

# Effect of Clomipramine on the Concentrations of Catecholamines, Indoleamines and their metabolites in 11 Rat Brainp Regions

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8148">http://hdl.handle.net/2297/8148</a>

## クロミプラミンのカテコールアミン, インドールアミンの濃度に及ぼす影響—ラット脳11部位での検討—

金沢大学医学部神経精神医学講座 (主任: 山口成良教授)

長谷川 充

(平成元年10月16日受付)

クロミプラミン (clomipramine, CMP) の norepinephrine (NE), dopamine (DA), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanillic acid (HVA), 3-methoxytyramine (3MT), tryptophan (TRP), 5-hydroxytryptamine (5HT), 5-hydroxyindole-3-acetic acid (5HIAA) の脳内濃度に及ぼす急性・慢性の作用をラット脳11部位で検討した。CMP の血漿内濃度は急性投与群で 257ng/ml, 慢性投与群で 35ng/ml であった。CMP の急性投与 (15mg/kg) は全部位で 5HIAA の濃度を減少させ, TRP, 5HT, NE, DA 及びその代謝産物の濃度は変化させなかった。この結果は CMP の急性作用は全部位で 5HT 系の代謝を抑制し, カテコールアミンの代謝には影響しないことを示した。14日間 CMP の血漿内濃度を定常状態に保つ浸透圧ミニポンプを用いた慢性投与 (10mg/kg) は中脳での DA, 5HT, 5HIAA の濃度を減少させ, 海馬の DA 濃度を増加させた。慢性処置を行ったラットにさらに CMP (15mg/kg) の急性投与を行いその作用についても調べた。慢性対照群と比較すると慢性処置後の急性投与により視床下部, 扁桃核での NE の増加, 基底核での DA, DOPAC, HVA の増加が認められた。一方慢性処置後の急性投与により基底核, 前大脳皮質, 視床下部, 小脳, 橋+延髄, 中脳の 5HIAA の濃度は減少しなかった。慢性投与群におけるこれらの変化は CMP の慢性効果は 5HT 系だけではなく NE 系, DA 系にも影響する事を示した。この結果は CMP の薬理作用の発現部位と CMP の脳内分布の間に関連がないことを示唆した。

---

**Key words** catecholamine, clomipramine, indoleamine, minipump, regional brain distribution

---

うつ病の病因に関する生物学的研究が降圧薬レセルピンのうつ病誘発作用の発見以後さかんに行われてきた。当初はレセルピンのもつアミン溜渇作用よりカテコールアミンおよびインドールアミンの欠乏が臨床的な抑うつ状態の出現と関係がある<sup>1)</sup>と考えられた。うつ病の治療薬として1957年に Kuhn<sup>2)</sup>が三環系抗うつ薬イミプラミンの有効性を報告して以来様々な抗うつ薬が登場してきたが, それら抗うつ薬の作用機序の研究からモノアミン欠乏仮説だけでは説明困難な事実も多く報告され<sup>3)</sup>, 受容体の感受性亢進やアミンの相互

作用をくみ入れた形でうつ病のモノアミン仮説は大きく変遷してきている<sup>4)</sup>。また近年ではセカンドメッセンジャー不均衡仮説<sup>5)</sup>も唱えられている。したがって抗うつ薬の作用機序の更なる解明はうつ病の病因に関する生物学的研究のなかで特に重要なものと考えられる。

三環系抗うつ薬のうちクロミプラミン (clomipramine, CMP) は全脳でインドールアミン代謝を抑制し<sup>6)</sup>, そのラットにおける脳内の分布は不均一である事が報告<sup>7)</sup>されている。そこで著者は抗うつ薬の作用

---

Abbreviations: AMT, amitriptyline; CMP, clomipramine; DA, dopamine; DMCMP, desmethylclomipramine; DOPAC, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid; HVA, homovanillic acid; 5HIAA, 5-hydroxyindole-3-acetic acid; 5HT, 5-hydroxytryptamine; 3MT, 3-methoxytyramine; NE, norepinephrine; TRP, tryptophan

機序を脳の機能解剖学的立場から研究する目的で CMP のカテコールアミン、インドールアミン代謝への作用をラット脳11部位で検討し、特に臨床的抗うつ効果と関連する慢性投与で興味深い所見を得たのでここに報告する。

