

# 抗精神病薬ブロナンセリンの 薬理学的特性

2018 年

大日本住友株式会社 薬理研究ユニット

清水 聡子

# 目次

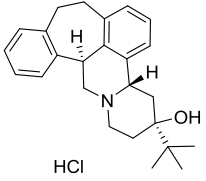
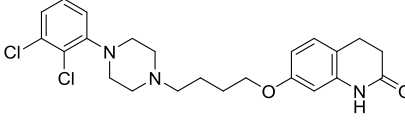
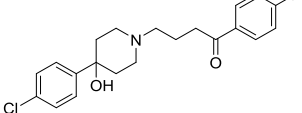
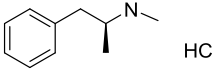
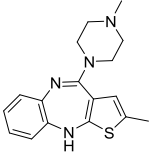
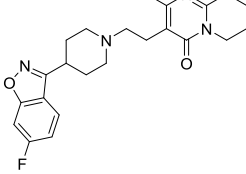
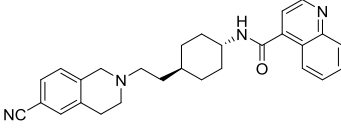
略号表.....	4
使用薬物一覧.....	5
緒言.....	7
第1章 Blonanserin の受容体結合特性.....	10
1. 実験材料と実験方法.....	10
1-1 使用動物.....	11
1-2 使用薬物.....	11
1-3 <i>In vitro</i> 受容体結合試験.....	11
1-4 <i>In vitro</i> GTP $\gamma$ S 結合試験.....	12
1-5 <i>In vivo</i> ドパミン D <sub>2</sub> および D <sub>3</sub> 受容体占拠率評価.....	12
1-6 ラット methamphetamine 誘発運動量過多モデル.....	13
1-7 データ解析.....	13
2. 結果.....	14
2-1 <i>In vitro</i> 受容体結合試験.....	14
2-2 <i>In vitro</i> GTP $\gamma$ S 結合試験.....	14
2-3 <i>In vivo</i> ドパミン D <sub>2</sub> および D <sub>3</sub> 受容体占拠率評価.....	14
2-4 ラット methamphetamine 誘発運動量過多モデルでの ED <sub>50</sub> 値におけるドパミン D <sub>2</sub> および D <sub>3</sub> 受容体占拠率の推定.....	18
3. 考察.....	19
第2章 Blonanserin の認知機能に対する作用.....	22
1. 実験材料と実験方法.....	23
1-1 使用動物.....	23
1-2 使用薬物.....	23
1-3 Object retrieval with detour (ORD) 試験.....	23
1-4 統計解析.....	24
2. 結果.....	25
2-1 ORD 試験における tandospirone の効果.....	25
2-2 ORD 試験における抗精神病薬 blonanserin、risperidone および haloperidol の効 果.....	25

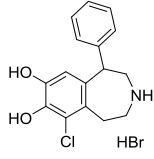
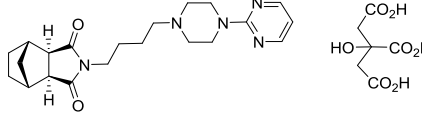
2-3 ORD 試験における tandospirone と blonanserin、risperidone または haloperidol との併用効果 .....	28
2-4 ドパミン D <sub>1</sub> 受容体作動薬 SKF-81297 の効果 .....	32
3. 考察 .....	32
総括 .....	35
謝辞 .....	40
参考文献 .....	41

略号表

Blonanserin	2-(4-ethylpiperazin-1-yl)-4-(4-fluorophenyl)-5,6,7,8,9,10-hexahydrocycloocta[b]pyridine
CHO	Chinese Hamster Ovary
DMSO	Dimethylsulfoxide
DPM	Disintegration per minute
ED <sub>50</sub>	Effective dose 50
GTP $\gamma$ S	Guanosine 5'-O-[gamma-thio]triphosphate
GDP	Guanosine diphosphate
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
IC <sub>50</sub>	Half maximal inhibitory concentration
i.p.	Intraperitoneally
K <sub>B</sub>	Complete blocking constant
K <sub>d</sub>	Dissociation constant
K <sub>i</sub>	Inhibition constant
NMDA	N-methyl-p-aspartate
ORD	Object retrieval with detour
PET	Positron emission tomography
p.o.	per os
PHNO	(+)-(4aR*,10bR*)-4-[ <sup>11</sup> C]Propyl-3,4,4a,5,6,10b-hexahydro-2H-naphtho[1,2-b][1,4]oxazin-9-ol hydrochloride
QOL	Quality of life
SBR	Specific binding ratio
SDA	Serotonin – Dopamine Antagonist
S.E.M.	Standard error of the mean
SPA	Scintillation proximity assay

使用薬物一覧

<p>(+)-Butaclamol hydrochloride (ドパミン受容体拮抗薬)</p>	 <p>The structure shows a complex polycyclic system with a benzene ring fused to a seven-membered ring, which is further fused to a six-membered ring containing a nitrogen atom. A hydroxyl group and a tert-butyl group are attached to the six-membered ring. The label 'HCl' is present below the structure.</p>	<p>(9bS,14S,15aS)-14-(tert-butyl)-4,5,9b,12,13,14,15,15a-octahydro-10H-benzo[6,7]cyclohepta[1,2,3-de]pyrido[2,1-a]isoquinolin-14-ol</p>
<p>Aripiprazole (セロトニン受容体拮抗・ドパミン受容体部分作動薬)</p>	 <p>The structure features a piperazine ring substituted with a 2,3-dichlorophenyl group and a butoxy chain. The butoxy chain is connected to a quinolinone ring system.</p>	<p>7-[4-[4-(2,3-dichlorophenyl)-1-piperazinyl]butoxy]-3,4-dihydro-2(1H)-quinolinone</p>
<p>Haloperidol (ドパミン受容体拮抗薬)</p>	 <p>The structure shows a piperidine ring with a hydroxyl group and a 4-chlorophenyl group. It is connected via a propyl chain to a butan-1-one group, which is further substituted with a 4-fluorophenyl group.</p>	<p>4-[4-(4-chlorophenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]-1-(4-fluorophenyl)butan-1-one</p>
<p>Methamphetamine hydrochloride (ドパミン受容体作動薬)</p>	 <p>The structure shows a phenyl ring attached to a propan-2-amine chain. The label 'HCl' is present below the structure.</p>	<p>(2S)-N-methyl-1-phenylpropan-2-amine monohydrochloride</p>
<p>Olanzapine (セロトニン・ドパミン受容体拮抗薬)</p>	 <p>The structure features a thienobenzodiazepine core with a methyl group on the piperazine ring and a thiazole ring fused to the benzene ring.</p>	<p>2-methyl-4-(4-methylpiperazin-1-yl)-10H-thieno[2,3-b][1,5]benzodiazepine</p>
<p>Risperidone (セロトニン・ドパミン受容体拮抗薬)</p>	 <p>The structure shows a piperidine ring connected to a pyrimidinone ring, which is further substituted with a 6-fluoro-1,2-benzisoxazol-3-yl group.</p>	<p>3-{2-[4-(6-fluoro-1,2-benzisoxazol-3-yl)piperidin-1-yl]ethyl}-2-methyl-6,7,8,9-tetrahydro-4H-pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-one</p>
<p>SB-277011-A hydrochloride (ドパミン D<sub>3</sub>受容体拮抗薬)</p>	 <p>The structure features a quinoline ring system connected to a cyclohexane ring, which is further substituted with a cyano group and a carboxamide group.</p>	<p>N-[trans-4-[2-(6-cyano-3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl)ethyl]cyclohexyl]quinoline-4-carboxamide hydrochloride</p>

<p>SKF-81297 hydrobromide (ドパミン D<sub>1</sub> 受容 体作動薬)</p>		<p>6-chloro-1-phenyl-2,3,4,5- tetrahydro-1H-benzo[d]azepine- 7,8-diol hydrobromide</p>
<p>Tandospirone citrate (セロトニン 5- HT<sub>1A</sub> 受容体作動 薬)</p>		<p>(1R *,2S *,3R *,4S *)-N-[4-[4-(2- pyrimidinyl)-1- piperazinyl]butyl]-2,3- bicyclo[2.2.1]heptanedicarboximi de dihydrogen citrate</p>

## 緒言

統合失調症は、主として 10 代や 20 代の思春期～青年期に発病する医学上極めて難解な疾患のひとつであり、全世界で約 1%が罹患していると言われている<sup>[1]</sup>。統合失調症の症状は臨床的に大きく 2 つに分類される。1 つは妄想や幻覚を始めとする「陽性症状」であり、もう 1 つは生き生きした感情がないなどの情動の平板化や会話の貧困、意欲の欠如などの「陰性症状」である。その他にも「認知機能障害（複雑な問題を解決する実行機能や注意、記憶に関連する情報処理などについての障害）」と呼ばれる集中力欠如や記憶障害を伴う症状や、抑うつ、攻撃性、不安などの多くの二次的な症状も認められる。

統合失調症の生理学的な発生機序は未だ十分に解明されているとは言えないが、数多くの仮説の中で最も広く受け入れられているのがドパミン仮説である。中脳－辺縁系でのドパミン神経伝達の過剰活動が幻覚、妄想、思考障害など統合失調症の陽性症状を引き起こすとされており、統合失調症の薬物療法ではドパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用を主軸とする抗精神病薬が広く用いられている。

抗精神病薬は、定型抗精神病薬と非定型抗精神病薬の 2 種に大別される。Haloperidol に代表される定型抗精神病薬は、ドパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用により優れた陽性症状改善作用を発揮する一方で陰性症状には効果が乏しく、更にドパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用に起因する錐体外路症状や、アドレナリン受容体拮抗作用による過鎮静、血圧低下などの副作用を伴う。

一方、risperidone や olanzapine を始めとする非定型抗精神病薬（Serotonin－Dopamine Antagonist：SDA）は、ドパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用と同等以上のセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗作用を併せ持つ。陽性症状のみならず陰性症状にも良好な効果を示し、かつ錐体外路症状の発現が少ないという臨床結果が集積され<sup>[2]</sup>、世界の抗精神病薬市場の 90%以上が既に非定型抗精神病薬に置き換わっている。

しかしながら、非定型抗精神病薬の急速な普及後も依然として寛解率は約 40%にとどまり<sup>[3]</sup>、非定型抗精神病薬処方後も陰性症状や認知機能障害が残存しがちであることが明らかとなってきた。また、定型抗精神病薬とは異なる新たな副作用として、血糖上昇、体重増加といった重大な有害事象の報告が相次いだ。したがって、統合失調症治療においては、陽性症状のみならず、陰性症状および認知機能障害に対する幅広い有効性と既存薬にみられる副作用の乖離の実現が求められている。

このような背景から大日本製薬株式会社（現：大日本住友製薬株式会社）では 1980 年代初めより、以下の特性を有する化合物の創製を目標として新規抗精神病薬の開発を計画し、スクリーニングを開始した。

- (1) ドパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用とともにセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗作用を有する
- (2) ハロペリドールと同様に強い抗精神病作用を有する
- (3) 錐体外路系副作用の発現が少ない行動薬理学的特性を有する

その結果、候補化合物の中から、他の抗精神病薬に比べて錐体外路症状の発現が少なく他に重大な副作用のない新規化合物として、シクロオクタピリジン骨格を有する blonanserin を見出した。本剤はドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体への高親和性に加えてセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体にも高い親和性を有する一方、過鎮静、血圧低下、体重増加および血糖上昇などの副作用に関連するアドレナリン  $\alpha_1$ 、セロトニン 5-HT<sub>2c</sub>、ヒスタミン H<sub>1</sub>、およびムスカリン M<sub>1/3</sub> 受容体への親和性は低いという薬理学的特徴を有する。これらの機序から、統合失調症の陽性症状のみならず陰性症状に対しても薬効を示し、錐体外路症状、過鎮静、血圧低下等の副作用の発現が少ないことが期待された。その後、統合失調症を対象とした各種臨床試験にて効果および安全性が実証され、2008 年 1 月に国内で統合失調症を効能・効果として承認・上市された。

既存の SDA はドパミン D<sub>2</sub> 受容体親和性に対してセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体親和性が約十倍から数十倍高いが、blonanserin はセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体親和性よりもドパミン D<sub>2</sub> 受容体親和性の方が高く、定型抗精神病薬の代表である haloperidol のドパミン D<sub>2</sub> 受容体親和性よりも高い<sup>[4]</sup>。このような受容体結合プロファイルでありながら、臨床試験結果では haloperidol よりも錐体外路系副作用の発現が少なく、SDA の代表である risperidone との比較においてもドパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用に起因する副作用である高プロラクチン血症の発現が少なかった<sup>[4]</sup>。この臨床アウトプットはドパミン D<sub>2</sub> 受容体親和性およびセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体親和性だけで十分に説明できるものではなく、また上記の副作用関連受容体への親和性が低いことでも説明できない。また、blonanserin 上市後も本剤の臨床上的有用性を明らかにするために種々の非臨床研究を継続した結果、げっ歯類において認知機能障害改善作用を示唆する結果が得られ<sup>[5]</sup>、統合失調症患者において risperidone 投与群に比べて blonanserin 投与群で認知機能評価スコアが良好であるとの報告もなされた<sup>[6]</sup>。これらの結果は、認知機能を障害するオフターゲット受容体（アドレナリン  $\alpha_1$ 、ヒスタミン H<sub>1</sub>、およびムスカリン M<sub>1</sub> 受容体）への親和性が低いことだけで十分に説明できるものではなく、臨床におけるドパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用に起因する副作用発現率の低さと同様に、別の受容体結合特性が関与しているものと推察された。

ドパミン D<sub>2</sub> 受容体と同様に blonanserin が強い親和性を示すドパミン D<sub>3</sub> 受容体は、種々の非臨床研究結果から錐体外路症状の軽減や認知機能の改善に寄与する可能性が示唆されている<sup>[7][8][9]</sup>。一方、臨床で使用可能な選択的ドパミン D<sub>3</sub> 受容体リガンドが現状存在しないために臨床効果の検証が進んでおらず、抗精神病薬の臨床薬効におけるドパミン D<sub>3</sub> 受容体の寄与は明らかになっていない。しかしながら、これまでのドパミン D<sub>3</sub> 受容体に関する種々の非臨床研究報告から、blonanserin の臨床・非臨床において見出された薬理学的特性にはドパミン D<sub>3</sub> 受容体親和性が寄与していると考え、本研究にて *in vitro* 試験系および *in vivo* 試験系を用いて検証することとした。さらに、これまでのげっ歯類を用いた非臨床研究結果を踏まえ、統合失調症の治療において重要な因子である認知機能への作用について、よりヒトと脳構造が近い霊長類を用いて検証し、blonanserin の臨床における有用性を考察し



