日 1 時間の制限給餌を 6 日間続け、7 日目に絶食を行うことで前日までの給餌時間帯に連動した行動量増加を指標にした、制限給餌誘発時刻認知行動について薬理的検討を行った。

自由給餌条件下、若齢及び老齢ラットでは明期に比べ暗期での行動量が高い概日リズムを示したが、制限給餌では若齢ラットで暗期行動量減少がみられたのに対し、老齢ラットではこの低下は僅かであった。この制限給餌は、若齢ラットで給餌時間に連動した時間帯に期待行動の増加が認められるのに対し老齢ラットではこの増加は認められず、制限給餌誘発期待行動のリズムは障害された。制限給餌誘発期待行動は食餌同期性ペースメーカーによって調整されていると考えられ、このペースメーカーは生理的にも機能的にも光同期性概日ペースメーカーとは異なる。SCN 破壊ラットは、光同調のリズムや free-running リズムが障害されるのに対し食餌誘発性並びに精神神経賦活剤誘発性リズムは障害されないことからこれらの発振器は SCN 以外の部位に存在すると思われる (Honma et al. 1989a; 1989b; Mistlberger and Mumby 1992)。この食餌同期性発振器並びに精神神経賦活剤誘発同期性発振器は加齢により障害される事が知られている (Shibata et al. 1994b)。老齢ラットの制限給餌誘発期待行動の障害は概日リズム、又は行動の時間的規定や時間の記憶のモデルであり (Antoniadis et al. 2000; Mistlberger et al. 1990; Shibata et al. 1994a)、今回コリン作動性薬並びに 5-HT_{2A} 拮抗薬投与によりこの障害を回復した。これは老化による時間記憶、行動の時間規定が障害された事を意味し、従ってこのモデルは老化に伴う脳機能障害や老人性痴呆などに認められる時間認知不全のみならず行動異常、譫妄モデルになり得ると思われる。

加齢による概日リズム又は行動の時間規定や時間記憶の障害はおそらく中枢神経系の機能不全による結果と思われ、特に中枢コリン系の関わりが最重要である (Mistlberger et al. 1990; Shibata et al. 1994a)。Ghiani ら (1998)、Inglis ら (1994) は制限給餌下で飼育された動物は給餌時間に依存して海馬、大脳皮質内の ACh 遊離量の増加を報告しており、遊離された ACh は期待行動の予測から、動物の過去の訓練経験によって選択的に強化され、期待行動の時間規定機構は大脳皮質前頭前野でおそらく ACh 機能にリンクしていると思われる。

一方、新皮質や海馬、扁桃体、側座核などを破壊しても制限給餌誘発概日リズムは何ら影響されず(Mistlberger and Mumby 1992)、概日リズムの発生源として重要と考えられている視床下部の SCN との関わりも少ない(Clarke and Coleman 1986)。しかし、SCN 依存の光同調性の概日リズムと SCN 非依存の制限給餌誘発概日リズムは相互作用を示し、マルチオシレーターシステムでこれら概日リズムを規定しているとの報告もある(Stephan 1986)。

コリン作動性薬である arecholine や physostigmine は老齢ラットの制限給餌誘発期待行動の障害を回復する(Ono et al. 1995) 事などから、時間生物学機構の低下は老化に依存した間脳や脳幹部のコリン作動性神経系の不全(Lolova et al. 1996; Mistlberger 1994; Raza et al. 1994)によると考えられる。本研究で、mACh 作動薬 (physostigmine) は老齢ラットでの制限給餌誘発概日リズム障害を改善したが、明、暗期の行動量や摂餌量に影響しなかった。しかし、mACh 受容体拮抗薬である scopolamine や nACh 受容体拮抗剤である mecamlamine は老齢ラットの制限給餌誘発期待行動の障害そのものには影響を及ぼさなかった。O'Hara ら (1998)によると nicotine の投与は SCN を活性化し光刺激と同様に体内時計を同調させ、SCN 神経の活性化は mecamlamine で拮抗されると報告されている。しかし本研究は光非同調性、かつ SCN 非依存性リズムで制限給餌により誘導される期待行動であり、nACh 受容体の関与は少ないと予想される。これらのことから、mACh 受容体が内因的にも外因的にも刺激を受けた時、老齢ラットの制限給餌誘発期待行動の障害に対し回復効果を示す事を意味している。mACh や nACh 受容体さらに ACh 遊離は加齢と共にラット脳内で減少している(Nabeshima et al. 1994b; Uchida et al. 1997; Wu et al. 1988)ことから、おそらく老化により低下した中枢コリン神経系に対し、mACh 受容体刺激により中枢コリン機構を活性化し、制限給餌誘発期待行動の障害を回復したものと考えられる。

一方、先にも述べたが新皮質や海馬、扁桃体、側座核等の大脳辺縁系組織の切除動物は食餌誘発性概日リズムを障害しない(Mistlberger and Mumby 1992)との報告がある一方、これら大脳辺縁系組織が食餌誘発性概日リズムの発信源の一つと考えられている(Armstrong 1980)。食餌誘発性概日リズムを示すラットでは、給餌時間の前に側座核の DA 活性が増加し(Heffner et al 1980)、側座核を含む DA 神経系は給餌中のエサの除去による行動量の増加に関与が示唆されている(Salamone 1988)。さらに DA 遊離作用とその再取り込みを阻害する methamphetamine の反復投与は SCN 除去ラットでの期待行動リズム障害を回復させる(Honma et al. 1989a)。これらの知見から、DA 神経系も食餌誘発性概日リズムに対し調節作用を有する可能性も考えられる。Mistlberger and Mumby(1992)は成熟ラットの食餌誘発性概日リズムに対し、DA D₂ 拮抗薬の

haloperidol は何ら作用を及ぼさないと報告されている。これに対し、methamphetamine のみならず DA D₁、D₂ 作動薬は成熟ラットでこれら薬物による期待行動を誘発させる (Shibata et al. 1995a) が老齢ラットで methamphetamine 誘発期待行動は発現せず (Shibata et al. 1994b)、加えて、methamphetamine 誘発による期待行動は haloperidol によって抑制される (Shibata et al. 1995a)。中枢 DA 機構は以上のように制限給餌誘発期待行動に対し、何らかの調節作用を有していると考えられるが、本試験で haloperidol 単独投与は老化による制限給餌誘発期待行動の障害に対し何ら影響しなかった。

中枢 5-HT 神経系の障害は内因性の概日リズムや光同期生に影響を及ぼし (Morin 1994)、5-HT_{1A} 作動薬の投与は動物モデルの光同調性、SCN 依存性リズムを調節している (Reeth et al. 1999)。しかし制限給餌性期待行動概日リズムにおける中枢 5-HT 機構の役割についての研究は少ない。今回、ketanserin は老齢ラットの制限給餌誘発期待行動の障害を回復した。これは光非同調性、SCN 非依存性リズムにおいても中枢 5-HT 系が関与している可能性を示唆しており、老齢ラットでの 5-HT 神経伝達物質の変化や中枢 5-HT₂ 受容体が行動の時間規定調節に関与している事を示している。事実、5-HT₂ 及び 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬は老齢ラットの制限給餌誘発期待行動の障害を回復したとの報告がある (Shibata et al. 1995b)。加齢による 5-HT_{2A} 受容体数の減少、5-HT トランスポーター部の増加、5-HT 代謝回転の増加がラットで示されており (Brunello et al. 1988; Moretti et al. 1987; Morgan 1987; Nabeshima et al. 1994b)、もし、シナプス前部で 5-HT_{2A} 受容体の減少が生じれば縫線核での 5-HT 神経発火や終末部での 5-HT 遊離は増加すると考えられる (Wright et al. 1990)。5-HT は線条体、海馬からの ACh 遊離を抑制し、これは 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬で抑制される (Muramatsu et al. 1988) ことから、5-HT_{2A} 受容体拮抗薬による ACh 神経系賦活作用も改善効果の一因と思われる。

-Amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) はイオンチャンネル型グルタミン酸受容体の 1 つの subtype、AMPA 受容体の作動薬であり、この受容体を活性化して ACh を遊離する事が知られている (Giovannini et al. 1993; Kendrick et al. 1996)。今回示した様に、AMPA 受容体拮抗薬 NBQX の中枢投与は老齢ラットの制限給餌誘発期待行動の障害のより一層の悪化は見られなかった。これは老齢により、既に中枢 ACh 機能低下、不全を生じているためそれ以上の悪化がこの系では測定できないのか、または中枢 AMPA 受容体は老齢ラットの制限給餌誘発期待行動では必須ではないのかは不明であり、更なる検討が必要と思われる。

第 2 節 初老期ラットにおける Scopolamine 誘発注意障害

2-1 序論

脳血管性障害やアルツハイマー病で見られる痴呆症状、すなわち認知機能不全にはより基礎的な注意能力欠陥が存在している可能性が示唆され、よって痴呆患者は注意機能障害の疾患とも考えられている (Alexander 1973; Sarter 1994)。これら患者では先にも述べたが周辺症状の幻覚・妄想や注意・意識障害を示す譫妄様症状が高い頻度で認められる (Lipowski 1990; 三好 1990; 柴崎ら 1993; 山田、黒田 1998)。これら譫妄様症状の発症機構の詳細は不明であるが中枢 ACh 神経系の機能低下・不全もその原因の 1 つと考えられる。すなわち、健常人へ mACh 受容体拮抗剤や抗コリン剤である biperiden や trihexyphenidyl の投与は譫妄様症状を誘発する事 (Broks et al. 1988; 小島ら 1983; Stephans 1967; Wesnes et al. 1990)、physostigmine が譫妄に対し有効である事 (Lipowski 1990) が知られている。また、アルツハイマー病患者へ ACh 分解酵素阻害剤である tacrine の投与は記憶機能改善よりもむしろ注意機構改善に対して有効を言われている (Sahakian et al 1993)。

本節ではオペラント行動の選択反応課題を遂行可能な初老期ラットに scopolamine を投与し、譫妄様症状を発現し得るか否かを検討した。

2-2 実験材料並びに実験方法

使用動物：実験には 8-9 ヶ月齢の雄性ウイスター系ラット (日本チャールスリバー社より購入) を使用し、1 ケージ 3 匹で飼育した。実験には室温 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、定時間照明 (7:30-19:30) の環境で、自由給水、自由給餌 (CRF-1、日本チャールスリバー社) 下、少なくとも 1 週間の予備飼育を行った後実験に使用した。オペラント試験の訓練並びに試験中は、餌を正の強化因子とするため体重を自由摂取時の 80% に維持する様給餌制限を行った。

選択反応課題試験装置：試験装置は 14 台のスキナーボックスより構成されており、各スキナーボックスの一方の壁面には左右 2 個の反应用レバー、両レバーの中央に強化因子 (餌ペレット) 供給用ディスペンサー、各レバーの直上に設けられた手掛かり刺激呈示用ランプ、手掛かりランプの上方中央に照明ランプ (3W) が取り付けられている。手掛かり刺激提示 (ランプ点灯) 後、動物が正解側のレバー押し反応を行った時にのみ、自動的に 1 個の餌ペレット (45 mg、Bioserv®、Frenchtown、New Jersey) がディスペンサートレイに供給される。スキナーボックスは各々照明付き (6W) 防音箱に収納されており、防音箱の天井には換気とホワイトノイズを兼ねたファンが設置されている。実験デ

ータはオンラインでインターフェイスを介してオペレーション用パーソナルコンピュータ(PC-9801、 NEC)に送られ、集計・解析される。

動物の訓練：動物の訓練・実験は Himori and Mishima (1994)の方法に準じた。ラットはFR-1の連続強化スケジュールに基づき手掛かりランプを正確に反応してレバー押しが遂行できるよう、11-12ヶ月齢より1-2ヶ月に亘り訓練された。課題試験のプロセスを図-7に示す。

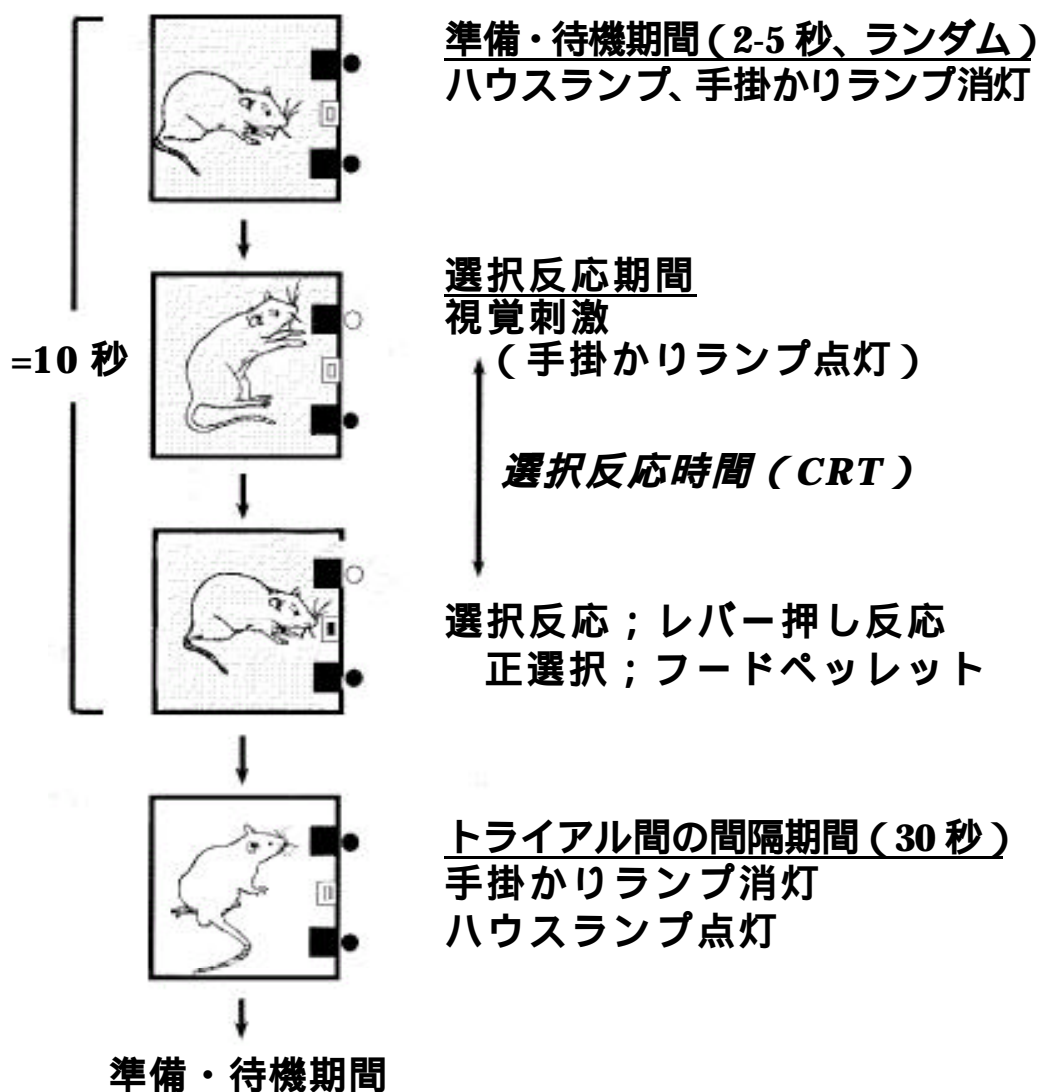


図 - 7 初老期ラットの選択反応課題試験実施法。反应用レバーは装置の一方に尾壁面に黒の四角で記載し、手掛かりランプは反应用レバーの横に点灯 (白丸印) または消灯 (黒丸印) で記載した。

課題試験は、準備・待機(differential reinforcement of other behavior ; DRO)、選択反応(choice reaction ; CR)、 トライアル間の間隔(intertrial interval ; ITI) の3つの期間より構成された1試行(約40秒間)を30回連続的に反復する。これを1セッション(約20分間)とし、1日1-2セッションを訓練する。試行の開始はスキナーボックスの照明を持ってラットに伝えられ、2-5秒間の範囲でランダムに設定されたDRO期間中ラットはレバー押しを待機しなければならない。待機しきれずにレバーを押すとその時点から設定された制限時間内(CR期を含めて10秒間)でDRO期間は繰り返しリセットされる。DRO期間が過ぎると左右どちらかの手掛かりランプがランダムに点灯し、CR期間に移行する。ラットは点灯ランプの直下にあるレバーを押す、すなわち正選択を行うと、報酬として1個の餌ペレットが得られる(正反応: correct response)。点灯している反対側のレバーを押したり(誤選択)、制限時間内(通常5-8秒)にレバー押しをしなかった場合(無反応: omission)、手掛かりランプは消灯しスキナーボックスの照明は点灯してITI期に移行する。DRO期とITI期に押されたレバー押しの総数を尚早反応(premature response)と定義した。訓練はラットが一定の基準(正反応率90%以上、選択反応時間CRT 0.5-2.0秒、尚早反応50回以下/セッション)に達し、その状態を3日間連続して維持できた時に訓練完了と規定した。

行動指標: 実験ではCRT、正反応率(% correct)、無反応率(% omission)、尚早反応を行動指標とした。各々の指標の詳細を表-5に示す。CRTは手掛かり刺激提示から正選択反応までの潜時であり、反応速度を反映している。この指標は選択的注意、覚醒状態、餌に対するモチベーションや運動能力に依存して変化する。正反応率は1セッションにおける選択反応の正確さを表し、課題遂行時に長期にわたって要求される注意の持続・維持能力を反映する。無反応率は覚醒度、餌モチベーション、参照記憶、運動能力などの欠損・低下により増加する。また、尚早反応は主にDRO期の期待や焦燥反応と、ITI期にまで保続され制止できないレバー反応の双方を含んでいる。

表 - 5 選択反応課題測定項目と精神心理学的特性の関連性

選択反応課題測定項目/認知機能	精神心理学的特性
選択反応時間 (CRT)	
準備・待機期間におけるランプ点灯から正 選択レバーを押すまでの時間	選択的注意機構 / 警戒性 覚醒度 / 清明度
刺激に対する情報処理と行動の速さ	餌に対する動機づけ
正反応率	
選択反応期間における全レバー押し回数に 対する正反応レバー押しの割合	注意機構の持続性 覚醒度 / 清明度
選択の正確性	
無反応率	
選択反応期間におけるレバー押しを行わな い割合	覚醒度 / 清明度 餌に対する動機づけ
尚早反応	
準備・待機及びトライアル間の間隔期間に おけるレバー押し回数	警戒性 期待性 固執性

使用薬物並びに投与方法 : Butylscopolamine bromide (以上 Sigma)及び scopolamine hydrobromide (東京化成)を使用した。Scopolamine 及び butylscopolamine は 0.9%生理食塩液に溶解し、体重 1kg 当たり 1ml になるよう用時調整し、試験試行 25 又は 65 分前に腹腔内投与した。

統計解析 : 実験データは一元配置分散分析後に Dunnett の *t*-test による多重比較を、または対応のある 2 群間の比較には Wilcoxon の順位検定を用い、いずれも *P* 値が 0.05 以下を統計的に有意差ありとした。

2-3 実験成績

Scopolamine は投与 25 分後に CRT を用量依存的かつ有意に延長し、その持続は投与 65 分後まで認められた。正反応率と無反応率は 0.1、0.3mg/kg で各々有意に減少、増加を示した。尚早反応は 0.1mg/kg の投与 25 分で有意に増加した。しかし、これらの行動指標の変化は投与 24 時間後では回復していた (図 - 8)。一方、作用部位が末梢性である ACh 受容体拮抗薬である butylscopolamine 0.3mg/kg 投与はいずれの行動指標に対し影響しなかった (図 - 8)。Scopolamine は記憶機能の指標の 1 つである無反応率を増加させたが、正反応率は平均 85% を維持しており、課題遂行行動も殆ど支障なく行われた事より、scopolamine は記憶機能にはほとんど影響する事なく、主に注意機能や覚醒水準などを障害

したものと考えられる。

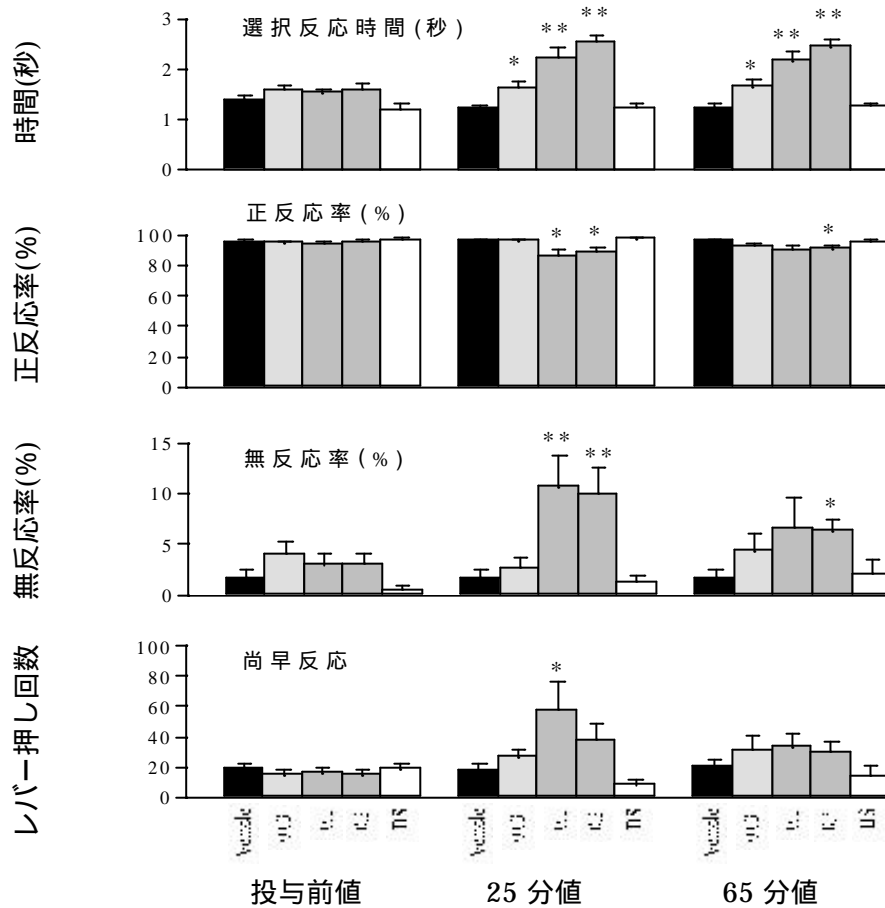


図 - 8 初老期ラットの選択反応課題に対する、中枢性(scopolamine ; 0.03-0.3 mg/kg i.p.)及び末梢性(butylscopolamine 0.3 mg/kg i.p. ; BS)ムスカリン様アセチルコリン拮抗剤の影響。被験薬物投与 25 分及び 65 分後に選択反応課題試験を実施した。データは平均値 ± 標準誤差で示した。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ vs 対応する溶媒投与群。

2-4 考察

選択反応課題は明暗弁別行動とレバー選択/押し行動とを組み合わせたオペラント行動であり、本来記憶・学習行動の評価や認知機能評価の検討に使用されていた(Himori and Mishima 1994; 久保田、中村 1986)。本研究では選択反応課題における行動指標を心理学的側面から考察し、ヒトの脳血管障害後に出現する問題行動、特に注意障害、覚醒度の低下など譫妄様症状に対する動物モデルに成り得るか否かを検討した。CRT は呈示刺激を認知し、視覚情報を伝達し、参照記憶と照合し正選択レバーを押すまでの一連の情報伝達や意志決定過程を含んでいる(久保田、中村 1986)。従って CRT は動物の情報処理速度や課題遂行能力を判断する指標となり、これらと密接に関連する選択的注意や覚醒水準、餌に対するモチベーションの測定に有用と思われる(Carli and Samanin 1992; 彦坂 1995; Posner 1994)。

本課題において scopolamine は CRT の延長、正反応率の低下や無反応率の増加が認められたが、これら障害は餌モチベーションや運動能力などの減退や消失に相関するものでなかった。Scopolamine は記憶機能の指標の1つである無反応率を増加させたが、正反応率は平均 85%を維持しており、また課題遂行行動もそれほど支障なく行われた事を考え合わせると scopolamine は記憶機能にはほとんど影響する事なく、主に注意機能や覚醒水準などを障害したものと考えられ、Jones ら(1995)、Muir ら(1992)、Robbins ら(1989)の報告と一致する。なお butylscopolamine は何ら障害性を示さなかった事から scopolamine は中枢 ACh 神経系に作用し課題遂行を障害したものと推定される。従って scopolamine 誘発選択反応課題遂行障害は、脳血管障害や高齢者に多発する譫妄をはじめとする問題行動の病態動物モデルと思われる。

第 3 節 初老期ラットにおける Apomorphine 誘発注意障害

3-1 序論

脳血管障害や老化に伴って発現する問題行動の発現機序は単に中枢 ACh 神経系の機能低下・不全のみで発現するとは考えにくく、複数の神経系、またはそれらのネットワークの障害に起因すると思われ、単一神経系に限定されるとは限らない。

非選択的 DA D₁/D₂ 受容体作動薬の apomorphine や DA 前駆体である levodopa の投与は幻覚や妄想、意識攪乱、睡眠障害等譫妄様症状を来す事が知られており(Factor et al. 1995; Klawans 1978; Ruzicka et al. 1994)、抗精神病薬の神経遮断薬 (neuroleptics) は譫妄の第一次治療薬として利用されている。一方、DA 受容体拮抗薬の低用量投与や中枢 DA の枯渇は注意機構や運動能力、オペラント行動の障害をきたす(Amalric and Koob 1987; Fibiger and Phillips 1979; Robbins and Brown 1990; Salamone et al. 1991)。DA D₂ 受容体拮抗薬である haloperidol は痴呆患者の認知能力をより低下させる事が報告されている(Devanand et al. 1989)。

本節では中枢 DA 神経系の異常が、注意・覚醒機能を障害するか否かを検討する目的で、第 2 節で用いた初老期ラットに apomorphine を投与し、譫妄様の動物モデルに成り得るか否かを検討した。