## 対象および方法

### I. 試薬

クロミプラミン (clomipramine, CMP), デスマチルクロミプラミン (desmethyloclopramine, DMCMP) は Ciba-Geigy 社 (宝塚) より, アミトリプチリン (amitriptyline, AMT) は 萬有社 (東京) より提供をうけた。

Homovanillic acid (HVA), 3-methoxytyramine (3MT), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), 5-hydroxytryptamine (5HT), 5-hydroxyindole-3-acetic acid (5HIAA) は Sigma 社 (U. S. A.), norepinephrine (NE) bitartrate, dopamine (DA) hydrochloride, L-tryptophan (TRP) は和光純薬工業 (大阪) より購入した。他の試薬は特級ないし高速液体クロマトグラフィー用を用いた。

### II. 薬物投与方法

対象は Wistar 系雄性ラット, 体重 220-275g である。午前 9 時より午後 8 時 30 分点灯の明暗サイクルで飼育した。なお動物は前日午後 5 時より絶食させ、翌日午前 9 時 30 分より 10 時の間に実験を開始した。

#### 1. 無処置群

本実験ではラットを屠殺するためにマイクロ波照射装置を使用した。この装置による脳内カテコールアミン、インドールアミン濃度の死後変化抑制効果を検討するためにマイクロ波を照射しない断頭処理との比較をおこなった。全く薬物を投与せずにマイクロ波照射後に断頭処理をおこないマイクロ波照射群 (n=6) とし、対照群 (n=6) はマイクロ波照射をおこなわず断頭処理をした。

#### 2. 急性投与群

CMP の脳内カテコールアミン、インドールアミン濃度への急性効果を検討するために CMP 15mg/kg を皮下投与し、2 時間後に断頭・採血処理を行い急性 CMP 群 (n=10) とした。対照群 (n=10) には生理食塩水を皮下投与した後に同様の処理を行った。

#### 3. 慢性投与群

CMP 10mg/kg をミニ浸透圧ポンプ 2ML2 型 (alzet 社, U. S. A.) を用いて 14 日間連続投与し、15 日目に断頭・採血処理を行い慢性 CMP 群 (n=11) とした。対照群 (n=9) には生理食塩水を用い同様の処理を

行った。また CMP 10mg/kg をミニ浸透圧ポンプで 14 日間連続投与後、15 日目に CMP 10mg/kg を皮下投与し 2 時間後に断頭・採血処理を行った慢性+急性処置群 (n=10) を作成した。ミニ浸透圧ポンプ埋め込みは各ラットにジエチルエーテル麻酔下で背部よりの皮膚切開を行い、皮下にポンプを留置する手技<sup>7)</sup> で実施した。

### III. 断頭・採血処理および脳の分割方法

各群ともにマイクロ波照射装置は NJE2603-10kw 型 (新日本無線, 東京) を使用して屠殺した。照射出力は 9 kw, 照射時間は急性投与群, 無処置群で 1 秒, 慢性投与群で 1.15 秒とした。屠殺後、ただちに心臓より CMP 血漿濃度測定のための採血を行った後、断頭し全脳を取出し Kurata ら<sup>8)</sup> の方法に従って以下の部位に分割した。すなわち嗅球+中隔, 基底核, 前大脳皮質, 視床下部, 視床, 小脳, 橋+延髄, 中脳, 海馬, 扁桃核, 後大脳皮質の 11 部位である。分割した脳試料は測定時まで -80°C で保存した。

### IV. 測定法

#### 1. CMP, DMCMP の測定

Preskorn ら<sup>9)</sup> の方法を若干変更した高速液体クロマトグラフィー法<sup>10)</sup> を用いた。ラット血清 0.2-0.4 ml に 1 N 水酸化ナトリウムを 0.5 ml, および内部標準 AMT200mg 含有の n-ヘプタン/イソアミルアルコール (99:1) を 5.0 ml 加え, 30 分間振とう後, 冷却遠心 (3000rpm, 20 分間) を行った。上層の有機層に 0.05 N 塩酸を 0.1 ml 加え, 15 分間振とうし冷却遠心 (3000rpm, 20 分間) 後の下層 (水層) 10-50 μl を測定用の試料とした。

高速液体クロマトグラフは送液ユニット 6000A 型 (Waters, U. S. A.) に SIL-6A システムコントローラ (島津, 京都) を接続し, カラムは TSK-gel ODS-80TM (東ソー, 東京) を用いた。検出は 440 nm 固定波長式紫外線吸収計 (Waters, U. S. A.) で行った。