た。

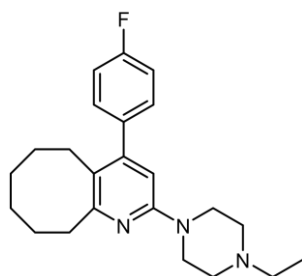


Figure.1 Chemical structure of blonanserin

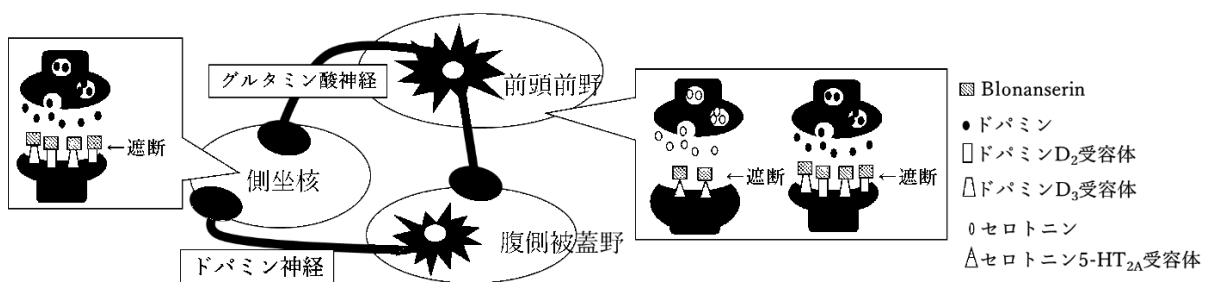


Figure. 2 Blonanserin の作用機序

## 第1章 Blonanserin の受容体結合特性

統合失調症の薬物療法に用いられる抗精神病薬の主たる薬理作用はドパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用およびセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗作用の2つであり、ドパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用が統合失調症の陽性症状改善に寄与する一方で、セロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗作用は陰性症状の改善および錐体外路系副作用リスクの低減に関与すると考えられている<sup>[10][11]</sup>。近年、これら2つのキーとなる受容体への作用に加えて、統合失調症治療の有望なターゲットとして、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体が注目されつつある<sup>[7][8]</sup>。実際、選択的ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗薬やドパミン D<sub>3</sub> 受容体ノックアウトマウスを用いた非臨床研究により、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用は認知機能障害や陰性症状の改善、錐体外路系副作用の軽減など、種々の有益な作用の発現に関与することが明らかにされている<sup>[7][8][9]</sup>。

多くの定型および非定型抗精神病薬は *in vitro* 試験系ではドパミン D<sub>3</sub> 受容体親和性を示す。しかし、いくつかの文献報告では haloperidol, aripiprazole, clozapine, olanzapine および risperidone について、ラット *in vivo* または *ex vivo* 試験系ではドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠率が極めて低いか、もしくは全く占拠しないことが明らかにされている<sup>[12][13][14][15]</sup>。さらに、ヒトにおける positron-emission-tomography (PET) 研究により clozapine, olanzapine および risperidone は統合失調症患者脳においてドパミン D<sub>3</sub> 受容体を占拠していないことが明らかにされた<sup>[16][17]</sup>。これらの結果に加え、これまで臨床使用可能な選択的ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗薬が存在しなかったために、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用と抗精神病薬の臨床効果の関連性を検証するのは困難であった。

Blonanserin はドパミン D<sub>2</sub>、D<sub>3</sub> 受容体およびセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体に高い選択性を有する非定型抗精神病薬である<sup>[18]</sup>。他の多くの抗精神病薬と異なり<sup>[19]</sup>、blonanserin の *in vitro* ドパミン D<sub>2</sub> 受容体結合親和性 (K<sub>i</sub>=0.284 nM) は 5-HT<sub>2A</sub> 受容体結合親和性 (K<sub>i</sub>=0.64 nM) よりもわずかに高い<sup>[18]</sup>。しかしながら、種々の動物実験結果から blonanserin はカタレプシー症状 (錐体外路系副作用による強硬症状: 受動的に取られた姿勢を固辞する) 惹起のリスクが低い、前頭前皮質のドパミン神経伝達を促進する、げっ歯類を用いた陰性症状や統合失調症の認知機能障害モデルで有効性を示すなどの”非定型性“を示すことが確認されている<sup>[5][20][21][22][23]</sup>。さらに、統合失調症患者における臨床試験のメタ解析結果から、blonanserin は haloperidol に比べて陰性症状に高い有効性を示し、アカシジア (錐体外路系副作用による静座不能症状) 発症リスクが低いことが明らかとなった<sup>[24]</sup>。

Blonanserin の有するドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用がその有効性および忍容性の少なくとも一部には寄与していると考え、本研究では *in vitro* および *in vivo* 試験系にて blonanserin とその他の非定型抗精神病薬におけるドパミン D<sub>3</sub> 受容体結合特性を比較検討した。

### 1. 実験材料と実験方法

本章における動物を用いた試験は、すべて大日本住友製薬株式会社 研究本部動物実験委

員会（ならびに実験委託先企業における委員会）による承認を受け、実験動物取扱ガイドラインに従って実施した。

### 1-1 使用動物

雄性 Sprague-Dawley ラット（日本エスエルシー）および RccHan<sup>TM</sup>: WIST ラット（日本医科学動物資材研究所）を用いた。動物は、紙性床敷きを敷き詰めたプラスチック製のケージに 2-4 匹ずつ収容され、照明（12 時間間隔の明暗サイクル）、室温および湿度を自動管理された動物室にて飼育された。動物は、エサ（CE-2, 日本クレア）および水を自由に摂取できるようにした。入荷後、7 日以上の馴化期間をおき、その後実験に用いた。

### 1-2 使用薬物

試験に用いた薬物のうち、重要な化合物については以下に示す供給元より入手した。Blonanserin（大日本住友製薬（株）化学研究所にて合成）、aripiprazole、olanzapine および risperidone（和光純薬工業）、SB-277011-A hydrochloride hydrate（Sigma-Aldrich）および [<sup>3</sup>H](+)-PHNO (30-60 Ci/mmol)（Moravek Biochemical）。その他の化合物は一般的な市販品を購入した。

被験物質は、dimethylsulfoxide（DMSO）に溶解して希釈した（終濃度 0.5%）。

### 1-3 *In vitro* 受容体結合試験

*In vitro* 受容体結合試験によるヒトドパミン D<sub>3</sub> 受容体に対する結合親和性検討は積水メディカル株式会社（茨城）に委託して実施した。

参考文献<sup>[18]</sup>に記載の定法に従い、以下のように実施した。

クローン化ヒトドパミン D<sub>3</sub> 受容体を強制発現させたチャイニーズハムスター(CHO)由来 K1 細胞膜標品を含有した緩衝液中で標識リガンド [<sup>3</sup>H]-Spiperone (PerkinElmer, Inc) とともに被験物質 DMSO 溶液を 60 分間 25°C にてインキュベーション後、フィルターでろ過した。受容体に結合した標識リガンド量の変化を液体シンチレーションカウンターで測定することにより、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体に対する blonanserin の結合親和性を評価した。非特異的結合量は 10 μM (+)-Butaclamol hydrochloride (Sigma-Aldrich) 存在下での標識リガンド結合量から算出した。全結合量から非特異的結合量を差し引いて求めた特異的結合量を 100% として被験物質の各濃度における阻害率を算出し、統計処理ソフトウェア SAS<sup>®</sup> System (SAS Institute Inc.) を用いての非線形最小 2 乗法により IC<sub>50</sub> 値を算出した。得られた IC<sub>50</sub> 値から以下の式を用いて結合阻害定数 (K<sub>i</sub>) を求めた。

$$K_i = IC_{50} / (1 + L / K_d)$$

(L: アッセイで用いた標識リガンド最終濃度 K<sub>d</sub>: 解離定数)

#### 1-4 *In vitro* GTP $\gamma$ S 結合試験

*In vitro* GTP  $\gamma$  S 結合試験を用いたドパミン D<sub>2L</sub> および D<sub>3</sub> 受容体機能性評価は Eurofins Panlabs Taiwan, LTD (台湾) に委託し、以下に示す定法 [25][26] を用いて実施した。

クローン化ヒトドパミン D<sub>2L</sub> 受容体または D<sub>3</sub> 受容体を強制発現させたチャイニーズハムスター(CHO)由来 K1 細胞膜標品を被験物質 DMSO 溶液およびグアノシン二リン酸(GDP, D<sub>2L</sub>: 10  $\mu$  M、D<sub>3</sub>: 1  $\mu$  M) と共に modified HEPES 緩衝液(pH 7.4)中で 20 分間プレインキュベーションし、SPA シンチレーションビーズを添加のうえ 30°C で 60 分間インキュベーションした。続いて 0.3 nM [<sup>35</sup>S]GTP  $\gamma$  S を添加してさらにインキュベーションした (D<sub>2L</sub>: 15 分、D<sub>3</sub>: 30 分)。Blonanserin のアゴニスト活性は 10  $\mu$  M にて評価し、ドパミン (D<sub>2L</sub>: 10  $\mu$  M、D<sub>3</sub>: 0.3  $\mu$  M) によるアゴニスト作用に対するアンタゴニスト活性は 0.03 nM-10  $\mu$  M にて評価した。Blonanserin のアンタゴニスト作用における K<sub>B</sub> 値は Cheng-Prusoff の計算式  $K_B = \text{Blonanserin の IC}_{50} / (1 + (\text{ドパミン濃度} / \text{ドパミンの EC}_{50}))$  を用いて計算した。

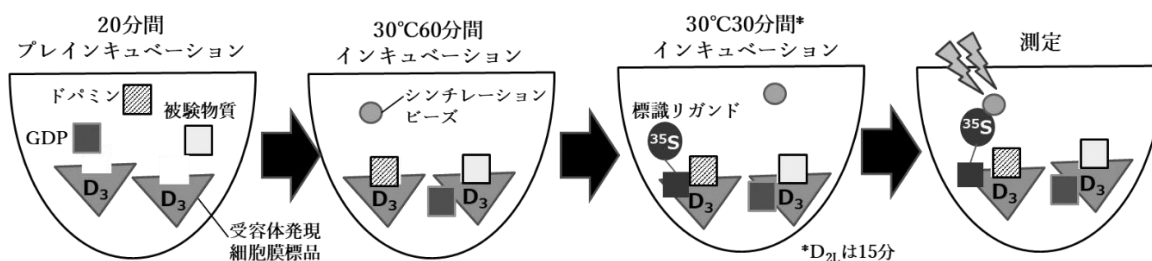


Figure. 1 *In vitro* GTP  $\gamma$  S 結合試験

#### 1-5 *In vivo* ドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体占拠率評価

ラット脳内におけるドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体占拠率評価は、株式会社新日本科学 (和歌山) に委託し、参考文献 [15][27] に記載の方法を一部改変して以下のように実施した。

ラットに被験物質投与液または溶媒を経口投与して飼育ケージに戻し、60 分後にドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体の放射性トレーサーである [<sup>3</sup>H](+)-PHNO 0.3 nmol/kg を静脈内投与した。放射性トレーサー投与 60 分後に断頭にて脳を採取し、氷冷生理食塩水中で冷却した。ドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体結合量の算出用に氷冷脳から線条体および小脳 L9/10 領域を分取し、溶媒投与群からリファレンス部位として小脳のうちドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体発現量の多い L9/10 領域を除いた残りの組織を分取した。分取した組織を秤量後、シンチレーションバイアルにうつし Soluen-350(PerkinElmer, Inc.) 1.5 mL を添加して溶解させた。さらに、30%過酸化水素水 0.5 mL および isopropanol 0.5 mL を添加して脱色のうえ、液体シンチレーションカクテル (Hionic Fluor, PerkinElmer) を添加して液体シンチレーションカウンター (TRI-CARB 3100TR, PerkinElmer) にて放射活性を測定した。

測定時の放射活性は壊変率/mg (<sup>3</sup>H disintegration per minute per mg of tissue: dpm/mg) で表され、特定の結合量と非特異的結合量の比を示す特異的結合比 (specific binding ratio: SBR) を以下の式により算出した。

(興味領域の DPM/mg-リファレンス領域の DPM/mg)/リファレンス領域の DPM/mg  
 被験物質の各受容体に対する結合阻害率は次式より算出した。

$$\text{結合阻害率(\%)} = \frac{[(\text{溶媒投与群の SBR}) - (\text{被験物質投与群の SBR})]}{(\text{溶媒投与群の SBR})} \times 100$$

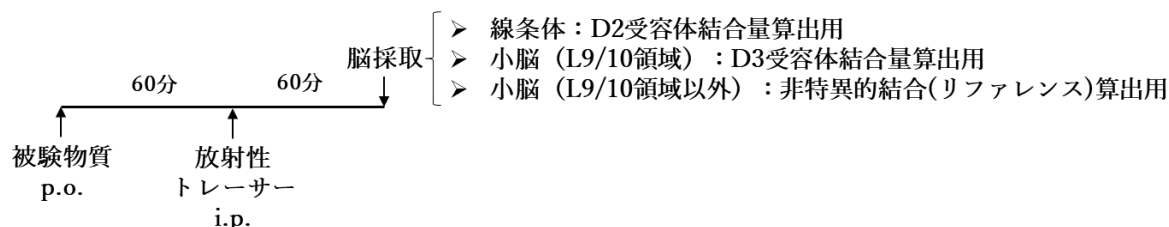


Figure. 2 *In vivo* ドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体占拠率評価(タイムコース)

### 1-6 ラット methamphetamine 誘発運動量過多モデル

ラットにおける抗精神病作用用量を明らかにするため、methamphetamine 誘発運動量過多モデルにおける運動量過多抑制作用の ED<sub>50</sub> 値を算出した。運動量測定は参考文献 [28] に記載の方法を準じて以下の通り実施した。

ラットに被験物質または溶媒を経口投与し、60分後に methamphetamine (1 mg/kg)を腹腔内投与して個別に透明プラスチックケージ(幅 220 mm、深さ 380 mm、高さ 205 mm)に移した。Methamphetamine 投与 10 分後に運動量測定装置(Supermex: 室町機械株式会社)にて 80 分間運動量を測定した。各個体における methamphetamine 誘発運動量過多抑制率は以下の式を用いて算出した。

$$\text{抑制率(\%)} = (A - B) / A \times 100$$

(A: 溶媒投与群における全運動量、B: 各個体における全運動量)

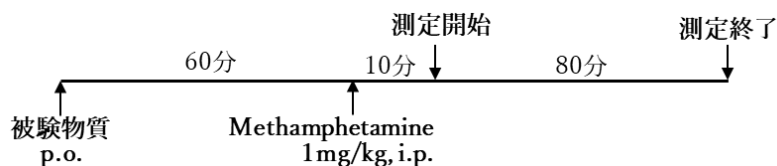


Figure. 3 ラット methamphetamine 誘発運動量過多モデル (タイムコース)

### 1-7 データ解析

ラット脳内におけるドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体占拠率評価における ED<sub>50</sub> 値および 95% 信頼区間は Stat Preclinica ソフトウェアパッケージ(Takumi Information Technology Inc.)を用いてフィーラー法にて算出した。実験毎の各投与群における全運動量は Stat Preclinica を用いてパラメトリックダネット多重検定にて比較した。Methamphetamine 誘発運動量過多抑制における ED<sub>50</sub> 値および 95%信頼区間は SAS Enterprise Guide (SAS Institute Inc.)