3-2 実験材料並びに実験方法

使用動物：第 2 節と同一である。

選択反応課題試験装置及び動物の訓練：第 2 節と同一である。

行動指標：実験では CRT、正反応率(% correct)、無反応率(% omission)を行動指標とした。なお、訓練終了後すべてのラットに apomorphine 投与し、無反応あるいは apomorphine に対し高感受性を示す動物は実験より除外した。

使用薬物並びに投与方法：Apomorphine (Sigma)、haloperidol (セレン - ス注射剤、大日本製薬)、sulpiride (Sigma)及び tiapride (Sigma)を使用し、いずれも 0.9%生理食塩液に溶解し体重 1kg 当たり 1ml になるよう用時調整した。Apomorphine は試験試行 25 又は 65 分前に腹腔内投与し、haloperidol、sulpiride、tiapride は apomorphine 投与 30 分前に経口又は皮下(haloperidol)投与した。対照群は同一溶媒を同一スケジュールで投与した。

統計解析：実験データは一元配置分散分析後に Dunnett の *t*-test による多重比較を、または Kruskai-Wallis 分析後 Mann-Whitney の U 検定を用い、いずれも *P* 値が 0.05 以下を統計的に有意差ありとした。

3-3 実験成績

Apomorphine は投与 25 分後に投与用量に依存して CRT の延長、正反応率の減少と無反応率の増加が認められた (図 - 9)。特に最大投与量の 0.3 mg/kg では CRT は 3 倍近く延長し、正反応率は 10% に低下し、逆に無反応率は 90% 付近まで増加した。これは訓練によって獲得した課題遂行能力が著明に障害されたことを意味する。しかしこの行動不全も投与 65 分では急速に減退し、投与 24 時間後では正常値に回復した。なお、投与した 0.3mg/kg では自発運動量の増加と、肢舐め行動(licking)や匂い嗅ぎ行動(sniffing)等の常同行動が認められたことから、薬物評価にはこれら変化が少ない apomorphine 0.1mg/kg 投与 25 分後を設定した。

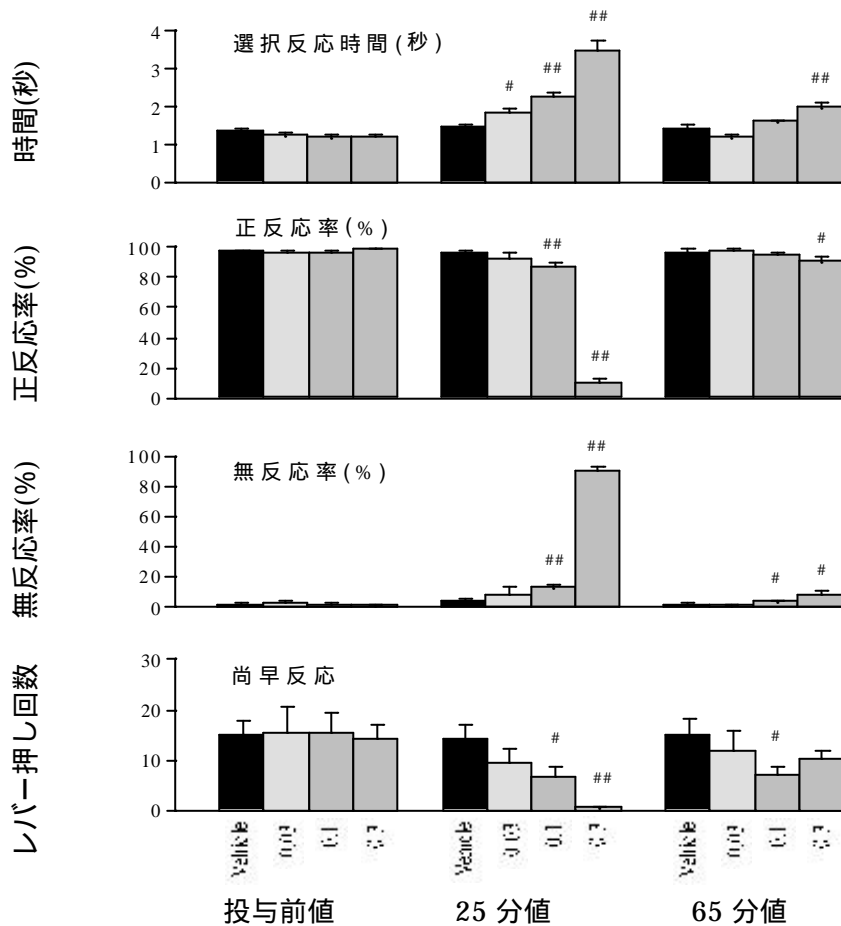


図 - 9 初老期ラットの選択反応課題に対する、ドパミン D₁/D₂ 受容体作動薬(apomorphine)の影響。被験薬物投与 25 分及び 65 分後に選択反応課題試験を実施した。データは平均値 ± 標準誤差で示した。
$P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ 、### $P < 0.001$ vs 対応する投与前値。

(Uchihashi et al. 1994)、methamphetamine による選択反応課題での尚早反応増加 (Himori and Mishima 1994) を動物で発現する。逆に低用量の apomorphine 投与により覚醒ラットの線条体での DA 遊離は低下し (Imperato et al. 1988)、神経終末部の DA 産生は抑制され (Zigmond et al. 1989)、自発運動量、amphetamine 誘発運動活性は抑制される (Kuczenski et al. 1990; Strömbom 1976)。これらのことは低用量の apomorphine は主に前シナプス部の DA 自己受容体を活性化し、DA 神経活動を抑制した結果と思われ (Roth 1979; Skirboll et al. 1979)、本研究で認められた注意機能不全を誘導したと考えられる。この様に、低用量の apomorphine は DA D₂ 受容体を優先的に作用し、食餌で強化した初老期ラットのオペラント行動を障害した。この効果は線条体の DA 機能不全によって誘発される、注意欠損や覚醒度の低下等を反映していると思われ、脳血管障害の患者をはじめとする脳機能低下・不全患者に発現する意識障害の状態を反映していると思われる。また、haloperidol のみならず臨床の場で使用されている sulpiride、tiapride がこの実験系で有効であったことは apomorphine 誘発選択反応課題障害が主に DA D₂ 受容体を介して生じた譫妄様症状を発現する動物モデルである事を示唆している。

第 4 節 老齡ラットにおけるうつ症状モデル

4-1 序論

加齢に伴う脳基質変化とうつ病発症の関連性が報告されているがその詳細な発症機序は不明である。脳血管障害とうつ病に関しては脳卒中後のうつ病 post-stroke depression(PSD)が中心であり、脳血管障害後に生じる一般的な精神症候で、脳卒中発作直後および慢性期患者の 30 - 50%に PSD は認められる (Robinson and Starkstein 1990)。PSD 患者の半数以上において、不安感、無関心、集中力欠如、思考困難、食欲減退、体重減少、睡眠障害、社会的孤立などの臨床症状を呈し (Chemerinski and Robinson 2000)、PSD を生じない患者に比較して PSD 患者では認知障害や死亡率増加が報告されている (Morris et al. 1993)。その結果、PSD では脳血管障害からの機能的な回復は遅れ、ADL は悪化し、QOL は低下する。

神経生化学的研究では中枢 5-HT 神経系の異常が PSD の病因の 1 つと考えられ (Graeff et al. 1996; Leonard 1996)、5-HT 神経系の機能低下が患者脳部位や、脳脊髄液中で認められている (Bryer et al. 1992; Gottfries et al. 1994)。中枢 5-HT 神経系の機能低下を回復する目的で選択的 5-HT 再取り込み抑制剤 (selective serotonin reuptake inhibitor; SSRI) や 3 環系抗うつ薬 (TCA) が臨床で使用されているが副作用も数多く報告されている (Chemerinski and Robinson 2000; Gonzalez-Torrecillas et al. 1995; Knegtering et al. 1994; Kumar 1999; Lazarus et al. 1994)。

一方、腹側被蓋野 (Ventral tegmental area; VTA) から上行性 DA 経路の障害 (Chemerinski and Robinson 2000) や、中枢 DA 機能低下又は機能不全はうつや PSD 患者で確認されている事 (Brown and Gershon 1993; Gottfries et al. 1994; Mann and Kapur 1995; Nierenberg et al. 1998) 等から、DA が直接的に又は間接的に他の神経伝達物質システムと相互作用をもちつつ、PSD を含むうつの原因・成立に関連している。

従って、本章では若齡ラットと老齡ラットでうつ症状の比較検討を行い、脳機能が全般的に低下している老齡ラットが PSD のモデルになり得るかを各種受容体拮抗薬投与により検討した。なお、PSD の動物モデルは開発されていないため、抗うつ剤検定にしばしば用いられているラットの強制水泳試験 (FST) (Borsini and Meli 1988; Porsolt et al. 1978) を行い、FST での不動化時間をうつ状態の指標とした。

4-2 実験材料並びに実験方法

使用動物：実験には雄性ウイスター系ラット（日本チャールスリバー社より購入）を使用し、1 ケージ 3 匹で飼育した。飼育・実験条件は第一章、第 1 節の 1-2 の記述内容と同一である。

実験方法：若齢（9 週齢）及び老齢（30 ヶ月齢前後）ラットを用い、Porsolt ら（1978）の方法に準じた FST を実施した。すなわち、Day 1 に水の入ったシリンダーにラットを 15 分間入れ（訓練試行）、強制水泳をさせる。その 24 時間後（Day 2）、テスト試行として再度 5 分間強制水泳させ、この 5 分間の不動時間を測定した。不動状態はラットが頭を水面上に出し沈まない程度に後肢を動かして、もがかず浮かんでいる状態を不動状態と規定し、この時間を測定した。用いたシリンダーは若齢ラットの場合、高さ 40cm、直径 20cm、老齢ラットの場合、高さ 60cm、直径 30cm で、各々底面より 35cm、45cm の深さまで水温 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ の水で満たされており、ラットの尾及び後肢が底面に触れるのを防止している。データの表示は Day 2 の不動時間、または Day 1 の 10-15 分間の 5 分間の不動時間に対する Day 2 の不動時間の割合で表示した。なお、特徴的な不動化状態を図 - 10 に示す。

使用薬物並びに投与方法：Moclobemide 及び lazabemide はスイス・ロシュ社で合成されたものの供与を受けた。その他には Bromocriptine、mecamylamine hydrochloride、mianserin hydrochloride、nicotine hydrogen tartrate、physostigmine hemisulfate（以上 Sigma）、*p*-anisic acid、scopolamine hydrobromide（以上東京化成）、ketanserin tartrate、nortriptyline hydrochloride（以上 Research Biochemicals）、imipramine hydrochloride（和光純薬）、fluoxetine hydrochloride（Tocris）、haloperidol（セレネース注射剤、大日本製薬）及び tandospirone（住友製薬）をそれぞれ購入し、使用した。Tandospirone は Tween 80 を含有する 0.25%CMC 溶液に体重 1kg 当たり 5ml になるよう日時懸濁し、経口投与した。他の可溶性薬物は 0.9%生理食塩液に溶解し、体重 1kg 当たり 1ml になるよう日時調整し、腹腔内投与した。Haloperidol、mecamylamine 及び ketanserin は Day 2 の 5 分間のテスト試行 30 分前に単回投与し、これ以外の薬物については Day1 の訓練試行直後、Day2 のテスト試行 4 時間及び 30 分前の 3 回投与した。溶媒対照群として 0.9%生理食塩液または 0.25%CMC 溶液を同一スケジュールで投与した。

統計解析：実験データは一元配置分散分析後に Tukey の *t*-test による多重比較、または Student's *t*-test（2 群比較）を行い、いずれも *P* 値が 0.05 以下を統計的に有意差ありとした。

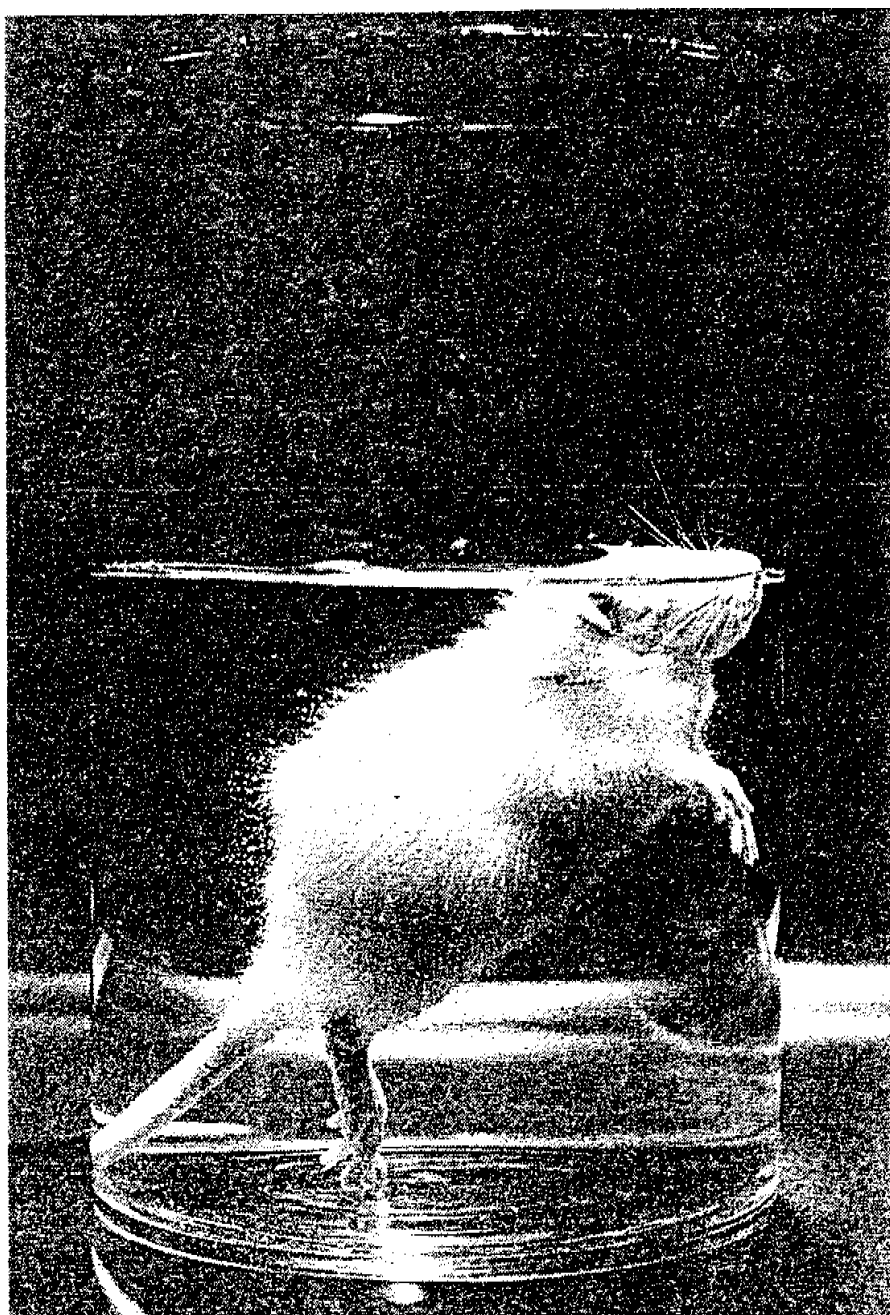


図 - 10 ラットの強制水泳試験における特徴的不動化状態
(Porsolt et al. 1978 より)

4-3 実験成績

4-3-1 若齢ラットに対する作用

若齢ラットの FST の結果を表 - 7 に示す。5-HT 系又は norepinephrine (NE) 系に作用する fluoxetine(SSRI、10、30 mg/kg)、imipramine(3 環系抗うつ剤、10、30 mg/kg)、nortriptyline (3 環系抗うつ剤、3、10 mg/kg)、mianserine(非定型抗うつ剤、10、30 mg/kg)及び moclobemide(可逆性 monoamine oxidase-A(MAO-A)阻害剤、3 mg/kg)は著明に不動化時間を短縮し抗うつ効果が確認されたが、tandospirone(5-HT_{1A} 作動薬、20mg/kg)は効果が認められなかった。DA 系では、bromocriptine(DA D₂ 作動薬、0.3-3mg/kg)で有意に不動化時間の短縮効果が認められたが lazabemide(可逆性 MAO-B 阻害剤、10 mg/kg)並びに haloperidol(DA D₂ 拮抗薬、0.03、0.1 mg/kg)で効果は認められなかった (表 - 7)。

表 - 7 若齢ラットの強制水泳法における不動化時間に対する各種薬物の効果

被検薬物	用量 (mg/kg)	投与 経路	動物数	不動化時間 (秒/5 分間)		
溶媒投与	0	i.p.	13	171	±	13.3
Imipramine	10	i.p.	5	152	±	17.4
	30	i.p.	6	29.8	±	6.14***
Fluoxetine	10	i.p.	6	137	±	11.9
	30	i.p.	7	104	±	10.1**
溶媒投与	0	p.o.	7	179	±	11.7
Tandospirone	20	p.o.	7	150	±	8.69
溶媒投与	0	i.p.	8	200	±	14.3
Nortriptyline	3	i.p.	6	124	±	15.6**
	10	i.p.	7	86.0	±	8.85***
溶媒投与	0	i.p.	8	181	±	9.85
Mianserin	10	i.p.	6	125	±	16.6*
	30	i.p.	7	117	±	21.8*
溶媒投与	0	i.p.	8	181	±	9.85
Moclobemide	3	i.p.	7	99.4	±	15.9**
溶媒投与	0	i.p.	6	195	±	28.0
Lazabemide	10	i.p.	5	175	±	34.4
溶媒投与	0	i.p.	8	199	±	20.6
Bromocriptine	0.3	i.p.	6	175	±	13.6
	1	i.p.	6	114	±	20.5**
	3	i.p.	5	44.8	±	13.2***
Haloperidol	0.03	i.p.	5	165	±	19.4

データは実験 2 日目の 5 分間強制水泳期間中の不動化時間の平均値 ± 標準誤差を示す。Haloperidol、scopolamine は実験 2 日目の試験 30 分前に単回投与した。* $P<0.05$ 、** $P<0.01$ 、*** $P<0.001$ vs 溶媒投与群。

4-3-2 老齢ラットに対する作用

Imipramine(3 環系抗うつ剤)、nicotine(nACh 受容体作動薬)、bromocriptine(DA D_2 作動薬)の投与は老齢ラットの不動化時間を有意に短縮し、抗うつ効果が認められた。しかし、tandospirone(5-HT_{1A} 作動薬)では若齢ラットの場合と同様、効果は認められなかった。Physostigmine (mACh 作動薬)では逆に不動化時間は延長した。若齢ラットでは効果が認められなかった lazabemide(可逆性 MAO-B 阻害剤)は、老齢ラットで有意に不動化時間を短縮した(図 - 11)。なお、lazabemide の効果に沈静、筋弛緩、歩行異常、運動活性亢進などの副作用は認めなかった。なお、老齢ラットの不動化時間は若齢ラットの不動化時間に比較して著明な差は認められなかった。

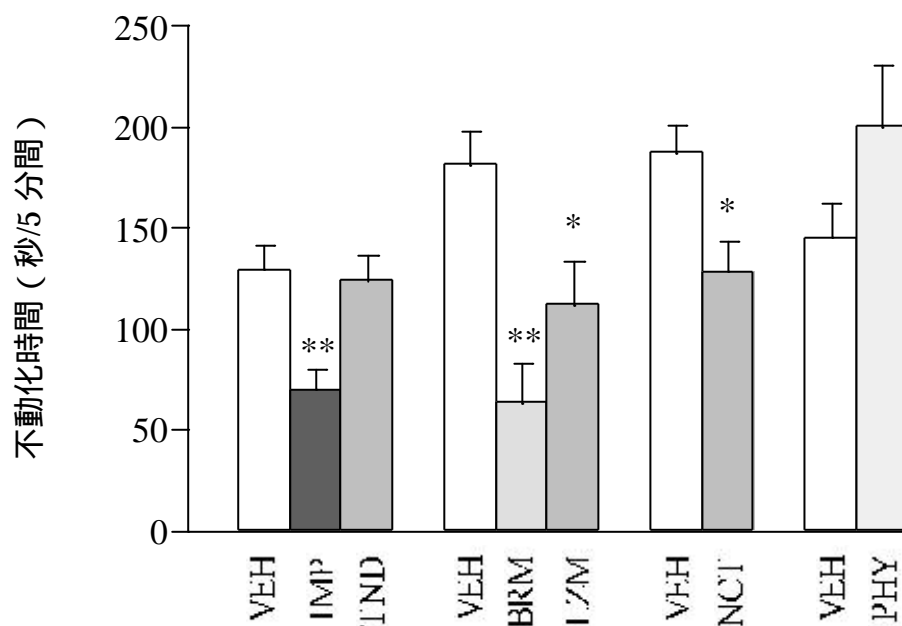


図 - 11 老齢ラットの強制水泳法における不動化時間に対する各種薬物の効果。データは実験 2 日目の 5 分間強制水泳期間中の不動化時間の平均値 ± 標準誤差を示す。VEH ; 溶媒投与群、IMP ; imipramine 10 mg/kg i.p.、TND ; tandospirone 20 mg/kg p.o.、BRM ; bromocriptine 3 mg/kg i.p.、L/M ; lazabemide 10 mg/kg i.p.、NCT ; nicotine 0.1 mg/kg i.p.、PHY ; physostigmine 0.1 mg/kg i.p.

は実験 2 日目の試験 30 分前に単回投与した。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$
vs 溶媒投与群。

4-3-3 老齡ラットでの各種受容体拮抗薬の作用

老齡ラットで認められたうつ様症状を詳細に検討する目的で、cholinergic、DA 及び 5-HT 神経系の各受容体拮抗剤投与での不動時間に及ぼす影響について検討した。

mACh 受容体拮抗薬である scopolamine は用量依存的(0.01-0.1 mg/kg)に運動量亢進することなく不動時間を短縮し、最少有効用量は 0.03 mg/kg であった。なお、scopolamine の作用は老齡ラット群が若齡ラット群より明確であった。他方、nACh 受容体に関して拮抗薬の mecamlamine 10 mg/kg 単独投与は不動化時間に影響しなかった (図 - 12)。

DA D_2 受容体拮抗薬の haloperidol 0.1 mg/kg、並びに 5-HT₂ 受容体拮抗薬の ketanserin 1 mg/kg も不動化時間に影響しなかった (図 - 13)。

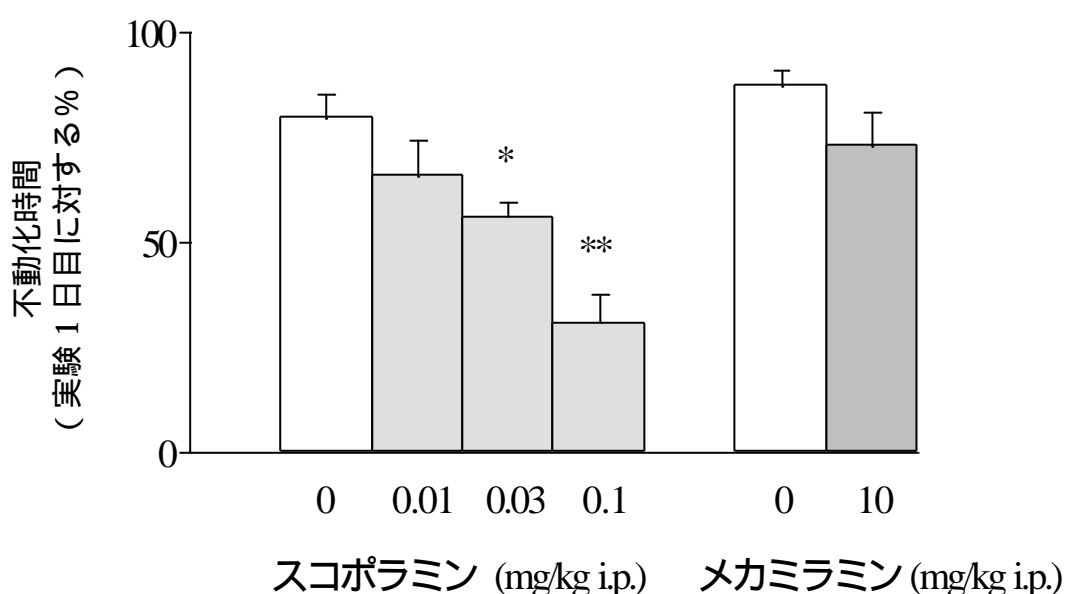


図 - 12 老齡ラットの強制水泳試験における scopolamine、mecamlamine の不動化時間に対する効果。データは 1 群 5-7 匹の、実験 2 日目の 5 分間強制水泳期間中の不動化時間の平均値 ± 標準誤差を示す。被検薬物は実験 2 日目の試験 30 分前に単回投与し

た。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ vs 溶媒投与群。

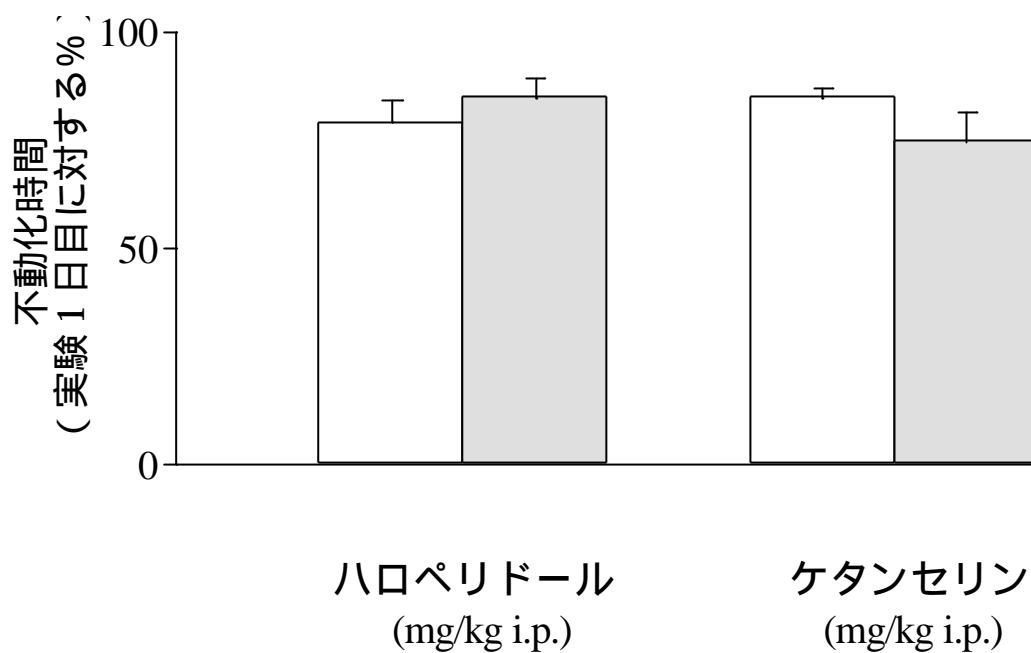


図 - 13 老齡ラットの強制水泳試験におけるス haloperidol、ketanserin の不動化時間に対する効果。データは1群 5-7 匹の、実験 2 日目の 5 分間強制水泳期間中の不動化時間の平均値 ± 標準誤差を示す。被検薬物は実験 2 日目の試験 30 分前に単回投与した。