移動相はトリエチルアミン緩衝液 (PH 3.0) とアセトニトリルを 5:3 の比率で混合して用いて, 毎分 1.0 ml の流速にて測定を行った。

#### 2. カテコールアミン, インドールアミンおよびそれらの代謝産物の測定

Kurata ら<sup>11)</sup> の方法を若干変更した高速液体クロマトグラフィー法を用いた。脳試料を 9 倍量の 0.1 M 過塩素酸溶液を加え, ハンディーマイクロホモジナイザー NS-310E (日音理科器械製作所, 千葉) にてホモジナイズした後, 冷却遠心 (15000rpm, 30 分間) 後の上清 (50 μl) を測定用の試料とした。

高速液体クロマトグラフは送液ユニット LC-6A (島津) に SIL-6A システムコントローラ (島津) を接続し、カラムは TSK-gel ODS-80TM (東ソー) を用いた。検出器は電気化学検出器 5100 型 (ESA, U. S. A.) と蛍光検出器 RF-510LCA (島津) の 2 種類を連結して用い、後者は TRP 測定に用いた。電気化学検出器はコンディショニングセル (5021 型) と高感度セル (5011 型) よりなり、高感度セルはさらに 2 つの電極 (T1, T2) で構成されている。それぞれの設定電圧はコンディショニングセルを +0.55Volt, T1 を -0.02 Volt, T2 を -0.42Volt とした。蛍光検出器の励起波長は 285nm, 測定波長は 345nm に設定した。

移動相は 8% 有機溶媒 (アセトニトリル: メタノール = 2:1), エチレンジアミン 4 酢酸 2 ナトリウム 40mg, ヘプタンスルホン酸ナトリウム 400mg を含む 0.1M クエン酸緩衝液 (PH 4.5) を用いて、毎分 0.9ml の流速にて測定を行った。

#### V. 統計処理

脳内各部位のカテコールアミン、インドールアミンとそれらの代謝産物の濃度の各群間の比較は、急性投

与群、無処置群では Student's t-test を用いた。慢性投与群では対照群、慢性 CMP 群、慢性+急性処置群間の比較は一元配置分散分析を行い、有意差を認めた場合 Scheffé の多重比較法を用い危険率 5% 以下を有意とした。

## 成 績

### I. CMP, DMCMP の血漿内濃度について

CMP 血漿内濃度は急性 CMP 群では  $257 \pm 77$  ng/ml (mean  $\pm$  S.D., n=10), 慢性 CMP 群では  $35 \pm 8$  ng/ml (n=11), 慢性+急性処置群では  $251 \pm 94$  ng/ml (n=10) をそれぞれ示した。なお CMP の活性代謝産物である DMCMP はいずれの群においても検出できなかった。

### II. マイクロ波照射の効果についての検討

表 1 にマイクロ波照射群と対照群のカテコールアミン、インドールアミン及びそれらの代謝産物の濃度を示す。マイクロ波照射群を対照群と比較すると NE, 5HT は全部位で、DA は基底核、中脳以外の 9 部位で有意に増加しており、一方 DOPAC は基底核、前大脳

Table 1. Effect of microwave irradiation on the concentrations of catecholamines, indoleamines and their metabolites in 11 rat brain regions