のロジスティック回帰モデルに従い非線形回帰分析にて算出した。被験物質のラットでの抗精神病作用用量 (methamphetamine 誘発運動量過多モデルにおける ED<sub>50</sub>) における D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体占拠率はフィラー法を用いて占拠率-用量相関より算出した。

## 2. 結果

### 2-1 *In vitro* 受容体結合試験

Blonanserin およびその他の抗精神病薬の受容体結合親和性評価の結果を Table. 1 に示した。

いずれの薬剤も [<sup>3</sup>H]spiperone のヒトドパミン D<sub>3</sub> 受容体に対する結合を阻害した。評価した 4 剤のヒトドパミン D<sub>3</sub> 受容体に対する結合阻害活性は以下の順で強かった：

blonanserin (K<sub>i</sub>=0.2777 ± 0.008 nM) > aripiprazole (K<sub>i</sub>=3.98 ± 0.50 nM) > risperidone (K<sub>i</sub>=7.50 ± 0.41 nM) > olanzapine (K<sub>i</sub>=74.2 ± 5.02 nM)

### 2-2 *In vitro* GTP γ S 結合試験

Blonanserin はドパミン D<sub>2L</sub> および D<sub>3</sub> 受容体に対するドパミンによる [<sup>35</sup>S]GTP γ S 結合を阻害し、その K<sub>B</sub> 値はそれぞれ D<sub>2L</sub>: 0.0132 ± 0.0004 nM、D<sub>3</sub>: 0.0273 ± 0.0014 nM であった。一方、blonanserin 10 μM においてヒトドパミン D<sub>2L</sub> および D<sub>3</sub> 受容体発現膜標品に対する [<sup>35</sup>S]GTP γ S 結合の増加は認められなかった。(データ記載は割愛)

**Table 1. Binding affinity of atypical antipsychotics**

Compounds	Binding affinity for human recombinant receptor (K <sub>i</sub> , nM)		
	Dopamine D <sub>2L</sub> <sup>a</sup>	Dopamine D <sub>3</sub>	Serotonin 5-HT <sub>2A</sub> <sup>a</sup>
Blonanserin	0.284 ± 0.068	0.277 ± 0.008	0.640 ± 0.018
Risperidone	4.19 ± 0.25	7.50 ± 0.41	0.227 ± 0.026
Olanzapine	35.4 ± 4.3	74.2 ± 5.02	0.787 ± 0.023
Aripiprazole	0.988 ± 0.103	3.98 ± 0.50	6.3 ± 0.64

Data were expressed as mean ± SEM (n=3). The following radioligands were used: [<sup>3</sup>H]-spiperone (0.44 nM) for D<sub>2L</sub> receptors, [<sup>3</sup>H]-spiperone (1.1 nM) for D<sub>3</sub> receptors and [<sup>3</sup>H]-ketanserin (0.42 nM) for 5-HT<sub>2A</sub> receptors.

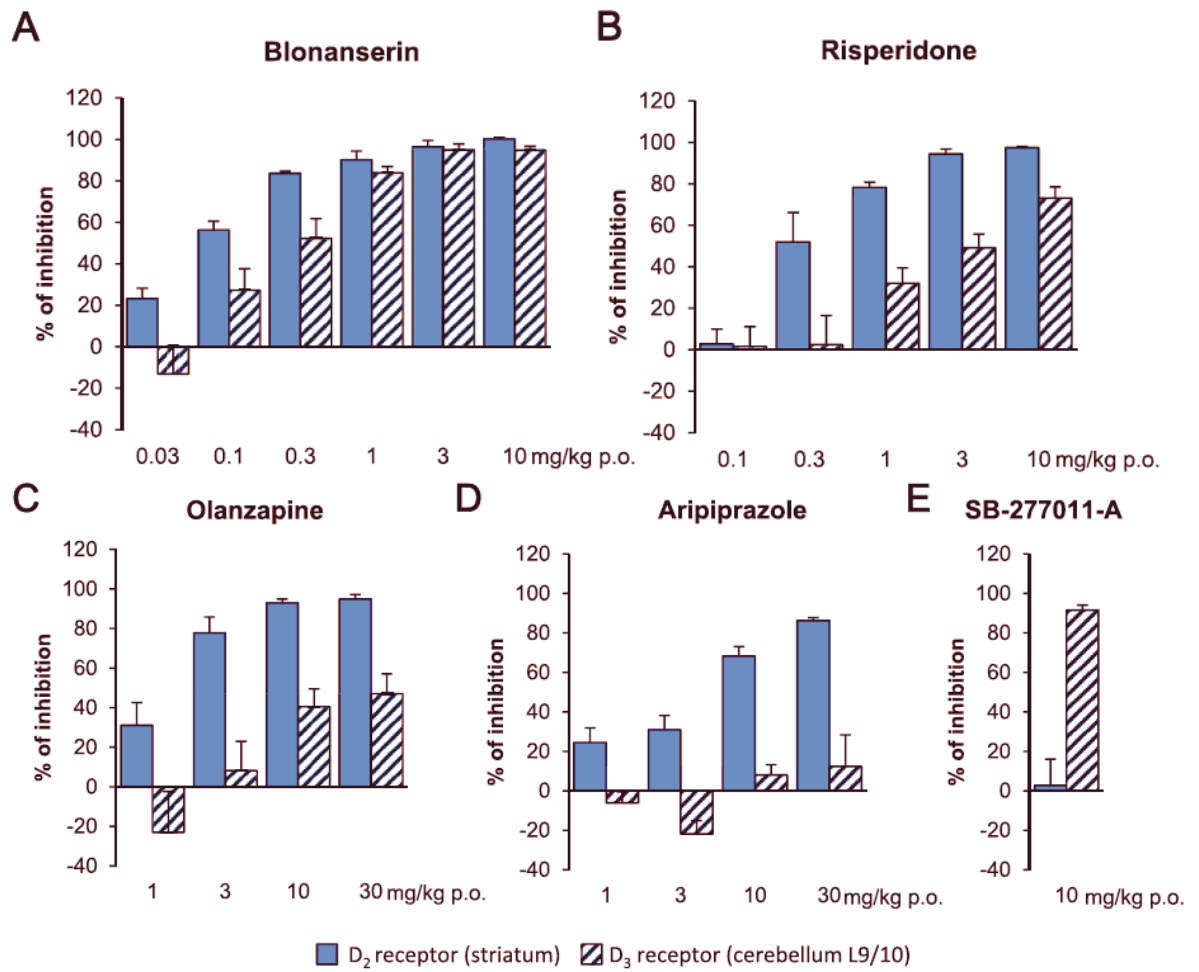
<sup>a</sup> These data were previously reported.<sup>[18]</sup>

### 2-3 *In vivo* ドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体占拠率評価

*In vivo* ドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体占拠率評価は 2 つの実験において実施した。 [<sup>3</sup>H](+)-PHNO 投与 60 分後、溶媒投与群(n=2)の採取組織における全放射活性はそれぞれ 48.56 ± 2.22 および 44.39 ± 3.02 DPM/mg (線条体)、43.21 ± 4.33 および 42.86 ± 2.44 DPM/mg (小脳 L9/10 領域)、9.97 ± 0.33 および 9.57 ± 0.24 DPM/mg (L9/10 領域を除いた小脳)であった。

た。

被験物質のドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体占拠率はそれぞれ線条体 (D<sub>2</sub> 受容体の高発現領域) および小脳 L9/10 領域 (D<sub>3</sub> 受容体高発現領域) の放射活性から算出した。ドパミン D<sub>3</sub> 受容体選択的拮抗薬 SB-277011-A (10mg/kg, p.o.) は小脳 L9/10 領域における [<sup>3</sup>H](+)-PHNO 結合は阻害したが、線条体では阻害しなかった (Fig. 4E)。その他の被験物質はいずれも線条体における [<sup>3</sup>H](+)-PHNO 結合を阻害し、その ED<sub>50</sub> 値は以下の通りであった。Blonanserin: 0.081 mg/kg (p.o.)、risperidone: 0.35 mg/kg(p.o.)、olanzapine: 1.55 mg/kg(p.o.)、aripiprazole: 4.99 mg/kg(p.o.)。小脳 L9/10 領域においては、blonanserin (ED<sub>50</sub>=0.28 mg/kg, p.o.) および risperidone (ED<sub>50</sub>=3.07 mg/kg, p.o.) は [<sup>3</sup>H](+)-PHNO 結合を阻害したが (Fig. 4A および B)、olanzapine および aripiprazole は 30 mg/kg (p.o.) においても [<sup>3</sup>H](+)-PHNO 結合の阻害率が 50% 以下であった (Fig. 4C および D)。ドパミン D<sub>3</sub> 受容体高発現領域と D<sub>2</sub> 受容体高発現領域の ED<sub>50</sub> 値比を比較すると、評価した抗精神病薬 4 剤の中では blonanserin が最も高かった (0.29 倍、Table. 2)。



**Figure 4.** *In vivo* D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptor occupancy of antipsychotics in rats

(A) Blonanserin, (B) risperidone, (C) olanzapine, (D) aripiprazole or (E) SB-277011-A was orally administered 60 min before injection, inhibition of [<sup>3</sup>H]-(+)-PHNO binding was evaluated in D<sub>2</sub> receptor-rich region (striatum) and D<sub>3</sub> receptor-rich region (cerebellum L9/10). Values correspond to the mean ± S.E.M. (n=4).



**Table 2. D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptor occupancy of antipsychotic in rats**

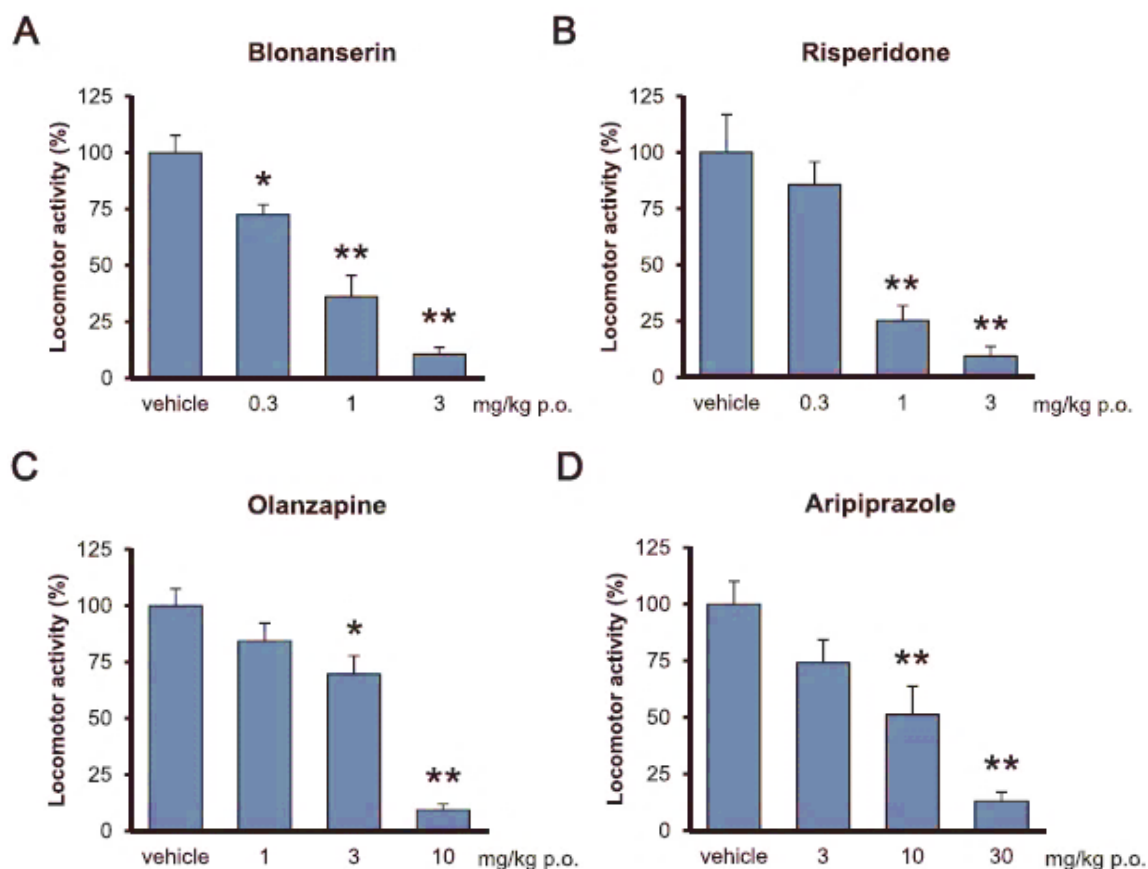
Compounds	ED <sub>50</sub> (95% confidence limits)		ED <sub>50</sub> ratio D <sub>3</sub> vs. D <sub>2</sub> (fold)
	D <sub>2</sub> receptor-rich region	D <sub>3</sub> receptor-rich region	
Blonanserin	0.081 mg/kg p.o. (0.068-0.097)	0.28 mg/kg p.o. (0.18-0.44)	0.29
Risperidone	0.35 mg/kg p.o. (0.24-0.51)	3.07 mg/kg p.o. (1.79-5.90)	0.11
Olanzapine	1.55 mg/kg p.o. (1.08-2.14)	N.D.	N.D.
Aripiprazole	4.99 mg/kg p.o. (3.42-7.26)	N.D.	N.D.

N.D., Not determined (these compounds showed less than 50% occupancy at the highest dose).