4-4 考察

脳血管障害とうつ病に関して PSD がその中心であったが、初老期、老年期発症のうつ病患者は若年期発症のうつ病に比べて無症候性脳梗塞の合併頻度が著しく高く、無症候性脳梗塞をも包括して脳血管障害に伴ううつ病を vascular depression と呼ぶことが提唱されている(Alexopoulos et al. 1997)。

脳血管障害後遺症のうつ発現機構は複雑であり、神経生化学的検討は多くない。脳卒中発生直後数週間において、副腎機能が亢進し cortisol の長期にわたる増加、この結果海馬では神経細胞死が生じ認知及び行動変化が生じる可能性が生じる。他方、脳卒中発生直後過剰の興奮性アミノ酸が遊離され、神経細胞毒として作用し神経細胞死、神経伝達物質欠損が生じ、これらの変化が原因となりうつ状態が発現する(Kumar 1999)。

行動薬理学でうつ病の動物モデルは数多く知られており、中でも Porsolt ら(1978)により提唱された FST による不動化時間を指標とした絶望状態モデルはラットにおいて各種抗うつ薬の効果を発現するといわれている(Borsini and Meli 1988)。脳血管障害動物モデルで FST を行ったのは Kato ら(1997)が両側総頸動脈 15 分間閉塞に加え nitroprusside 投与による血圧低下の条件で術後 12 日に FST を実施しているに過ぎない。一方、脳血管障害動物モデルである脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット(stroke-prone spontaneously hypertensive rat: SHRSP)はその正常血圧対照群の Wistar 京都ラット(Wistar Kyoto rat: WKY)と比較しても FST で障害は見られず(未発表データ)、高血圧自然発症ラット(spontaneously hypertensive rat: SHR)でも WKY と比較して FST は障害されない(Lahmame and Armario 1996)。

本実験で用いた若齢(9週齢)及び老齢(30ヶ月齢前後)ラットの不動化時間は両群で著明な差は認められなかった。Hasegawa ら(1996)が行った同様な FST でも 8 週齢ラットと 104 週齢ラット間で不動化時間に有意な差は認められず、マウスを用いた Bourin ら(1998)も 40 週齢マウスの不動化時間は 4 週齢マウスの 80-100%であり、従って老化により自発性運動量は減少するが、FST の不動化時間が著明に延長するとは考えられない。これは水の中に入れるという非常に強いストレスによるためと思われる。事実、この状態で血漿 corticosterone 量はほぼ 5 倍上昇し、免疫反応は低下する(Connor et al. 1997)。

このような過酷な状況下において、imipramine、lazabemide、bromocriptine で顕著な抗うつ効果が老齢ラットで発現し、若齢ラットに比較して作用形態に差が認められた。Bourin ら(1998)は imipramine、desipramine は老齢マウスで、bupropion ではすべての週齢で、SSRI は若齢マウスで作用が強く見られ、これは老化により 5-HT₁ 受容体の減少のみならず 5-HT₂ 受容体減

少によるものであろうとしている。しかし本研究から、lazabemide、bromocriptine で著明に改善したことは 5-HT 受容体のみならず DA 受容体もうつ状態に関連していると思われる。

うつ状態における中枢コリン神経系の関与については幾つかの仮説がある。FST でのコリン作動性薬または抗コリン薬によるうつ様作用または抗うつ様作用発現の多くの報告があるが、用いられた用量はいずれも高く、時には副作用が認められる用量で検討している (Kawashima et al. 1986; Mancinelli et al. 1988)。本研究で、scopolamine 0.3 mg/kg は若齢ラットで抗うつ様作用を認めたが、同時に運動活性亢進もみられた。しかし、老齢ラットでは非毒性用量 (0.03mg/kg) で明らかに不動化時間は短縮し、抗うつ様作用が認められた。一方、physostigmine は老齢ラットの不動化時間を延長し、この結果は若齢ラットを用いた Dilsaver (1986)の結果と一致する。中枢 mACh 受容体はおそらくうつ状態惹起に関与していると推測される。他方 nicotine は非毒性用量で抗うつ様作用が認められた。Nicotine (Semba et al. 1998; Tizabi et al. 1999) 及び選択的 nACh 受容体作動薬 (Ferguson et al. 2000) の抗うつ効果はラットの FST や学習性無力モデルで有効性が証明されており、臨床でも大うつ症状に有効である (Salin-Pascual and Drucker-Colin 1998)。一方、physostigmine による老齢ラットの不動化時間の延長は、おそらく主に mACh 受容体に対しての過刺激の結果と思われる。Newhouse ら (1988) によると老人性うつの患者に scopolamine の投与は活動性、落ち着きの無さ、不安性が生じるがうつ様気分には有意な効果はなく、したがって老人性うつ症状でみられる気分変化は mACh 障害ではないほかの因子の関与が推定される。

動物モデルの FST で、DA D₂ 受容体を介した DA 神経系刺激は不動化時間を短縮し (Borsini et al. 1988; Duterte-Boucher et al. 1988)、FST 時に中脳 - 辺縁系 DA 作動性神経で DA の枯渇はうつ状態と相関している (Rossetti et al. 1993)。ヒトにおいても reserpine 投与により DA 枯渇は大うつ状態に似た症状を引き起こす (Mann and Kapur 1995)。DA D₂ の直接的な受容体作動薬である bromocriptine や、MAO-B を阻害することにより結果的に中枢 DA 量を増加させる lazabemide は運動量を亢進させることなく不動化時間を短縮したことから推測される。臨床においてうつ状態における DA 機能不全が示され、DA 作動薬の使用が報告されている (Nierenberg et al. 1998)。多発性脳梗塞の老人や抑うつ症状の老人では DA 機能低下を示す脳脊髄液中の DA 代謝物、homovanillic acid の低下や、大脳基底核での DA D₂ 受容体密度の上昇、尾状核、白質、血小板での MAO-B 活性の上昇などが認められ、高率にうつ状態を誘発していると思われる (Brown and Gershon 1993; Gottfries et al. 1994; Nierenberg et al. 1998)。これらの結果は、老齢ラットが DA 神経機能不全・低

下によりうつ様症状を示し、DA D₂ 作動薬がこれらを改善することによって抗うつ作用を発現するものと思われる。

5-HT 神経系に関して、ヒトおよびラット脳で 5-HT_{2A} 受容体密度が加齢と共に低下し (Morgan 1987; Nobler et al. 1999)、5-HT やその代謝物の 5-hydroxyindol acetic acid (5-HIAA) の減少、5-HT_{2A} 受容体密度変化、5-HT transporter binding sites 等 5-HT 神経機構の低下や異常が脳卒中患者やうつ病患者で認められ、同様な変化が加齢でも認められる (Bryer et al. 1992; Gottfries et al. 1994; Nobler et al. 1999)。しかし、本研究で 5-HT_{2A} 拮抗薬の ketanserin は何ら著明な効果を示さなかったことは本実験系においては中枢 5-HT_{2A} 受容体の関与は低いのかもかもしれない。事実、5-HT_{2A} 作動薬の (±)-1-(4-iodo)-2,5-dimethoxyphenyl)-2-aminopropane (DOI)、5-HT_{2A} 拮抗薬の ritanserin、ketanserin の単独投与はマウス FST に対し何ら影響しないと報告されている (Redrobe and Bourin 1997)。しかし、5-HT_{2A} 受容体の antisense oligonucleotide による 5-HT_{2A} 受容体数の減少 (receptor down-regulation) は抗うつ効果を示し、抗うつ剤の長期投与は 5-HT_{2A} 受容体の数の減少を伴っている (Sibille et al. 1997)。

本研究において、若齢ラットでは無効であった MAO-B 阻害剤が老齢ラットで有効であった事は、老化により中枢 MAO-B の活性が若齢ラットに比較して上昇しており、中枢 DA はこの MAO-B で速やかに代謝され、結果として中枢 DA 神経系の機能低下・不全様症状を発現する (Brown and Gershon 1993)。従って、MAO-B 阻害剤は中枢で MAO-B 活性を阻害する事により DA 量の増加をきたし、低下した中枢 DA 機能を回復させる。このことから、老齢ラットを用いる事は受容体に対し直接作用を有する薬剤のみならず間接的に作用する薬剤の検定にも有効な系であり、脳機能低下・不全状態を検証し得る実験系と思われる。

第 5 節 5-HT_{2A} 誘発幻覚様症状モデル

5-1 序論

老人性痴呆でしばしば出現する問題行動の 1 つとして幻覚の発現がある。痴呆患者に見られるこの現象を動物モデルで再現することは難しいが、mescaline をはじめとする幻覚剤をマウス、ラットなどに投与すると、特異的な首振り運動(head-twitching response; HTR)が見られ、幻覚剤の幻覚作用の強度に相関し(Corne and Pickering 1967)、幻覚剤の多くは 5-HT_{2A} 受容体に親和性を示す(Glennon et al. 1984)。幻覚作用を有する mescaline をラットに投与することにより生ずる HTR はコリン神経賦活剤の投与によって減弱する事が報告されており(Yamamoto et al. 1992)、中枢神経系において、ACh 神経系と 5-HT 神経系との相互作用を示唆している。

p-Chloroamphetamine 投与による中枢 5-HT 神経系障害動物の受動的回避反応の障害は physostigmine、tacrine 投与で改善し(Matsuno et al. 1993)、コリン神経系作動によるレム睡眠や ponto-geniculo-occipital(PGO)活動は 5-HT₁ 作動薬で抑制され、コリン/PGO バースト細胞ネットワークは 5-HT 神経系の抑制を受けている(Quattrochi et al. 1993)事からも示唆される。神経生化学的にも、コリン毒である ethylcholine aziridinium の脳室内投与は海馬での ACh 量を低下させ、5-HT 代謝回転を増加させる(Hörtnagl et al. 1987)。一方、scopolamine、pirenzepine などの ACh 拮抗薬のラットへの投与は、脳内 5-HT、5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA)濃度を上昇させる(Cassel and Jeltsch 1995)。これらの事実は、中枢 ACh 5-HT 神経系が脳機能の調節に相互作用、協調作用を示すことを示唆しており、老人性痴呆の問題行動の 1 つである幻覚発症にこれら 2 つの神経伝達物質の関与が考えられる。

本章では、老人性痴呆の幻覚モデルではないが正常若齢動物に 5-HT_{2A} 受容体作動薬を投与することによって誘発される HTR を動物の幻覚モデルと考え、中枢 ACh 5-HT 神経系相互作用による脳機能調節について考察した。

5-2 実験材料並びに実験方法

使用動物：雄性 ICR 系マウス (7-12 週齢) および雄性ウイスター系ラット (2-3 ヶ月齢) を日本 SLC 社より購入し、ユーピロン製ケージ (マウス：1 群 7 匹、ラット：1 群 3-4 匹) で 1 週間以上の予備飼育後実験に使用した。尚、飼育・実験条件は第一章、第 1 節の 1-2 の記述内容と同一である。

実験方法：マウス首振り運動 (Head-twitching response; HTR) は

Yamamoto らの方法(1983)に準じ、ステロイド懸濁用溶媒に懸濁下した 5-hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) 300mg/kg を腹腔内投与後直ちにマウスを観察用プラスチック製ケージ(12×12×13 cm)に入れ、投与 20 分後より 20 分に亘り HTR 数を測定した。Scopolamine 併用実験では 5-HTP 投与 15 分前に scopolamine を皮下投与した。ラット HTR は、Schreiber ら(1995)の方法に準じ、(±)-1-(4-iodo)-2,5-dimethoxyphenyl)-2-aminopropane hydrochloride (DOI) 1mg/kg をラット皮下に投与し、直後にユーピロン製ケージ(21×32×26cm)に入れ、投与 45 分後から 30 分間に亘って誘発された HTR 数を測定した。

使用薬物並びに投与方法：Butylscopolamine bromide、cyproheptadine hydrochloride、5-HTP、metoclopramide hydrochloride (以上 Sigma)、DOI hydrochloride、ritanserin (以上 Research Biochemicals)、scopolamine hydrobromide (東京化成)及び ondansetron(Zofran[®]、日本 Glaxo)をそれぞれ購入し、使用した。DOI、cyproheptadine 及び metoclopramide は蒸留水に、scopolamine、butylscopolamine は 0.9%生理食塩液にそれぞれ溶解した。5-HTP は benzylalcohol、Tween 80 をそれぞれ 0.9%、0.4%含有する 0.25%CMC-生理食塩液に懸濁した。他の薬物は 0.25%CMC 溶液に懸濁し、ラットの場合経口投与で体重 1kg 当たり 5ml、皮下投与は 1ml になるよう、またマウスでは体重 1kg 当たり 10ml になる様、用時懸濁した。溶媒対照群として 0.9%生理食塩液または 0.25%CMC 溶液を投与した。

統計解析：実験データは一元配置分散分析後に Tukey の t-test による多重比較を行い、いずれも P 値が 0.05 以下を統計的に有意差ありとした。

5-3 実験成績

5-3-1 マウス HTR

マウスに 5-HTP を投与することにより、投与後 20-30 分をピークとする HTR が用量依存性に誘発された(図 - 14)。5-HTP 400mg/kg 投与は HTR のみならず下痢、軟便、flat-body posture 等のセロトニン症候群が発現した。尚、最小有効用量は 200mg/kg と思われ、従って以後の実験は 5-HTP 300mg/kg 投与後 20-40 分間に発現する HTR を測定した。

5-HTP 誘発 HTR が 5-HT₂ 受容体刺激による反応であることを確認するため、5-HTP 300mg/kg 投与による HTR に対する各 5-HT 受容体拮抗薬の効果を検討した。非選択的 5-HT 拮抗薬である cyproheptadine (1、10 mg/kg)、及び 5-HT_{2A/2C} 受容体拮抗薬の ritanserin (0.1、1 mg/kg)は投与量に依存して顕著に HTR を抑制した(図 - 15)。5-HT₃ と DA D₂ 両受容体拮抗薬である metoclopramide(1、

10 mg/kg)は、10mg/kg 投与群のみHTRを有意に抑制したが、この用量で約60%の動物に運動活性の低下が認められた。一方、5-HT₃の選択的受容体拮抗薬 ondansetron (1、10 mg/kg)は何らHTRに影響しなかった(図 - 15)。

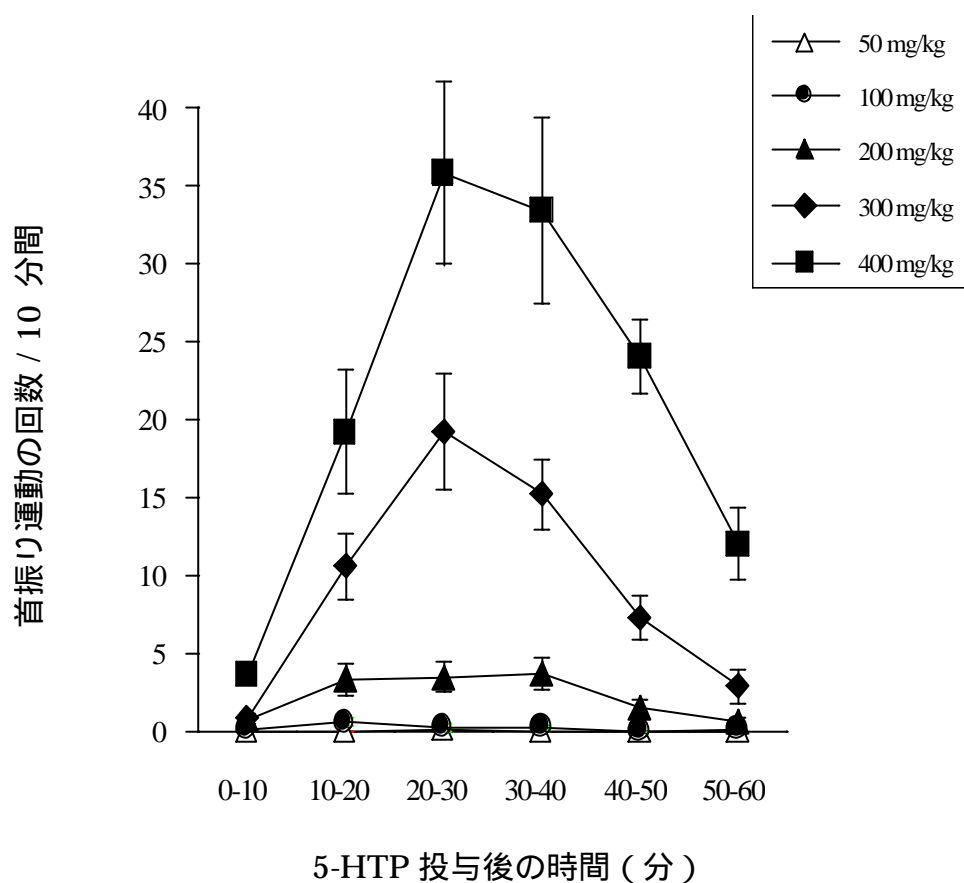


図 - 14 マウスにおける 5-HTP の用量及び時間依存的な首振り運動。各用量の 5-HTP 投与後、10 分間隔で 60 分まで首振り運動を測定した。データは 1 群 5-9 匹の平均値 ± 標準誤差で示した。

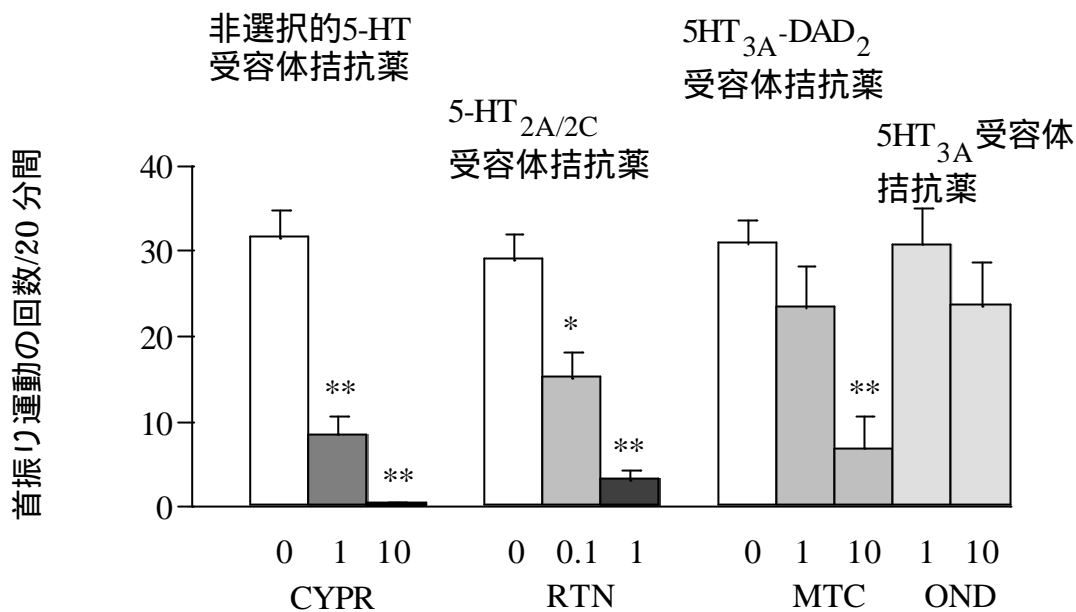


図 - 15 マウス 5-HTP 誘発首振り運動に対する各種セロトニン (5-HT)拮抗薬の効果。首振り運動の回数は 5-HTP (300 mg/kg i.p.) 注射 20 分後から 20 分間測定し、各被検薬物は 5-HTP 注射 30 分前に経口投与した。横軸数字は投与量 (mg/kg) を示す。CYPR ; cyproheptadine、 RTN ; ritanserin、 MTC ; metoclopramide、 OND ; ondansetron。データは平均値±標準誤差で標記した。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ vs 各溶媒投与群。

次に中枢 ACh 5-HT 神経系相互作用を検討するため、5-HTP の最小有効用量 200mg/kg に対する mACh 拮抗剤である scopolamine の作用について検討した。Scopolamine の単独投与は HTR を誘発しないが、5-HTP 200mg/kg との併用により scopolamine 投与用量(0.03-1 mg/kg)に依存して HTR は増加した。特に scopolamine 1mg/kg との併用で HTR は 5-HTP 300mg/kg 単独投与群の反応閾値の 50% レベルにまで達した。この増強作用は末梢性 mACh 拮抗薬の butylscopolamine では認められなかった (図 - 16)。この結果、中枢 ACh 神経系は 5-HT 神経系に対し抑制的に作用していると思われる。

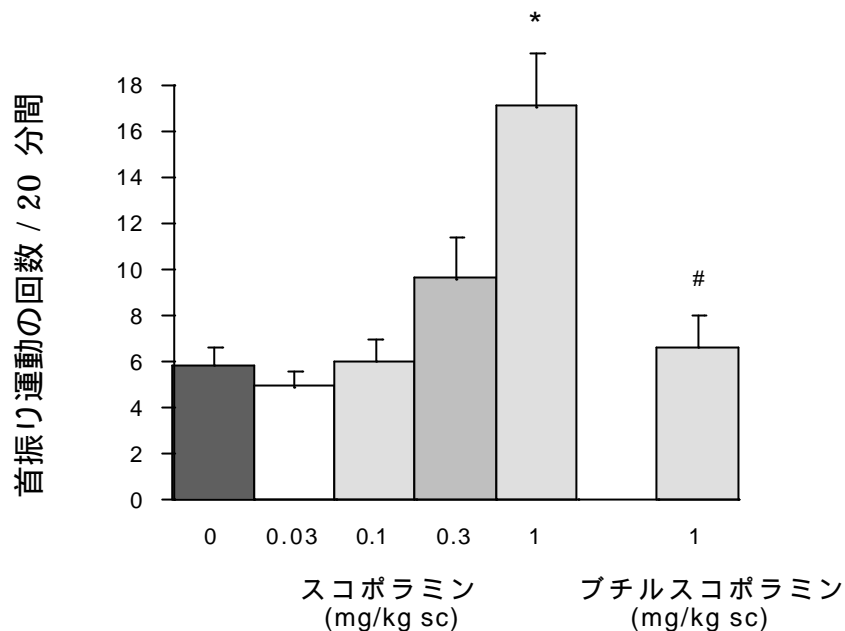


図 - 16 Scopolamine によるマウス 5-HTP 誘発首振り運動増強作用。Scopolamine 又は butylscopolamine 投与 15 分後に 5-HTP 200 mg/kg を投与し、その 20 分後から 20 分間首振り運動の回数を測定した。データは 1 群 7-9 匹の平均値 ± 標準誤差で示す。* $P < 0.01$ vs 溶媒投与群、# $P < 0.01$ vs scopolamine 投与群 (1 mg/kg)。

5-3-2 ラット HTR

選択的 5-HT_{2A/2C} 受容体作動薬である DOI をラットに皮下投与することにより、投与用量に依存して HTR が出現し、DOI 投与 1 時間後付近に最大反応時間が認められた(図 - 17)。従って、以後の薬物効果判定には DOI 1mg/kg 投与後 45-75 分の 30 分間の HTR を測定した。なお、使用した用量では下痢、軟便、flat-body posture 等は認められなかった。

DOI 誘発 HTR に対し、5-HT_{2A/2C} 受容体拮抗薬の ritanserin 1 mg/kg は 87% と有意に DOI 誘発 HTR を抑制した。