	NE	DA	DOPAC	HVA	3MT	TRP	5HT	5HIAA
<b>Bulbus olfactorius + septum</b>								
Control	261 $\pm$ 29	85 $\pm$ 39	77 $\pm$ 26	88 $\pm$ 27	23 $\pm$ 9	7,430 $\pm$ 1,630	193 $\pm$ 17	345 $\pm$ 57
MWR	463 $\pm$ 88**	815 $\pm$ 235**	133 $\pm$ 69	95 $\pm$ 5	ND	6,430 $\pm$ 1,230	493 $\pm$ 89**	254 $\pm$ 43*
<b>Basal ganglia</b>								
Control	254 $\pm$ 45	3,293 $\pm$ 339	1,040 $\pm$ 253	520 $\pm$ 82	291 $\pm$ 42	7,550 $\pm$ 2,440	272 $\pm$ 50	874 $\pm$ 169
MWR	395 $\pm$ 45**	3,147 $\pm$ 828	273 $\pm$ 86**	320 $\pm$ 95	ND	6,220 $\pm$ 1,170	689 $\pm$ 101**	561 $\pm$ 75*
<b>Frontal cortex</b>								
Control	270 $\pm$ 24	352 $\pm$ 20	327 $\pm$ 67	178 $\pm$ 47	60 $\pm$ 18	6,460 $\pm$ 1,690	272 $\pm$ 33	557 $\pm$ 101
MWR	338 $\pm$ 33**	529 $\pm$ 60**	158 $\pm$ 39**	188 $\pm$ 37	ND	5,090 $\pm$ 1,320	669 $\pm$ 50**	317 $\pm$ 44**
<b>Hypothalamus</b>								
Control	388 $\pm$ 84	300 $\pm$ 66	184 $\pm$ 43	85 $\pm$ 17	38 $\pm$ 11	8,040 $\pm$ 1,660	540 $\pm$ 68	994 $\pm$ 131
MWR	963 $\pm$ 111**	698 $\pm$ 178**	120 $\pm$ 13*	113 $\pm$ 18	ND	6,390 $\pm$ 860	906 $\pm$ 55**	672 $\pm$ 74**
<b>Thalamus</b>								
Control	397 $\pm$ 73	42 $\pm$ 18	47 $\pm$ 20	ND	ND	7,710 $\pm$ 1,430	270 $\pm$ 42	925 $\pm$ 165
MWR	587 $\pm$ 90**	916 $\pm$ 202**	89 $\pm$ 34	ND	ND	6,260 $\pm$ 1,050	703 $\pm$ 103**	635 $\pm$ 75**
<b>Cerebellum</b>								
Control	218 $\pm$ 30	9 $\pm$ 5	15 $\pm$ 9	ND	ND	7,100 $\pm$ 767	51 $\pm$ 21	172 $\pm$ 43
MWR	325 $\pm$ 57**	19 $\pm$ 2**	12 $\pm$ 2	ND	ND	6,170 $\pm$ 1,200	362 $\pm$ 77**	188 $\pm$ 54
<b>Pons + medulla oblongata</b>								
Control	331 $\pm$ 44	45 $\pm$ 9	53 $\pm$ 15	39 $\pm$ 9	ND	8,450 $\pm$ 1,590	395 $\pm$ 129	882 $\pm$ 154
MWR	503 $\pm$ 41**	70 $\pm$ 12**	33 $\pm$ 6*	59 $\pm$ 23	ND	6,490 $\pm$ 1,740	794 $\pm$ 67**	695 $\pm$ 95
<b>Mesencephalon</b>								
Control	309 $\pm$ 76	115 $\pm$ 24	127 $\pm$ 35	63 $\pm$ 33	ND	7,950 $\pm$ 1,410	594 $\pm$ 168	1,470 $\pm$ 403
MWR	457 $\pm$ 60**	138 $\pm$ 31	37 $\pm$ 8*	70 $\pm$ 37	ND	6,210 $\pm$ 1,190	1,330 $\pm$ 165**	814 $\pm$ 57*
<b>Amygdala</b>								
Control	296 $\pm$ 46	138 $\pm$ 31	130 $\pm$ 37	95 $\pm$ 23	36 $\pm$ 5	8,180 $\pm$ 743	400 $\pm$ 111	890 $\pm$ 115
MWR	419 $\pm$ 46**	590 $\pm$ 133**	79 $\pm$ 24*	106 $\pm$ 12	ND	7,000 $\pm$ 939	865 $\pm$ 152**	425 $\pm$ 77**
<b>Hippocampus</b>								
Control	204 $\pm$ 11	6 $\pm$ 3	22 $\pm$ 3	ND	ND	8,160 $\pm$ 620	166 $\pm$ 20	639 $\pm$ 144
MWR	352 $\pm$ 76**	206 $\pm$ 93**	26 $\pm$ 5	ND	ND	7,360 $\pm$ 686	666 $\pm$ 92**	455 $\pm$ 69*
<b>Occipital cortex</b>								
Control	204 $\pm$ 23	146 $\pm$ 26	54 $\pm$ 10	41 $\pm$ 11	ND	6,940 $\pm$ 442	134 $\pm$ 24	370 $\pm$ 55
MWR	281 $\pm$ 33**	304 $\pm$ 85*	39 $\pm$ 9	45 $\pm$ 14	21 $\pm$ 6	5,550 $\pm$ 1,090	632 $\pm$ 44**	260 $\pm$ 24*