#### 2-4 ラット methamphetamine 誘発運動量過多モデルでの ED<sub>50</sub> 値におけるドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体占拠率の推定

評価した抗精神病薬 4 剤はいずれもラットにおける methamphetamine 誘発運動量過多を抑制した。Blonanserin (0.3, 1, 3 mg/kg, p.o.)、risperidone (1, 3 mg/kg, po.)、olanzapine (3, 10 mg/kg, p.o.) および aripiprazole (10, 30 mg/kg, p.o.) では有意な運動量過多抑制作用を示した (Fig. 5A-D)。本試験における各剤の ED<sub>50</sub> 値を Table. 3 に示した。評価した 4 剤の中では、blonanserin の ED<sub>50</sub> 値が最も低く (0.66 mg/kg, p.o.)、risperidone (0.72 mg/kg, p.o.) とは僅差であったが olanzapine (3.56 mg/kg) および aripiprazole (8.35 mg/kg, p.o.) よりもそれぞれ 5 倍および 12 倍以上低かった。

いずれの剤も高いドパミン D<sub>2</sub> 受容体占拠率を示したが (blonanserin: 91.5%, risperidone: 75.9%, olanzapine: 80.9%, aripiprazole: 62.0%, Table. 3)、methamphetamine 誘発運動量過多抑制作用の ED<sub>50</sub> 値において高い D<sub>3</sub> 受容体占拠率を示したのは blonanserin のみであった (76.8%, Table. 3)。Risperidone の methamphetamine 誘発運動量過多抑制作用の ED<sub>50</sub> 値における D<sub>3</sub> 受容体推定占拠率は低く (20.2%, Table. 3)、olanzapine および aripiprazole では *in vivo* 受容体占拠率評価における最高用量においても占拠率 50% 以下であったために methamphetamine 誘発運動量過多抑制作用の ED<sub>50</sub> 値における D<sub>3</sub> 受容体推定占拠率は算出できなかった。



**Figure 5. Effects of antipsychotics on methamphetamine-induced locomotor hyperactivity in rats** (A) Blonanserin, (B) risperidone, (C) olanzapine or (D) aripiprazole was orally administered 60 min before injection of methamphetamine (1 mg/kg i.p.). Locomotor activity was measured for 80 min starting 10 min after methamphetamine injection. Values correspond to the mean  $\pm$  S.E.M. (n=6). \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 vs. vehicle/methamphetamine-treated groups (Dunnett test).

**Table 3. Estimated D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptor occupancy at effective antipsychotic doses in rats**

Compounds	Effective antipsychotic doses <sup>a</sup> (95% confidence limits)	Estimated D <sub>2</sub> and D <sub>3</sub> receptor occupancy at effective antipsychotic doses	
		Dopamine D <sub>2</sub>	Dopamine D <sub>3</sub>
Blonanserin	0.66 mg/kg p.o. (0.49-0.89)	91.5%	76.8%
Risperidone	0.72 mg/kg p.o. (0.52-0.99)	75.9%	20.2%
Olanzapine	3.56 mg/kg p.o. (2.65-4.77)	80.9%	N.D.
Aripiprazole	8.35 mg/kg p.o. (5.36-13.03)	62.0%	N.D.

N.D., Not determined (these compounds showed less than 50% occupancy at the highest doses).

<sup>a</sup>: Effective antipsychotic doses were defined as ED<sub>50</sub> values for inhibition of methamphetamine-induced locomotor hyperactivity in rats (n=6).

### 3. 考察

本結果から、ラットにおける抗精神病様作用用量でのドパミン D<sub>3</sub> 受容体推定占拠率は評

価に用いた抗精神病薬 4 剤の中では blonanserin が最も高かった(76.8%)のに対して、risperidone、olanzapine および aripiprazole は過去に報告された通り<sup>[12][13][14][15]</sup>ドパミン D<sub>2</sub> 受容体占拠が優勢であった。

*In vitro* 受容体結合親和性評価において、評価に用いた 4 剤の中で blonanserin が最も高いドパミン D<sub>3</sub> 受容体結合親和性を示した(Ki=0.277 nM)。*In vitro* 受容体結合試験は、使用する実験材料および実験条件(発現細胞種、使用膜標品の受容体発現量、放射性リガンド添加量、反応時間など)によって Ki 値が 2~3 倍程度異なることを考慮すると、本研究で得られた Ki 値は過去の文献報告における Ki 値(0.494 nM)と同程度であると考えられた<sup>[29]</sup>。内因性リガンドであるドパミンはドパミン D<sub>3</sub> 受容体に対して D<sub>1</sub> および D<sub>2</sub> 受容体よりも 70 倍親和性が高い<sup>[30][31]</sup>。したがって、薬剤が生体内でドパミン D<sub>3</sub> 受容体を介した作用を発揮するには、ドパミンと競合するために強い結合親和性が必要とされる。さらに、ヒトにおける PET 研究では、抗精神病薬の臨床用量はドパミン D<sub>2</sub> 受容体占拠率に基づいていることが示されている<sup>[10]</sup>。したがって、受容体結合特性によって各々の受容体の生理機能に基づく臨床作用を発現するためには、ドパミン D<sub>2</sub> 受容体親和性に比べて各受容体への親和性がどの程度強いかが重要である。Blonanserin のドパミン D<sub>3</sub> 受容体に対する Ki 値をこれまでに報告された D<sub>2L</sub> 受容体に対する Ki 値(Table 1)<sup>[18]</sup>と比較すると、ドパミン D<sub>2</sub> 受容体および D<sub>3</sub> 受容体に対して同程度の結合親和性を示している。さらに、本試験での GTP $\gamma$ S 結合試験の結果から blonanserin は同じ用量範囲でドパミン D<sub>2L</sub> 受容体および D<sub>3</sub> 受容体に対して強い拮抗作用を示すことが示唆された。

本試験では、参考文献をもとに<sup>[3H]</sup>-(+)-PHNO を用いたラットドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体占拠率の新たな測定方法<sup>[15][27]</sup>を用いて、小脳 L9/L10 領域および線条体におけるドパミン D<sub>3</sub> 受容体選択的拮抗薬 SB-277011-A の受容体占拠を確認した。SB-277011-A は小脳 L9/L10 領域における<sup>[3H]</sup>-(+)-PHNO 結合を阻害した一方で、本試験で評価に用いた抗精神病薬がいずれも<sup>[3H]</sup>-(+)-PHNO 結合を強く阻害した線条体では結合阻害を示さなかった。この結果から、今回用いた測定方法によりドパミン D<sub>2</sub> 受容体占拠と D<sub>3</sub> 受容体占拠を鑑別できることが示唆された。

本試験での受容体占拠率評価における各剤の評価用量は、げっ歯類を用いた抗精神病作用評価モデルとして最も汎用されている methamphetamine 誘発運動量過多モデルでの有効用量に基づいて決定した。評価に用いた抗精神病薬 4 剤の中では blonanserin が最も高いドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠率を示し、さらに抗精神病作用用量(blonanserin ED<sub>50</sub>=0.66 mg/kg)でのドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠率も最も高かった。一方、risperidone、olanzapine および aripiprazole では抗精神病作用用量におけるドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠率は極めて低いか、もしくはほぼ占拠していなかった。これらの結果から、blonanserin は生体内において高いドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠率を示すというユニークな特徴を有することが示された。

これまでの文献報告から、動物実験によりドパミン D<sub>3</sub> 受容体結合能は *in vitro* 試験系と *in vivo* 試験系で異なることが示されている<sup>[12][13][15]</sup>。なぜ *in vitro* と *in vivo* で差異が生

じるかは明らかになっていないが、多くの定型および非定型抗精神病薬は *in vitro* 試験系ではドパミン D<sub>3</sub> 受容体結合能を示すのに対して、ラットでは抗精神病作用用量においてドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠率は極めて低いか、ほぼ占拠しないことが確認されている。さらに、PET 研究により、risperidone、olanzapine および clozapine は統合失調症患者において脳内ドパミン D<sub>3</sub> 受容体を占拠していないことが報告されている [16] [17]。したがって、ラット脳における *in vivo* ドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠率評価の結果はヒト脳におけるドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠率に相関すると考えられる。実際、ドパミン D<sub>2/3</sub> 受容体部分作動薬 cariprazine はラット脳においてドパミン D<sub>2</sub> 受容体および D<sub>3</sub> 受容体を占拠することが確認され、さらに統合失調症患者においてもドパミン D<sub>2</sub> 受容体、D<sub>3</sub> 受容体ともに高い占拠率を示すことが報告されている [14]。しかしながら、ヒヒを用いた PET 研究では clozapine および haloperidol がドパミン D<sub>3</sub> 受容体を占拠することが報告されており、げっ歯類およびヒトでの PET 研究と相反する結果となっている [32]。このような差異は、麻酔や測定時間、データ解析法などの実験方法の違いによって生じる可能性もあると考えられる。本研究結果では、抗精神病作用用量において blonanserin が最も高いドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠率を示したことから、ヒトにおいてドパミン D<sub>3</sub> 受容体を占拠することが予想され、ごく最近実際に blonanserin がヒトでも臨床用量範囲内でドパミン D<sub>3</sub> 受容体を占拠していることが報告された [33]。これらの結果から、blonanserin は臨床用量範囲内でヒト脳内で十分なドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠を示すという他剤にはない特長を有することが明らかとなった。

これまでの非臨床研究により、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用は認知機能障害や陰性症状、錐体外路症状改善に有用であることが示唆されている [7] [8] [9]。肥田らは、blonanserin による前頭前皮質におけるドパミン遊離促進作用や視覚認知記憶に対する改善作用はドパミン D<sub>3</sub> 受容体作動薬 7-OH-DPAT の併用によって消失することから、blonanserin はドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用を介して認知機能改善作用を発揮することを示唆している [34]。本研究で実施した GTP  $\gamma$  S 結合試験の結果から blonanserin は強いドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用を示すことが明らかとなった。したがって、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用は blonanserin の有効性および安全性の少なくとも一部には寄与していると推察される。興味深いことに、オープンラベル試験で blonanserin は統合失調症患者において前頭前皮質機能に関わる認知機能（言語流暢性および実行機能）を改善したことが報告されている [6]。Blonanserin の認知機能に対する臨床効果はまだ明確にされていないが、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用を介して認知機能に対しても何らかのベネフィットをもたらす可能性があると考えられる。

## 第2章 Blonanserin の認知機能に対する作用

統合失調症では、陽性症状・陰性症状以外に広範な認知機能の障害が認められ、統合失調症患者の機能的転帰に深く関与している<sup>[35]</sup>。しかしながら、既存の抗精神病薬の認知機能障害に対する作用は限定的であり、患者の生活の質(Quality of life; QOL)向上や社会復帰の妨げとなっている<sup>[36]</sup>。そのため、統合失調症における認知機能障害を改善しうる優れた化合物を探索すべく、これまでに数多くの努力がなされてきた<sup>[37]</sup>。セロトニン 5-HT<sub>1A</sub> 受容体は、近年統合失調症における認知機能障害改善作用発現の有望なターゲットとして注目されている<sup>[11][38][39]</sup>。実際、住吉らは、抗不安薬として日本および中国で承認取得しているセロトニン 5-HT<sub>1A</sub> 受容体作動薬 tandospirone と定型抗精神病薬の併用投与により、統合失調症患者の言語学習と実行機能が改善したことを報告している<sup>[40][41]</sup>。これらの報告は小規模オープンラベル試験での結果であるため、tandospirone の認知機能に対する作用はトランスレーショナル研究により非臨床でさらに詳細に検証する価値があると考えられる。堀口とメルツァーらのグループは、ラット新奇物体認識試験において N-methyl-p-aspartate (NMDA) 受容体の非競合的拮抗薬 phencyclidine の亜慢性投与による認知機能障害が tandospirone により改善されたことを報告している<sup>[42]</sup>。しかしながら、我々の知る限りでは tandospirone の認知機能に対する作用を非ヒト霊長類で検証した報告はない。

抗精神病薬は統合失調症における陽性症状のコントロールを目的として用いられるため、認知機能増強剤の臨床効果確認は抗精神病薬投薬で症状が安定している患者で行う必要がある<sup>[43]</sup>。既存の抗精神病薬はドパミン、セロトニン、ノルアドレナリン、ヒスタミン、およびムスカリンなどの各受容体に対して異なる結合特性を有しているため<sup>[11]</sup>、それぞれ認知機能に対する作用が異なることが非ヒト霊長類およびげっ歯類で確認されている<sup>[44][45][46]</sup>。したがって、臨床において認知機能改善を目的として tandospirone と最適な抗精神病薬を組み合わせるためには、tandospirone と各種抗精神病薬の併用効果を検証するトランスレーショナル研究が必要であると考えられる。

我々のグループはこれまでに、認知機能に対する作用を評価するための非臨床行動薬理評価系としてコモンマーモセットを用いた Object retrieval with detour (ORD) 試験を実施してきた<sup>[46][47]</sup>。ORD 試験は、前頭前皮質に依存する認知機能のひとつである実行機能のうち注意・衝動性制御を評価する行動薬理試験である<sup>[48][49]</sup>。本研究では、この ORD 試験を用いて、マーモセットにおける tandospirone 単独投与および抗精神病薬 (blonanserin, risperidone, haloperidol) との併用投与による実行機能への作用を評価した。さらに、5-HT<sub>1A</sub> 受容体活性によって皮質におけるドパミン遊離が促進され、認知機能が増強されるという仮説に基づき、実行機能におけるドパミン D<sub>1</sub> 受容体活性化の関与についても検証を行った。

## 1. 実験材料と実験方法

本章における動物を用いた試験は、すべて大日本住友製薬株式会社 研究本部動物実験委員会による承認を受け、実験動物取扱ガイドラインに従って実施した。

### 1-1 使用動物

雄性 16 匹 (300-400 g) および雌性 24 匹 (277-453 g) の成体コモンマーモセット (*C.jacchus*) を用いた。動物は、照明 (12 時間間隔の明暗サイクル)、室温および湿度を自動管理された動物室にて個別飼育した。水は自由摂取とし、一日 1 回 (朝) に給餌 (CMS-1M, 日本クレア) した。ただし、行動薬試験を実施する日は 15-18 時に試験実施し、給餌は試験実施後とした。一部の個体は同じ被験物質の評価に繰り返し使用した。

### 1-2 使用薬物

試験に用いた薬物のうち、重要な化合物については以下に示す供給元より入手した。

Tandospirone、blonanserin、risperidone および haloperidol (大日本住友製薬 (株) 化学研究所にて合成)、SKF-81297 hydrobromide (Tocris Bioscience)。

被験物質は 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁して経口投与した。参考文献 [46] [50] に基づき、被験物質の投与用量を以下の通りとした (tandospirone : 10, 20, 40 mg/kg、blonanserin : 0.1, 0.3 mg/kg、risperidone : 0.1, 0.3 mg/kg、haloperidol : 0.1, 0.3 mg/kg)。

