

ラット脳内 σ 受容体の薬理学的特異性に関する研究

— とくに抗精神病薬と抗虚血剤の作用について —

岡山大学医学部神経精神医学教室 (指導: 大月三郎教授)

図 子 義 文

(平成2年12月25日受稿)

Key words : sigma receptors, antipsychotics, ifenprodil, dextromethorphan, eperisone

緒 言

σ 受容体は当初合成オピエートの精神異常発現作用に参与するオピオイド受容体の一亜型として想定された受容体であり¹⁾, 1982年に Su²⁾が (±)-[³H]SKF10047 (*N*-allylnormetazocine) 結合部位の存在を明らかにすることによって σ 受容体の存在が薬理学的にも裏付けられた。その後, (+)-[³H]SKF10047³⁾, [³H]haloperidol⁴⁾⁵⁾⁶⁾, [³H]DTG {1, 3-di (2-tolyl) guanidine} ⁷⁾を用いた研究によって σ 受容体の薬理学的特性にはさらに詳細な検討が加えられた。これらの研究では (+)-SKF10047や (+)-pentazocine のような精神異常発現作用をもつ合成オピエートばかりでなく, haloperidol⁸⁾や perphenazine のような抗精神病薬が σ 受容体に高い親和性を示す²⁾³⁾⁴⁾ことが明らかにされた。また, 新しく開発された抗精神病薬の中にも rimcazole⁹⁾のように σ 受容体に選択的な親和性をもつ薬剤が見いだされており, σ 受容体は抗精神病薬の作用を媒介する可能性がある⁹⁾と推定されている。しかし, 他方では精神異常発現作用¹⁾や抗精神病薬によるジストニア発現作用¹⁵⁾との関連も示唆されており, σ 受容体の本質的な役割に関しては依然として不明な点が多い。 σ 受容体の研究を困難にしている背景として, 1) σ 作用薬はドーパミン系¹⁰⁾¹¹⁾, アセチルコリン系¹²⁾, ノルエピネフリン系¹³⁾に対する薬理作用をもち, NMDA 受容体の感受性を調節する¹⁴⁾など, σ 作用薬の薬理作用は非常に多様であること, 2) σ 受容

体の分布は脊髄, 橋・延髄, 小脳, 海馬などの中枢神経系¹⁶⁾¹⁷⁾ばかりでなく, 肝臓¹⁸⁾, 副腎, 精巣, 下垂体¹⁹⁾といった多臓器に及んでいること, 3) σ 受容体に作用する内因性作用物質が特定されていないこと, を挙げることができる。今回の研究では, 各種抗精神病薬とその他の各種薬剤の σ 受容体に対する親和性を, [³H]haloperidol を標識化合物とした受容体結合実験によって測定し, どのような薬剤が σ 受容体に高い親和性を示すのかを明らかにすることによって, σ 受容体が関与しうる薬理作用について検討した。

対象と方法

1) 膜標品の調製

Wistar 系雄性ラット (体重200—250 g) を断頭して脳を取り出し, 氷上で前頭皮質, 海馬, 小脳を切り出した後-70℃で冷凍保存して使用時に解凍した。脳組織を30倍容量の氷冷50mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0, 25℃) でホモジナイズし, 4℃, 35,000 g で10分間遠心分離して得られた沈渣を再び懸濁した。この遠心操作をさらに2回繰り返して得られた沈渣を同容量の50 mM Tris 緩衝液で懸濁したものを膜標品とした。

2) [³H] haloperidol 結合実験

各試験管に50mM Tris-HCl 緩衝液 (pH8.0, 25℃; 0.6ml), 各濃度の薬物希釈液 (0.1ml), 25nM spiperone (0.1ml), [³H]haloperidol (0.1 ml), 膜標品 (0.1ml, 組織量として3.3mg) を加えて総量 1 ml とした。これを37℃で60分間イン

キュベートした後, cell harvester (Brandel 社製) を用いて 0.1% polyethylenimine にあらかじめ浸した Whatman GF/B filter で吸引濾過することによって反応を停止し, 同時に氷冷緩衝液 3 ml で 3 回洗浄した. 特異的結合は $10\mu\text{M}$ DTG で存在下, 非存在下の差として求めた. $[^3\text{H}]$ haloperidol 結合における各薬剤の薬物阻害実験では, triplicate, duplicate 併用の計 8 濃度で行なった. IC_{50} 値はを用いて非直線性最小二乗法によるコンピューター解析で算出し, Cheng-Prusoff の公式を用いて各薬物の IC_{50} 値から K_i 値を求めた.

3) 使用薬物

$[^3\text{H}]$ haloperidol ($8.9\text{Ci}/\text{mmol}$, $15.04\text{Ci}/\text{mmol}$) は New England Nuclear 社から, (+)-3-PPP と DTG はそれぞれ Research Biochemicals Inc. と東京化成工業から購入した.

結 果

1) $[^3\text{H}]$ haloperidol 結合の特性

$[^3\text{H}]$ haloperidol (3nM) の小脳膜標品に対する結合の一例を示すと, 全結合 (total binding) は 5002dpm であり, 非特異的結合 (non-specific binding) は 1743dpm であった. 非特異的結合の全結合に対する割合は $34.4 \pm 1.3\%$ ($n=9$) と, 比較的高い比率であった. インキュベーション時間による時間経過では, 特異的 $[^3\text{H}]$ haloperidol 結合は 60–90 分で平衡に達した.