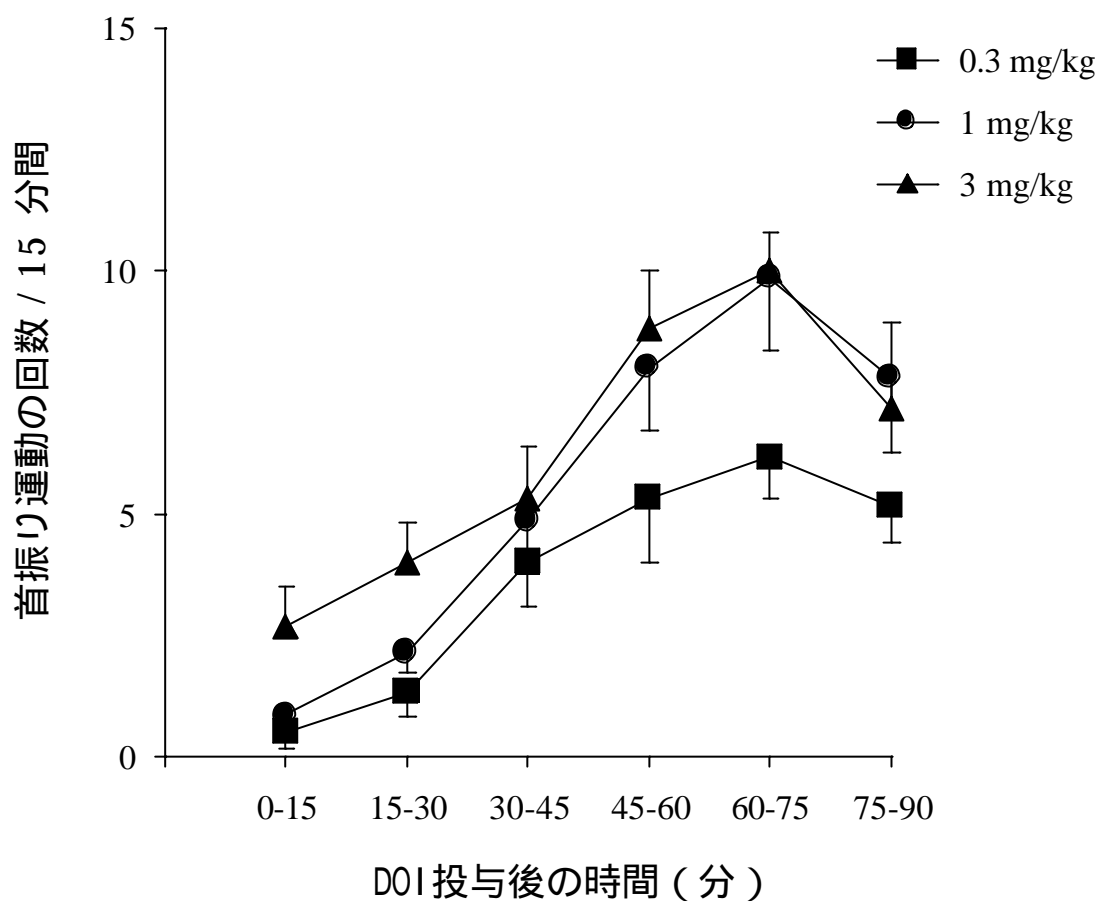


図 - 17 ラットにおける DOI の用量及び時間依存的な首振り運動。各用量の DOI 投与後、15 分間隔で 90 分まで首振り運動を測定した。データは 1 群 5-7 匹の平均値 ± 標準誤差で示した。

5-4 考察

げっ歯類に見られる HTR は幻覚剤、5-HTP を含む 5-HT₂ 受容体作動薬、交感神経作動薬、GABA_A 受容体作動薬などの投与により誘発され(Gingrich et al. 1999; Handley and Singh 1986; Schreiber et al. 1995)、薬物誘発 HTR とヒト幻覚症状との間の相関性が認められ、臨床で有効な幻覚治療剤は動物で見られる HTR を減少させる(Corne and Pickering 1967)。幻覚を誘発する薬物の多くが 5-HT_{2A} 受容体作動薬(Glennon et al. 1984)であると共に、幻覚治療剤の多くが 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬である事から(Leysen et al. 1982)、中枢 5-HT 神経系の過剰興奮による HTR やヒト幻覚症状は 5-HT_{2A} 受容体を介した反応と考えられている。従って、げっ歯類で見られる 5-HT_{2A} 受容体過剰刺激による HTR は精神症状の、幻覚の 1 つの動物モデルと思われるだけでなく、不安やうつ症状、精神病の誘発に関与していると考えられる(Yamamoto et al. 1983; Yamamoto and Ueki 1981)。

本研究では 5-HTP 300mg/kg でマウスに HTR を誘導したが、この用量は HTR のみならず下痢、軟便、flat-body posture 等のセロトニン症候群も認められた。一方、後シナプスの 5-HT_{2A/2C} 受容体を直接活性化する DOI 1 mg/kg をラットに投与することによっても HTR は誘発された。この事実は p-chlorophenylalanine による 5-HT 生合成阻害や 5,7-dihydroxytryptamine による 5-HT 神経終末部破壊が DOI、LSD、mescaline 等で誘発される HTR に対し増強、もしくは影響しない事によって裏付けられている(Yamamoto and Ueki 1981; Yamada et al 1995)。なお、DOI の 5-HT_{2A} 受容体刺激効果は後シナプス部の 5-HT_{1A} 受容体を介して抑制的に調節されており(Schreiber et al. 1995)、両受容体は密接に相互作用している。

5-HTP の最小有効用量と scopolamine の併用は HTR を増強した。Scopolamine と同じ用量の butylscopolamine(末梢性 mACh 受容体拮抗薬)併用ではこの増強効果が認められないことから、scopolamine の効果は中枢 mACh 受容体遮断による作用と推定された。尚、scopolamine 単独投与は HTR を惹起しないことは中枢での ACh-5-HT 神経系の相互作用を示唆しており、以下の様に推測される。HTR を発現調節する神経細胞表面には 5-HT_{2A} 受容体と mACh 受容体の共存の可能性が考えられ、後シナプス部の 5-HT_{2A} 受容体刺激による細胞内シグナル伝達機構は mACh 受容体により抑制的な作用を受けている。しかし、DOI または 5-HTP の 5-HT_{2A} 受容体への過剰刺激が抑制性 mACh 調節に打ち勝つことにより HTR が発現すると思われる。事実、scopolamine による mACh 受容体の遮断はその結果として脱抑制が生じ、5-HT_{2A} 受容体介在性シグナル伝達増大の可能性が示唆されている(Hörtnagl et al. 1987)。また、ラットを用い

た水迷路学習で、5-HT 再取り込み阻害剤 alaproclate と scopolamine の併用投与は各単独投与群に比較して著明に障害されたこと(Riekkinen et al. 1991)からも上記の考えを支持されよう。さらに、ACh 神経活性は 5-HT 神経の緊張性調節を受けている可能性も否定できない。5-HT 作動薬は ACh 神経活動を減少し、神経終末部からの ACh 遊離を低下させる(Barnes et al. 1989; Muramatsu et al. 1988)。その結果、後シナプス部の mACh 受容体を介した抑制性調節は低下し、5-HT_{2A} 受容体刺激効果は更に増加するものと思われる。このように、5-HT 神経系の機能亢進と mACh 神経系の機能低下は、HTR 発現に重要な役割を担っており、5-HT_{2A} 受容体と mACh 受容体が幻覚発現に介在しているものと推定される。

第二章 脳機能障害誘発問題行動の動物モデルに対する aniracetam の行動薬理的検討

脳血管障害後遺症による精神症状の治療に対して既存の向精神病薬が処方されているが、必ずしも満足いく結果が選られないばかりか時として高齢者の患者ではこれら薬剤によりかえって症状が悪化し新たな他の精神症状を発現する事もあり(山本、渡辺、1996) 新たな治療薬の開発が望まれていた。

Aniracetam (図 - 1) は F. Hoffmann-La Roche 社で合成・開発された 2-pyrrolidinone 誘導体であり、動物実験で優れた抗健忘効果 (Martin and Haefely 1993) を示し、安全性においても一般薬理試験で副作用を示唆するような作用は報告されておらず (Himori et al. 1986)、安全性の高い薬剤である。Aniracetam は脳血管障害後遺症による精神症状改善効果を検討する目的で placebo を対照にした二重盲検比較試験が実施され、情緒障害 (不安、尚早、抑うつ気分)、睡眠障害、問題行動 (徘徊、夜間譫妄) に対し優れた有用性が証明された (Otomo et al. 1991; Shinosaki et al. 2000)。臨床において明らかに周辺症状改善作用を示すが、適切な動物モデルがないため aniracetam の有効性をしめす行動薬理学試験は殆ど実施されていない。Aniracetam の作用機序は脳内 ACh 神経系賦活作用、脳内グルコース利用率改善や ATP 産生促進などによる脳エネルギー代謝改善、グルタミン酸受容体調節によるシナプス伝導効率促進作用等によるとされている (Martin and Haefely 1993)。

Aniracetam やその代謝産物はラットの海馬、視床網様核、大脳皮質前頭前野での ACh 遊離増加させ (Giovannini et al. 1993; Nakamura and Shirane 1999)、aniracetam の連続投与は海馬での mACh 受容体数の減少 (down-regulation) や scopolamine 投与による ACh 量の減少を回復し (Martin and Haefely 1993)、ACh 生合成酵素のコリンアセチルトランスフェラーゼ (choline acetyltransferase: ChAT) 活性を上昇させる (Egashira et al. 1996; Nakamura and Shirane 1999)。近年 aniracetam の ACh 遊離作用は代謝調節型グルタミン酸受容体 (metabotropic glutamate receptor; mGluR) を活性化して促進すると報告され (Nakamura and Shirane 1999; Shirane and Nakamura 2000)、aniracetam の中枢コリン機構の活性化を通じて精神症状の改善が認められると考えられる。しかし、痴呆症患者で発現する周辺症状の精神症状を測定でき得る適切な動物モデルが存在しなかったため、精神症状を改善する、aniracetam の詳細な行動薬理的検討がなされていなかった。本研究では、第一章で検討した痴呆症患者でみられる周辺症状の一部を再現した老齢ラット並びに中枢作動薬投与による一過性の脳機能不全ラットを用い、これら

動物モデルに aniracetam を適用しその有効性を行動薬理的に検討した。

第 1 節 老齡ラットにおける概日リズム障害

1-1 序論

第一章、第 1 節で、自由給餌条件下若齡ラットに比較して老齡ラットでは暗期及び 1 日の総行動量は著しく低値であったが、若齡及び老齡ラット両群とも暗期の行動量が高い夜間行動パターンのリズムを示した。しかし、7 日間の制限給餌を実施することにより若齡ラットでは給餌時間付近での行動量の増加、すなわち制限給餌誘発期待行動を発現したのに対し、老齡ラットではこの期待行動はほとんど発現せず老化により制限給餌誘発期待行動は障害される事を示した。この障害は physostigmine で改善し nefiracetam で改善傾向を示した。従って本研究では老齡ラットの制限給餌誘発期待行動の障害に対する aniracetam の効果を検討すると共に、各種受容体拮抗薬との併用により aniracetam の薬理学的特性を検討した。

1-2 実験材料並びに実験方法

使用動物：第一章、第 1 節と同一である。

実験方法：第一章、第 1 節と同一である。

使用薬物並びに投与方法：Aniracetam はスイス・ロシュ社で合成されたものの供与を受け、0.25%CMC 溶液に体重 1kg 当たり 5ml になるよう用時懸濁し、1 日 1 回、Day 1 より Day 7 まで 7 日間、給餌終了直後（14：30）に経口投与した。その他については第一章、第 1 節と同一である。

統計解析：第一章、第 1 節と同一である。

1-3 実験成績

1-3-1 Aniracetam 単独効果

Aniracetam の 30、100 mg/kg の 7 日間の連続経口投与は溶媒投与対照群に比較して暗期、明期並びに 1 日の総行動量に有意な差は認められなかった。また、制限給餌による明期行動量と 1 日の総行動量の低下も溶媒投与対照群と同様な経過であった（表 - 8）。

表 - 8 老齡ラットの運動活性に対する aniracetam の効果

投与群	用量 mg/kg	期間	運動活性 (カウント)		
			実験-1日目	実験6日目	実験7日目
溶媒投与群	-	明期	1174 ± 195	1119 ± 110	859 ± 102
		暗期	5271 ± 1271	2068 ± 384 [#]	2008 ± 353 [#]
		1日量	6445 ± 1413	3188 ± 446 [#]	2866 ± 370 [#]
Aniracetam	30 p.o.	明期	1243 ± 295	1260 ± 163	928 ± 146
		暗期	5179 ± 1143	2058 ± 174 ^{##}	2168 ± 177 ^{##}
		1日量	6422 ± 1345	3319 ± 277 [#]	3096 ± 202 [#]
	100 p.o.	明期	825 ± 176	1139 ± 92.5	960 ± 70.1
		暗期	2967 ± 275	1879 ± 128 ^{###}	1882 ± 156 ^{###}
		1日量	3793 ± 439	3018 ± 183 ^{###}	2841 ± 192 ^{###}

Aniracetam は 1 日 1 回 7 日間 (実験 1 日目から 7 日目) 投与した。データは 1 群 4-6 匹の平均値 ± 標準誤差で示す。# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ 、### $P < 0.001$ vs 対応する実験-1 日目の値。

しかし、aniracetam の 7 日間に亘る投与は用量に依存して老齡ラットに認められる制限給餌誘発期待行動の障害を改善し、30、100 mg/kg では Day -1 に比較して期待行動量は Day 7 で著明に増加した。Day 7 での制限給餌誘発期待行動は aniracetam 100 mg/kg で溶媒投与対照群に比較して有意に高値を示し、改善作用が認められた (図 - 18)。尚、今回使用した aniracetam の投与はいずれも摂餌量には影響を及ぼさず、一般行動も何ら異常は認めなかった。

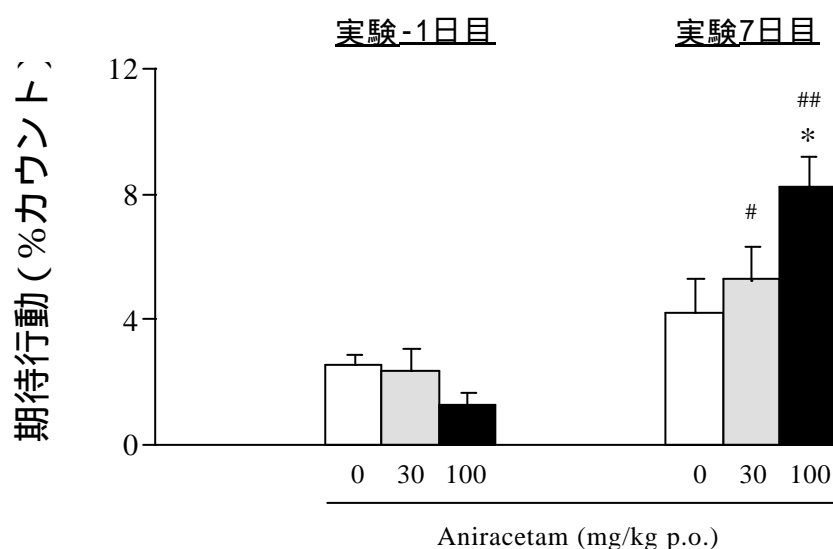


図 - 18 老齡ラットにおける aniracetam の制限摂餌誘発期待行動に

対する効果。データは1群4-6匹の平均値 ± 標準誤差を示す。* $P < 0.05$
vs 溶媒投与群、 # $P < 0.05$ 、 ## $P < 0.01$ vs 対応する実験-1日目の値。

1-3-2 ACh拮抗剤との併用効果

mACh拮抗剤である scopolamine (0.1 mg/kg i.p.)の単独投与は何ら制限給餌誘発期待行動に影響しなかったが、aniracetamとの併用によりaniracetamの制限給餌性期待行動回復作用は著しく抑制された(図-19)。一方、nACh拮抗剤のmecamylamine (3 mg/kg i.p.)とaniracetamとの併用投与は、aniracetamの制限給餌性期待行動回復に何ら影響しなかった(図-19)。なお、溶媒投与群と比較してscopolamine、mecamylamine両剤とaniracetamの併用投与は明期、暗期、並びに1日の総行動量に影響せず、摂餌量にも影響しなかった(表-9、図-21)。

表-9 老齢ラットの運動活性に対するscopolamine又はmecamylamine併用投与によるaniracetamの効果

投与群	投与量 (mg/kg)	期間	運動活性 (カウント)		
			実験-1日目	実験6日目	実験7日目
溶媒投与	-	明期	1515 ± 295	1913 ± 429	2131 ± 481
		暗期	4308 ± 760	3381 ± 565##	3244 ± 548##
		1日量	5823 ± 1035	5295 ± 924	5376 ± 953
Aniracetam	100 p.o.	明期	1220 ± 100	1906 ± 240##	1693 ± 146#
		暗期	4762 ± 448	3674 ± 362##	3401 ± 306##
		1日量	5982 ± 514	5579 ± 491	5095 ± 313#
Scopolamine	0.1 i.p.	明期	1263 ± 299	2022 ± 182#	1569 ± 176
		暗期	3852 ± 599	3646 ± 482	3225 ± 627
		1日量	5116 ± 807	5668 ± 606	4794 ± 634
+ aniracetam	100 p.o.	明期	1511 ± 181	2214 ± 228##	1747 ± 176
		暗期	4204 ± 270	3379 ± 349#	3753 ± 261
		1日量	5715 ± 350	5593 ± 512	5499 ± 348
溶媒投与	-	明期	1394 ± 221	1832 ± 381	1875 ± 425
		暗期	4023 ± 537	3464 ± 491	3429 ± 518
		1日量	5417 ± 665	5297 ± 809	5304 ± 840
Mecamylamine 3 i.p.		明期	1314 ± 232	1783 ± 351	1458 ± 285
		暗期	3741 ± 589	2679 ± 506##	3430 ± 582

		1 日量	5054 ± 791	4462 ± 819	4888 ± 782
+ aniracetam	100 p.o.	明期	1194 ± 158	1796 ± 184##	1269 ± 99.6
		暗期	4032 ± 387	2847 ± 339##	2558 ± 344##
		1 日量	5227 ± 508	4643 ± 488#	3828 ± 431##

Aniracetam は 1 日 1 回 7 日間 (実験 1 日目から 7 日目) 投与し、scopolamine、mecamylamine は aniracetam 投与直後 (実験 5 日目及び 6 日目) と実験 7 日目の 10 時 30 分に投与した。データは 1 群 5-9 匹の平均値 ± 標準誤差を示す。# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ vs 対応する実験-1 日目の値。

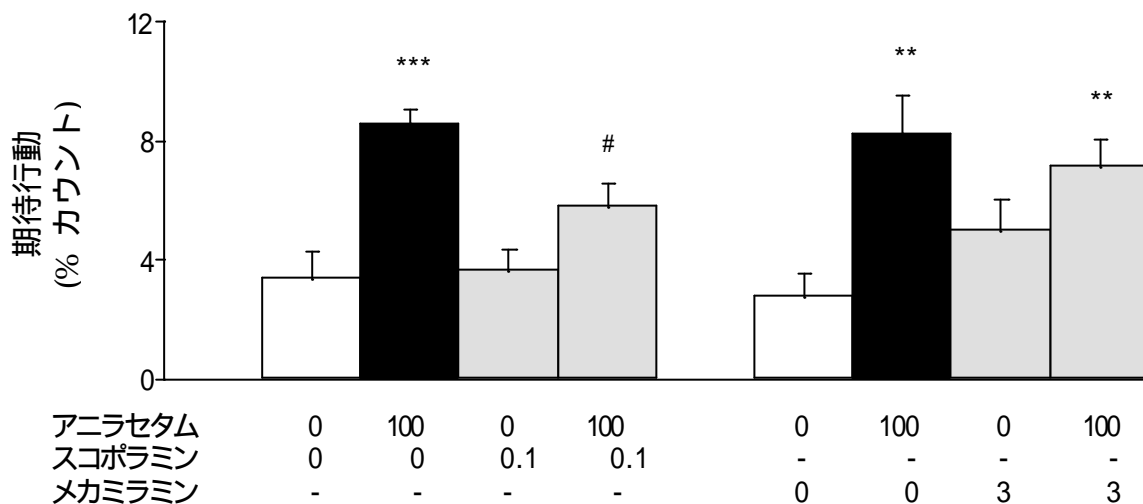


図 - 19 老齢ラットの制限摂餌誘発期待行動に対する scopolamine 又は mecamlamine 併用投与による aniracetam の効果。Aniracetam は 1 日 1 回 7 日間 (実験 1 日目から 7 日目) scopolamine 及び mecamlamine は aniracetam 投与直後 (実験 5 日目及び 6 日目) と実験 7 日目の 10 時 30 分に投与した。横軸数字は投与量(mg/kg)を示す。データは 1 群 5-9 匹の平均値 ± 標準誤差で示す。** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$ vs 溶媒投与群 (白カラム) # $P < 0.05$ vs aniracetam 投与群。

1-3-3 DA 及び 5-HT 拮抗剤との併用効果

Aniracetam と DA D_2 拮抗剤である haloperidol (0.1 mg/kg i.p.) の併用投与は aniracetam の制限給餌誘発期待行動の回復作用を阻害した (図 - 20)。Haloperidol 単独投与は Day 7 においても特異的な夜間行動パターンのリズムを示すが、暗期、明期及び 1 日の行動量は Day -1 に比較して著しく低下し、溶

媒投与群と比較して明期並びに 1 日の総行動量は減少した(表 - 10)。Haloperidol の行動量低下に対し aniracetam は影響しなかった。5-HT₂ 拮抗剤の ketanserin (1 mg/kg i.p.)は老齢ラットでの制限給餌誘発行動の障害を回復したが aniracetam との併用でも何ら抑制作用も増強作用も示さなかった(表 - 10)。また、1 日の行動量(明期、暗期及び総行動量)に対しても影響しなかった(図 - 20)。なお、haloperidol 又は ketanserin と aniracetam との併用投与は溶媒投与群と比較して摂食量に著しい差は認めなかった(図 - 21)。

表 - 10 老齢ラットの運動活性に対する haloperidol、ketanserin 又は NBQX 併用投与による aniracetam の効果

投与群	投与量 (mg/kg)	期間	運動活性 (カウント)		
			実験-1日目	実験-6日目	実験7日目
溶媒投与	-	明期	1650 ± 144	1711 ± 179	1759 ± 147
		暗期	4338 ± 578	3575 ± 447	4074 ± 444
		1日量	5988 ± 622	5286 ± 573	5834 ± 437
Haloperidol	0.1 i.p.	明期	1103 ± 120	1073 ± 164	657 ± 110*##
		暗期	4973 ± 438	2712 ± 289##	2818 ± 324###
		1日量	6077 ± 483	3785 ± 393##	3475 ± 385*##
+aniracetam	100 p.o.	明期	1524 ± 252	1596 ± 302	1178 ± 307
		暗期	4936 ± 347	2887 ± 238##	3041 ± 353##
		1日量	6460 ± 524	4483 ± 514#	4220 ± 649#
溶媒投与	-	明期	1586 ± 138	1650 ± 163	1679 ± 148
		暗期	4413 ± 495	3602 ± 379	3923 ± 405
		1日量	5998 ± 526	5252 ± 486	5602 ± 436
Ketanserin	1 i.p.	明期	1456 ± 155	1706 ± 156	1432 ± 143
		暗期	4558 ± 320	3093 ± 288##	3055 ± 482###
		1日量	6014 ± 427	4799 ± 419##	4486 ± 598##
+aniracetam	100 p.o.	明期	1399 ± 88	1573 ± 154	1505 ± 171
		暗期	4799 ± 308	3474 ± 387##	3743 ± 316##
		1日量	6197 ± 329	5047 ± 293#	5248 ± 420#
溶媒投与	-	明期	1529 ± 197	2532 ± 185##	1891 ± 251
		暗期	4958 ± 333	4906 ± 976	4183 ± 884
		1日量	6487 ± 460	7438 ± 1013	6074 ± 1089

NBQX	1 μ g/rat i.c.v.	明期	1481 \pm 257	2415 \pm 225 ^{##}	2275 \pm 255 ^{##}
		暗期	5556 \pm 667	4394 \pm 577	4654 \pm 408
		1 日量	7038 \pm 876	6808 \pm 706	6929 \pm 623
+aniracetam	100 p.o.	明期	1227 \pm 91.2	1818 \pm 223 [*]	1795 \pm 227
		暗期	5076 \pm 621	3464 \pm 504 [#]	3318 \pm 431 [#]
		1 日量	6303 \pm 567	5282 \pm 617	5113 \pm 636

各受容体拮抗薬は aniracetam 投与直後（実験 5 日目及び 6 日目）と実験 7 日目の 10 時 30 分に投与した。なお、NBQX は脳室内に投与した。データは 1 群 6-8 匹の平均値 \pm 標準誤差を示す。^{*} $P < 0.05$ vs 溶媒投与群。[#] $P < 0.05$ 、^{##} $P < 0.01$ 、^{###} $P < 0.001$ vs 対応する実験-1 日目の値。

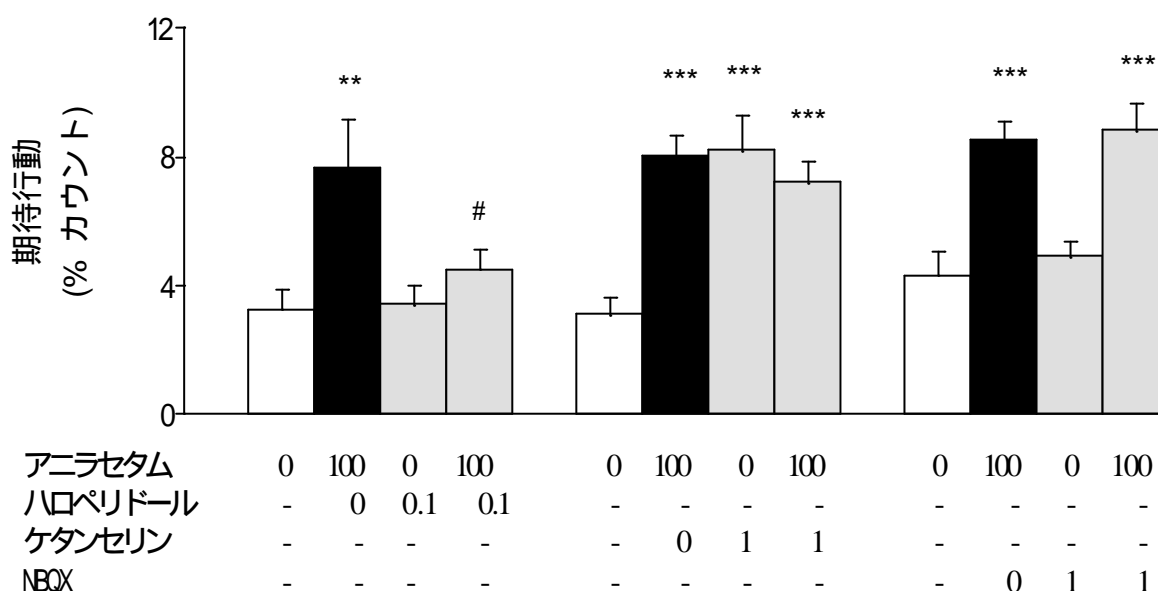


図 - 20 老齢ラットの制限摂餌誘発期待行動に対する haloperidol、ketanserinまたはNBQX 併用投与による aniracetam の効果。Aniracetam は 1 日 1 回 7 日間（実験 1 日目から 7 日目）投与し、各受容体拮抗剤は aniracetam 投与直後（実験 5 日目及び 6 日目）と実験 7 日目の 10 時 30 分に投与した。なお、NBQX は脳室内に投与した。横軸数字は投与量 (mg/kg、NBQX のみ μ g/rat) を示す。データは 1 群 6-8 匹の平均値 \pm 標準誤差を示す。^{**} $P < 0.01$ 、^{***} $P < 0.001$ vs 溶媒投与群（白カラム）。[#] $P < 0.05$ vs aniracetam 投与群。