### 1-3 Object retrieval with detour (ORD) 試験

ORD 試験は参考文献に記載の方法に準じて実施した [46] [51]。1 面のみ開いている透明なアクリルボックス (4cm × 4cm × 4cm) 内に報酬 (約 0.5cm<sup>3</sup> のケーキ片) を置き、それを獲得できるようにマーモセットを訓練した。アクリルボックス開口面の中心や端、開口部から最も離れたボックス深部など、ボックス内で報酬を置く場所を複数パターンの試行を訓練した。試行の際は動物の飼育ケージ正面に提示し、開口部の向きも正面、左向き、右向きの 3 パターンで訓練した。Easy trial では、報酬を開口部近くに置き、開口部を左または右に向けて提示するか、開口部から離れたアクリルボックス深部に置いて開口部をケージ正面に向けて提示した。この試行では動物はボックスに手を伸ばすだけで容易に報酬を獲得できる。Difficult trial では、報酬をアクリルボックス深部に置いて開口部をマーモセットに対して左または右に向けて提示するため、報酬を獲得するには動物はボックス外周を迂回して開口部から手をいれる必要がある。提示の順序は参考文献 [51] 記載の方法に準じ、試行は 5-10 秒間のインターバルをおいて実施した。試験試行の際、カットオフタイムの 30 秒以内に動物がボックスのいずれの面にも触れずに報酬を獲得できた場合を “correct” と判定し、30 秒以内に報酬を獲得できなかった場合は “omission” と判定した。最低 1 回でも omission と判定された個体のデータは、本結果の解析から除外した。試行時における嗅覚の影響をなくすため、アクリルボックスは試行毎に 70% エタノールで清拭した。各個体につき週に 2-3

日、一日当たり試験試行1回を行った。4試行連続して difficult task で4回以上 correct と判定されるようになった個体は、本試験系における成績が安定したとして訓練を終了し、被験物質の評価に用いた。drug-free での試行における easy trial 9回および difficult trial 8回の成績と被験物質投薬後の試行における成績を以下の式を用いて比較した。

正答変化値 =  $N^{\text{drug-treated}} - N^{\text{drug-free}}$  ( $N^{\text{drug-treated}}$ : 投薬試行における正答数、 $N^{\text{drug-free}}$ : drug-free 試行における正答数)

Tandospirone、blonanserin、risperidone、haloperidol および溶媒は ORD 試験の120分前、SKF-81297 および溶媒については ORD 試験の60分前にいずれも 5 mL/kg の投与液量にて経口投与した。本試験では完全なクロスオーバー方式ではなく、最低5日間の休薬期間を設けて一部の個体を同一被験物質の評価や異なる被験物質の評価に繰り返し使用した。試験試行時の行動評価は盲検法にて実施した。

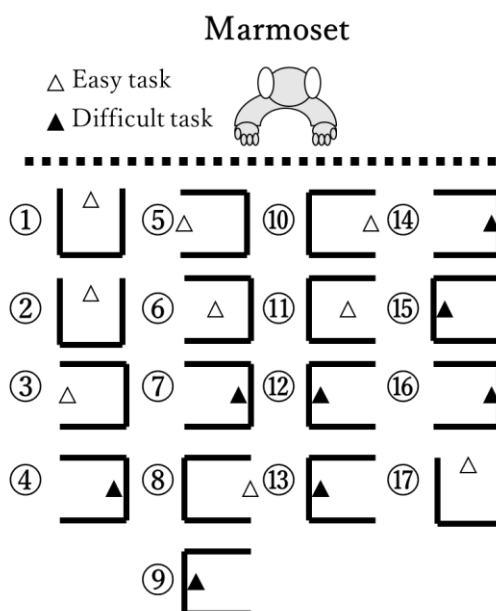


Figure. 1 Object retrieval with detour (ORD) 試験

#### 1-4 統計解析

データはすべて平均±標準誤差で示した。一部の個体は同一被験物質の異なる用量の評価に繰り返し使用したため、群間の正答数比較は線形混合モデルで分析後、SAS Enterprise guide 4.3 (SAS Institute Inc.)を用いてダネット多重比較検定を実施した。Haloperidol 単独投与群の評価では繰り返し使用した個体がいなかったため、正答数変化の比較は Stat Precrinica (Takumi information Technology) により Bonferroni 補正を用いて独立 t 検定を行った。p 値<0.05 となったものを統計的に有意であるとみなした。



## 2. 結果

### 2-1 ORD 試験における tandospirone の効果

投薬群に割り当てられた個体と drug-free 試行での各個体の成績を Table. 1 および 2 にまとめた。Tandospirone 20-40 mg/kg は easy trial における正答数には影響しなかった (Table. 3)。一方、difficult trial において tandospirone 20-40 mg/kg 投薬群では正答数が有意に増加した (20mg/kg:  $df=13$ ,  $t=3.09$ ,  $P<0.0159$ ; 40mg/kg:  $df=13$ ,  $t=7.15$ ,  $P<0.0001$ ; Fig. 2A)。Tandospirone 10mg/kg は正答数に影響しなかったため (データ掲載は省略)、difficult trial における tandospirone の最小有効用量は 20 mg/kg であった。Tandospirone 20-40 mg/kg 投薬群では、いずれの個体においても omission は認められなかった (Table. 3)

### 2-2 ORD 試験における抗精神病薬 blonanserin、risperidone および haloperidol の効果

Tandospirone と抗精神病薬各剤との併用効果を検討するため、まずは blonanserin、risperidone および haloperidol の単独投与での効果を確認した。

その結果、blonanserin 0.1 mg/kg および 0.3 mg/kg は easy trial (Table 2) および difficult trial (Fig. 2B) 双方において正答数に影響しなかった。Blonanserin 0.3 mg/kg 投与群では 5 匹中 1 匹で omission が認められたため (Table 2)、この個体から得られた結果はデータ解析から除外した。

Risperidone 0.1 mg/kg および 0.3 mg/kg は easy trial においては正答数に影響しなかったが (Table 3)、0.3 mg/kg 投与群では difficult trial での正答数が有意に減少した ( $df=12$ ,  $t=-2.78$ ,  $P=0.031$ ; Fig. 2C)。Risperidone 0.3 mg/kg 投与群では 12 匹中 3 匹で omission が認められたため (Table 3)、この個体から得られた結果はデータ解析から除外した。

Haloperidol 0.1 mg/kg および 0.3 mg/kg は easy trial では正答数に影響しなかったが (Table 3)、0.3 mg/kg 投与群では difficult trial での正答数が有意に減少した ( $df=16$ ,  $t=-4.16$ ,  $P=0.0014$ ; Fig. 2D)。Haloperidol 投与群では、いずれの個体にも omission は認められなかった。 (Table 3)

**Table 1. Animal information.**

Treatment	Number of animals			Age (years old)	Number of correct response	
	Male	Female	Total		Easy trial	Difficult trial
Tandospirone	7	8	15	4.13 ± 0.35	7.37 ± 0.19	4.87 ± 0.17
Blonanserin	2	7	9	6.44 ± 0.63	6.94 ± 0.27	5.00 ± 0.26
Risperidone	5	9	14	3.14 ± 0.39	7.07 ± 0.20	4.86 ± 0.13
Haloperidol	9	17	26	5.88 ± 0.47	7.35 ± 0.24	4.77 ± 0.18
Tandospirone + Blonanserin	11	16	27	5.04 ± 0.45	7.26 ± 0.18	4.32 ± 0.18
Tandospirone + Risperidone	5	11	16	7.38 ± 0.41	6.84 ± 0.27	4.63 ± 0.34
Tandospirone + Haloperidol	6	10	16	7.13 ± 0.38	6.79 ± 0.24	4.89 ± 0.23
SKF-81297	5	12	17	6.76 ± 0.62	7.32 ± 0.19	4.73 ± 0.29

Values are mean ± S.E.M.

**Table 2. Change in number of correct responses at the easy trials.**

Treatment	Dose (mg/kg p.o.)	Change in number of correct response
Tandospirone	0	0.20 ± 0.44
	20	0.60 ± 0.34
	40	0.60 ± 0.37
Blonanserin	0	0.00 ± 0.33
	0.1	0.00 ± 0.41
	0.3	0.25 ± 0.85
Risperidone	0	0.10 ± 0.46
	0.1	0.33 ± 0.50
	0.3	-0.78 ± 0.81
Haloperidol	0	0.09 ± 0.21
	0.1	-0.63 ± 0.32
	0.3	0.14 ± 0.40
Vehicle + Vehicle	0	0.92 ± 0.40
Tandospirone (20mg/kg) +	0.1	-0.08 ± 0.42
Blonanserin	0.3	-0.08 ± 0.42
Vehicle + Vehicle	0	0.50 ± 0.42
Tandospirone (20mg/kg) +	0.1	0.14 ± 0.59
Risperidone	0.3	0.25 ± 0.95
Vehicle + vehicle	0	0.63 ± 0.32
Tandospirone (20mg/kg) +	0.1	0.14 ± 0.67
Haloperidol	0.3	1.00 ± 0.58
SKF-81297	0	0.00 ± 0.33
	0.3	-0.60 ± 0.68
	1	0.00 ± 0.33

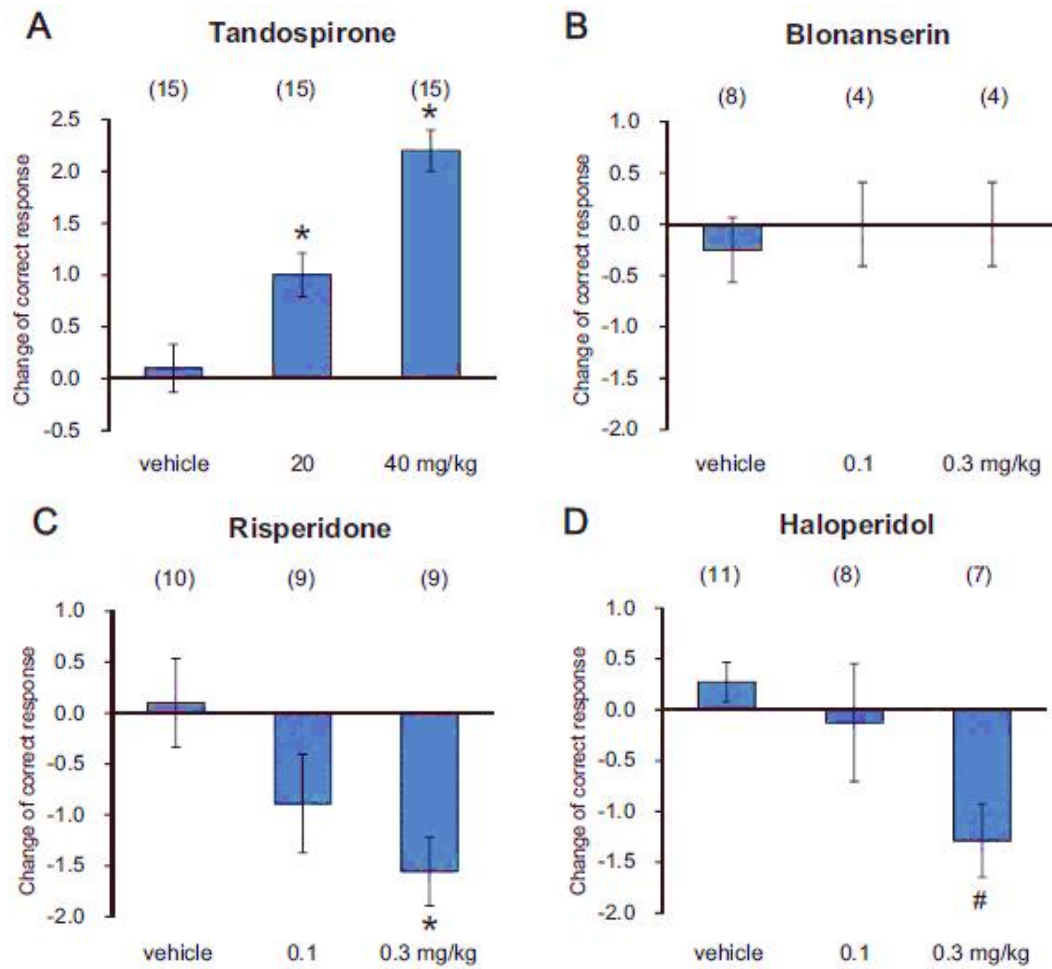
Data represents mean ± S.E.M.

### 2-3 ORD 試験における tandospirone と blonanserin、risperidone または haloperidol との併用効果

ORD 試験での併用投与評価では tandospirone の最小有効用量(20 mg/kg p.o.)を用いた。Tandospirone と blonanserin 0.1, 0.3 mg/kg の併用投与においても、easy trial では正答数に影響しなかった(Table 2)。一方、difficult trial では blonanserin 0.1, 0.3 mg/kg 併用のいずれの群においても正答数が有意に増加した (0.1 mg/kg:  $1.77 \pm 0.17$ ,  $df=10$ ,  $t=6.84$ ,  $P<0.0001$ ; 0.3 mg/kg:  $1.77 \pm 0.16$ ,  $df=10$ ,  $t=6.84$ ,  $P<0.0001$ ; Fig. 3A)。tandospirone と blonanserin 0.3 mg/kg 併用投与群では 14 匹中 1 匹で omission が認められたため(Table 3)、この個体から得られた結果はデータ解析から除外した。