次に結合飽和実験を施行したが (Fig. 1), 25nM spiperone 存在下での小脳膜標品に対する特異的 $[^3\text{H}]$ haloperidol 結合は飽和性, 高親和性であり, 結合飽和曲線の Scatchard plot からその結合部位は単一であることが示された ($K_d = 1.96 \pm 1.31\text{nM}$, $B_{\text{max}} = 2.37 \pm 0.27\text{pmol}/\text{mg}$ of protein, $n=8$). 今回求めた K_d 値は, いままで報告された値に近い値であり, 他のリガンドによって求められた haloperidol の解離定数 K_i にも相似する値である. 代表的な σ 作用薬の $[^3\text{H}]$ haloperidol 結合における阻害曲線を Fig. 2-A に示したが, DTG と (+)-3-PPP の K_i 値はそれぞれ 32nM , 93nM であり, pseudo Hill 係数はそれぞれ 0.96 , 0.85 で

あった. DTG, (+)-3-PPP の阻害曲線をコンピューター解析した結果, 単一結合部位モデルに適合した. このような $[^3\text{H}]$ haloperidol 結合の薬理的プロファイルは従来の σ 受容体のものと一致していた.

2) 抗精神病薬の作用

すでに臨床で汎用されている抗精神病薬と新世代の抗精神病薬 29 種について結合阻害実験を行った. 代表的な抗精神病薬の阻害曲線を Fig. 2-B に, 種々の抗精神病薬の解離定数 (K_i 値) を Table 1 に示したが, ほとんどの抗精神病薬が特異的 $[^3\text{H}]$ haloperidol 結合を強く阻害した. まず butyrophenone 系では, haloperidol と bromperidol が最も強い阻害能を示し ($K_i = 1.0$, 0.9nM ; 以下括弧内は K_i 値), moperone

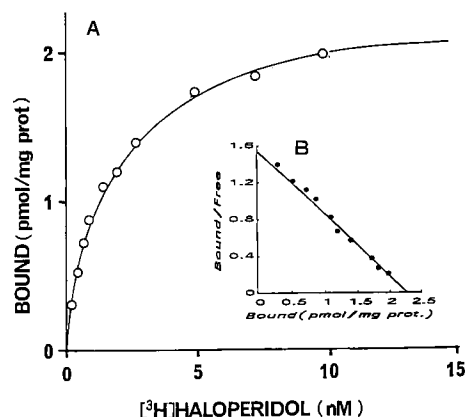


Fig. 1 Saturability of $[^3\text{H}]$ haloperidol binding to rat cerebellar membranes. (A) Representative saturation plot of specific $[^3\text{H}]$ haloperidol binding. Aliquots of brain homogenates were incubated in the presence of 25nM spiperone with various concentrations (0.25 – 9.7nM) of $[^3\text{H}]$ haloperidol for 60 min at 4°C . Non-specific binding was defined by the presence of $10\mu\text{M}$ DTG. Results are from a single typical experiment representing the means of quadruplicate determinations. (B) Scatchard plot of specific $[^3\text{H}]$ haloperidol binding in the same experiment. The apparent K_d and B_{max} values were $1.96 \pm 1.31\text{nM}$ and $2.37 \pm 0.27\text{pmol}/\text{mg}$ of protein ($n=8$).

(2.0nM), reduced haloperidol (4.3nM) の阻害能も強力であった。Phenothiazine 系では perphenazine (21nM) と fluphenazine (23nM) が, iminobenzyl 系の中では Y-516 (44nM) が, diphenylbutylpiperidine 系では penfluridol (34nM) が, benzamide 系のなかでは YM-09151-2 (2.4nM) が, それぞれ強い阻害能を示した。新世代の抗精神病薬である BMY-14802 (82nM) と benzamide 系の remoxipride (84nM) もまたかなり強い親和性を持っていたが, やはり代表的な σ 作用薬である rimcazole (455nM) の親和性はこれら 2 剤に比較するとやや弱かった。一方, sulphiride と clozapine は 10μM でも阻害能を持たなかった。誘導体別にみると butyrophenone 系が高い親和性をもつ傾向を示したが, 他の誘導体にも強い阻害能をもつものがあり, σ 受容体に特異的な誘導体はないと考えられる。

3) カルシウム拮抗剤, 鎮咳剤, 骨格筋弛緩剤の作用

Table 2 に示すように, カルシウム拮抗剤である cinnarizine, flunarizine, hydroxyzine は [3H]haloperidol 結合を強力に阻害した(Ki = 48, 118, 182nM). これらの薬剤の Ki 値は Klein

と Musacchio が報告した [3H] dextromethorphan 結合における Ki 値に近い値であった。抗虚血剤として知られている ifenprodil (13nM) は, すでに報告されているように今回の実験でも高い親和性を示したが, その親和性は既存の σ 作用薬のなかで最も親和性の高いものに相当し, 一群の butyrophenone 系薬剤よりは弱いもののどの phenothiazine 系薬剤よりも強力であった。鎮咳剤である clopeastine (33nM) と carbetapentane (34nM) の親和性も高く, その Ki 値は抗精神病薬のなかでは perphenazine や fluphenazine に匹敵する。また, 骨格筋弛緩薬である eperisone (0.3nM) と tolperisone (0.6 nM) の親和性はとりわけ高く, これらの親和性は今まで最も強力な σ 作用物質として知られていた haloperidol のそれよりもさらに強力であった。しかし, 同じ骨格筋弛緩剤に分類される afloqualone, chlormezanone, tizanidine は 10μM でも [3H] haloperidol 結合を阻害しなかった。