1-3-4 AMPA 拮抗剤との併用効果

興奮性アミノ酸はイオン調節型 AMPA 受容体を介して ACh を遊離する事が知られている (Giovannini et al. 1993; Kendrick et al. 1996)。従って、AMPA 拮抗剤の NBQX 投与が aniracetam の作用に影響するか否かを検討する目的で、NBQX (1 μ g/rat)を脳室内投与したが、aniracetam の作用に対し何ら影響せず、概日運動活性リズム、行動量に影響を与えなかったが(表 - 10、図 - 20)、摂餌量は著明に減少した(図 - 21)。

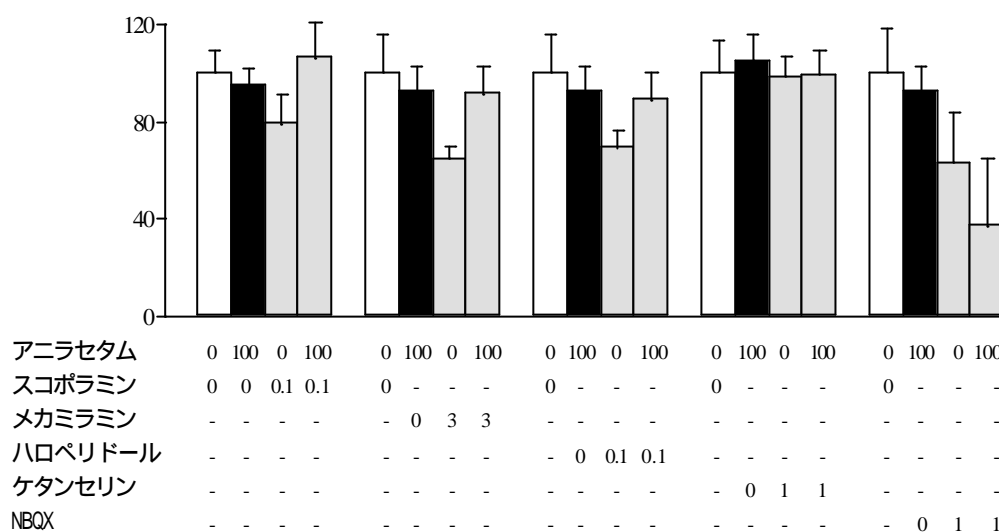


図 - 21 老齢ラットの aniracetam、各種受容体拮抗剤並びに aniracetam との併用投与による制限給餌中の摂餌量に対する影響。Aniracetam は 1 日 1 回 7 日間 (実験 1 日目から 7 日目) 投与し、各受容体拮抗剤は aniracetam 投与直後 (実験 5 日目及び 6 日目) と実験 7 日目の 10 時 30 分に投与した。なお、NBQX は脳室内に投与した。横軸数字は投与量(mg/kg、NBQX のみ μ g/rat)を示す。データは 1 群 5-9 匹の、溶媒投与群の値に対する割合 (%) の平均値 \pm 標準誤差で示した。

第 2 節 初老期ラットにおける scopolamine 及び apomorphine 誘発注意障害

2-1 序論

第一章、第 2 節及び第 3 節でオペラント行動の選択反応課題に十分訓練された初老期ラットに scopolamine(mACh 拮抗剤)や apomorphine(非選択的 DA D₁/D₂ 受容体作動薬)を投与することにより、選択反応時間の延長、正反応率の低下や尚早反応の増加などを示し、ヒト脳血管障害後遺症やアルツハイマー病でしばしば発現する神経精神症状の譫妄様症状を呈する動物モデルである事を提唱した。このモデルはまた、脳機能が単一神経系のみ障害によって譫妄様症状が発現するのではなく、複数の、またはそれぞれの神経系のネットワーク障害により譫妄様症状の発現する可能性も示唆した。本節では scopolamine 又は apomorphine 誘発による選択的注意障害に対する aniracetam の効果について検討した。

2-2 実験材料並びに実験方法

使用動物：第一章、第 2 節及び第 3 節と同一である。

実験方法：第一章、第 2 節及び第 3 節と同一である。

使用薬物並びに投与方法：Aniracetam 及び nefiracetam はスイス・ロシュ社で合成されたものの供与を受け、0.25%CMC 溶液に体重 1kg 当たり 5ml になるよう用時懸濁した。その他については第一章、第 4 節と同一である。

統計解析：第一章、第 2 節及び第 3 節と同一である。

2-3 実験成績

2-3-1 Scopolamine に対する効果

Aniracetam (10-100 mg/kg p.o.)を scopolamine (0.3 mg/kg i.p.)投与 30 分前に投与し、scopolamine 誘発選択反応課題障害に対する効果を検討した。Aniracetam は用量依存的、かつ有意にこの障害を改善した。この改善作用は 30mg/kg で最も効果的であり、scopolamine で低下した正反応率を増加し、増加した無反応率を低下させた。より高用量の 100mg/kg での改善効果は 30mg/kg に比べてやや弱く、全投与用量からみた反応パターンは U 字反応であった。Aniracetam は CRT に対しても改善効果の傾向を示したが、尚早反応には影響しなかった (図 - 22)。

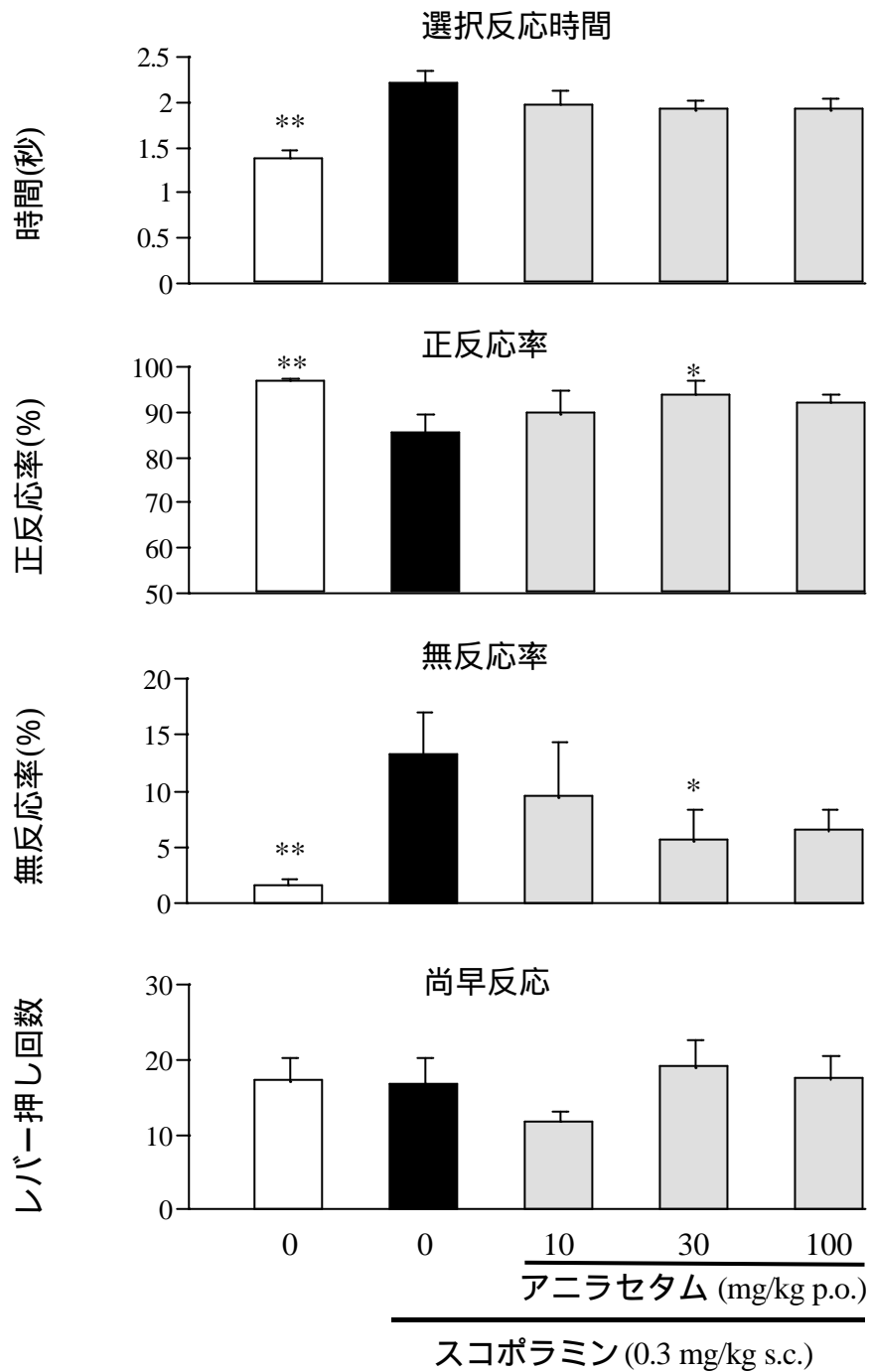


図 - 22 初老期ラットのscopolamine 誘発選択反応課題障害に対する aniracetam の効果。Aniracetam 投与 30 分後に scopolamine を投与し、その 65 分後に試験した。データは 1 群 15-18 匹のラットの平均値 ± 標準誤差を示す。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ vs scopolamine 単独投与群。

2-3-2 Apomorphine に対する効果

Aniracetam (10-100 ng/kg p.o.) 投与 30 分後に apomorphine (0.1 mg/kg) を皮下投与しその 25 分後に選択反応課題試験を実施した。Aniracetam の前投与は apomorphine 誘発課題障害に対し、10mg/kg 投与で最大の改善効果が認められ、CRT の短縮、正反応率の増加、無反応率の減少がいずれも有意に認められた。Aniracetam の全投与用量の反応パターンは scopolamine での試験と同様、U 字型反応であった (表 - 11)。

Aniracetam と同じラセタム系薬剤である nefiracetam (3-30 mg/kg p.o.) は、apomorphine 障害に対し、いずれの行動指標も有意な改善は認められず、10、30mg/kg の高用量では逆に悪化傾向を示した (表 - 11)。

表 - 11 初老期ラットの apomorphine 誘発選択反応課題障害に対する aniracetam 及び nefiracetam の効果

投与群	用量 mg/kg	選択反応時間 (秒)	正解率 (%)	無反応率 (%)
溶媒投与群	-	1.3 ± 0.1**	97.7 ± 1.1**	2.0 ± 1.0**
Apomorphine	0.1 s.c.	2.4 ± 0.2	86.4 ± 2.2	13.1 ± 2.3*
+ aniracetam	10 p.o.	1.9 ± 0.1*	93.3 ± 2.0*	6.4 ± 2.0
	30 p.o.	2.2 ± 0.1	91.2 ± 1.6	8.5 ± 1.8
	100 p.o.	2.4 ± 0.2	87.5 ± 3.6	11.4 ± 3.8
溶媒投与群	-	1.3 ± 0.1*	96.9 ± 1.0*	2.1 ± 0.7*
Apomorphine	0.1 s.c.	2.1 ± 0.1	89.6 ± 2.0	9.8 ± 2.0
+ nefiracetam	3 p.o.	2.1 ± 0.2	89.0 ± 2.1	10.2 ± 2.3
	10 p.o.	2.1 ± 0.1	82.6 ± 4.2	16.9 ± 4.3
	30 p.o.	2.1 ± 0.2	83.1 ± 5.6	16.9 ± 5.6

被験薬物投与 30 分後に apomorphine を投与し、その 25 分後に試験を実施した。データは 1 群 11-22 匹のラットの平均値 ± 標準誤差を示す。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ vs apomorphine 単独投与群。

第 3 節 老齡ラットにおけるうつ症状モデル

3-1 序論

痴呆症の患者ではうつ様症状が高率に発現し、予後に悪影響を及ぼしている。第一章、第 4 節で述べたように、痴呆症の患者でのうつ様症状を示す動物モデルの研究は少なく、抗うつ剤検定にしばしば用いられているラットの強制水泳試験 (FST) (Borsini and Meli 1988; Porsolt et al. 1978) で痴呆症患者のうつ様症状が確認可能か否かを老齡ラットを用いて検討した。その結果、若齡ラットでは確認できなかった MAO-B 阻害剤で抗うつ効果が確認されたことより、老齡ラットを用いることで痴呆症のうつ様症状の動物モデルになり得る可能性が示唆された。

従って、本章では aniracetam の抗うつ効果を検討すると同時に aniracetam の薬理作用を各種受容体拮抗薬との併用により検討した。近年 aniracetam の抗不安効果が動物モデルで確認されており (Nakamura and Kurasawa 2001)、脳血管障害後遺症の抑うつ状態における aniracetam の有用性を動物実験結果から検証する事は重要と思われる。

3-2 実験材料並びに実験方法

使用動物：第一章、第 4 節と同一である。

実験方法：第一章、第 4 節と同一である。

使用薬物並びに投与方法：Aniracetam はスイス・ロシュ社で合成されたものの供与を受け、0.25% CMC 溶液に体重 1kg 当たり 5ml になるよう用時懸濁した。Physostigmine hemisulfate (Sigma)、scopolamine hydrobromide (東京化成) は 0.9% 生理食塩液に溶解し、体重 1kg 当たり 1ml になるよう用時調整した。Aniracetam は Day1 の訓練試行直後、Day2 のテスト試行 4 時間及び 1 時間前の 3 回経口投与した。Scopolamine 及び physostigmine は Day 2 の 5 分間のテスト試行 30 分前に単回腹腔内投与した。溶媒対照群として 0.9% 生理食塩液または 0.25% CMC 溶液を同一スケジュールで投与した。

その他については第一章、第 4 節と同一である。

統計解析：第一章、第 4 節と同一である。

3-3 実験成績

3-3-1 若齡ラットにおける aniracetam 単独効果

若齡ラットの FST では第一章、第 4 節で述べたように SSRI、3 環系抗うつ剤、

非定型抗うつ剤、MAO-A 阻害剤などが著明に不働化時間を短縮した(表 - 7)。しかし、aniracetam 10、30、100 mg/kg の経口投与は不働化時間に影響しなかった(図 - 23)。Scopolamine 0.03-0.3 mg/kg 投与は、高用量で不働化時間短縮を認めたが、同時に運動量の亢進が認められた。一方、physostigmine 0.1 mg/kg は不働化時間が増加傾向を示した(図 - 23)。

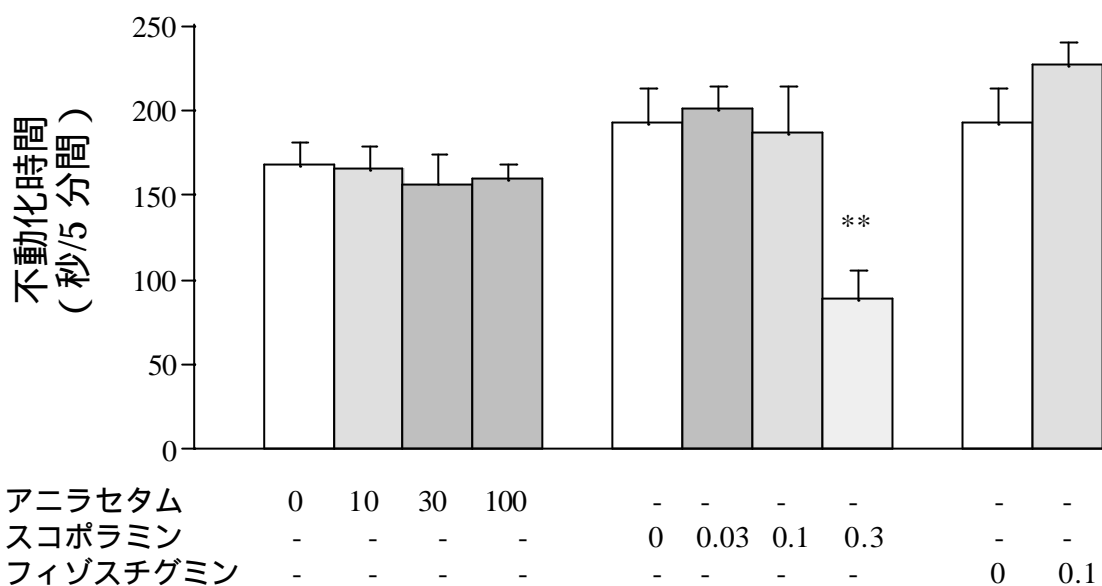


図 - 23 若齢ラットの強制水泳試験における aniracetam、scopolamine 及び physostigmine の効果。Scopolamine 及び physostigmine は試験実施 30 分前に単回腹腔内投与した。横軸数字は投与量(mg/kg)を示す。データは 1 群 6-15 匹の不働化時間の平均値 ± 標準誤差で示した。** $P < 0.01$ vs 溶媒投与群。

3-3-2 老齢ラットにおける aniracetam 単独効果

若齢ラットで aniracetam は FST での不働化時間に対して何ら短縮作用は認められなかったが、同一投与スケジュールで老齢ラットに aniracetam 100 mg/kg を投与することにより不働化時間は約 40%短縮され、aniracetam の抗うつ効果が確認された(表 - 12)。この時 aniracetam は沈静、筋弛緩、歩行異常、運動活性亢進などの副作用は認めなかった。一方、physostigmine は若齢ラット同様不働化時間を約 40%延長した(表 - 12)。

表 - 12 老齡ラットにおける aniracetam 及び physostigmine の強制水泳試験における効果

投与群	用量 mg/kg	Route	ラット数	不動化時間 (秒/5 分間)		
AGED RAT						
溶媒投与群	0	p.o.	8	129	±	11.8
Aniracetam	100	p.o.	7	75.0	±	14.8*
溶媒投与群	0	i.p.	7	145	±	16.8
Physostigmine	0.1	i.p.	5	200	±	30.1

データは平均値±標準誤差を示す。 * $P < 0.05$ vs 溶媒投与群。

3-3-3 老齡ラットでの各種受容体との併用効果

Aniracetam の抗うつ様作用の詳細を検討する目的で、aniracetam とコリン神経系、DA 神経系及び 5-HT 神経系の各受容体拮抗剤との併用での不動時間に及ぼす影響について検討した。

mACh 受容体拮抗薬である scopolamine は用量依存的(0.01-0.1 mg/kg)に運動量亢進することなく不動時間を短縮した(図 - 24)。Scopolamine の最少有効用量は 0.03 mg/kg であり、この用量と aniracetam 100mg/kg との併用は各々単独投与群に比較して不動化時間は短縮した(図 - 24)。他方、nACh 受容体作動薬である nicotine (0.1 mg/kg i.p.)は不動化時間を有意に短縮したが、nACh 受容体拮抗薬の mecamylamine 10 mg/kg 単独投与は不動化時間に影響しなかった(第一章、第 4 節 図 - 11 及び 12)。そこで nACh 受容体の関与が aniracetam の抗うつ効果に関与するか否かを確認する目的で mecamylamine を aniracetam と併用投与したところ、aniracetam の効果が著明に拮抗され、その効力は mecamylamine 単独投与とほぼ同じであった(図 - 24)。

また、DA D₂ 受容体拮抗薬の haloperidol 0.1 mg/kg は単独投与で不動化時間に影響しなかったが(第一章第 4 節、図 - 13)、haloperidol の併用投与は aniracetam 単独の効果に明らかに拮抗し、溶媒投与群のレベルまで減少した(図 - 25)。

一方、5-HT₂ 受容体拮抗薬の ketanserin 1 mg/kg は単独投与で不動化時間に影響しなかったが、aniracetam の効果に対し、拮抗傾向を示したが有意ではなかった(図 - 25)。

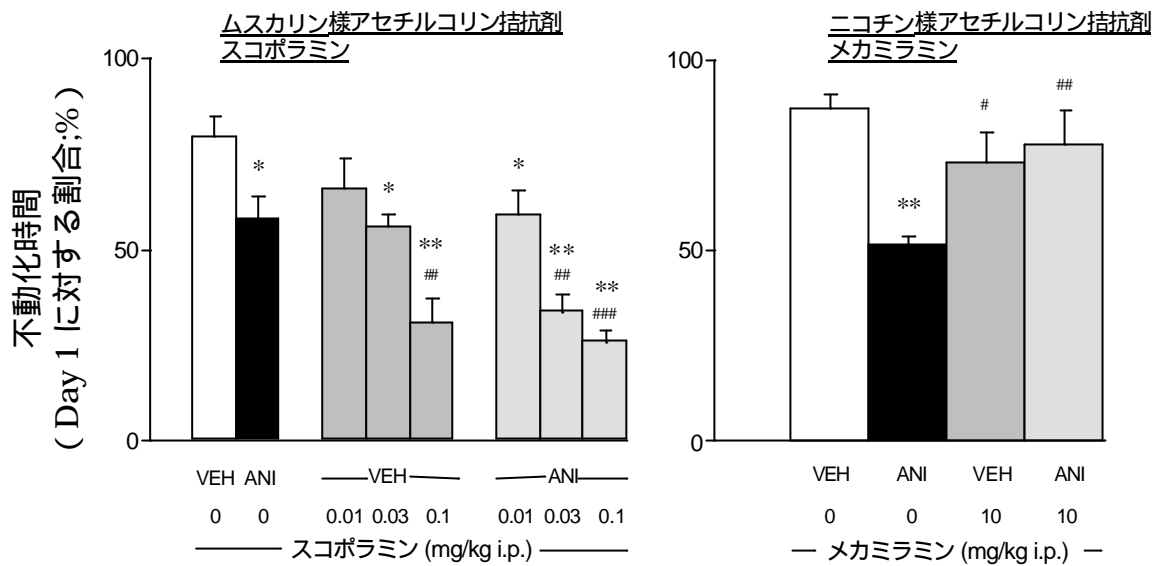


図 - 24 老齢ラットの aniracetam 不動化時間短縮効果に対する scopolamine 又は mecamlamine 併用投与による効果。Aniracetam は 2 日間に亘り 3 回投与し、scopolamine、mecamlamine は試験実施 30 分前に単回投与した。データは 1 群 5-7 匹の平均値 ± 標準誤差を示す。* $P < 0.01$ 、** $P < 0.001$ vs 溶媒投与群、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ vs aniracetam 単独投与群。

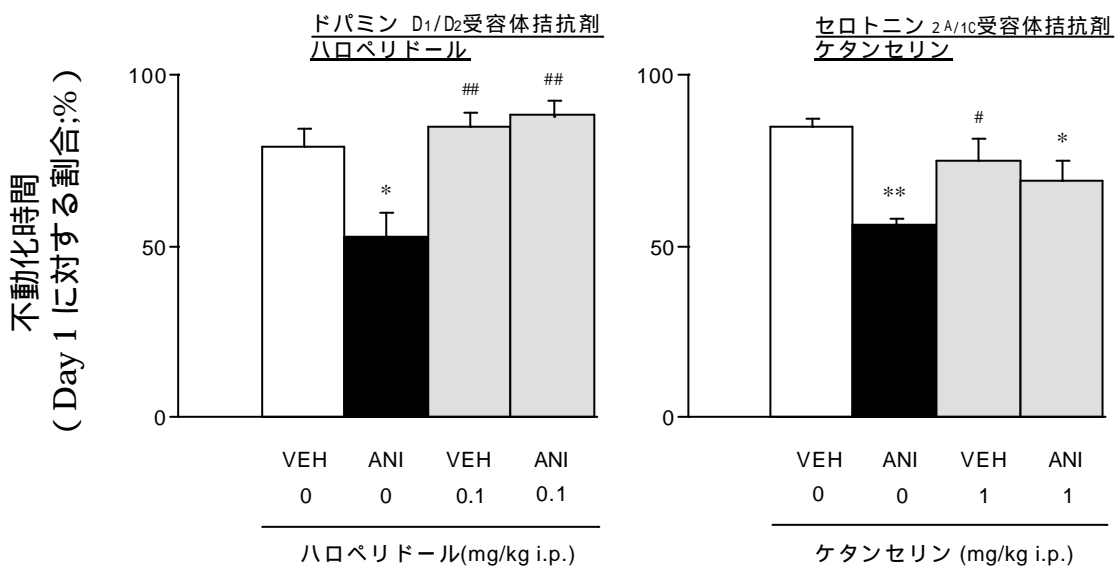


図 - 25 老齢ラットの aniracetam 不動化時間短縮効果に対する haloperidol 又は ketanserin 併用投与による効果。Aniracetam は 2 日間に亘り 3 回投与し、haloperidol、ketanserin は試験実施 30 分前に単回投与した。データは 1 群 5-7 匹の平均値 ± 標準誤差を示す。* $P < 0.01$ 、** $P < 0.001$ vs 溶媒投与群、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ vs aniracetam 単独投与群。

第 4 節 5-HT_{2A} 誘発幻覚様症状モデル

4-1 序論

第一章、第 5 節で 5-HT_{2A} 受容体刺激はマウス、ラットで特異的な首振り運動(head-twitching response; HTR)が発現し、この現象はコリン作動性薬で抑制され、幻覚誘発剤である mescaline による HTR が各種コリン神経賦活剤の投与によって減弱する事が報告されており(Yamamoto et al. 1992)、これらの知見からコリン神経系と 5-HT 神経系とのネットワークが幻覚の発現に関与している可能性が示された。臨床において、aniracetam は脳梗塞後遺症患者でしばしば発現する幻覚に対して有効であることが報告されている(Otomo et al. 1991)が、その詳細は必ずしも解明されていない。