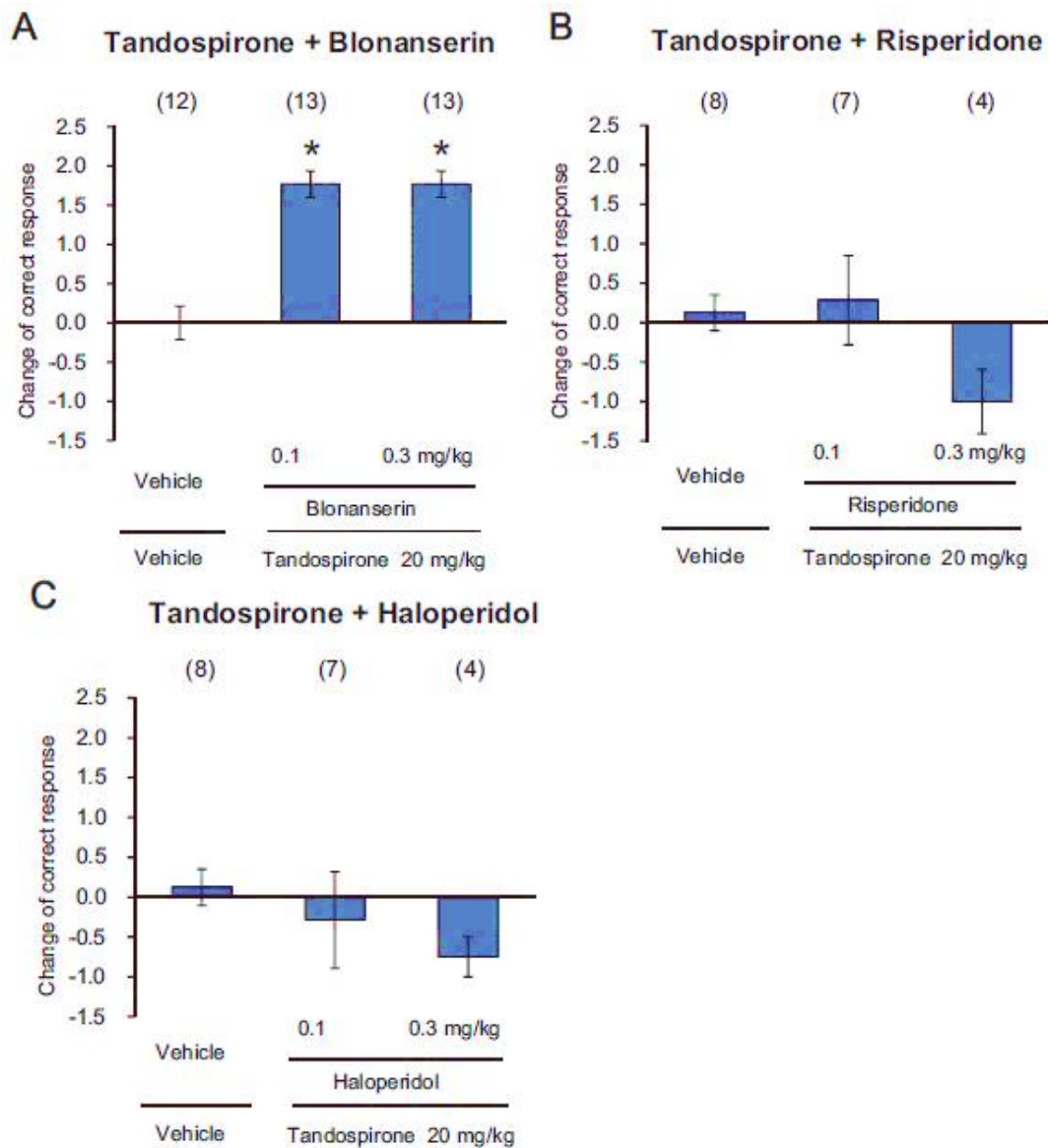
Tandospirone と risperidone 0.1, 0.3 mg/kg の併用投与においても、easy trial では正答数に影響しなかった(Table 2)。Tandospirone 20 mg/kg 単独投与では difficult trial で正答数が増加したが(Fig. 2A)、risperidone 0.1, 0.3 mg/kg を併用した結果 difficult trial における正答数増加は消失した(Fig. 3B)。Tandospirone と risperidone 0.1, 0.3 mg/kg 併用投与群ではそれぞれ 8 匹中 1 匹(0.1 mg/kg)および 4 匹(0.3 mg/kg)で omission が認められたため(Table 3)、この個体から得られた結果はデータ解析から除外した。

Tandospirone と haloperidol 0.1, 0.3 mg/kg の併用投与においても、easy trial では正答数に影響しなかった(Table 2)。Tandospirone 20 mg/kg 単独投与では difficult trial で正答数が増加したが(Fig. 2A)、haloperidol 0.1, 0.3 mg/kg を併用した結果 difficult trial における正答数増加は消失し、haloperidol 0.3 mg/kg との併用投与群ではわずかに正答数が減少した。(0.75 ± 0.25,  $df=6$ ,  $t=-1.31$ ,  $P=0.39$ ; Fig. 3C)。Tandospirone と haloperidol 0.1, 0.3 mg/kg 併用投与群ではそれぞれ 8 匹中 1 匹(0.1 mg/kg)および 4 匹(0.3 mg/kg)で omission が認められたため(Table 3)、この個体から得られた結果はデータ解析から除外した。



**Figure 2. Effect of tandospirone, blonanserin, risperidone and haloperidol on the number of correct responses in the difficult trial of ORD task.**

Tandospirone (A), blonanserin(B), risperidone (C), haloperidol (D) or vehicle was orally administered 120 min before the trial. \* $P < 0.05$  compared to the vehicle-treated group (linear mixed model followed by Dunnett test). #  $P < 0.05$  compared to the vehicle-treated group (unpaired t-tests with Bonferroni correction). Data represent the mean  $\pm$  S.E.M. Numbers in the parentheses indicate the number of animals.



**Figure 3. Effects of adjunctive treatment with tandospirone and blonanserin, risperidone or haloperidol on the number of correct responses in the difficult trial of ORD task.**

Tandospirone or vehicle was orally administered in combination with blonanserin (A), risperidone (B), haloperidol (C) or vehicle 120 min before the trial. \* $P < 0.05$  compared to the vehicle/vehicle-treated group (linear mixed model followed by Dunnett test). Data represent the mean  $\pm$  SEM. Numbers in the parentheses indicate the number of animals.

**Table 3. Animals showing Omission in ORD task.**

Treatment	Dose (mg/kg p.o.)	N of omitted animals / total N of animals
Tandospirone	0	0/15
	20	0/15
	40	0/15
Blonanserin	0	0/8
	0.1	0/4
	0.3	1/5
Risperidone	0	0/10
	0.1	0/9
	0.3	3/12
Haloperidol	0	0/11
	0.1	0/8
	0.3	0/7
Vehicle + Vehicle	0	0/12
Tandospirone (20mg/kg) + Blonanserin	0.1	0/13
	0.3	1/14
Vehicle + Vehicle	0	0/8
Tandospirone (20mg/kg) + Risperidone	0.1	1/8
	0.3	4/8
Vehicle + vehicle	0	0/8
Tandospirone (20mg/kg) + Haloperidol	0.1	1/8
	0.3	4/8
SKF-81297	0	0/8
	0.3	0/5
	1	0/9

Omission was defined as not responding within cut-off time (30 s). N, number

## 2-4 ドパミン D<sub>1</sub> 受容体作動薬 SKF-81297 の効果

実行機能におけるドパミン D<sub>1</sub> 受容体活性化の関与を検討するため、ORD 試験にてドパミン D<sub>1</sub> 受容体作動薬 SKF-81297 を評価した。SKF-81297 0.3-1 mg/kg は easy trial における正答数には影響しなかったが (Table 2)、difficult trial では 1 mg/kg 投与で有意に正答数を増加させた ( $1.56 \pm 0.34$ ,  $df=4$ ,  $t=3.59$ ,  $P=0.040$ ; Fig. 4)。SKF-81297 投与群では、いずれの個体においても omission は認められなかった。

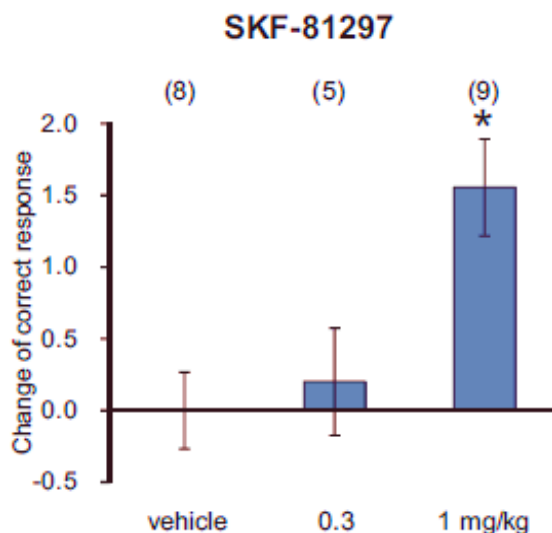


Figure. 4. Effect of the dopamine D<sub>1</sub> receptor agonist SKF-81297 on the number of correct responses in the difficult trial of ORD task.

SKF-81297 or vehicle was orally administered 60 min before the trial. \* $P < 0.05$  compared to the vehicle-treated group (linear mixed model followed by Dunnett test). Data represent the mean  $\pm$  S.E.M. Numbers in the parentheses indicate the number of animals.

## 3. 考察

本研究から、5-HT<sub>1A</sub> 受容体作動薬 tandospirone はマーモセット ORD 試験において注意・実行機能を改善することが示された。これまでに、実行機能の評価系であるウイスコンシンカード分類課題を用いた認知機能検査において tandospirone が統合失調症患者の実行機能を改善することが報告されており<sup>[41]</sup>、本研究結果と一致している。さらに本研究の結果では tandospirone と blonanserin の併用投与により difficult task での正答率が改善したのに対して、tandospirone と risperidone または haloperidol との併用投与ではこのような改善効果は認められなかった。これらの結果から、認知機能評価において tandospirone との併用効果を発現するには、どの抗精神病薬と組み合わせるかが重要であることが浮き彫りにされた。

ORD 試験において評価した抗精神病薬 3 剤のいずれも高用量投与群で omission が認められており、これらの結果は抗精神病薬の沈静/運動障害作用が影響していると推察される。



この仮説に基づき、データ解析の際に omission と判定された個体のデータは除外した。しかしながら、easy trial においてはいずれの薬剤投与群においても omission が認められなかったのは特筆すべき点であり、薬剤投与群における difficult trial での正答数変化は運動量や意欲の変化によるものではないことを示唆している [46][47]。本研究結果では、risperidone および haloperidol は difficult trial の正答率を低下させることから実行機能を障害することが示唆され、過去の論文報告においても同様の結果が得られている [46]。ORD 試験におけるこのような正答率の低下は注意機能/衝動抑制制御の障害によるものであると考えられる。興味深いことに、blonanserin は risperidone や haloperidol と異なり、ORD 試験におけるマーモットの試験成績に影響を与えなかった。Blonanserin は 5-HT<sub>1A</sub>、5-HT<sub>6</sub>、5-HT<sub>7</sub> 受容体、アドレナリン  $\alpha_{2C/1A}$ 、ヒスタミン H<sub>1</sub> およびムスカリン M<sub>1</sub> 受容体に比べてドパミン D<sub>2/3</sub> 受容体および 5-HT<sub>2A</sub> 受容体に高い選択性を有する非定型抗精神病薬である [18]。なぜ blonanserin だけが difficult trial において正答率に悪影響を及ぼさないかについては、さらなる検証が必要であるが、選択性の高い受容体結合特性が寄与しているものと推察される。

本研究では、tandospirone の有効用量と blonanserin の併用投与により、ORD 試験におけるマーモットの試験成績が改善した。今回は tandospirone 単独投与での作用と tandospirone・blonanserin 併用投与での作用を直接比較していないため、blonanserin 併用による付加作用があるかどうかは判定できなかったが、本結果から認知機能改善を目的として tandospirone と抗精神病薬を併用投与する場合は blonanserin が適切であることが示唆された。

一方、tandospirone (20 mg/kg) と試験に悪影響を及ぼさない低用量の risperidone (0.1 mg/kg) または haloperidol (0.1 mg/kg) との併用では、認知機能改善作用が認められなかった。さらに、高用量の risperidone (0.3 mg/kg) または haloperidol (0.3 mg/kg) との併用では、溶媒投与群に比べて正答率が低下し、認知機能低下が示唆された。同様の結果が文献でも報告されており、ラット物体認識試験において tandospirone と blonanserin の併用投与では記憶改善作用を示したのに対し、tandospirone と haloperidol の併用投与では記憶改善が認められなかった [51][42]。これらの結果から、認知機能増強を目的とする場合には、認知機能増強剤との併用に適切な抗精神病薬の選択が重要であることが示唆された。興味深いことに、小規模臨床試験において、tandospirone と haloperidol の併用投与により統合失調症患者の言語学習と実行機能が改善されたとの報告もある [40][41]。これらの結果から、tandospirone と blonanserin は統合失調症患者においてより優れた認知機能改善作用を示すことが期待されるため、臨床研究にて実際の併用効果を検証する価値があると考えられる。

5-HT<sub>1A</sub> 受容体作動薬による認知機能改善作用は、前頭前皮質におけるドパミン神経伝達増強を介して発現すると考えられている [20][39][42]。これを支持する結果として、ラットマイクロダイアリシス法により tandospirone は前頭前皮質において細胞外ドパミン量を増加させることが確認されており [20][52]、我々のグループはドパミン D<sub>4</sub> 受容体作動薬 Ro10-5824 がマーモット ORD 試験において正答率を増加させることを報告している [47]。さら

に、ドパミン D<sub>1</sub> 受容体は認知機能増強剤の最も有望なターゲットの一つと考えられており [53]、実際に本研究においてもドパミン D<sub>1</sub> 受容体作動薬 SKF-81297 がマーモセット ORD 試験 difficult trial における試験成績を改善した。したがって、本研究で認められた実行機能における tandospirone の認知機能改善作用は、前頭前皮質における細胞外ドパミン量増加によるドパミン D<sub>1</sub> および D<sub>4</sub> 受容体刺激を介していると推察される。一方、tandospirone 同様に前頭前皮質のドパミン遊離を促進する blonanserin が単独でマーモセット ORD 試験での正答率を増加させなかった理由は不明である。また、blonanserin 単独投与での実行機能以外の認知機能ドメインへの作用も検証も必要である。今後、blonanserin 単独での各種認知機能ドメインへの作用とドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用との関連性を明らかにするため、更なる検討が必要である。

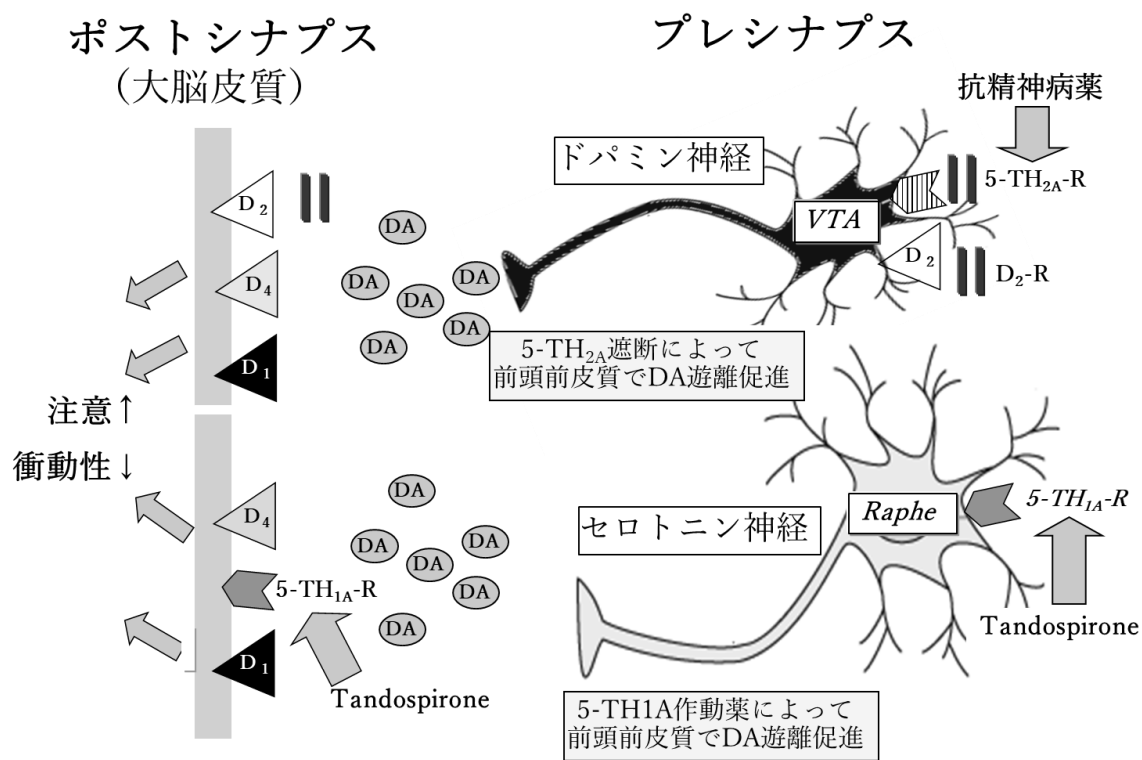


Figure. 5 注意・衝動性改善メカニズム仮説

## 総括

1952年 Delay らのクロルプロマジンの臨床応用により統合失調症に対する本格的な薬物療法が始まって以降、ドパミン D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用を主作用とする種々の抗精神病薬が誕生し、さらにセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗作用を併せ持つ SDA の登場によって統合失調症治療は確実に前進してきた。しかしながら、いまだに陽性症状・陰性症状および認知機能障害に対して一剤で広範な改善作用を示す薬剤はなく、寛解率も依然として 50% を下回る状況が続いている。特に、統合失調症患者の機能的転帰に影響の大きい認知機能障害の改善は大きな課題となっている。抗精神病薬はいずれも複数の受容体に対する親和性を有するマルチターゲット型の薬剤であり、その受容体結合特性のバランスによって臨床効果や副作用が異なるため、薬物療法においては各患者の症状に最適な薬剤の選択が必要である。