4) 抗うつ剤, 抗コリン剤, 制吐剤, その他の薬剤の作用

すでに報告されているように, 三環系抗うつ剤の imipramine が中等度の親和性を示したが

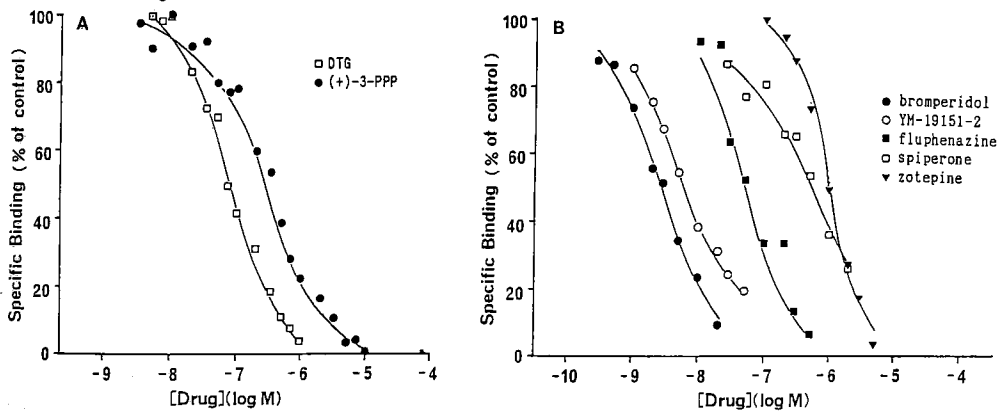


Fig. 2 Examples of inhibition of 3 nM [³H] haloperidol binding in the presence of 25nM spiperone to rat brain membranes by representative σ drugs (A) and several antipsychotics (B). Results represent a single typical experiment and the values are the means of duplicate or triplicate determinations. The computer-fitted curves for the inhibition by DTG and (+)-3-PPP gave the best fit for a one-site model.

($K_i = 167\text{nM}$), amitriptyline も同等の親和性を示した(238nM)。抗コリン性抗パーキンソン

剤はおしなべて高い親和性を示したが、そのなかでは trihexyphenidyl の作用が最も強力であ

Table 1 Potencies and Hill slopes of antipsychotics in inhibiting specific [^3H] haloperidol binding to rat brain membranes. Inhibition experiments were carried out in duplicate and/or triplicate with eight concentration of the tested drugs. Aliquots of rat brain membranes were incubated with 3 nM [^3H] haloperidol in the presence of 25 nM spiperone for 60 min at $4\text{ }^\circ\text{C}$. K_i values were calculated from IC_{50} values according to the Cheng-Prusoff equation, using apparent K_d values of 1.96 nM . Results represent the means \pm standard error for the number of experiments given in parentheses or the values for a single experiment.

Drug	K_i (nM)	pseudo Hill slope
Butyrophenones		
Bromperidol (2)	0.9 ± 0.05	1.08 ± 0.13
Haloperidol (2)	1.0 ± 0.04	1.18 ± 0.11
Moperone (3)	2.0 ± 0.7	1.09 ± 0.07
Reduced-haloperidol	4.3	1.25
Timiperone (2)	39 ± 9	0.77 ± 0.10
Pipamperone (2)	99 ± 27	1.26 ± 0.26
Spiperone	180	0.70
Phenothiazines		
Perphenazine (3)	21 ± 6	1.08 ± 0.11
Fluphenazine (2)	23 ± 3	1.30 ± 0.17
Propericiazine (2)	57 ± 1	1.04 ± 0.12
Chlorpromazine (2)	84 ± 1	1.09 ± 0.07
Prochlorperazine (2)	99 ± 18	0.96 ± 0.04
Thioridazine (2)	382 ± 9	0.98 ± 0.08
Levomepromazine	662 ± 210	0.83 ± 0.05
Benzamides		
YM-09151-2 (2)	2.4 ± 0.06	0.82 ± 0.06
Remoxipride (2)	84 ± 13	0.85 ± 0.04
Sultopride	628	1.44
(+)-Sulpiride	> 30000	
(-)-Sulpiride	> 30000	
Diphenylbutylpiperidines		
Penfluridol	34	1.16
Pimozide (2)	56 ± 43	1.12 ± 0.16
Iminobenzyls		
Y-516 (2)	44 ± 4	1.03 ± 0.03
Carpipramine (4)	153 ± 34	1.05 ± 0.15
Clocapramine (3)	195 ± 88	1.00 ± 0.38
Others		
BMY-14802 (2)	84 ± 13	0.96 ± 0.03
Zotepine (2)	345 ± 69	1.46 ± 0.17
Rimcazole (2)	455 ± 9	0.84 ± 0.01
Risperidone (2)	530 ± 310	1.15 ± 0.07
Oxypertine	1350	1.01
Clozapine	> 20000	

った(45nM). 制吐剤 metoclopramide, domperidone の作用はそれらの薬剤に比較するとやや弱かった. 対照的に, 抗てんかん薬である phenobarbital と phenytoin は100μM でも³H] haloperidol 結合を阻害しなかった (Table 2).

考 察

今回の研究では σ 受容体結合に対する各種薬

剤の阻害能を調べ, 数多くの抗精神病薬, 抗虚血剤, 鎮咳剤, 抗うつ剤, 抗コリン剤その他が σ 受容体に対して高い親和性を示した. このうち, 特に抗精神病薬と抗虚血剤の σ 受容体への特異性は薬理学的に重要な意味を持つものと考えられるため, 以下いくつかの項目に分けて考察する.