Values are expressed as ng/g tissue. Results are mean  $\pm$  SD obtained from 6 rats. Significant differences from control group: \*p<0.05, \*\*p<0.01. Comparisons by Student's t-test. MWR=microwave irradiation ND=not detectable

皮質、視床下部、視床、橋+延髄、中脳、扁桃核で、5HIAA は小脳、橋+延髄以外の9部位で減少していた。3MT は対照群の嗅球+中隔、基底核、前大脳皮質、視床下部、扁桃核、後大脳皮質でだけ検出可能であった。TRP、HVA は両群間で有意差は認めなかった。

### III. CMP とカテコールアミン、インドールアミン代謝

#### 1. 急性投与群

表2に急性投与群のカテコールアミン、インドールアミン及びそれらの代謝産物の脳内濃度を示す。急性CMP群と対照群を比較すると全11部位において、NE、DA、DOPAC、HVA、TRP、5HTでは両群間に有意の差は認めなかった。しかし5HIAAの有意の減少がCMP投与により全11部位で認められた。なお3MTはいずれの部位においても検出できなかった。

#### 2. 慢性投与群

表3に慢性投与群のカテコールアミン、インドールアミン及びそれらの代謝産物の脳内濃度を示す。急性投与群と同様3MTはいずれの部位においても検出できなかった。慢性CMP群では対照群と比較すると、DAの有意の減少が中脳、有意の増加が海馬で認められた。さらに5HT、5HIAAの有意の減少が中脳で認められた。5HIAAは中脳以外の部位ではいずれも減少する傾向にあったが、有意差は認めなかった。NE、DOPAC、HVA、TRPはいずれの部位においても対照群との間に有意差は認めなかった。

慢性+急性処置群では対照群と比較すると、NEの増加が視床下部、扁桃核で、DAの増加が基底核、DOPACの増加が基底核、小脳で、HVAの増加が基底核で、5HTの増加が視床下部、橋+延髄で、5HIAAの減少が嗅球+中隔、視床、扁桃核、海馬、後

Table 2. Acute effect of clomipramine on the concentrations of catecholamines, indoleamines and their metabolites in 11 rat brain regions

	NE	DA	DOPAC	HVA	TRP	5HT	5HIAA
Bulbus olfactorius +septum							
Control	400±76	674±193	130±55	105±25	5,950±890	420±93	239±69
CMP (15mg/kg)	454±192	465±234	113±61	99±47	7,600±3,710	382±159	159±63*
Basal ganglia							
Control	481±75	3,673±671	340±55	339±86	5,710±1,190	645±73	558±116
CMP (15mg/kg)	484±82	3,113±640	282±39	300±81	5,510±1,090	675±90	419±60**
Frontal cortex							
Control	359±74	1,153±185	210±31	216±40	5,490±1,010	587±42	309±55
CMP (15mg/kg)	373±63	1,345±343	212±20	229±47	5,790±1,190	596±146	237±28**
Hypothalamus							
Control	1,042±247	792±110	158±20	123±37	6,060±1,170	835±138	582±141
CMP (15mg/kg)	1,113±276	745±157	143±18	106±43	5,230±869	873±111	450±53*
Thalamus							
Control	672±139	983±373	165±51	148±47	5,620±1,090	587±112	637±126
CMP (15mg/kg)	665±110	944±264	151±45	137±50	5,360±1,060	655±91	474±81**
Cerebellum							
Control	354±79	25±5	12±3	ND	5,640±574	313±61	201±44
CMP (15mg/kg)	358±43	33±17	15±6	ND	5,160±606	357±39	160±24*
Pons+medulla oblongata							
Control	567±107	60±12	33±6	ND	5,740±706	659±90	583±153
CMP (15mg/kg)	561±113	64±9	27±9	ND	5,120±660	715±110	461±87**
Mesencephalon							
Control	509±104	137±29	42±8	46±13	5,250±1,080	1,100±187	755±181
CMP (15mg/kg)	508±86	134±55	41±17	40±11	4,840±862	1,130±91	538±96**
Amygdala							
Control	563±137	1,124±264	154±34	161±51	6,990±950	840±112	435±55
CMP (15mg/kg)	568±55	1,030±311	132±31	128±60	6,330±1,290	836±115	298±54**
Hippocampus							
Control	418±69	177±30	29±6	44±13	5,300±1,270	563±102	465±109
CMP (15mg/kg)	403±101	212±51	38±14	46±15	5,290±786	663±169	341±36**
Occipital cortex							
Control	350±89	429±192	50±7	63±14	5,180±949	590±54	291±42
CMP (15mg/kg)	338±31	397±110	60±28	71±24	4,640±641	598±38	189±43**