2008年に上市された blonaserin はその受容体結合特性から SDA に分類されるが、セロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体親和性よりもドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体親和性が 3 倍程度強く、受容体結合プロファイルの中でもっとも強い親和性を示す点が特徴的である。種々の非臨床研究によって、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用は脳内での神経伝達物質遊離を調節し<sup>[54]</sup>、認知機能障害や陰性症状の改善、錐体外路系副作用の軽減に関与することが示唆されているが、現時点で臨床使用可能な選択的ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗薬はなく、その臨床効果を明確に立証するには至っていない。また、多くの既存抗精神病薬がドパミン D<sub>3</sub> 受容体親和性を示すが、これまで非臨床・臨床のいずれにおいても生体内では脳内ドパミン D<sub>3</sub> 受容体占拠率が極めて低いか全く占拠しないことが複数剤で報告されており、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用と既存抗精神病薬の臨床効果の関連性を示す根拠は得られていなかった。

本研究の結果、blonanserin は *in vitro* 試験系における受容体結合親和性評価結果と同様にラット脳内においてドパミン D<sub>2</sub> および D<sub>3</sub> 受容体を同程度占拠することが明らかとなった。ラットにおける抗精神病作用用量での D<sub>3</sub> 受容体占拠率は、評価した 4 剤の中で blonanserin が最も高かった。最近、PET 研究にて blonanserin がヒトでも脳ドパミン D<sub>3</sub> 受容体を占拠していることが報告された<sup>[33]</sup>。現在国内で市販されている抗精神病薬のうち、臨床用量範囲内でヒトにおいて十分なドパミン D<sub>3</sub> 受容体占有が報告されているのは現時点で blonanserin のみであり、本研究結果が臨床結果を反映していたことが示されたといえる。

近年、統合失調症患者の社会復帰に大きく影響する残存症状として認知機能障害が注目されており、非臨床・臨床の両面から様々な研究が行われているが、現時点で統合失調症の認知機能障害を適応症として承認された薬剤はない。また、ヒスタミン、ムスカリン受容体などのオフターゲットに対する受容体親和性により、抗精神病薬それ自体が認知機能を障害する可能性も示唆されている。本研究では、統合失調症患者において haroperidol との併用投与での認知機能改善作用発現が報告されているセロトニン 5-HT<sub>1A</sub> 受容体作動薬 tandospirone が、マーモセット ORD 試験で正答率を増加させ、認知機能改善作用を示すこ

とを明らかにした。同試験系において、haloperidol および risperidone は高用量で正答率を低下させる一方で、blonanserin は高用量でも正答率に影響を与えなかった。さらに、tandospirone(20 mg/kg, p.o.)と併用投与した場合、haloperidol および risperidone では単独投与高用量で認められた正答率悪化が軽減されるにとどまったのに対して、blonanserin との併用投与では正答率の増加が認められた。これらの結果から、blonanserin は単独投与で認知機能を悪化させず、さらに tandospirone と併用投与した場合には認知機能を改善することが示唆された。同様の結果はげっ歯類を用いた非臨床研究でも報告があることから、統合失調症患者において認知機能増強剤を投与する際は組み合わせる抗精神病薬の選択が重要であり、なかでも blonanserin は認知機能増強剤との組み合わせに適していると考えられる。

これまでのマーモセット ORD 試験に関する論文報告および本研究結果から、マーモセット ORD 試験における tandospirone の認知機能改善作用は前頭前皮質における細胞外ドパミン量増加によるドパミン D<sub>1</sub> および D<sub>4</sub> 受容体刺激を介していると推察される。一方、選択的ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗薬によって前頭前皮質における細胞外ドパミンおよびアセチルコリン遊離量を増加させることが報告されており<sup>[55]</sup>、blonanserin においても同様の作用が確認されている<sup>[54]</sup>。選択的ドパミン D<sub>3</sub> 受容体リガンドを用いた種々の非臨床研究結果から、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体刺激によって認知機能が悪化し、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用によって認知機能が改善することが示唆されており、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用による認知機能改善は前頭前皮質におけるドパミンおよびアセチルコリン遊離量増加を介していると考えられている。本研究において blonanserin は単独投与ではマーモセット ORD 試験における正答率を増加させなかったが、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用による前頭前皮質でのドパミン遊離促進によって認知機能改善作用を示す可能性があると考えられる。実際、小谷らはマーモセット ORD 試験においてドパミン D<sub>3</sub> 受容体作動薬(+)-PD-128907 投与によって正答率が悪化し、blonanserin を併用投与することで正答率が正常レベルまで回復することを報告している<sup>[56]</sup>。さらに、前述の小谷らの報告では統合失調症様の精神病症状および認知機能障害を誘発する解離性麻酔薬 ketamine によってマーモセット ORD 試験における正答率が悪化し、blonanserin の併用投与によって正常レベルまで改善している。この他にも、マウス物体認識試験において blonanserin が解離性麻酔薬 phencyclidine 誘発認知機能障害を改善し、その作用はドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用を介していることが報告されている<sup>[34]</sup>。本研究結果およびこれらの論文報告から、blonanserin は正常レベルの認知機能に対しては障害を起こさず、認知機能障害に対してはドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用を介して改善作用を発揮すると考えられ、特に統合失調症における認知機能障害のうち、注意・衝動性などの一部の認知ドメインにおける障害に有用である可能性が示唆されたといえる。このほかに、ドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗薬やドパミン D<sub>3</sub> 受容体ノックアウトマウスを用いた非臨床研究により、前頭前皮質におけるドパミン D<sub>3</sub> 拮抗作用が社会認知機能の障害を改善することが報告されていることから<sup>[57]</sup>、blonanserin はドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用を介して種々の認知機能

ドメインを改善する可能性があると考えられる。臨床現場でのより効果的な薬物療法の一助となるべく blonanserin のドパミン D<sub>3</sub> 受容体拮抗作用に基づく臨床効果をさらに検証するとともに、新たな統合失調症治療薬の開発につなげたい。

本研究は以下の報告を基に作成した。

**Baba S**, Enomoto T, Horisawa T, Hashimoto T, Ono M., “Blonanserin extensively occupies rat dopamine D<sub>3</sub> receptors at antipsychotic dose range” *Journal of Pharmacological Sciences*, 127, pp. 326-331, 2015.

**Baba S**, Murai T, Nakako T, Enomoto T, Ono M, Shimizu I, Ikeda K., “The serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist tandospirone improves executive function in common marmosets” *Behavioural Brain Research*, 287, pp. 120–126, 2015.

### その他の研究業績

Lee BJ, Watanabe M, Kamitani W, **Baba S**, Yamashita M, Kobayashi T, Tomonaga K, Ikuta K., “Age- and host-dependent control of Borna disease virus spread in the developing brains of gerbils and rats” *Microbes Infect.*, 5(13), pp.1195-204, 2003

Zhang G, Kobayashi T, Kamitani W, Komoto S, Yamashita M, **Baba S**, Yanai H, Ikuta K, Tomonaga K., “Borna disease virus phosphoprotein represses p53-mediated transcriptional activity by interference with HMGB1” *J Virol.*, 77(22), pp.12243-51, 2003

Kobayashi T, Zhang G, Lee BJ, **Baba S**, Yamashita M, Kamitani W, Yanai H, Tomonaga K, Ikuta K., “Modulation of Borna disease virus phosphoprotein nuclear localization by the viral protein X encoded in the overlapping open reading frame” *J Virol.*, 77(14), pp. 8099-107, 2003

**Baba S**, Ishiyama T, Ueda Y, Ishibashi T, Kita A, Kitaura M, “Amelioration of MK-801-induced cognitive impairment by lurasidone in mouse contextual fear conditioning test” *9<sup>th</sup> World Congress of Biological Psychiatry*, P-28-016, 2009

Fukaya T, Ishiyama T, **Baba S**, Masumoto S., “Identification of a novel benzoxazolone derivative as a selective, orally active 18 kDa translocator protein (TSPO) ligand” *J Med Chem.*, 56(20), pp.8191-5, 2013

Fukaya T, Kodo T, Ishiyama T, Nishikawa H, **Baba S**, Masumoto S., “Design, synthesis and structure-activity relationship of novel tricyclic benzimidazolone derivatives as potent 18 kDa

translocator protein (TSPO) ligands" *Bioorg Med Chem.*, 21(5), pp. 1257-67, 2013

Kato T, Matsumoto Y, Yamamoto M, Matsumoto K, **Baba S**, Nakamichi K, Matsuda H, Nishimuta H, Yabuuchi K, "DSP-1053, a novel serotonin reuptake inhibitor with 5-HT<sub>1A</sub> partial agonistic activity, displays fast antidepressant effect with minimal undesirable effects in juvenile rats" *Pharmacol Res Perspect.* 3(3):e00142, pp.1-17, 2015

Yoshinaga H, Masumoto S, Koyama K, Kinomura N, Matsumoto Y, Kato T, **Baba S**, Matsumoto K, Horisawa T, Oki H, Yabuuchi K, Kodo T, "Discovery of SMP-304, a novel benzylpiperidine derivative with serotonin transporter inhibitory activity and 5-HT<sub>1A</sub> weak partial agonistic activity showing the antidepressant-like effect" *Bioorg Med Chem.*, 25(1), pp. 293-304, 2017

Hashimoto T, **Baba S**, Ikeda H, Oda Y, Hashimoto K, Shimizu I, "Lack of dopamine supersensitivity in rats after chronic administration of blonanserin: Comparison with haloperidol" *Eur J Pharmacol.*, 830, pp. 26-32, 2018

謝辭



## 参考文献

- [1] U.S. Food and Drug Administration, “Updates: New Schizophrenia Drug.,” *U.S. Food and Drug Administration Web site*. Available at: [http://www.fda.gov/fdac/departs/2001/301\\_upd.html](http://www.fda.gov/fdac/departs/2001/301_upd.html), FDA Consumer 2001;.
- [2] 三浦貞則, “上巻,” 著: *精神治療薬大系 (改訂新版 2001)*, 星和書店, 2001, pp. 84-102.
- [3] Barak Y, Aizenberg D, “Clinical and psychosocial remission in schizophrenia: correlations with antipsychotic treatment,” *BMC Psychiatry*, 第 卷 12, 第 1, p. 108, 2012.
- [4] Ishibashi T, Nishikawa T, Une T, Nakamura H, “Pharmacological profiles and clinical effects of blonanserin (Lonasen) on schizophrenia,” *Folia Pharmacologica Japonica*, 第 卷 132, 第 6, pp. 351-60, 2008.
- [5] Horiguchi M, Meltzer HY, “Blonanserin reverses the phencyclidine (PCP)-induced impairment in novel object recognition (NOR) in rats: role of indirect 5-HT(1A) partial agonism,” *Behav Brain Res*, 第 卷 247, pp. 158-164, 2013.
- [6] Hori H, Yamada K, Kamada D, Shibata Y, Katsuki A, Yoshimura R, et al, “Effect of blonanserin on cognitive and social function in acute phase Japanese schizophrenia compared with risperidone,” *J Neuropsychiatr Dis Treat*, 第 卷 10, pp. 527-533, 2014.
- [7] Gross G, Wicke K, Drescher KU, “Dopamine D3 receptor antagonism-still a therapeutic option for the treatment of schizophrenia,” *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 第 卷 386, pp. 155-166, 2013.
- [8] Nakajima S, Gerretsen P, Takeuchi H, Caravaggio F, Chow T, Le Foll B, et al, “The potential role of dopamine D3 receptor neurotransmission in cognition,” *Eur Neuropsychopharmacol*, 第 卷 23, pp. 799-813, 2013.
- [9] Shimizu S, Tatara A, Sato M, Sugiuchi T, Miyoshi S, Andatsu S, et al, “Role of cerebellar dopamine D3 receptors in modulating exploratory locomotion and cataleptogenicity in rats,” *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 第 卷 50, pp. 157-162, 2014.
- [10] Kapur S, Seeman P, “Does fast dissociation from the dopamine d(2) receptor explain the action of atypical antipsychotics?: a new hypothesis,” *Am J Psychiatry*, 第 卷 158, pp. 360-369, 2001.
- [11] H. Meltzer, “Serotonergic mechanisms as targets for existing and novel antipsychotics.,” *Handb Exp Pharmacol*, 第 卷 212, pp. 87-124, 2012.