Table 2 Potencies and Hill slopes of miscellaneous drugs in inhibiting specific [³H] haloperidol binding to rat brain membranes. Inhibition experiments were carried out as described for table 1. Results represent the means ± standard error for the number of experiments given in parentheses or the values for a single experiment.

Drug	Ki (nM)	pseudo Hill slope
Ca ²⁺ channel blocking agents		
Flunarizine (2)	48±4	1.18±0.08
Cinnarizine (2)	118±19	0.77±0.04
Hydroxyzine (2)	182±22	0.83±0.03
Nicardipine (2)	630±16	0.99±0.07
Verapamil (2)	1590±94	0.77±0.11
Diltiazem	> 100000	
Antitussives		
Carbetapentane (2)	33±12	0.99±0.04
Cloperastine (2)	34±5	1.21±0.14
Dextromethorphan	698	1.00
Antispasmodics		
Eperisone (3)	0.30±0.1	0.86±0.19
Tolperisone (2)	0.61±0.2	0.60±0.08
Afloqualone	> 20000	
Chlormezanone	> 10000	
Tizanidine	> 10000	
Antidepressants		
Imipramine (2)	167±92	0.96±0.17
Amitriptyline (2)	238±104	1.08±0.13
Antiparkinson drugs		
Trihexyphenidyl	45	0.69
Promethazine	158	0.72
Biperiden (2)	164±26	0.78±0.14
Antiemetics		
Metoclopramide	590	0.91
Domperidone	1350	0.94
Others		
Ifenprodil (2)	13±0.3	0.83±0.09
Ritanserin	430	1.01
Phenobarbital	> 100000	
Phenytoin	> 100000	

1) 抗精神病薬の σ 受容体への作用

Haloperidol, perphenazine, fluphenazine, pimozide, spiperone²¹⁾, bromperidol¹⁹⁾, YM-09151-2²⁰⁾, reduced-haloperidol²¹⁾, また rimcazole²²⁾²³⁾などの新しい抗精神病薬については、すでに σ 受容体に高い親和性をもつことが報告されており、今回の結果と非常によく一致している。しかも興味深いことに、上記の薬剤を含めて今回調べた抗精神病薬のほとんどすべてが σ 受容体に対して高い親和性を有していた。このような抗精神病薬の σ 受容体高親和性は臨床的にはどのような意味を持つであろうか。

Steinfels と Tam¹⁰⁾は黒質ドパミン神経細胞の活動を (+)-3-PPP が完全に抑制し、BMY-14802がそれを完全に回復させたことから、 σ 受容体とドパミン作動系の間には相互作用があることを示唆した。 σ 受容体とドパミン D-2 受容体に対する抗精神病薬の親和性はまったく相関せず⁹⁾、この2つの受容体の脳内分布は異なるため、両者は異なった受容体とみなされているが、先の研究は σ 作用薬がドパミン作動系に調節的に作用することを示している¹⁰⁾¹¹⁾。したがって、 σ 受容体に親和性の高い抗精神病薬はドパミン作動系に対して直接作用するばかりでなく、 σ 受容体を介して間接的に作用することも考えられる。 σ 受容体に選択的といわれている新世代の抗精神病薬 Rimcazole²²⁾²³⁾²⁴⁾は行勢薬理学的にはドパミン拮抗薬に類似する作用をもっているが、このような事実も σ 受容体とドパミン作動系の間には密接な関係があることを示している。

このような σ 受容体のドパミン作動系への作用は、 σ 受容体が抗精神病作用に関与する可能性が高いという仮説⁹⁾の根拠ともなっている。 σ 受容体の密度は線条体ではあまり高くなく、海馬などの大脳辺縁系や前頭葉皮質では比較的高い密度で存在する。抗精神病薬が σ 受容体に結合することによってドパミン作動系の活動がさらに抑制されるとすれば、この抑制作用は σ 受容体がより豊富な脳部位であるほど強力であろう。すなわち σ 受容体が比較的低密度の線条体では弱く、比較的高密度に存在する大脳辺縁系では強くなる可能性がある。換言すれば、 σ 受

容体に対する親和性がドパミン受容体に対する親和性に対して相対的に高い抗精神病薬であればあるほど、線条体におけるドパミン作動系の抑制はより低く、精神分裂病の病態により強く関与するといわれている大脳辺縁系の抑制はより高くなることが予想される。これは錐体外路症状の避けられない抗精神病薬の性質にとっては好ましいことである。

今回の研究で調べた抗精神病薬のほとんどが σ 受容体に親和性を示したので、大部分の抗精神病薬は σ 受容体を介して抗精神病作用を発揮するかもしれない。その作用は補完的なものかもしれないが、仮にそうであるとしても σ 受容体に高親和性を示す薬剤の抗精神病作用は理にかなったものと考えられる。ただし、今後 σ 受容体が抗精神病作用に関与するかどうかを探るためには、より選択的で強力な σ 作用薬が開発されるべきであろう。

2) σ 作用薬の構造的特徴

σ 受容体に高親和性を示す薬物の構造的特徴については、Largent ら¹⁹⁾の詳細な研究がある。すなわち、 σ 受容体に結合する薬物に共通した薬理活性部分は phenylpiperidine であるという。Butyrophenone 系の中では haloperidol, bromperidol, moperone, reduced haloperidol が高い阻害能を示したが、これらはすべて piperidine 基と phenyl 基が butyl 基でつながる構造をもっている。また、diphenylbutylpiperidine 系の pimozide と penfluridol にも上記と共通した構造的な特徴があり、両薬剤とも作用が強力である。