従って、本章では厳格には幻覚の動物モデルではないが、5-HT_{2A} 受容体刺激誘発 HTR を用い、aniracetam の抗幻覚作用を薬理的に検討した。また aniracetam の抗幻覚作用が中枢 5-HT 受容体に対し、直接的に作用するか否かを検討する目的でラット大脳皮質を用い *in vitro* での 5-HT₂、5-HT₃ 受容体に対する結合実験も行った。

4-2 実験材料並びに実験方法

使用動物：第一章、第 5 節と同一である。

実験方法：第一章、第 5 節と同一である。

In vitro 受容体結合実験：5-HT_{2A} 受容体結合実験は Leysen ら(1982)の方法に準じ、ラット断頭直後、氷冷下で大脳皮質前頭葉から定法に従い膜画分 P2 を得た。P2 画分は、50mM Tris 緩衝液(pH7.7)に懸濁し、2.5mg 湿重量/ml 濃度に調整した。この受容体標本 2ml を最終濃度 0.25 nM の [³H]-ketanserin (10% ethanol 溶液 0.1ml、比放射能 80.9Ci/mmol、NEN Life Science、Boston、MA)、被検薬物(10% dimethylsulfoxide 溶液 0.1ml)と共に 37C°、15 分間インキュベートとした。一方、5-HT₃ 受容体結合実験は、Kilpatrick ら(1987)の方法で、大脳皮質より得られた P2 画分を 50mM HEPES 緩衝液(pH7.4)に懸濁し、約 200mg 湿重量/ml 濃度に調整した。この標品 0.1ml を、最終濃度 0.2 nM の [³H]-GR65630 (50mM HEPES 緩衝液 0.1ml、比放射能 64.4Ci/mmol、NEN)、被検薬物(10% dimethylsulfoxide 溶液 0.1ml)と共に、0.1% Tritron X-100 存在下 25C°、30 分間インキュベートとした。インキュベート終了後、各反応混合物を減圧下で予め 0.1% polyethyleneimine に 1-3 時間浸漬した GF/B グラスフィルター(Whatman、Springfield Mill、Maidstone、England)に通し、各緩衝液

で 3 回洗浄した。洗浄後グラスフィルターを計測バイアルに入れ、0.7% butylPBD/toluene-ethanol (1:1) 10ml を加え、液体シンチュレーションカウンター (TRI-CARB/1900-TR、Packard) を用いて放射活性を測定した。各結合実験の特異的結合量は全結合量と非特異的結合量 (^3H -ketanserin 結合で $1\ \mu\text{M}$ ritanserin 存在下、 ^3H -GR65630 結合では 1mM metoclopramide 存在下) との差とした。特異的結合量は ^3H -ketanserin 結合実験で 87% (n=8)、 ^3H -GR65630 結合実験で 47% (n=8) であった。

使用薬物並びに投与方法：Aniracetam はスイス・ロシュ社で合成されたものの供与を受け、scopolamine hydrobromide (東京化成)、2-methylserotonin、quipazine dimaleate、tropisetron (以上 Research Biochemicals) はそれぞれ購入し使用した。Scopolamine は生理食塩液に溶解し、その他については第一章、第 5 節と同一である。

統計解析：第一章、第 5 節と同一である。

4-3 実験成績

4-3-1 マウス HTR

Aniracetam (30、100、300 mg/kg) は用量依存的に 5-HTP 誘発 HTR を抑制し、100mg/kg で 58% 抑制、300mg/kg で 70% 抑制とその効果は有意であった (図 - 26)。なお、5-HTP 投与による軟便、下痢等のセロトニン症候群を aniracetam は抑制しなかった。

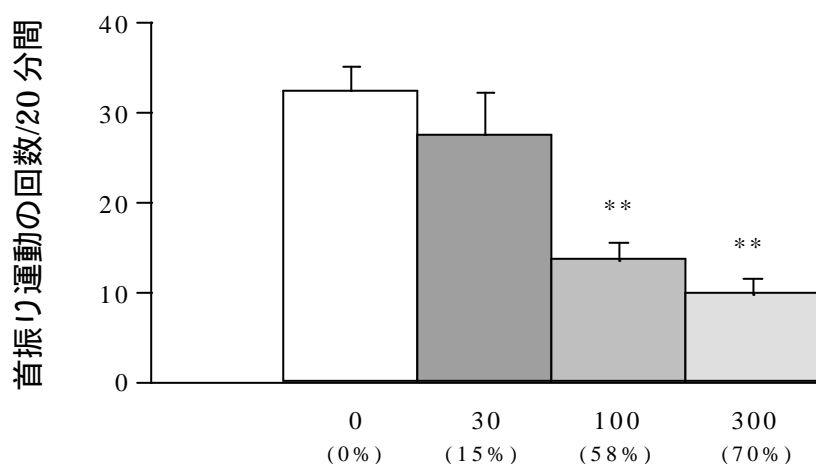


図 - 26 マウス 5-HTP 誘発首振り運動に対する aniracetam の効果。首振り運動の回数は 5-HTP 300 mg/kg i.p. 投与 20 分後から 20 分間測定した。Aniracetam は 5-HTP 投与 30 分前に 30、100、

300mg/kg を経口投与した。データは 20 分間の首振り運動の平均値 ± 標準誤差で示した。() は抑制率を示す。 ** $P < 0.01$ vs 溶媒投与群。

次に 5-HTP 誘発 HTR は mACh 受容体拮抗薬である scopolamine の併用投与により HTR 発現頻度が増加することより (第一章、第 5 節) scopolamine 増強 5-HTP 誘発 HTR に対する aniracetam 及び ritanserin の効果について検討した。Aniracetam 100 mg/kg 及び ritanserin 1 mg/kg は scopolamine 増強 5-HTP 誘発 HTR を著明に抑制し(図 - 27)、これら薬物による scopolamine 増強下での HTR 抑制活性は 5-HTP 単独 (300mg/kg) 投与時に観察された抑制とほぼ同程度の活性であった。

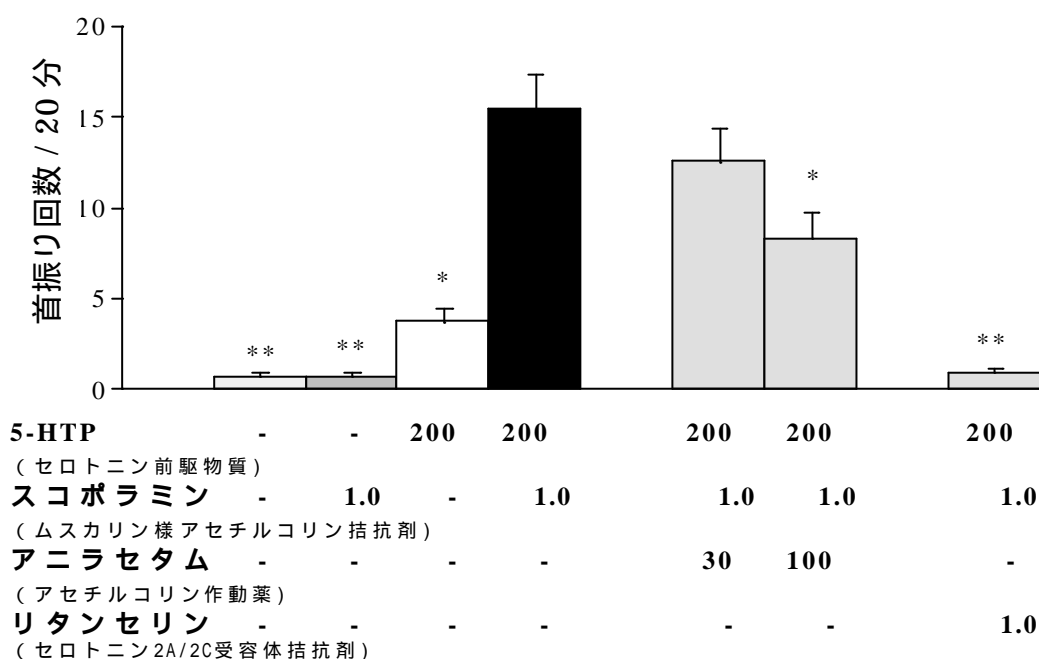


図 - 27 Scopolamine で増強された 5-HTP 誘発マウス首振り運動に対する aniracetam 及びリタンセリンの抑制効果。Scopolamine (1 mg/kg s.c.) 投与 15 分後に 5-HTP 200 mg/kg i.p.投与し、5-HTP 投与 20 分後より 20 分間首振り運動の回数を測定した。Aniracetam 並びにリタンセリンは 5-HTP 投与 30 分前に経口投与し、横軸数字は投与量(mg/kg)を示す。データは 1 群 7-14 匹の首振り運動の回数の平均値 ± 標準誤差を示す。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ vs 5-HTP/scopolamine 併用投与対照群。

4-3-2 ラット HTR

DOI 誘発 HTR に対する各種薬物の作用を検討したところ、aniracetam の 30、100mg/kg 投与で、各々 36、53% と用量依存的かつ有意な抑制効果が認められた。Ritanserin 1 mg/kg 投与も 87% と有意に DOI 誘発 HTR を抑制した(図 - 28)。

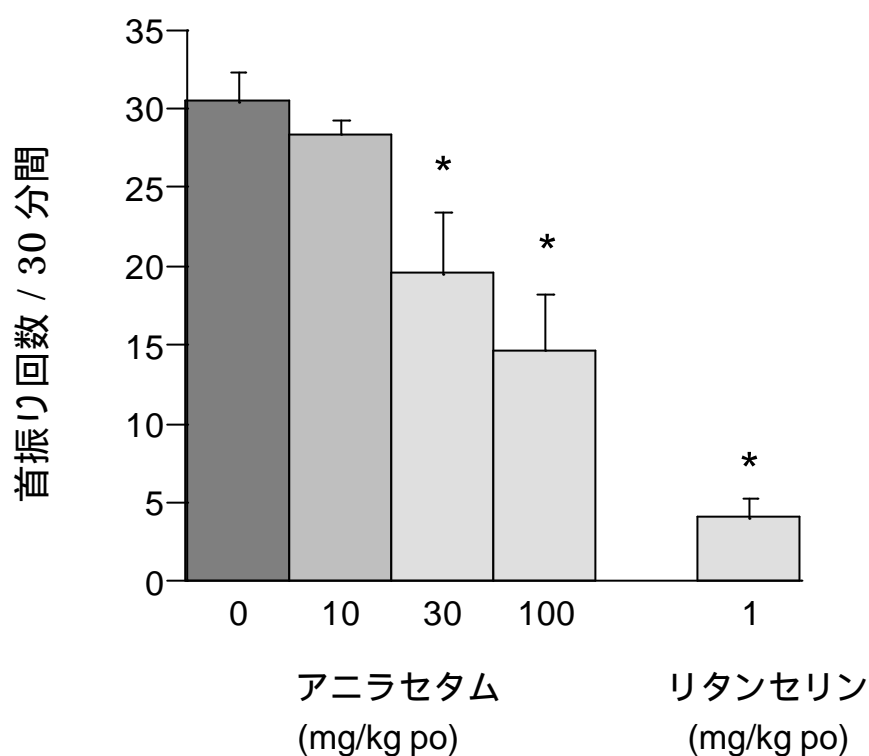


図 - 28 セロトニン $2A/2C$ 受容体作動薬 DOI 誘発ラット首振り運動に対する aniracetam 及びセロトニン $2A/2C$ 受容体拮抗薬 ritanserin の抑制効果。首振り運動の回数は DOI(1 mg/kg s.c.)投与 45 分後より 30 分間測定した。被験薬物は DOI 投与 30 分前に経口投与した。データは 1 群 6 - 10 匹のラットの、30 分間の首振り運動の回数の平均値 ± 標準誤差で表示した。* $P < 0.01$ vs 溶媒投与対照群。

4-3-3 In vitro 受容体結合実験

5-HTP 並びに DOI 誘発 HTR に対し、aniracetam が抑制効果を示したこと、さらに中枢 5-HT₂、5-HT₃ 作動薬が ACh 遊離を調節するとの報告から、これら受容体に対する aniracetam の直接作用を検討した。5-HT₂ 受容体に対して、ritanserin (5-HT_{2A/2C} 受容体拮抗薬) cyproheptadine(非特異的 5-HT 受容体拮抗薬) は ³H-Ketanserin binding を、また 5-HT₃ 受容体に対して 2-methylserotonin、tropisetron(共に 5-HT₃ 受容体拮抗薬)は ³H-GR65630 binding をそれぞれ nM オーダーで阻害し、その特異性が確認された。5-HT 取り込み抑制剤の quipazine は両受容体結合を阻害した。しかし本実験系において、aniracetam の 1-100 μM の濃度はラット大脳皮質の³H]-ketanserin 結合及び³H]-GR65630 結合を何ら阻害せず、従って aniracetam は 5-HT₂、5-HT₃ 受容体に何ら影響しないと思われる(表 - 13)。

表 - 13 セロトニン₂及びセロトニン₃受容体に対する aniracetam の親和性実験；in vitro 試験

被検薬物	セロトニン ₂ 受容体 (³ H-ketanserin 結合)	セロトニン ₃ 受容体 (³ H-GR65630 結合)
	IC ₅₀ (nM)	
Aniracetam	> 1.0 × 10 ⁵	> 1.0 × 10 ⁵
Quipazine(セロトニン再取り込み抑制剤)	391 ± 17	0.70 ± 0.14
Ritanserin(セロトニン _{2A/2C} 受容体拮抗薬)	0.38 ± 0.07	N.T
Cyproheptadine(非特異的セロトニン受容体拮抗薬)	0.95 ± 0.15	N.T
2-Methylserotonin(セロトニン ₃ 受容体拮抗薬)	N.T	80 ± 20
Tropisetron(セロトニン ₃ 受容体拮抗薬)	N.T	2.7 ± 0.37

セロトニン₂受容体拮抗薬として ³H-ketanserin を、セロトニン₃受容体拮抗薬として ³H-GR65630 を使用し、両薬剤のセロトニン受容体結合に対する各被検薬物の阻害作用を検討した。データは ³H-ketanserin 又は ³H-GR65630 結合を 50%抑制する用量 (IC₅₀ 値) の平均値±標準誤差で標記した。N.T: 試験せず。

第 5 節 考察

Aniracetam は F. Hoffmann-La Roche 社で合成・開発された薬剤であり、動物実験で優れた抗健忘効果 (Martin and Haefely 1993) や高い安全性が報告なされている (Himori et al. 1986)。本研究は脳血管障害後遺症時に発現する精神・神経症状のうちに覚醒・睡眠リズム障害、注意障害、抑うつ並びに幻覚に注目し、脳機能が低下している老齢ラット並びに中枢作動薬投与により、これら病態の行動薬理的検討を行うと同時に、動物モデルに対する aniracetam の有効性を行動薬理的に評価した。今まで既に述べているように、脳血管障害後遺症時に発現する精神・神経症状はコリン神経系のみ機能不全・障害で発現するとは考えにくく、コリン神経系を含め DA 神経系、5-HT 神経系やこれら神経系ネットワークの広範な障害と考えられる。

Aniracetam の コリン神経系賦活作用の検討は老齢ラットの給餌を制限することによって生ずる制限給餌性期待行動リズムの障害、並びにオペラント行動の選択的注意機構を scopolamine 投与により障害させたモデルでの検証を行った。若齢ラットは給餌を制限することによって給餌時間に連動した制限給餌誘発期待行動増加のリズムが認められるのに対し老齢ラットでこのリズムは障害された。この障害は aniracetam により回復し、arecholine や physostigmine 投与でも回復する (Ono et al. 1995)。一方、DA 神経系も食餌誘発性概日リズムに対し調節作用を有する可能性も考えられる (Armstrong 1980; Heffner et al 1980; Honma et al. 1989a)。

Aniracetam 投与による老齢ラットの制限給餌誘発概日リズム障害の回復は中枢 mACh 受容体拮抗薬である scopolamine の併用投与により著しく減少する。一方、nACh 受容体拮抗薬の mecamlamine は aniracetam による回復作用に対し何ら作用を及ぼさなかつた。しかしこれら scopolamine、mecamlamine の単独投与はリズムに影響しないことを証明した。これらの結果から、mACh 受容体刺激は、老齢ラットの制限給餌誘発期待行動の障害に対し回復効果を示し、aniracetam の回復作用は mACh 依存であり、nACh 受容体非依存的であると思われる。制限給餌誘発概日リズムは行動の時間規定や時間記憶であり、老齢ラットで見られたリズム障害は加齢による記憶障害に起因している (Antoniadis et al. 2000)。Mecamlamine は nicotine による学習・記憶増強作用を抑制するが (Levin and Simon 1998)、本実験では aniracetam の効果に拮抗しなかつた。

健康人への中枢 mACh 受容体拮抗薬投与や Alzheimer 患者では妄想様症状を呈し注意障害を認める (Broks et al. 1988; 小島ら 1983; Lipowski 1990; 三好 1990; 柴崎ら 1993; Stephens 1967; Wesnes et al. 1990; 山田、黒田

1998)。本研究でも scopolamine 投与による一過性の注意障害が選択反応課題で認められ、この障害は aniracetam 投与で改善した。これらの結果は先にも述べたが覚醒・睡眠リズム障害並びに注意障害は中枢コリン神経系賦活により改善される。一方、nicotine、scopolamine の単独投与は強制水泳法 (FST) の不動化時間を短縮し、physostigmine は延長した。この結果、中枢 mACh 受容体はおそらくうつ状態惹起に関与していると推測される。興味あることに、aniracetam は老齢ラットの FST の不動化時間を短縮し、この効果は mecamylamine で抑制された。Aniracetam の主薬理作用の1つが中枢コリン神経系賦活作用である事は、承知の事実であるが(Martin and Haefely 1993)、今回の実験で少なくとも aniracetam は mACh 受容体のみならず一部の作用には nACh 受容体賦活作用を有している可能性を示している。しかし、動物モデルの違いが aniracetam による両受容体の関与の差異を示していると思われる。老化によって生じる制限給餌誘発概日リズムの障害は aniracetam の中枢コリン機構の活性化を通じた mACh 受容体刺激によりを回復したものと考えられ、この改善効果は主に大脳皮質で発現する哺乳類時計遺伝子である mPer1 や mPer2 の増加に関与している可能性も否定できない(Wakamatsu et al. 2001)。一方、うつ状態では aniracetam は nACh 受容体刺激作用が大きく関わっていると考えられる。

Aniracetam の中枢 DA 神経系に対する作用の検討は、制限給餌性期待行動、apomorphine 投与注意・覚醒機構障害並びに FST によるうつ様症状に対する改善効果の検討を行った。Aniracetam による食餌誘発性概日リズムの障害回復効果に対し、haloperidol の併用は aniracetam の改善効果を減弱したが、haloperidol の単独投与は食餌誘発性概日リズムに影響しなかった。この結果は食餌誘発性概日リズムに対し haloperidol は行動量の低下にもかかわらず制限給餌性期待行動に影響しなかった Mistlberger and Mumby(1992)の結果と異なるが、これは使用したラットの週齢の違いや制限給餌条件などの違いによるものと思われる。若齢ラットの haloperidol による行動変化と比較した時、今回老齢ラットで制限給餌性期待行動が発現しなかったのは単に老齢ラットの行動量減少に起因するとは考えにくい。この事から、中枢 DA 機構は制限給餌誘発期待反応に対し調節作用を有していると考えられるが詳細は不明である。Aniracetam の DA 神経系に対する改善効果は低用量の apomorphine 投与で生じる選択反応課題障害を改善する事からも支持される。一方、FST で中脳 - 辺縁系 DA 作動性神経の DA 枯渇はうつ状態と相関し(Rossetti et al. 1993)、DA D₂ 受容体を介した DA 神経系刺激は不動化時間を短縮する(Borsini et al. 1988; Duterte-Boucher et al. 1988)。Aniracetam の抗うつ様作用はそれ自体では FST に影響を及ぼさない用量の haloperidol との併用により拮抗され、DA D₂ 受容体作動薬の bromocriptine や、中枢の MAO-B 活性を阻害し、結果的に中枢 DA

量を増加させる lazabemide は不動化時間を短縮した。Aniracetam が apomorphine による注意障害を改善したことから aniracetam が老化ラットの DA 神経機構不全を改善することによって抗うつ作用や DA 機能不全での注意障害改善作用を発現するものと思われる。

5-HT 神経系に対し、aniracetam を含むコリン作動性薬物は 5-HT_{2A} 受容体を介した HTR を抑制した。さらに scopolamine 単独投与は HTR を惹起しないが 5-HTP の最小有効用量との併用で HTR を増強し、aniracetam はこの反応も同様に抑制した。この事は中枢での ACh-5-HT 神経系の相互作用を示唆しており、HTR を発現調節する神経細胞表面には 5-HT_{2A} 受容体と mACh 受容体の共存の可能性が考えられる。Aniracetam は代謝調節型グルタミン酸(mGlu)受容体作動薬の特性を有しており(Nakamura and Shirane 1999; Shirane and Nakamura 2000)、II/III 型 subgroup の mGlu 受容体作動薬が HTR を抑制し、拮抗薬は逆に HTR を増大する(Gewirtz and Marek 2000)。従って、aniracetam の mGluR 作動薬として、5-HT 神経系 - グルタミン酸神経系相互作用による抗幻覚作用を発現した可能性もあるが詳細は不明である。Ketanserin、並びに 5-HT₂ 及び 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬が老齢ラットの制限給餌誘発期待行動の障害を回復したとの報告(Shibata et al. 1995b)は老齢ラットの光非同調性、SCN 非依存性リズムにおいても中枢 5-HT 系が関与している可能性を示唆している。5-HT は線条体、海馬からの ACh 遊離を抑制し、これは 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬で抑制される(Muramatsu et al. 1988)事から、5-HT_{2A} 受容体拮抗薬による ACh 神経系賦活作用も改善効果の一因と思われる。

Aniracetam は大脳皮質前頭前野、扁桃体基底外側核、背側海馬等の 5-HT 遊離を選択的に増加させる(Nakamura et al. 2001)にもかかわらず、本研究で aniracetam は若齢ラットの不動化時間に影響しなかった。老齢ラットでも ketanserin は aniracetam の抗うつ作用に影響せず、DOI や ritanserin、ketanserin の単独投与も FST に何ら影響しないと報告されている(Redrobe and Bourin 1997)。これらのことから aniracetam の抗うつ効果発現に対して中枢 5-HT_{2A} 受容体の関与は低いのかもかもしれない。

Aniracetam やその代謝産物はラットの海馬、視床網様核、大脳皮質前頭前野での ACh 遊離増加させ(Giovannini et al. 1993; Nakamura and Shirane 1999)、aniracetam の連続投与は海馬の mACh 受容体の down-regulation や scopolamine 投与による ACh 減少を回復し(Martin and Haefely 1993)、ChAT 活性を上昇させる(Egashira et al. 1996; Nakamura and Shirane 1999)。最近の知見によれば、 α -Amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) はイオンチャンネル型グルタミン酸受容体の 1 つの subtype、AMPA 受容体の作動薬であり、この受容体を活性化して ACh を遊離する事が知られて

おり(Giovannini et al. 1993; Kendrick et al. 1996)、加えて aniracetam は AMPA 受容体のアロステリック部位に作用し、可逆的かつ選択的に AMPA 受容体応答反応を増強する(Martin and Haefely 1993)。Aniracetam (及びその代謝物)の ACh 遊離作用は AMPA 受容体拮抗薬である YM90K で抑制を受けず、本実験でも NBQX(AMPA 受容体拮抗薬)の投与は aniracetam の制限給餌誘発概日リズム障害の回復に影響しなかった。しかし aniracetam は mGlu 受容体の II 型 subgroup 受容体 (mGlu-II) を活性化して ACh 遊離を発現し、この ACh 遊離は mGlu-II 受容体拮抗薬である (2S,3S,4S)-2-methyl-2-(carboxycyclopropyl)-glycine によって拮抗されることから(Nakamura and Shirane 1999; Shirane and Nakamura 2000)、本研究ではイオン調節型グルタミン酸受容体の関与は低く、aniracetam の薬理効果は主に mGlu-II 受容体の活性化により発現すると思われる。

神経活動の指標として用いられている 2-deoxy-D-glucose の局所利用率を測定したところ、aniracetam は scopolamine 投与によりラットの脳全域で非特異的に認めらる 2-deoxy-D-glucose 局所利用率の低下を、部位特異的に抑制した(Kubota et al. 1982)。Aniracetam の高感受性神経核・領野の多くは 2 つの上行性賦活系、中脳橋網様核 - 視床 - 新皮質系及び中脳橋網様核 - 視床下部後部 - 前脳基底部分 - 旧・古皮質系に属しており、上位脳幹部である、橋背外側被蓋核 (laterodorsal tegmental nucleus: LDTg) と中脳脚橋被蓋核 (pedunculopontine tegmental nucleus: PPTg) の細胞体に起始する ACh 作動性神経経路が視床に投射している (Mesulam et al. 1983)。この中脳橋網様核 - 視床経路と非 ACh 作動性の視床 - 新皮質経路は上行性網様体賦活系の一部を構成しており (Mesulam et al. 1989)、注意・覚醒水準の調節やレム睡眠の誘導・維持、注意機能に重要な役割を果たしていると思われる (Steckler et al. 1994; Steriade et al. 1990)。一方、前脳部にも前脳基底部分に起始して大脳皮質に至る ACh 作動性の基底部分 - 新皮質経路があり、学習や記憶機能に関与している。種々の薬理試験から aniracetam の中枢 ACh 神経系に対する賦活部位は少なくとも中隔野 (Ch1、Ch2) - 海馬投射系、前脳基底部分 (Ch4) - 大脳皮質投射系、中脳・橋背側被蓋野 (Ch5、Ch6) - 視床投射系に作用していると思われるが、本研究の aniracetam の改善効果より、aniracetam の主作用点は中脳・橋背側被蓋野 (Ch5、Ch6) - 視床投射系あるいは大脳皮質に至る上行性網様体賦活系にあると思われる (図 - 29) (中村 1998)。一方、動物モデルで前脳基底部分 (Ch4) - 大脳皮質投射経路の破壊や変性で学習・記憶が障害され、aniracetam 投与で改善効果が認められているが (Martin and Haefely 1993)、臨床での知的機能障害の改善作用は認められておらず (Otomo et al. 1991)、動物モデルと臨床での有効性に隔たりがある。