- [12] McCormick PN, Kapur S, Graff-Guerrero A, Raymond R, Nobrega JN, Wilson AA, “The antipsychotics olanzapine, risperidone, clozapine, and haloperidol are D2-selective ex vivo but not in vitro,” *Neuropsychopharmacology*, 第 卷 35, pp. 1826-1835, 2010.
- [13] Schotte A, Janssen PF, Gommeren W, Luyten WH, Van Gompel P, Lesage AS, et al, “Risperidone compared with new and reference antipsychotic drugs: in vitro and in vivo receptor binding,” *Psychopharmacol Berl*, 第 卷 124, pp. 57-73, 1996.
- [14] “Cariprazine (RGH-188), a potent D3/D2 dopamine receptor partial agonist, binds to dopamine D3 receptors in vivo and shows antipsychotic-like and procognitive effects in rodents,” *Neurochem Int*, 第 卷 59, pp. 925-935, 2011.
- [15] McCormick PN, Wilson VS, Wilson AA, Remington GJ, “Acutely administered antipsychotic drugs are highly selective for dopamine D2 over D3 receptors,” *Pharmacol Res*, 第 卷 70, pp. 60-71, 2013.
- [16] Graff-Guerrero A, Mamo D, Shammi CM, Mizrahi R, Marcon H, Barsoum P, et al, “The effect of antipsychotics on the high-affinity state of D2 and D3 receptors: a positron emission tomography study with [11C]-(+)-PHNO,” *Arch Gen Psychiatry*, 第 卷 66, pp. 606-615, 2009.
- [17] Mizrahi R, Agid O, Borlido C, Suridjan I, Rusjan P, Houle S, et al, “Effects of antipsychotics on D3 receptors: a clinical PET study in first episode antipsychotic naive patients with schizophrenia using [11C]-(+)-PHNO,” *Schizophr Res*, 第 卷 131, pp. 63-68, 2011.
- [18] Murasaki M, Nishikawa H, Ishibashi T, “Dopamine-serotonin antagonist: receptor binding profile of a novel antipsychotic blonanserin,” *Jpn J Clin Psychopharmacol*, 第 卷 11, pp. 845-854, 2008.
- [19] Meltzer HY, Matsubara S, Lee JC, “Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin<sub>2</sub> pKi values,” *J Pharmacol Exp Ther*, 第 卷 251, pp. 238-246, 1989.
- [20] Huang M, Panos JJ, Kwon S, Oyamada Y, Rajagopal L, Meltzer HY, “Comparative effect of lurasidone and blonanserin on cortical glutamate, dopamine, and acetylcholine efflux: role of relative serotonin (5-HT)<sub>2A</sub> and DA D2 antagonism and 5-HT<sub>1A</sub> partial agonism,” *J Neurochem*, 第 卷 128, pp. 938-949, 2014.
- [21] Nagai T, Noda Y, Une T, Furukawa K, Furukawa H, Kan QM, et al, “Effect of AD-5423 on animal models of schizophrenia: phencyclidine-induced behavioral changes in mice,” *Neuroreport*, 第 卷 14, pp. 269-272, 2003.

- [22] Ohno Y, Okano M, Imaki J, Tatara A, Okumura T, Shimizu S, “Atypical antipsychotic properties of blonanserin, a novel dopamine D2 and 5-HT2A antagonist,” *Pharmacol Biochem Behav*, 第 卷 96, pp. 175-180, 2010.
- [23] Ohoyama K, Yamamura S, Hamaguchi T, Nakagawa M, Motomura E, Shiroyama T, et al, “Effect of novel atypical antipsychotic, blonanserin, on extracellular neurotransmitter level in rat prefrontal cortex,” *Eur J Pharmacol*, 第 卷 653, pp. 47-57, 2011.
- [24] Kishi T, Matsuda Y, Nakamura H, Iwata N, “Blonanserin for schizophrenia: systematic review and meta-analysis of double-blind, randomized, controlled trials,” *J Psychiatr Res*. 2013;47:149e154, 第 卷 47, pp. 149-154, 2013.
- [25] Newman-Tancredi A, Cussac D, Audinot V, Pasteau V, Gavaudan S, Millan MJ, “G protein activation by human dopamine D3 receptors in high-expressing Chinese hamster ovary cells: a guanosine-5'-O-(3-[35S] thio)-triphosphate binding and antibody study,” *Mol Pharmacol*. 1999;55:564e574, 第 卷 55, pp. 564-574, 1999.
- [26] Senogles SE, Spiegel AM, Padrell E, Iyengar R, Caron MG., “Specificity of receptor-G protein interactions. Discrimination of Gi subtypes by the D2 dopamine receptor in a reconstituted system,” *J Biol Chem*, 第 卷 265, pp. 4507-4514, 1990.
- [27] Kiss B, Horti F, Bobok A, “In vitro and in vivo comparison of [3H](+)-PHNO and [3H]raclopride binding to rat striatum and lobes 9 and 10 of the cerebellum: a method to distinguish dopamine D3 from D2 receptor sites,” *Synapse*, 第 卷 65, pp. 467-478, 2011.
- [28] Ishibashi T, Horisawa T, Tokuda K, Ishiyama T, Ogasa M, Tagashira R, et al, “Pharmacological profile of lurasidone, a novel antipsychotic agent with potent 5-hydroxytryptamine 7 (5-HT7) and 5-HT1A receptor activity,” *J Pharmacol Exp Ther*. 2010;334:171e181., 第 卷 334, pp. 171-181, 2010.
- [29] Une T, Kurumiya S, “Pharmacological profile of blonanserin,” *Jpn J Clin Psychopharmacol*, 第 卷 10, pp. 1263-1272, 2007.
- [30] Lévesque D, Diaz J, Pilon C, Martres MP, Giros B, Souil E, et al, “Identification, characterization, and localization of the dopamine D3 receptor in rat brain using 7-[3H]hydroxy-N,N-di-n-propyl-2-aminotetralin,” *Proc Natl Acad Sci USA*, 第 卷 89, pp. 8155-8159, 1992.
- [31] Richtand NM, Woods SC, Berger SP, Strakowski SM, “D3 dopamine receptor, behavioral sensitization, and psychosis,” *Neurosci Biobehav Rev*, 第 卷 25, pp. 427-443, 2011.

- [32] Girgis RR, Xu X, Miyake N, Easwaramoorthy B, Gunn RN, Rabiner EA, et al, “In vivo binding of antipsychotics to D3 and D2 receptors: a PET study in baboons with [11C]-(+)-PHNO,” *Neuropsychopharmacology*, 第 卷 36, pp. 887-895, 2011.
- [33] Tateno A, Sakayori T, Kim WC, Honjyo K, Nakayama H, Arakawa R, et al, “Comparison of dopamine D3 and D2 receptor occupancies by a single dose of blonanserin in healthy subjects: A positron emission tomography study with [11C]-(+)-PHNO.,” *Int J Neuropsychophar*, 第 卷 21, 第 6, pp. 522-527, 2018.
- [34] Hida H, Mouri A, Mori K, Matsumoto Y, Seki T, Taniguchi M, et al, “Blonanserin Ameliorates phencyclidine-induced visual-recognition memory deficits: the Complex mechanism of blonanserin action involving D3-5-HT2A and D1-NMDA receptors in the mPFC. 2014 Aug 14.,” *Neuropsychopharmacology*, 第 卷 40, 第 3, p. 601–613. , 2015.
- [35] Green MF, Kern RS, Braff DL, Mintz J. , “ Neurocognitive deficits and functional outcome in schizophrenia: are we measuring the right stuff. 2000,” *Schizophr Bull*, 第 卷 26, pp. 119-136, 2000.
- [36] Woodward ND, Purdon SE, Meltzer HY, Zald DH, “ A meta-analysis of neuropsychological change to clozapine, olanzapine, quetiapine, and risperidone in schizophrenia,” *Int J Neuropsychopharmacol*, 第 卷 8, pp. 457-472, 2005.
- [37] Miyamoto S, Miyake N, Jarskog LF, Fleischhacker WW, Lieberman JA, “Pharmacological treatment of schizophrenia: a critical review of the pharmacology and clinical effects of current and future therapeutic agents,” *Mol Psychiatry*, 第 卷 17, pp. 1206-1227, 2012.
- [38] Meltzer HY, Sumiyoshi T, “ Does stimulation of 5-HT(1A) receptors improve cognition in schizophrenia,” *Behav Brain Res*, 第 卷 198, pp. 98-102, 2008.
- [39] Sumiyoshi T, Higuchi Y, “Facilitative effect of serotonin(1A) receptor agonists on cognition in patients with schizophrenia. 2013;20:357–6,” *Curr Med Chem*, 第 卷 20, pp. 357-362, 2013.
- [40] Sumiyoshi T, Matsui M, Yamashita I, Nohara S, Kurachi M, Uehara T, et al, “The effect of tandospirone, a serotonin(1A) agonist, on memory function in schizophrenia,” *Biol Psychiatry*, 第 卷 49, pp. 861-868, 2001.
- [41] Sumiyoshi T, Matsui M, Nohara S, Yamashita I, Kurachi M, Sumiyoshi C, et al, “Enhancement of cognitive performance in schizophrenia by addition of tandospirone to neuroleptic treatment,” *Am J Psychiatry*, 第 卷 158, pp. 1722-1725, 2001.
- [42] Horiguchi M, Meltzer HY, “The role of 5-HT1A receptors in phencyclidine (PCP)-

- induced novel object recognition (NOR) deficit in rats,” *Psychopharmacology(Berl)*, 第 卷 221, pp. 205-215, 2012.
- [43] Buchanan RW, Davis M, Goff D, Green MF, Keefe RS, Leon AC, et al, “A summary of the FDA-NIMH-MATRICES workshop on clinical trial design for neurocognitive drugs for schizophrenia,” *Schizophr Bull*, 第 卷 31, pp. 5-19, 2005.
- [44] Enomoto T, Ishibashi T, Tokuda K, Ishiyama T, Toma S, Ito A, “Lurasidone reverses reverses MK-801-induced impairment of learning and memory in the Morris water-maze and radial-arm maze tests in rats,” *Behav Brain Res*, 第 卷 186, pp. 197-207, 2008.
- [45] Ishiyama T, Tokuda K, Ishibashi T, Ito A, Toma S, Ohno Y, “Lurasidone (SM-13496), a novel atypical antipsychotic drug, reverses MK-801-induced impairment of learning and memory in the rat passive-avoidance test,” *Eur J Pharmacol*, 第 卷 572, pp. 160-170, 2007.
- [46] Murai T, Nakako T, Ikejiri M, Ishiyama T, Taiji M, Ikeda K, “ Effects of lurasidone on executive function in common marmosets. 2013;246:125–31,” *Behav Brain Res*, 第 卷 246, pp. 125-131, 2013.
- [47] Murai T, Nakako T, Ikeda K, Ikejiri M, Ishiyama T, Taiji M, “Lack of dopamine D4 receptor affinity contributes to the procognitive effect of lurasidone,” *Behav Brain Res*, 第 卷 261, pp. 26-30, 2014.
- [48] Wallis JD, Dias R, Robbins TW, Roberts AC, “Dissociable contributions of the orbitofrontal and lateral prefrontal cortex of the marmoset to performance on a detour reaching task,” *Eur J Neurosci* 2001, 第 卷 13, pp. 1797-1808, 2001.
- [49] Wilkinson LS, Dias R, Thomas KL, Augood SJ, Everitt BJ, Robbins TW, et al, “Contrasting effects of excitotoxic lesions of the prefrontal cortex on the behavioural response to D-amphetamine and presynaptic and postsynaptic measures of striatal dopamine function in monkeys,” *Neuroscience*, 第 卷 80, pp. 717-730, 1997.
- [50] Nakako T, Murai T, Ikejiri M, Ishiyama T, Taiji M, Ikeda K, “Effects of a dopamine D1 agonist on ketamine-induced spatial working memory dysfunction in common marmosets,” *Behav Brain Res*, 第 卷 249, pp. 109-115, 2013.
- [51] Rutten K, Basile JL, Prickaerts J, Blokland A, Vivian JA, “ Selective PDE inhibitors rolipram and sildenafil improve object retrieval performance in adult cynomolgus macaques,” *Psychopharmacology (Berl)*, 第 卷 196, pp. 643-648, 2008.
- [52] Yoshino T, Nisijima K, Katoh S, Yui K, Nakamura M. , “Tandospirone potentiates the fluoxetine-induced increases in extracellular dopamine via 5-HT(1A) receptors in the

- rat medial frontal cortex,” *Neurochem Int*, 第 卷 40, pp. 355-360, 2002.
- [53] Goldman-Rakic PS, Castner SA, Svensson TH, Siever LJ, Williams GV, “Targeting the dopamine D1 receptor in schizophrenia: insights for cognitive dysfunction,” *Psychopharmacology (Berl)*, 第 卷 174, pp. 3-16, 2004.
- [54] Huang M, Kwon S, Oyamada Y, Rajagopal L, Miyauchi M, Meltzer HY, “Dopamine D3 receptor antagonism contributes to blonanserin-induced cortical dopamine and acetylcholine efflux and cognitive improvement,” *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 第 卷 138, pp. 49-57, 2015.
- [55] Lacroix LP, Hows ME, Shah AJ, Hagan JJ, Heidbreder CA, “Selective antagonism at dopamine D3 receptors enhances monoaminergic and cholinergic neurotransmission in the rat anterior cingulate cortex,” *Neuropsychopharmacology*, 第 卷 28, 第 5, pp. 839-849, 2003.
- [56] Kotani M, Enomoto T, Murai T, Nakako T, Iwamura Y, Kiyoshi A, Matsumoto K, Matsumoto A, Ikejiri M, Nakayama T, Ogi Y, Ikeda K, “The atypical antipsychotic blonanserin reverses (+)-PD-128907- and ketamine-induced deficit in executive function in common marmosets,” *Behavioural Brain Research*, 第 卷 305, pp. 212-217, 2016.
- [57] Watson DJG, Loiseau F, Ingallinesi M, Millan MJ, Marsden CA, Fone KCF, “Selective Blockade of Dopamine D3 Receptors Enhances while D2 Receptor Antagonism Impairs Social Novelty Discrimination and Novel Object Recognition in Rats: A Key Role for the Prefrontal Cortex,” *Neuropsychopharmacology*, 第 卷 37, pp. 770-786, 2012.
- [58] Bürki HR, Ruch W, Asper H, “Effects of clozapine, thioridazine, perlapine and haloperidol on the metabolism of the biogenic amines in the brain of the rat,” *Psychopharmacologia (Berl.)*, 第 卷 41, pp. 27-33, 1975.
- [59] Lee T, Seeman P, Tourtellotte WW, Farley IJ, Hornykeiwicz O., “Binding of 3H-neuroleptics and 3H-apomorphine in schizophrenic brains,” *Nature*, 第 卷 275, pp. 897-900, 1978.
- [60] Reyntjens A, Gelders YG, Hoppenbrouwers MJA, Bussche GV, “Thymosthenic effects of ritanserin (R55667), a centrally acting serotonin-2 receptor blocker,” *Drug Dev Res*, 第 卷 8, pp. 205-211, 1986.
- [61] Seeman P, Ulpian C, Bergeron C, Riederer P, Jellinger K, Gabriel E, “Bimodal distribution of dopamine receptor densities in brains of schizophrenics,” *Science*, 第 卷 225, pp. 728-731, 1984.
- [62] Owen F, Cross AJ, Crow TJ, Longden A, Poulter M, Riley GJ, “Increased dopamine-

receptor sensitivity in schizophrenia," *Lancet*, 第卷 312, 第 8083, pp. 223-226, 1978.