今回の研究では、新たな σ 作用薬を見いだすために上記のような構造的特徴をもつ向神経薬を探した結果、phenyl 基と piperidine 基を有する propiophenone 類の eperisone と tolperisone を見だし、これらが σ 受容体に予想以上の高親和性を有することを発見した。さらに、今回の実験で同じく高親和性を示した鎮咳剤の cloperastine や carbetapentane も piperidine 基をもつ propiophenone 類であり、カルシウム拮抗剤 cinnarizine, flunarizine は類似の diphenylpiperazine 類である。すでに σ 受容体への親和性が証明されている ifenprodil²⁵⁾²⁶⁾は

phenylpiperidine に属する。したがって, phenyl 基と piperidine 基あるいは piperazine 基が脂 肪鎖でつながる構造をもつ薬剤が σ 受容体に高 親和性を示すことは明らかであり, このような 化学構造上の特徴を指標にすることは今後の σ 作用薬の開発や発見において非常に有用な方法 であると考えられる。

3) 神経保護作用を有する薬剤について

Flunarizine, cinnarizine が σ 受容体に高い 親和性をもつことは, [^3H] dextromethorphan を用いた Klein と Musacchio²⁷⁾の研究によって 明らかにされ, 今回の研究でも確認された。こ れらの薬剤は diphenylpiperazine 類に属するカル シウム拮抗薬で, in vivo で神経保護作用を有 する²⁸⁾ことがわかっているが, この神経保護作用 の機序は明らかではない。興味深いことに, σ 受 容体に親和性を示した今回の薬剤のなかには他 にも神経保護作用を有する薬剤がある。Ifen prodil²⁹⁾, dextromethorphan, BMY-14802 が それである。特に ifenprodil は局所脳虚血モデル で梗塞巣を減少させ³⁰⁾, dextromethorphan は NMDA 誘発性および低酸素性の神経細胞壊死 を減少させること³¹⁾が見いだされている。

さまざまなタイプの脳虚血によって発生する 神経細胞壊死に興奮性神経伝達物質であるグル タミン酸が関与する³²⁾ことや, 競合的および非競 合的 NMDA アンタゴニストがさまざまな条件 下で誘発される神経細胞壊死を防御する³³⁾³⁴⁾³⁵⁾こ とから, 神経細胞壊死の発生には NMDA 受容 体の関与が推測されている。Ifenprodil は NMDA 受容体を非競合的に阻害する³⁶⁾ことが知られて いるが, それにもかかわらず ifenprodil は NMDA 認識部位やグリシン認識部位に対して阻害作用 を示さず, イオンチャンネル部位に対する阻害 作用もそれほど強力ではない。一方, 同じ抗虚 血作用をもつ dextromethorphan についても NMDA 受容体に非競合的に拮抗する³⁷⁾ことが明 らかにされたが, このような両者の性質は酷似 しているように思われる。つまり, ifenprodil も dextromethorphan もともに NMDA 受容体の 作用部位に対して直接作用しないにもかかわらず, NMDA 受容体の機能に対して強い影響を与 える。

最近 ifenprodil が σ 受容体に対して強力に 作用することが見いだされ²⁵⁾²⁶⁾, 今回の実験でも 同様の結果を得たが, Karbon ら²⁵⁾は ifenprodil の神経保護作用は σ 受容体を介して起こること, σ 受容体と NMDA 受容体には機能的な関連が あることを推察している。 [^3H]ifenprodil がラ ット脳膜標品に対して高親和性に単一に結合す るという事実³⁸⁾や σ 受容体が NMDA 誘発性 の神経細胞興奮を調節すること¹⁴⁾を考え合わせると, このような推論は非常に有力であると考え られる。

以上のことは次の5点に要約できる。1) Ifenprodil と dextromethorphan はともに神経細胞 保護作用を有する。2) Ifenprodil と dex tromethorphan はともに神経細胞壊死への関与 が推測される NMDA 受容体に作用するが, そ の作用機序は従来の競合的及び非競合的 NMDA 拮抗薬とは異なっている。3) Ifenprodil と dextromethorphan はともに σ 受容体に強力な阻害作用をもっている。4) σ 受容体と NMDA 受容体との間の相互作用を示唆する研究が数多 く見られる。5) Ifenprodil や dextromethorphan 以外にも, diphenylpiperazine 系カルシウム拮抗剤や BMY-14802 のような神経保護作用を有する薬剤が共通して σ 受容体に対して強力な阻害作用をもっている。

今回の研究では, 神経保護作用を有するいく つかの薬剤に共通する性質, すなわち σ 受容体 に対する高親和性を明らかにしたわけであり, σ 作用薬が σ 受容体を介して NMDA 受容体 の働きを調節し神経細胞保護作用を発揮する可 能性のあることを改めて強く示唆している。

4) 鎮咳剤について

Klein と Musacchio²⁷⁾は, dextromethorphan が σ 作用薬と少なくとも1つの共通した部位に 作用すると述べている。今回の結果でも鎮咳剤 carbetapentane, cloperastine, dextromethorphan が [^3H] haloperidol 結合を強く阻害した ので, 上記の仮説は有力であると考えられる。 加えて, 鎮咳剤の作用の少なくとも一部分は σ 受容体を介する可能性があること Klein らは結論 しているが, 現状ではこの問題について薬理学 的もしくは生理学的な裏付けは得られていない