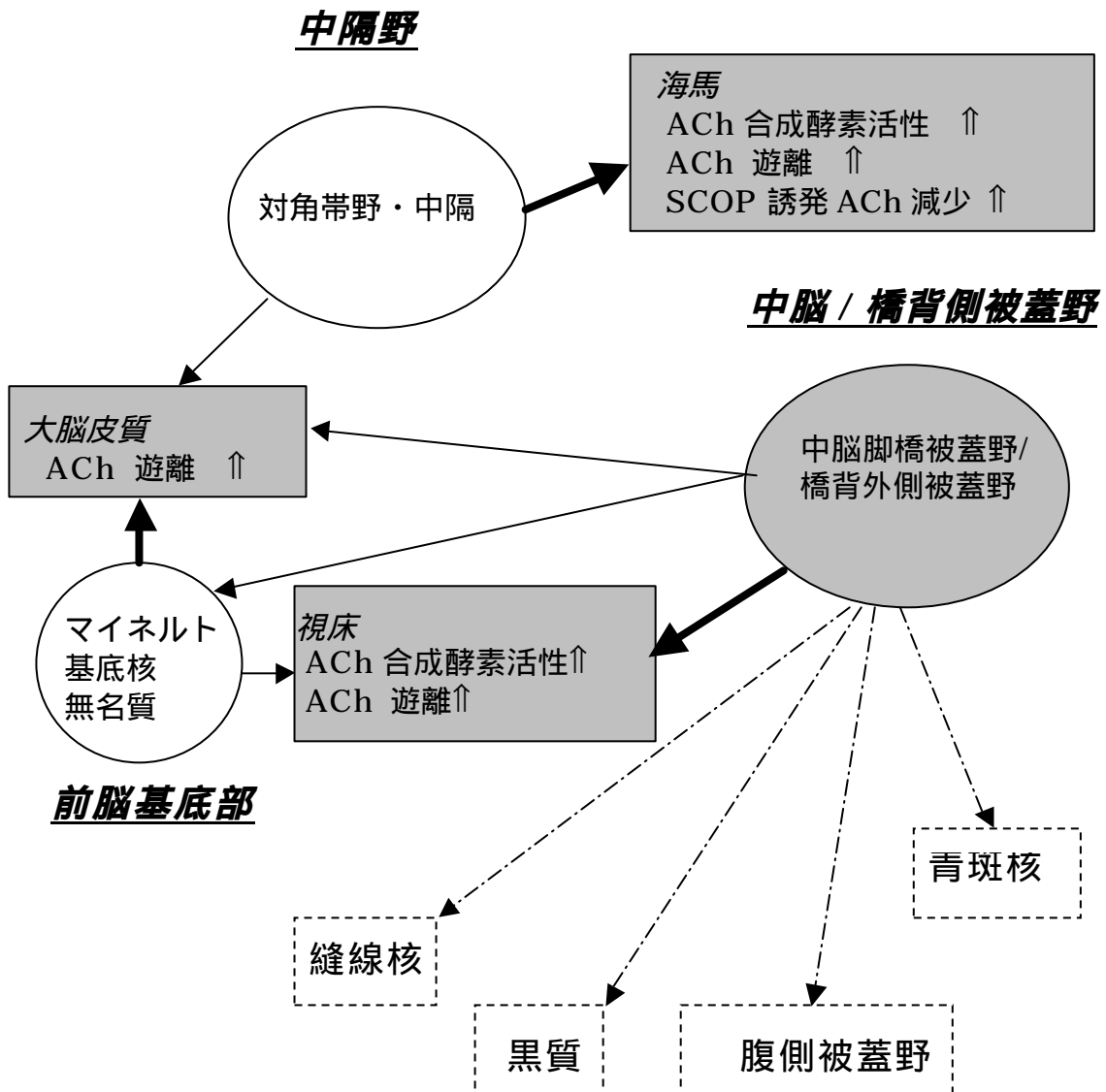


図 - 29 Aniracetam による中枢アセチルコリン神経系活性化経路。影付き枠；aniracetam の作用部位とその効果。太矢印；aniracetam 高感受性コリン神経連絡。破線矢印；非コリン神経連絡。ACh；アセチルコリン、SCOP；scopolamine

一方、DA 神経系に対して aniracetam は視床網様体コリン経路 (reticulothalamic cholinergic pathway) を活性化する。代謝物の 1 つである N-anisoly-GABA を PPTg への直接投与は PPTg からの投射部位の 1 つである視床網様核での ACh 遊離量を増加した (Nakamura and Shirane 1999)。これらのことから、aniracetam はコリン神経系終末部から ACh を遊離し、遊離した ACh が mACh 受容体のみならず nACh 受容体を刺激すると思われる。また、aniracetam の経口投与により大脳皮質から DA の遊離が観察され (Nakamura et al. 2001)、この遊離は mecamylamine の VTA への局所適用により抑制されることから少なくとも aniracetam は腹側被蓋野 (ventral tegmental area; VTA) に作用し、VTA で ACh 遊離を増加させ、遊離された ACh は DA 神経上の nACh 受容体を刺激し、その結果、DA 神経の神経発火上昇・活性化して、DA を遊離し、遊離した DA は神経節後の DA D₂ 受容体を刺激する事により抗うつ様効果やリズム障害回復を発現すると思われる (図 - 30) (Shirane and Nakamura 2001)。

このように、aniracetam の第 1 次目標部位はコリン作動性神経系であり、コリン作動性神経系賦活の結果、また mGlu-II 受容体活性化の結果、DA 神経系や 5-HT 神経系などの第 2 次反応を引続き生じさせるものと思われるが、病態により関与する受容体や、神経系ネットワークの関与の強弱により aniracetam の効果に違いが生ずるものと思われる。

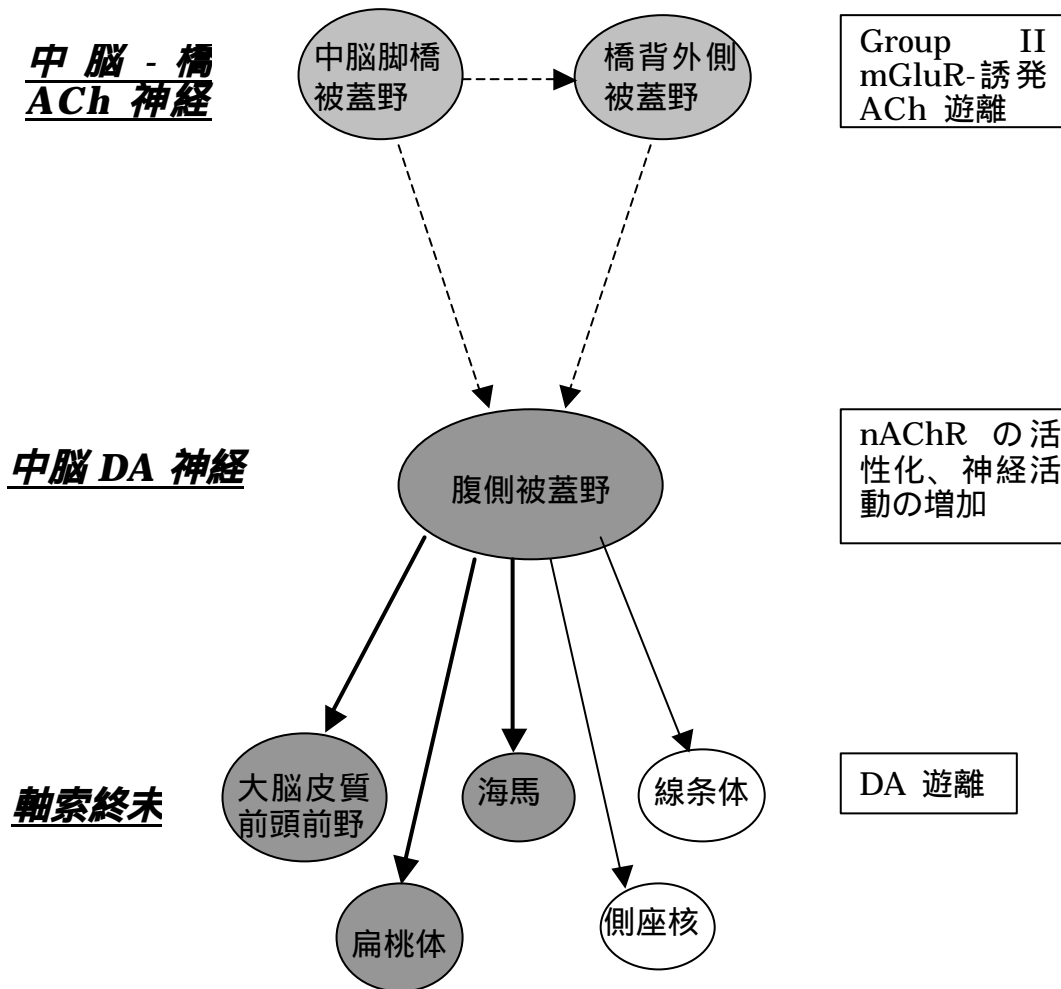


図 - 30 中脳 皮質 - 辺縁系における aniracetam による部位特異的ドパミン (DA) 遊離とそれの活性機序。破線矢印; コリン神経系連絡。影付き枠; aniracetam 作用部位。ACh; アセチルコリン、Group II mGluR; グループ II の代謝調節型グルタミン酸受容体、nAChR; ニコチン様アセチルコリン受容体

総括及び結論

老年人口の増加に伴い中枢神経系機能が広範に障害される脳血管障害性痴呆やアルツハイマー型痴呆患者が増加しつつあり、これら患者では記憶障害や見当識障害等の知的機能障害、すなわち中核症状と、意識障害・意欲障害や情緒障害等の随伴する精神症状や徘徊などの行動異常を含む周辺症状を発現し、介護側の経済的、精神的負担の増加のみならず患者の ADL 減少や、QOL 低下を招きかねない。本研究は脳血管障害後遺症時に発現する周辺症状に注目し、老齡ラット並びに中枢神経作動薬投与による一過性の脳機能不全ラットを用い、覚醒・睡眠リズム障害、注意障害、抑うつ並びに幻覚の病態動物モデルの評価を試み、同時に 2-pyrrolidinone 誘導体である aniracetam の有効性を行動薬理学的に評価した。

1) 概日リズム障害

給餌制限で生ずる給餌期待行動の概日リズムを、老齡ラットを用い行動薬理学的に検討した。制限給餌により若齡ラットで期待行動量増加のリズムが認められるが、中枢コリン及び DA 神経系機能が低下した老齡ラットでは制限給餌誘発概日リズムが障害された。Aniracetam は老齡ラットの概日リズム障害を改善したが、scopolamine 併用により拮抗され、mecamylamine では影響されなかった。mACh 受容体作動薬はこの概日リズム障害を改善し、aniracetam は mACh 受容体刺激によりリズム障害を改善したと考えられる。Haloperidol 単独は影響しないが aniracetam の効果を減弱し中枢 DA 神経系の調節作用が推定される。Ketanserin 単独投与も回復作用を示し、5-HT_{2A} 受容体拮抗薬による ACh 神経系賦活作用と思われる。老化による時間記憶、行動の時間規定が障害されたことは、本モデルが臨床で発現する時間認知不全のみならず徘徊、夜間譫妄などの行動異常、睡眠・覚醒リズム障害、譫妄様症状のモデルと思われ、aniracetam が本モデルで効果的であったことは臨床での有効性を示唆している。

本研究で老齡ラットによる制限給餌誘発概日リズム障害は aniracetam 投与のより回復したことを証明した。Aniracetam による覚醒・睡眠リズムの改善効果は Kimura ら(2000)の SHRSP で発現する睡眠パターンの障害を改善した報告と一致する。

2) 薬物誘発注意障害

本研究で、scopolamine や apomorphine 投与は初老期ラットの選択的反応課題の障害を誘発し、その障害を定量化した。これら行動指標の悪化は運動機能・

食欲変化・記憶機能低下を伴わず、覚醒度や課題遂行モチベーションの低下、注意能力障害を示唆し、脳血管障害患者の妄想様症状の動物モデルと思われる。選択的注意機構の障害は中枢コリン神経系のみならず他の神経系や神経ネットワーク機構の破綻等で発症し、aniracetam は U 字型ではあるが用量 - 反応性の有効性を示した。臨床適用されている tiapride などが有効であったことは本実験系が妄想様症状に類似した動物モデルであり、痴呆を伴った脳血管障害やアルツハイマー病患者の譫妄、夜間徘徊などの問題行動に対する aniracetam の有用性を示唆した。

3) うつ様症状

本研究で、aniracetam は老齢ラットの FST による不動化時間を短縮し、haloperidol 又は mecamylamine との併用で拮抗された。DA D₂ 作動薬も不動化時間を短縮した。Scopolamine、nicotine は FST の不動化時間を短縮したのに対し、physostigmine は延長した。Ketanserin との併用は aniracetam の効果を軽度拮抗傾向を示したに過ぎず、中枢 5-HT_{2A} 受容体の関与は低いと思われる。若齢ラットで aniracetam は無効であった。Aniracetam は mACh 及び nACh の両受容体賦活作用を有するが、本研究で aniracetam が nACh 受容体を賦活し、機能低下状態の DA 神経系を活性化した結果、不動化時間を短縮したと思われる。この結果は PSD に対する aniracetam の有効性を動物モデルからも示唆している。

4) 幻覚様症状

中枢 5-HT_{2A} 受容体の過剰興奮によるラット、マウスの HTR はヒト幻覚症状モデルと考えられる。Aniracetam は中枢 5-HT_{2A} 受容体刺激による HTR を抑制した。Scopolamine は 5-HTP との併用で HTR を増強し、aniracetam はこの反応も同様に抑制した。HTR は 5-HT 受容体拮抗薬、コリン作動性薬物により抑制される。Aniracetam は 5-HT_{2A} 受容体に直接作用せず、コリン神経系を賦活させることによりセロトニン神経系の過剰活動を抑制し、結果として抗幻覚作用を示したと思われる。

5) Aniracetam の神経生化学的特性

本研究での aniracetam の改善効果は、主に中脳・橋背側被蓋野 - 視床投射系あるいは大脳皮質に至る上行性網様体賦活系に作用し、注意・覚醒水準、記憶・学習機能、注意機能などの機能低下・障害を改善したものである。一方、aniracetam は VTA で ACh 遊離を増加させ、DA 神経上の nACh 受容体を刺激し、その結果、DA 神経系を活性化して、抗うつ効果やリズム障害回復を発現す

と思われる。Aniracetam の第 1 次目標部位はコリン作動性神経系であり、コリン神経系賦活やmGlu II 受容体活性化の結果、第 2 次反応を生じさせると考えられるが、病態による受容体関与や神経系ネットワークの関与の強弱が aniracetam の効果に違いが生ずるとと思われる。表 - 14 に以上の結果を纏めた。

表 - 14 動物モデルにおける薬理学的特性と aniracetam の行動薬理学的有用性

	睡眠-覚醒リズム障害モデル 概日リズム 期待行動	譫妄-妄想様モデル 注意障害 CRT	うつ様モデル 強制水泳 不動化時間	幻覚様モデル 首振り運動 回数
若齢ラット	↑	→	→	
老齢ラット	↓	↑	→	
	老齢ラット	薬物誘発	老齢ラット	5-HT _{2A} 誘発
ACh 作動薬	↑, [↑n]	↓(s)	↑(m), ↓(n)	↓
ACh 拮抗剤	→, [→n]	↑(s)	↓(m), →(n)	↑
AMPA 拮抗剤	→	[↑]		
DA D ₂ 作動薬	[↑]	↑(a)	↓	[→]
DA D ₂ 拮抗剤	→	[↑s], ↓(a)	→	[↓]
5-HT _{2A} 作動薬		[↑]	→(5-HT _{1A})	↑
5-HT _{2A} 拮抗剤	↑		↓(reuptake-I)	↓
Aniracetam	↑↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓
+ ACh 拮抗剤	↑(m) ↑↑(n)		↓↓↓↓(m) ↓(n)	↓↓(m?)
+ AMPA 拮抗剤	→	[]		
+ DA D ₂ 拮抗剤	↑		↓	
+ 5-HT _{2A} 拮抗剤	→		↓↓	

↑、↑; 延長・増加、 ↓、↓; 短縮・減少、 →; 作用なし、 CRT; 選択反応時間、 ACh; アセチルコリン、 AMPA; グルタミン酸受容体作動薬の 1 種、 DA; ドパミン、 5-HT; セロトニン、 s; scopolamine、 a; apomorphine、 m; ムスカリン様、 n; ニコチン様、 reuptake-I; 再取り込み抑制剤、 []; 文献引用

本研究内容は以下の論文にて発表している。

- 1: Nakamura K, Kurasawa M, Tanaka Y (1998a) Scopolamine model of delirium in rats and reversal of the performance impairment by aniracetam. *Drug Dev Res* 43:85-97.
- 2: Nakamura K, Kurasawa M, Tanaka Y (1998b) Apomorphine-induced hypoattention in rats and reversal of the choice performance impairment by aniracetam. *Eur J Pharmacol* 342:127-138.
- 3: Tanaka Y, Nakamura K, Kurasawa M (1998) Aniracetam attenuates the 5-HT₂ receptor-mediated head-twitch response in rodents as a hallucination model. *Drug Dev Res* 44:131-139.
- 4: Tanaka Y, Kurasawa M, Nakamura K (2000) Recovery of diminished mealtime-associated anticipatory behavior by aniracetam in aged rats. *Pharmacol Biochem Behav* 66:827-833.
- 5: Nakamura K, Tanaka Y (2001) Antidepressant-like effects of aniracetam in aged rats and its mode of action. *Psychopharmacology* 158:205-212.
- 6: Tanaka Y, Kurasawa M, Nakamura K (2002) Cholinergic and dopaminergic mechanisms involved in the recovery of circadian anticipation by aniracetam in aged rats. *Pharmacol Biochem Behav* 72:45-53.

謝辞

終わりに臨み、本研究の機会を与えられ、御鞭撻を賜りました日本ロシュ株式会社研究所有沢幹雄所長並びに前CNSサポーターラボラトリーグループ長の中村和雄博士に深く感謝いたします。また、本研究に御協力を頂いた前CNSサポーターラボラトリーグループの倉沢光江女史、白根正智博士に感謝いたします。

さらに、本論文の作成に際し、終始有益な御助言と御指導を賜り、発表の機会を与えて下さいました早稲田大学薬理学研究室 柴田重信教授に心から御礼申し上げます。

引用文献

- Alexander DA (1973) Attention dysfunction in senile dementia. *Psycho Rep* 32:229-230.
- Alexopoulos GS, Meyers BS, Young RC, Kakuma T, Silbersweig D, Charlson M (1997) Clinically defined vascular depression. *Am J Psychiatry* 154:562-565.
- Amalric M, Koob GK (1987) Depletion of dopamine in the caudate nucleus but not in nucleus accumbens impairs reaction time performance in rats. *J Neurosci* 7:2129-2134.
- Antoniadis EA, Ko CH, Ralph MR, McDonald RJ (2000) Circadian rhythm, aging and memory *Behav Brain Res* 114:221-233.
- Armstrong S (1980) A chronometric approach of the study of feeding behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 4:27-53.
- Barnes JM, Barnes NM, Costall B, Naylor RJ, Tyers MB (1989) 5-HT₃ receptors mediate inhibition of acetylcholine release in cortical tissue. *Nature* 338:762-763.
- Borsini F, Lecci A, Mancinelli A, D'Aranno V, Meli A (1988) Stimulation of dopamine D-2 but not D-1 receptors reduces immobility time of rats in the forced swimming test: implication for antidepressant activity. *Eur J Pharmacol* 148:301-307.
- Borsini F, Meli A (1988) Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology* 94:147-160.
- Bourin M, Colombel MC, Redrobe JP, Nizard J, Hascoët M, Baker GB (1998) Evaluation of efficacies of different classes of antidepressants in the forced swimming test in mice at different ages. *Proc Neuro Psychopharmacol Biol Psychiatry* 22:343-351.
- Broks P, Preston GC, Traub P, Poppleton C, Ward C, Stahl MC (1988) Modelling dementia: effects of scopolamine on memory and attention. *Neuropsychologia* 26:685-700.
- Brown AS, Gershon S (1993) Dopamine and depression. *J Neural Transm* 91:75-109.
- Brunello N, Riva M, Rovescalli AC, Galimberti R, Racasni G (1988) Age-related changes in rat serotonergic and adrenergic systems and in receptor responsiveness to subchronic desipramine treatment.

- Pharmacol Toxicol 63:150-155.
- Bryer JB, Starkstein SE, Votypka V, Parikh RM, Price TR, Robinson RG (1992) Reduction of CSF monoamine metabolites in poststroke depression: a preliminary report. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 4:440-442.
- Carli M, Samanin R (1992) Serotonin 2 receptor agonists and serotonergic anorectic drugs affect rats' performance differently in a five-choice serial reaction time task. *Psychopharmacology* 106:228-234.
- Cassel JC, Jeltsch H (1995) Serotonergic modulation of cholinergic function in the central nervous system: cognitive implications. *Neurosci* 69:1-41.
- Clarke JD, Coleman GJ (1986) Persistent meal-associated rhythms in SCN-lesioned rats. *Physiol Behav* 36:105-113.
- Chemerinski E, Robinson RG (2000) The neuropsychiatry of stroke. *Psychosomatics* 41:5-14.
- Connor TJ, Kelly JP, Leonard BE (1997) Forced swimming test-induced neurochemical, endocrine and immune changes in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 58:961-967.
- Corne SJ, Pickering RW (1967) A possible correlation between drug-induced hallucinations in man and a behavioural response in mice. *Psychopharmacol* 11:65-78.
- Dellu F, Mayo W, Cherkaoui J, Le Moal M, Simon H (1991) Learning disturbances following excitotoxic lesion of cholinergic pedunculo-pontine nucleus in the rat. *Brain Res* 544:126-132.
- Devanand DP, Sackheim IIA, Brown RP, Mayeux R (1989) A pilot study of haloperidol treatment of psychosis and behavioral disturbance in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 46:854-857.
- Dilsaver SC (1986) Cholinergic mechanisms in depression. *Brain Res Rev* 11:285-316.
- Drachman DA (1993) New criteria for the diagnosis of vascular dementia; Do you know enough yet? *Neurology* 43:243-245.
- Duterte-Boucher D, Leclere JF, Panissaud C, Costentin J (1988) Acute effects of direct dopamine agonists in the mouse behavioral despair test. *Eur J Pharmacol* 154:185-190.
- Egashira T, Takayama F, Tamanaka Y (1996) Effects of bifemelane on muscarinic receptors and choline acetyltransferase in the brains of aged rats following chronic cerebral hypoperfusion induced by permanent

- occlusion of bilateral carotid arteries. *Jpn J Pharmacol* 72:57-65.
- Factor SA, Molho ES, Podskalny GD, Brpwn D (1995) Parkinson's disease: Drug-induced psychiatric states. *In Behavioral Neurology of Movement Disorders. Advances in Neurology*, ed. By Weiner WJ and Lang AE, vol.65, pp.115-138, Raven Press, New York.
- Ferguson SM, Brodtkin JD, Lloyd GK, Menzaghi F (2000) Antidepressant-like effects of the subtype-selective nicotine acetylcholine receptor agonist, SIB-1508Y, in the learned helplessness rat model of depression. *Psychopharmacology* 152:295-303.
- Fibiger HC, Phillips AG (1979) Dopamine and the neural mechanisms of reinforcement. *In The Neurobiology of Dopamine*, ed. By Horn AS, Korf JBH and Westerink BH pp.597-615, Academic Press, London.
- Gewirtz JC, Marek GJ (2000) Behavioral evidence for interactions between a hallucinogenic drug and Group II metabotropic glutamate receptors. *Neuropsychopharmacology* 23:569-576.
- Ghiani CA, Dazzi L, Maciocco E, Flore G, Maira G, Biggio G (1998) Antagonism by abecarnil of enhanced acetylcholine release in the rat brain during anticipation but not consumption of food. *Pharmacol Biochem Behav* 59:657-662.
- Gingrich JA, Zhou M, Sealfon S, Hen R (1999) Mice lacking the 5-HT_{2A} receptor are insensitive to many of the behavioral and physiological effects of hallucinogens. *Soc Neurosci Abstr* 25:799.
- Giovannini MG, Rodino P, Mutolo D, Pepeu G (1993) Oxracetam and aniracetam increase acetylcholine release from the rat hippocampus in vivo. *Drug Dev Res* 28:503-509.
- Glennon RA, Titeler M, Mckenney JD (1984) Evidence for 5-HT₂ involvement in the mechanism of action of hallucinogenic agent. *Life Sci* 35:2505-2511.
- Gonzalez-Torrecillas JL, Medlewicz J, Lobo A (1995) Effects of early treatment of post stroke depression on neuropsychological rehabilitation. *Int Psychogeriatr* 7:547-560.
- Gottfries CG, Blennow K, Karlsson I, Wallin A (1994) The neurochemistry of vascular dementia. *Dementia* 5:163-167.
- Graeff FG, Guimaraes FS, De Andrade TG, Deakin JF (1996) Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol Biochem Behav* 54:129-141.