ので、 σ 受容体と鎮咳作用の関係を断定することはできないように思われる。ただし、dextromethorphan は全身投与においても脳虚血による神経細胞障害を防止するので、血液脳関門の通過性そのものには疑問はない。今後代表的な σ 作用薬の鎮咳作用が検討されれば、中枢神経系での鎮咳剤の作用における σ 受容体の役割はさらに明確にされるであろう。

4) Eperisone と tolperisone の作用

骨格筋弛緩剤として用いられている eperisone と tolperidone は今回調べた薬剤のなかでは最も強い親和性を示したが、同じ骨格筋弛緩剤である afloqualone や chlormezanone, tizanidine は阻害能を示さず、両者の σ 受容体に対する作用は明らかに解離しているため、これらの骨格筋弛緩作用に対して σ 受容体が関与する可能性は少ないと思われる。

今回の研究で σ 受容体に高い親和性を示した薬剤の中には、cinnarizine, flunarizine, hydroxyzine などの diphenylpiperidine 類や pimozide など、カルシウム拮抗作用をもつ薬剤がいくつか含まれているが、eperisone と tolperisone にもカルシウム拮抗作用が報告されており³⁹⁾、このカルシウム拮抗作用が一部の σ 作用薬との唯一の共通点と思われる。しかし diltiazem のように σ 受容体に結合しないカルシウム拮抗剤も存在するので、今回の結果からカルシウム拮抗作用と σ 受容体の間を明確に関係づけることはできない。Eperisone と tolperisone の薬理作用そのものが詳細にわかっていない現状では、eperisone と tolperisone の σ 受容体への作用がどのような意味をもつものかはまったく不明といえる。しかし、eperisone の受容体結合性で唯一報告されていた抗コリン性作用⁴⁰⁾に比べて σ 受容体への作用ははるかに強力であることや、eperisone の脊髄前角への作用から推して中枢移行性は十分であることから、eperisone が他の σ 作用薬と同等の作用をもつ可能性も十分にあると思われる。

7) σ 作用薬の薬理作用

われわれは今回の研究で、臨床的にはまったく異なった種類に属する多くの薬剤が共通して σ 受容体阻害能を有していることを明らかにし、

σ 受容体が抗精神病作用ばかりではなく神経細胞保護作用にも関与する可能性のあることを指摘した。ただし、これには多くの疑問も残されている。たとえば、最も強力な作用を示した eperisone と tolperisone の抗精神病作用や神経保護作用は知られていないし、反対に抗精神病薬の神経細胞保護作用についても知られていない。しかし、臨床で使用されている個々の薬剤について、すべての薬理作用が明らかにされていることもまた稀であり、現時点で eperisone の抗精神病作用や抗精神病薬の神経細胞保護作用を完全に否定することはできない。むしろ今回の結果は、例えば eperisone の未知の治療作用が発見される端緒ともなりうると考えられる。

結 論

ラット脳膜標品を用いて、 σ 受容体に対する各種薬剤の薬理学的特異性を調べた。29種の抗精神病薬のほとんどが特異的 [³H] haloperidol 結合に対して強い阻害能を示し、その他27種の薬剤のなかでは ifenprodil, flunarizine, dextromethorphan などいくつかの抗虚血剤や鎮咳剤がとくに強い阻害能を示した。その結果、 σ 作用薬にとって phenyl 基と piperazine 基はともに σ 受容体に高親和性であるための重要な部分であることが再確認された一方、 σ 受容体は抗精神病作用ばかりでなく、NMDA 受容体への調節作用を介して抗虚血作用に強く関与する可能性のあることが示唆された。

この稿を終えるに臨み、御指導ならびに御校閲戴きました岡山大学医学部精神医学教室大月三郎教授に深謝いたします。本研究の遂行に当たって終始懇切な御指導を戴きました原田俊樹助手、折りにふれ丁寧な御助言を戴きました秋山一文助手、藤原 豊助手、氏家 寛助手、また貴重な薬剤を御提供下さった以下の製薬会社の方々に心より御礼申し上げます。吉富製薬 (haloperidol, bromperidol, perphenazine, fluphenazine, chlorpromazine, propericazine, levomepromazine, clozapramine, caripramine, Y-516, promethazine, cloperastine)、山之内製薬 (moperone, YM-09151-2, nicardipine)、エーザイ (spiperone, pipamperone, cin-

narizine, verapamil, eperisone), 第一製薬 (timiperone, oxypertine, chlormezanone), 藤沢薬品工業 (pimozide, sulpiride, zotepine, metoclopramide), 塩野義製薬 (prochlorperazine, dextromethorphan), 三共 (thioridazine), 大日本製薬 (sultopride, biperiden), Brintol-Myers 社 (BMY-14802), Astra 社 (remoxipride), Burroughs Welcome 社 (rimcazole), 協和発酵工業 (risperidone, flunarizine, domperidone), 台糖ファイザ

ー (hydroxyzine), 田辺製薬 (diltiazem, afloqualone), 住友製薬 (carbetapentane), 日本化薬 (tolperisone), サンド薬品 (tizanidine), 日本チバガイギー (imipramine), 萬有製薬 (amitriptyline), 日本レダグリー (trihexyphenidyl), フナイ薬品工業 (ifenprodil).

なお、本論文の要旨は第17回国際神経精神薬理学会 (京都市, 1990) および第20回日本神経精神薬理学会 (甲府市, 1990) にて発表した。

文 献

- 1) Martin WR, Eades CG, Thompson JA, et al.: The effects of morphine and nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J Pharmacol Exp Ther* (1976) **197**, 517-532.
- 2) Su TP: Evidence for sigma opioid receptor: Binding of [³H] SKF-10047 to etorphin-inaccessible sites in guinea-pig brain. *J Pharmacol Exp Ther* (1982) **223**, 284-290.
- 3) Tam SW and Cook L: σ opiates and certain antipsychotic drugs mutually inhibit (+)- [³H] haloperidol binding in guinea pig brain membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* (1984) **81**, 5618-5621.
- 4) Largent BL, Gundlach AL and Snyder SH: Psychotomimetic opiate receptors labeled and visualized with (+)- [³H]- (3-hydroxyphenyl)-N-(1-propyl)piperidine. *Proc Natl Acad Sci USA* (1984) **81**, 4983-4987.
- 5) Weissman AD, Su TP, Hedreen JC, et al.: Sigma receptors in post-mortem human brains. *J Pharmacol Exp Ther* (1988) **247**, 29-33.
- 6) Wolfe SA, Kuisakdinun C, Battaglia G, et al.: Initial identification and characterization of sigma receptors on human peripheral blood leukocytes. *J Pharmacol Exp Ther* (1988) **247**, 1114-1119.
- 7) Weber E, Sonders M and Quarum M: 1, 3-Di(2-[5-³H] tolyl)guanidine: A selective ligand that labels σ -type receptors for psychotomimetic opiates and antipsychotic drugs. *Proc Natl Acad Sci USA* (1986) **63**, 8784-8788.
- 8) Chouinard G and Annable L: An early phase II clinical trial of BW234U in the treatment of acute schizophrenia in newly admitted patients. *Psychopharmacol* (1984) **84**, 282-284.
- 9) Snyder SH and Largent BL: Receptor mechanisms in antipsychotic drug action: focus on sigma receptors. *J Neuropsychiatry* (1989) **1**, 7-15.
- 10) Steinfels GF and Tam SW: Selective σ receptor agonist and antagonist affect dopamine neuronal activity. *Eur J Pharmacol* (1989) **163**, 167-170.
- 11) Freeman AS and Bunney BS: The effects of phencyclidine and N-allylnormetazocine on midbrain dopamine neuronal activity. *Eur J Pharmacol* (1984) **104**, 287-293.
- 12) Bowen WD, Kirschner BN, Newman AH, et al.: σ receptors negatively modulate agonist-stimulated phosphoinositide metabolism in rat brain. *Eur J Pharmacol* (1988) **149**, 399-400.
- 13) Campbell BG, Bobker DH, Leslie FM, Mefford IN and Weber E: Both the σ receptor-specific ligand (+)-3-PPP and the PCP receptor-specific ligand TCP act in the mouse vas deferens via augmentation of electrically evoked norepinephrine release. *Eur J Pharmacol* (1987) **138**, 447-449.
- 14) Monnet FP, Debonnel G, Junien JL and Montigny CD: N-methyl-D-aspartate-induced neuronal

- activation is selectively modulated by σ receptors. *Eur J Pharmacol* (1990) **179**, 441–445.
- 15) Walker JM, Matsumoto RR, Bowen WD, et al. : Evidence for a role of haloperidol-sensitive σ -‘opiate’ receptors in the motor effects of antipsychotic drugs. *Neurology* (1988) **38**, 961–965.
 - 16) Gundlach AL, Largent BL and Snyder SH : Autoradiographic localization of sigma receptor binding sites in guinea pig and rat central nervous system with (+)- ^3H -3-(3-hydroxyphenyl)-*N*-(1-propyl) piperidine. *J Neurosci* (1986) **6**, 1757–1770.
 - 17) Largent BL, Gundlach L and Snyder SH : Pharmacological and autoradiographic discrimination of sigma and phencyclidine receptor binding sites in brain with (+)- [^3H] SKF10,047, (+)- [^3H] -3-[3-hydroxyphenyl]-*N*-(1-propyl) piperidine and [^3H] -1-[1-(2-thienyl) cyclohexyl] piperidine. *J Pharmacol Exp Ther* (1986) **238**, 739–748.
 - 18) Samovilova NN, Nagornaya LV and Vinogradov VA : (+)- [^3H] SK&F10,047 binding sites in rat liver. *Eur J Pharmacol* (1988) **147**, 259–264.
 - 19) Largent BL, Wikström H, Gundlach L, et al. : Structural determinants of σ receptor affinity. *Mol Pharmacol* (1987) **32**, 772–784.
 - 20) Terai M, Hidaka K and Nakamura Y : Comparison of [^3H] YM-09151-2 with [^3H] raclopride for dopamine D-2 receptor binding to rat striatum. *Eur J Pharmacol* (1989) **173**, 177–182
 - 21) Bowen WD, Moses EL, Tolentino PJ, et al. : Metabolites of haloperidol display preferential activity at σ receptors compared to dopamine D-2 receptors. *Eur J Pharmacol* (1990) **177**, 111–118.
 - 22) Ferris RM, Tang FLM, Chang KJ et al. : Evidence that the potential antipsychotic agent rimazole (BW 234U) is a specific, competitive antagonist of sigma sites in brain. *Life Sci* (1986) **38**, 2329–2337.
 - 23) Largent BL, Wikström H, Snowman AM, et al. : Novel antipsychotic drugs share high affinity for σ receptors. *Eur J Pharmacol* (1988) **155**, 345–347.
 - 24) Ceci A, Smith M and French ED : Activation of the A10 mesolimbic system by the σ -receptor agonist (+) SKF10,047 can be blocked by rimazole, a novel putative antipsychotic. *Eur J Pharmacol* (1988) **154**, 53–57.
 - 25) Karbon EW, Patch RJ, Pontecorvo MJ and Ferkany JW : Ifenprodil potently interacts with [^3H] (+)-3-PPP-labeled σ binding sites in guinea pig brain membranes. *Eur J Pharmacol* (1990) **176**, 247–248.
 - 26) Contreras PC, Bremer ME and Gray NM : Ifenprodil and SL82.0715 potently inhibit binding of [^3H] (+)-3-PPP to σ binding sites in rat brain. *Neurosci Lett* (1990) **116**, 190–193.
 - 27) Klein M and Musacchio JM : High affinity dextromethorphan binding sites in guinea pig brain. Effect of sigma ligands and other agents. *J Pharmacol Exp Ther* (1989) **251**, 207–215.
 - 28) Rich KM and Hollowell JP : Flunarizine protects neurons from death after axotomy or NGF deprivation. *Science* (1990) **248**, 1419–1421.
 - 29) Carter CJ, Lloyd KG, Zivkovic B and Scatton B : Ifenprodil and SL82.0715 as cerebral antiischemic agents. III. Evidence for antagonistic effects at the polyamine modulatory site within the *N*-methyl-D-aspartate receptor complex. *J Pharmacol Exp Ther* (1990) **253**, 475–482.
 - 30) Gotti B, Duverger D, Bertin J et al. : Ifenprodil and SL82.0715 as cerebral anti-ischemic agents. I. Evidence for efficacy in models of focal cerebral ischemia. *J Pharmacol Exp Ther* (1988) **247**, 1211–1221.
 - 31) Prince DA and Feeser HR : Dextromethorphan protects against cerebral infarction in a rat model of hypoxia-ischemia. *Neurosci Lett* (1988) **85**, 291–296.