- Handley SL, Singh L (1986) Neurotransmitters and shaking behaviour - more than a 'guy-bath' for the brain? *Trends in Pharmacol Sci* 7:324-328.
- Hasegawa M, Nakayama S, Kinoshita H, Amano M, Yamada K, Hasegawa T, Nabeshima T (1996) Effects of the subacute administration of nefiracetam on abnormal behavior in aged rats. *Behav Brain Res* 78:93-100.
- Heffner TG, Hartman JA, Seiden LS (1980) Feeding increases dopamine metabolism in the rat brain. *Science* 208:1168-1170.
- 彦坂興秀 (1995) 注意は観測可能か. *生体の科学* 46:67-71.
- Himori N, Mishima K (1994) Amelioration by aniracetam of abnormalities as revealed in choice reaction performance and shuttle behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 47:214-225.
- Himori N, Watanabe H, Matsuura A, Umeda Y, Kuwahara T, Takemoto C, Takamiya M, Yajima T, Tanaka Y, Nakamura K (1986) General pharmacological properties of aniracetam, a cerebral insufficiency improver. *Japan Pharmacol Thera* 14(Suppl.4):759-794.
- Honma K, Honma S, Hiroshige T (1989a) Methamphetamine induced locomotor rhythm entrains to restricted daily feeding in SCN lesioned rats. *Physiol Behav* 45:1057-1065.
- Honma K, Honma S, Hiroshige T (1989b) Circadian system in rats: oscillators within and outside the suprachiasmatic nucleus. In: Hiroshige T, Honma K, editors. *Circadian Clocks and Ecology*. Sapporo: Hokkaido University Press, 104-117.
- Hörtnagl H, Potter PE, Hanin I (1987) Effect of cholinergic deficit induced by ethylcholine aziridinium on serotonergic parameters in rat brain. *Neurosci* 22:203-213.
- Hutter BO, Gilsbach JM, Kreitschmann I (1995) Quality of life and cognitive deficits after subarachnoid haemorrhage. *Br J Neurosurg* 9:465-475.
- Imperato A, Tanda G, Frau R, DiChiara G (1988) Pharmacological profile of dopamine receptor agonists as studied by brain dialysis in behaving rats. *J Pharmacol Exp Ther* 245:257-264.
- Inglis FM, Day JC, Fibiger HC (1994) Enhanced acetylcholine release in hippocampus and cortex during the anticipation and consumption of a palatable meal. *Neuroscience* 62:1049-1056.
- Jones DNC, Barnes JC, Kirkby DL, Higgins GA (1995) Age-associated impairments in a test of attention: evidence for involvement of

- cholinergic systems. *J Neurosci* 15:7282-7292.
- Kato M, Iwata H, Katayama T, Asai H, Narita H, Endo T (1997) Possible therapeutic effect of T-794, a novel reversible inhibitor of monoamine oxidase-A, on post-stroke emotional disturbances, assessed in animal models of depression. *Biol Pharm Bull* 20:349-353.
- Katsunuma H, Shimizu T, Ogawa K, Kubo H, Ishida H, Yoshihama A (1998) Treatment of insomnia by concomitant therapy with zopiclone and aniracetam in patients with cerebral infarction, cerebroatrophy, Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Psychiatry Clin Neurosci* 52:198-200.
- Kawashima K, Araki H, Aihara H (1986) Effect of chronic administration of antidepressants on duration of immobility in rats forced to swim. *Jpn J Pharmacol* 40:199-204.
- Kendrick KM, Guevara-Guzman R, De La Riva C, Christensen J, Østergaard K, Emson PC (1996) NMDA and kainate-evoked release of nitric oxide and classical transmitters in the rat striatum: in vivo evidence that nitric oxide may play a neuroprotective role. *Eur J Neurosci* 8:2619-2634.
- Kilpatrick GJ, Jones BJ, Tyers MB (1987) Identification and distribution of 5-HT₃ receptors in rat brain using radioligand binding. *Nature* 330:746-748.
- Kimura M, Okano S, Inoue S (2000) Effects of aniracetam on impaired sleep patterns in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Psychiatry Clin Neurosci* 54:314-316.
- Klawans HL (1978) Levodopa-induced psychosis. *Psychiatric Ann* 8:447-451.
- Knegtering H, Eijck M, Huijsman A (1994) Effects of antidepressants on cognitive functioning of elderly patients. A review. *Drugs Aging* 5:192-199.
- Kojima T, Atsumi Y, Ichise K, Uchiyama M, Shimazono Y (1983) A polysomnographic study of the delirious state caused by administration of biperiden. *Psychiatry* 25:197-206.
- 小島卓也、渥美義賢、一瀬邦弘、内山真 (1983) 覚醒と睡眠からみた意識変容状態；中枢性抗コリン剤の biperiden 投与について. *精神医学* 25:197-206.
- 小阪憲司 (1997) 老年性痴呆の最近の話題. *最新精神医学* 2:211-225.
- 厚生白書 (1997) 平成 9 年度、厚生白書 - 健康と生活の質の向上をめざして. p 286-290. 行政、東京。

- Kubota A, Hayashi T, Sakagami T, Watanabe A, Nakamura K (1982) Scopolamine model of retrograde amnesia: its prevention and relevant cerebral nuclei involved. In Learning and memory: drugs as reinforcers, ed. By Saito S and Yamagita T, pp96-118, Excerpta Medica, Amsterdam.
- 久保田新、中村圭二 (1986) 加齢に伴うラットの選択反応時間延長とそれに対する aniracetam の作用および時間経過. 精神神経薬理シンポジウム 12:7-26.
- Kuczenski R, Segal DS, Manley LD (1990) Apomorphine does not alter amphetamine-induced dopamine release measured in striatal dialysates. J Neurochem 54:1492-1499.
- Kumar V (1999) Post-stroke depression and treatment strategies including aniracetam. Int J Geriatr Psychopharmacol 2:40-46.
- Lahmame A, Armario A (1996) Differential responsiveness of inbred strains of rats to antidepressants in the forced swimming test: are Wistar Kyoto rats an animal model of subsensitivity to antidepressants? Psychopharmacology 123:191-198.
- Lazarus LW, Moberg PJ, Langsley PR, Lingam VR (1994) Methylphenidate and nortriptyline in the treatment of poststroke depression: a retrospective comparison. Arch Phys Med Rehabil 75:403-406.
- Levin ED, Simon BB (1998) Nicotinic acetylcholine involvement in cognitive function in animals. Psychopharmacology 138:217-230.
- Leonard BE (1996) Serotonin receptors and their function in sleep, anxiety disorders and depression. Psychother Psychosom 65:66-75.
- Leyssen JE, Niemegeers CJE, Van Nueten JM, Laduron PM (1982) [³H]Ketanserin (R41468), a selective ³H-ligand for serotonin₂ receptor binding sites: Binding properties, brain distribution, and functional role. Mol Pharmacol 21:301-314.
- Lipowski ZJ (1990) *In Delirium: Acute confusional states*, Oxford University Press, New York.
- Little JT, Broocks A, Martin A, Hill JL, Tune LE, Mack C, Cantillon M, Molchan S, Murphy DL, Sunderland T (1995) Serotonergic modulation of anticholinergic effects on cognition and behavior in elderly humans. Psychopharmacol 120:280-288.
- Lolova IS, Lolov SR, Itzev DE (1996) Changes in NADPH-diaphorase neurons of the laterodorsal and pedunculo-pontine tegmental nuclei in aging. Mech Aging Dev 90:111-128.

- Mancinelli A, Borsini F, d'Aranno V, Lecci A, Meli A (1988) Cholinergic drug effects on antidepressant-induced behaviour in the forced swimming test. *Eur J Pharmacol* 158:199-205.
- Mann JJ, Kapur S (1995) A dopaminergic hypothesis of major depression. *Clin Neuropharmacol Suppl* 18:S57-S65.
- Martin JR, Haefely WE (1993) Pharmacology of Aniracetam: A novel pyrrolidinone derivative with cognition enhancing activity. *Drug Invest* 5(Suppl.1):4-49.
- Matsuno K, Senda T, Matsunaga K, Mita S, Kaneto H (1993) Similar ameliorating effects of benzomorphans and 5-HT₂ antagonists on drug-induced impairment of passive avoidance response in mice: comparison with acetylcholinesterase inhibitors. *Psychopharmacol* 112:134-141.
- Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI (1983) Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neurosci* 10:1185-1201.
- Mesulam MM, Guela C, Bothwell MA, Mersh LB (1989) Human reticular formation: cholinergic neurons of the pedunculo-pontine and laterodorsal tegmental nuclei and some cytochemical comparisons to forebrain cholinergic neurons. *J Comp Neurol* 283:611-633.
- Mishima K, Hishikawa Y (1997) Chronotherapy for circadian rhythm disorders in elderly patients with dementia. In: Hayaishi O.; Inoué S., eds. *Sleep and sleep disorders: From molecule to behavior*. Tokyo: Academic Press; 177-191.
- Mistlberger RE, Houpt TA, Moore-Ede MC (1990) Effects of aging on food-entrained circadian rhythms in the rat. *Neurobiol Aging* 11:619-624.
- Mistlberger RE, Mumby DG (1992) The limbic system and food-anticipatory circadian rhythms in the rat: ablation and dopamine blocking studies. *Behav Brain Res* 47:159-168.
- Mistlberger RE (1994) Circadian food-anticipatory activity: Formal models and physiological mechanisms. *Neurosci Biobehav Rev* 18: 171-195.
- 三好功峰(1990)老年期の意識障害の原因と病態. *老年精神医学雑誌* 1:927-934.
- Moore RY, Card JP (1985) Visual pathways and the entrainment of circadian rhythms. *Ann NY Acad Sci* 453:123-133.
- Moretti A, Carfagna N, Trunzo T (1987) Effect of aging on monoamines and their metabolites in the rat brain. *Neurochem Res* 12:1035-1039.

- Morgan DG (1987) The dopamine and serotonin systems during aging in human and rodent brain. A brief review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 11:153-157.
- Morin LP (1994) The circadian visual system. *Brain Res Rev* 67:102-127.
- Morris PL, Robinson RG, Andrzejewski P, Samuels J, Price TR (1993) Association of depression with 10-year poststroke mortality. *Am J Psychiatry* 150:124-129.
- Muir LJ, Dunnett SB, Robbins TW, Everitt BJ (1992) Attentional functions of the forebrain cholinergic systems: effects of intraventricular hemicholinium, physostigmine, basal forebrain lesions and intracortical grafts on a multiple-choice serial reaction time task. *Exp Brain Res* 89:611-622.
- Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW (1994) AMPA-induced excitotoxic lesions of the basal forebrain : A significant role for the cortical cholinergic system in attentional function. *J Neurosci* 14:2313-2326.
- Muramatsu M, Ohashi JT, Usuki C, Araki H, Aihara H (1988) Serotonin-2 receptor-mediated regulation of release of acetylcholine by minaprine in cholinergic nerve terminal of hippocampus of rat. *Neuropharmacol* 27:603-609.
- Nabeshima T, Nakayama S, Ichihara K, Yamada K, Shiotani T, Hasegawa T (1994a) Effects of nefiracetam on drug-induced impairment of latent learning in mice in a water finding task. *Eur J Pharmacol* 255:57-65.
- Nabeshima T, Yamada K, Hayashi T, Hasegawa T, Ishihara S, Kameyama T, Morimasa T, Kaneyuki T, Shohmori T (1994b) Changes in muscarinic cholinergic, PCP, GABA_A, D₁, and 5-HT_{2A} receptor binding, but not in benzodiazepine receptor binding in the brains of aged rats. *Life Sci* 55:1585-1593.
- 中村和雄 (1998) aniracetam によるラット中枢アセチルコリン神経系の賦活化と精神機能障害の改善. *診療と新薬* 35:3-8.
- Nakamura K, Kurasawa M (2001) Anxiolytic effects of aniracetam in three different mouse models of anxiety and the underlying mechanism. *Eur J Pharmacol* 420:33-43.
- Nakamura K, Kurasawa M, Shirane M (2000) Impulsivity and AMPA receptors: aniracetam ameliorates impulsive behavior induced by a blockade of AMPA receptors in rats. *Brain Res* 862:266-269.
- Nakamura K, Shirane M (1999) Activation of the reticulothalamic

- cholinergic pathway by the major metabolites of aniracetam. *Eur J Pharmacol* 380: 81-89.
- Nakamura K, Shirane M, Koshikawa N (2001) Site-specific activation of dopamine and serotonin transmission by aniracetam in the mesocorticolimbic pathway of rats. *Brain Res* 897:82-92.
- Newhouse PA, Sunderland T, Tariot PN, Weingartner H, Thompson K, Mellow AM, Cohen RM, Murphy DL (1988) The effects of acute scopolamine in geriatric depression. *Arch Gen Psychiatry* 45:906-912.
- Nierenberg AA, Dougherty D, Rosenbaum JF (1998) Dopaminergic agents and stimulants as antidepressant augmentation strategies. *J Clin Psychiatry* 59:60-63.
- Nobler MS, Mann JJ, Sackeim HA (1999) Serotonin, cerebral blood flow, and cerebral metabolic rate in geriatric major depression and normal aging. *Brain Res Rev* 30:250-263.
- O'Hara BF, Edgar DM, Cao VH, Wiler SW, Heller HC, Kilduff TS, Miller JD (1998) Nicotine and nicotinic receptors in the circadian system. *Psychoneuroendocrinology* 23:161-173.
- Ono M, Minamoto Y, Shibata S, Watanabe S (1995) Attenuating effect of arecoline and physostigmine on an impairment of mealtime-associated activity rhythm in old rats. *Physiol Behav* 57:189-191.
- Otomo E, Hirai S, Terashi A, Hasegawa K, Tazaki Y, Araki G, Ito E, Nishimura T, Furukawa T (1991) Clinical usefulness of aniracetam for psychiatric symptoms in patients with cerebrovascular disorders: Double-blind trial in placebo. *J Clin Exp Med* 156:143-187.
- Perry EK, Curtis M, Dick DJ, Candy JM, Atack JR, Bloxham CA, Blessed G, Fairbairn AW, Tomlinson BE, Perry RH (1985) Cholinergic correlates of cognitive impairment in Parkinson's disease: Comparisons with Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 48:413-421.
- Perry EK, Kerwin J, Perry RH, Irving D, Blessed G, Fairbairn A (1990) Cerebral cholinergic activity is related to the incidence of visual hallucinations in senile dementia of Lewy Body type. *Dementia* 1:2-4.
- Perry EK, Perry RH (1995) Acetylcholine and hallucinations; disease-related compared to drug-induced alternations in human consciousness. *Brain Cognition* 28:240-258.
- Perry EK, Tomlinson BE, Blessed G, Bergmann K, Gibson PH, Perry RH (1978) Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and

- mental test scores in senile dementia. *Br Med J* 25:1457-1459.
- Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M (1978) Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 47:379-391.
- Posner MI (1994) Attention: The mechanisms of consciousness. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:7398-7403.
- Quattrochi JJ, Mamelak AN, Binder D, Williams J, Hobson LA (1993) Dose-related suppression of REM sleep and PGO waves by the serotonin-1 agonist eltopazine. *Neuropsychopharmacol* 8:7-13.
- Raza A, Milbrandt JC, Arneric SP, Caspary DM (1994) Age-related changes in brainstem auditory neurotransmitters: measures of GABA and acetylcholine function. *Hear Res* 77:221-230.
- Redrobe JP, Bourin M (1997) Partial role of 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in the activity of antidepressants in the mouse forced swimming test. *Eur J Pharmacol* 325:129-135.
- Reeth OV, Olivares E, Zhang Y, Tripathi B, Turek FW (1999) Chronobiotic effects of gepirone, a potential antidepressant with 5-HT_{1A} receptor partial agonist properties. *Behav pharmacol* 10:119-130.
- Riekkinen P Jr, Jäkälä P, Sirviö J, Riekkinen P (1991) The effects of increased serotonergic and decreased cholinergic activities on spatial navigation performance in rats. *Pharm Biochem Behav* 39:25-29.
- Robbins TW, Brown VJ (1990) The role of the striatum in the mental chronometry of action: a theoretical review. *In Reviews in Neuroscience*, ed. By Huston JP and Jones JP, vol.2, pp.181-213, Freund.
- Robbins TW, Everitt BJ, Marston HM, Wilkinson J, Jones GH, Page KJ (1989) Comparative effects of ibotenic acid- and quisqualic acid-induced lesions of the substantia innominata on attentional function in the rat: further implications for the role of the cholinergic neurons of the nucleus basalis in cognitive processes. *Behav Brain Res* 35:221-240.
- Robinson RG, Starkstein SE (1990) Current research in affective disorders following stroke. *J Neuropsychol Clin Neurosci* 2:1-14.
- Rossetti ZL, Lai M, Humaidan Y, Gessa GL (1993) Depletion of mesolimbic dopamine during behavioral despair; partial reversal by chronic imipramine. *Eur J Pharmacol* 242:313-315.
- Roth RH (1979) Dopamine autoreceptors: Pharmacology, function and comparison with postsynaptic dopamine receptors. *Commun*

- Psychopharmacol 3:429-445.
- Ruzicka W, Roth J, Spackova N, Mecir P, Jech R (1994) Apomorphine induced cognitive changes in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 57:998-1001.
- Sahakian BJ, Owen AM, Morant NJ, Eagger SA, Boddington S, Crayton L, Crockford HA, Crooks M, Hill K, Levy R (1993) Further analysis of the cognitive effects of tetrahydroaminoacridine (THA) in Alzheimer's disease; assessment of attentional and mnemonic function using CANTAB. *Psychopharmacology* 110:395-401.
- Sakurada T, Alufuzoff I, Winblad B, Nordberg A (1990) Substance P-like immunoreactivity, choline acetyltransferase activity and cholinergic muscarinic receptors in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia. *Brain Res* 521:329-332.
- Salamone JD (1988) Dopaminergic involvement in activational aspects of motivation: effects of haloperidol on schedule-induced activity, feeding, and foraging in rats. *Psychobiology* 16:196-206.
- Salamone JD, Steinpreis RE, McCullough LD, Smith P, Grebel D, Mahan K (1991) Haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion suppress lever pressing for food but increase free food consumption in a novel food choice procedure. *Psychopharmacology* 104:515-521.
- Salin-Pascual RJ, Drucker-Colin R (1998) A novel effect of nicotine on mood and sleep in major depression. *NeuroReport* 9:57-60.
- Sarter M (1994) Neuronal mechanisms of attentional dysfunction in senile dementia and schizophrenia: two sides of the same coin? *Psychopharmacology* 114:539-550.
- Schreiber R, Brocco M, Audinot V, Gobert A, Veiga S, Millan MJ (1995) (1-(2,5-Dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane)-induced head-twitches in the rat are mediated by 5-hydroxytryptamine (5-HT)_{2A} receptors: Modulation by novel 5-HT_{2A/2C} antagonists, D₁ antagonists and 5-HT_{1A} agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 273:101-112.
- Semba J, Mataka C, Yamada S, Nankai M, Toru M (1998) Antidepressantlike effects of chronic nicotine on learned helplessness paradigm in rats. *Biol Psychiatry* 43:389-391.
- 柴崎純一、佐々木幸雄、石川幹雄、安岡誉 (1993) 初老期以後の譫妄の遷延化要因とその対策. *老年精神医学雑誌* 4:421-428.
- Shibata S, Minamoto Y, Ono M, Watababe S (1994a) Age-related impairment

- of food anticipatory locomotor activity in rats. *Physiol Behav* 55:875-878.
- Shibata S, Minamoto Y, Ono M, Watanabe S (1994b) Aging impairs methamphetamine-induced free-running and anticipatory locomotor activity rhythms in rats. *Neurosci Lett* 172:107-110.
- Shibata S, Ono M, Fukuhara N, Watanabe S (1995a) Involvement of dopamine, N-methyl-D-aspartate and sigma receptor mechanisms in methamphetamine-induced anticipatory activity rhythm in rats. *J Pharmacol Exp Thera* 274:688-694.
- Shibata S, Ono M, Minamoto Y, Watanabe S (1995b) Attenuating effect of serotonin receptor antagonists on impairment of mealtime-associated activity rhythm in old rats. *Pharmacol Biochem Behav* 51:541-544.
- 柴田重信、渡辺繁紀 (1994) 哺乳動物におけるサーカディアンリズムの薬理. *薬学雑誌* 114:637-654.
- Shinosaki K, Nishikawa T, Kobayashi T, Nishimura T, Sawa Y, Akashi K, Tabushi T, Azuma H, Fujimoto O, Uenishi K, Ito K, Yoshida I, Tsutsumi S, Yagasaki A, Niigawa H, Tejima Y, Kondo H, Tanaka K, Tsuda T, Tsuchiyama M, Kotani K, Okubo K, Takeda M (2000) Usefulness of aniracetam in treating emotional disturbances and problematic behavior due to sequelae of cerebral infarction. *Int J Geriatr Psychopharmacol* 2:73-82.
- Shirane M, Nakamura K (2000) Group II metabotropic glutamate receptors are a common target of *N*-anisoyl-GABA and 1S, 3R-ACPD in enhancing ACh release in the prefrontal cortex of freely moving SHRSP. *Neuropharmacology* 39:866-872.
- Shirane M, Nakamura K (2001) Aniracetam enhances cortical dopamine and serotonin release via cholinergic and glutamatergic mechanisms in SHRSP. *Brain Res* 916:211-221.
- Sibille E, Sarnyai Z, Benjamin D, Gal J, Baker H, Toth M (1997) Antisense inhibition of 5-hydroxytryptamine_{2a} receptor induces an antidepressant-like effect in mice. *Mol Pharmacol* 52:1056-1063.
- Skirboll LR, Grace AA, Bunney BS (1979) Dopamine auto- and postsynaptic receptors: electrophysiological evidence for differential sensitivity to dopamine agonists. *Science* 206:80-82.
- Steckler T, Inglis W, Winn P, Sahgal A (1994) The pedunculopontine tegmental nucleus: a role in cognitive processes? *Brain Res Rev* 19:298-318.

- Steriade M, Datta S, Pare D, Oakson G, Dossi RC (1990) Neuronal activities in brainstem cholinergic nuclei related to tonic activation processes in thalamocortical systems. *J Neurosci* 10:2541-2559.
- Stephan FK (1986) Interaction between light- and feeding-entrainable circadian rhythms in the rat. *Physiol Behav* 38:127-133.
- Stephans DA (1967) Psychotoxic effects of benhexol hydrochloride (Artane). *Br J Psychiatry* 113:213-218.
- Strömbom UH (1976) Catecholamine receptor agonists. Effects on motor activity and rate of tyrosine hydroxylation in mouse brain. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 292:167-172.
- Tizabi Y, Overstreet DH, Rezvani AH, Louis VA, Clark Jr E, Janowsky DS, Kling MA (1999) Antidepressant effects of nicotine in an animal model of depression. *Psychopharmacology* 142:193-199.
- Tohgi H, Abe T, Kimura M, Saheki M, Takahashi S (1996) Cerebrospinal fluid acetylcholine and choline in vascular dementia of Binswanger and multiple small infarct types as compared with Alzheimer-type dementia. *J Neural Transm* 103:1211-1220.
- 朝長正徳 (1978) 神経・筋細胞について. *日本老年医学会雑誌* 15:121-127.
- 融道男、中根允文、小見山実 (1993) WHO, The ICD-10. 精神及び行動の障害 - 臨床記述と診断ガイドライン p58 - 68. 医学書院、東京
- Uchida S, Kagitani H, Nakayama H, Sato A (1997) Effect of stimulation of nicotinic cholinergic receptors on cortical cerebral blood flow and changes in the effect during aging in anesthetized rats. *Neurosci Lett* 228:203-206.
- Uchihashi Y, Kuribara H, Isa Y, Morita T, Sato T (1994) The disruptive effects of ketamine on passive avoidance learning in mice: involvement of dopaminergic mechanism. *Psychopharmacology* 116:40-44.
- Voytko ML, Olton DS, Richardson RT, Gorman LK, Tobin JR, Price DL (1994) Basal forebrain lesions in monkeys disrupt attention but not learning and memory. *J Neurosci* 14:167-186.
- Wakamatsu H., Yoshinobu Y., Aida R., Moriya T., Akiyama M., Shibata S (2001) Restricted-feeding-induced anticipatory activity rhythm is associated with a phase-shift of the expression of mPer1 and mPer2 mRNA in the cerebral cortex and hippocampus but not in the suprachiasmatic nucleus of mice. *Eur J Neurosci* 13:1190-1196.
- Wesnes K, Anand R, Simpson P, Christmas L (1990) The use of a

- scopolamine model to study the potential nootropic effects of aniracetam and piracetam in healthy volunteers. *J Psychopharmacology* 4:219-232.
- Witting W, Kwa IH, Eikelenboom P, Mirmiran M, Swaab DF (1990) Alterations in the circadian rest-activity rhythm in aging and Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 27:563-572.
- Wright IK, Garratt JC, Marsden CA (1990) Effects of a selective 5-HT₂ agonist, DOI, on 5-HT neuronal firing in the dorsal raphe nucleus and 5-HT release and metabolism in the frontal cortex. *Br J Pharmacol* 99:221-222.
- Wu CF, Bertorelli R, Sacconi M, Pepeu G, Consolo S (1988) Decrease of brain acetylcholine release in aging freely-moving rats. *Neurobiol Aging* 9:357-361.
- 秋口一郎、高山吉弘 (1999) 脳梗塞による急性健忘症候群と脳血管性痴呆 . 老年精神医学雑誌 10:27-33 .
- 山田了士、黒田重利 (1998) 脳気質性疾患におけるせん妄. 老年精神医学雑誌 9:1304-1309.
- Yamada S, Watanabe A, Nankai M, Toru M (1995) Acute immobilization stress reduces (\pm)DOI-induced 5-HT_{2A} receptor-mediated head shakes in rats. *Psychopharmacology* 119:9-14.
- Yamamoto T, Ohno M, Yatsugi S, Fujikawa Y, Ueki S (1992) Nootropic candidates inhibit head-twitches induced by mescaline in mice. *Japan J Pharmacol* 59:419-421.
- Yamamoto T, Tazoe N, Ueki S (1983) Effect of zotepine on head-twitch induced by L-5-hydroxytryptophan, mescaline and 2,5-dimethoxy-4-methylamphetamine in mice and rats. *Japan J Pharmacol* 33:319-325.
- Yamamoto T, Ueki S (1981) The role of central serotonergic mechanisms on head-twitch and backward locomotion induced by hallucinogenic drugs. *Pharm Biochem Behav* 14:89-95.
- 山本経之、渡辺繁紀 (1996) 脳循環代謝改善薬の作用機序と薬理作用 . 薬局 47:27-32.
- Zigmond RE, Schwarzschild M, Rittenhouse AR (1989) Acute regulation of tyrosine hydroxylase by nerve activity and by neurotransmitters via phosphorylation. *Ann Rev Neurosci* 12:415-461.