- 32) Olney JW and Sharpe LG : Brain lesions in an infant rhesus monkey treated with monosodium glutamate. *Science* (1969) **166**, 386—388.
- 33) Goldberg MP, Weiss JH, Phoung-Chi P and Choi DW : *N*-methyl-*D*-aspartate receptors mediate hypoxic neuronal injury in cortical culture. *J Pharmacol Exp Ther* (1987) **243**, 784—791.
- 34) Choi DW, Koh JY and Peters S : Pharmacology of glutamate neurotoxicity in cortical cell culture : Attenuation by NMDA antagonists. *J Neurosci* (1988) **8**, 185—196.
- 35) Gill R, Foster AC and Woodruff GN : Systemic administration of MK-801 protects against ischemia-induced hippocampal neurodegeneration in the gerbil. *J Neurosci* (1987) **7**, 3343—3349.
- 36) Carter C, Benavides J, Legendre P et al. : Ifenprodil and SL82.0715 as cerebral anti-ischemic agents. I. Evidence for *N*-methyl-*D*-aspartate receptor antagonist properties. *J Pharmacol Exp Ther* (1988) **247**, 1222—1232.
- 37) Wong BY, Coulter DA, Choi DW and Prince DA : Dextrorphan and dextromethorphan, common antitussives, are antiepileptic and antagonize *N*-methyl-*D* aspartate in brain slice. *Neurosci Lett* (1988) **85**, 261—266.
- 38) Schoemaker H, Allen J and Langer SZ : Binding of [³H] ifenprodil, a novel NMDA antagonist, to a polyamine-sensitive in the rat cerebral cortex. *Eur J Pharmacol* (1990) **176**, 249—250.
- 39) Novales-Li P, Sun XP and Takeuchi H : Suppression of calcium current in a snail neurone by eperisone and its analogues. *Eur J Pharmacol* (1989) **168**, 299—305.
- 40) Ogawa N, Nukina I, Takayama H and Ota Z : Antagonistic property of eperisone in muscarinic cholinergic receptor binding assays. *Neurosci* (1985) **11**, 33—36.

**Pharmacological specificity of antipsychotic, antiischemic and some other
drugs for σ receptors labeled with [^3H] haloperidol**

Yoshifumi ZUSHI

**Department of Neuropsychiatry,
Okayama University Medical School,
Okayama 700, Japan
(Director : Prof. S. Otsuki)**

Pharmacological specificity of several classes of drugs such as antipsychotics and antiischemic agents was assessed for σ receptors labeled with [^3H] haloperidol. Specific binding of [^3H] haloperidol in the presence of 25 nM spiperone was saturable and of high affinity ($K_d = 1.96 \pm 1.31$ nM, $B_{\text{max}} = 2.37 \pm 0.27$ pmol/mg of protein; $n=8$). Among the 29 antipsychotics tested in inhibition studies, bromperidol and haloperidol were the most potent inhibitors ($K_i = 0.9$ nM, 1.0 nM, respectively). The conventional antipsychotics moperone, timiperone etc. and the novel promising drugs YM-09151, Y-516, BMY-14802 and remoxipride potently inhibited [^3H] haloperidol binding with the K_i in the range of low to moderate nanomolar. On the other hand, among the other 27 drugs tested, the antispasmodics eperisone and tolperisone, the antiischemic agents ifenprodil, the Ca^{2+} antagonist flunarizine and cinnarizine, and the antitussives carbetapentane, cloperastine and dextromethorphan, were especially potent inhibitors. These results, taken together with the evidence that the antiischemic agents ifenprodil and dextromethorphan antagonize NMDA responses and NMDA receptor complex is a possible site of action for neuroprotective agents, strongly suggest that σ receptors may be potential sites of action for antiischemic as well as antipsychotic drugs, i. e., σ receptors mediate the neuroprotective effects of certain antiischemic agents by affecting the NMDA receptor complex.