Values are expressed as ng/g tissue. Results are means±SD obtained from 10 rats. Significant differences from control group: \*p<0.05, \*\*p<0.01. Comparisons by Student's t-test. ND=not detectable

大脳皮質でそれぞれ認められた。次に慢性+急性処置群と慢性 CMP 群を比較すると、NE の増加が視床下部で、DA の増加が基底核、中脳で、そして DA の減少が前大脳皮質、小脳、海馬で、DOPAC の増加が基底核、中脳で、HVA の増加が基底核で、5HT の増加が橋+延髄、中脳で、5HIAA の増加が中脳で、5HIAA の減少が後大脳皮質でそれぞれ認められた。

### 3. CMP 急性効果に対する部位別検討

表 4 に急性投与群と慢性投与群での CMP 急性処置によりそれぞれ対照群と比較して 5HIAA の減少が認

められた部位を対比して示した。急性投与群では全部位で 5HIAA の減少が認められたのに対して、慢性+急性処置群では嗅球+中隔、視床、扁桃核、海馬、後大脳皮質の 5 部位でのみ減少が認められた。

### 考 察

中枢神経系の代謝回転の速い物質の脳内濃度を正確に測定するためには動物の死後変化に伴う物質の変動を抑えることが必要である。死後変化の結果、脳内活性物質がその関連酵素により分解され脳内活性物質

Table 3. Chronic effect of clomipramine on the concentrations of catecholamines, indoleamines and their metabolites in 11 rat brain regions

	NE	DA	DOPAC	HVA	TRP	5HT	5HIAA
<b>Bulbus olfactorius +septum</b>							
Control	397±124	818±497	135±62	136±64	6,660±1,240	449±106	214±58
CMP (10mg/kg)	389±68	888±493	141±81	150±84	6,820±899	445±105	179±60
plus acute CMP	392±62	699±349	130±68	110±13	6,690±723	400±69	137±30a
<b>Basal ganglia</b>							
Control	369±39	3,529±658	365±81	338±88	5,560±982	605±57	440±44
CMP (10mg/kg)	404±40	3,120±316	306±38	314±69	5,860±600	631±62	353±118
plus acute CMP	384±40	4,313±626ab	507±99ab	567±95ab	6,090±882	612±50	387±59
<b>Frontal cortex</b>							
Control	311±38	1,403±453	204±29	210±44	5,720±1,030	603±54	258±34
CMP (10mg/kg)	331±31	1,641±202	206±51	249±57	6,500±602	596±35	251±53
plus acute CMP	329±35	1,261±265b	227±54	267±61	6,480±603	585±23	223±44
<b>Hypothalamus</b>							
Control	928±144	681±146	138±53	ND	6,010±1,100	794±116	472±58
CMP (10mg/kg)	881±86	837±163	157±30	ND	6,710±782	819±80	441±57
plus acute CMP	1,153±125ab	704±143	157±21	ND	6,620±1,060	906±85a	436±60
<b>Thalamus</b>							
Control	581±111	846±401	157±58	130±44	5,650±921	611±94	536±42
CMP (10mg/kg)	555±86	919±314	151±37	141±34	5,910±847	602±114	465±87
plus acute CMP	634±69	931±241	175±42	149±51	6,370±922	634±62	423±54a
<b>Cerebellum</b>							
Control	271±33	25±9	11±3	ND	5,940±997	272±78	149±38
CMP (10mg/kg)	289±38	29±8	12±3	ND	6,330±633	300±56	146±30
plus acute CMP	267±36	18±7b	18±9a	ND	6,420±832	266±58	114±34
<b>Pons+medulla oblongata</b>							
Control	410±53	62±12	32±4	ND	5,530±1,100	580±49	447±45
CMP (10mg/kg)	418±33	68±10	30±4	ND	5,900±617	563±76	398±80
plus acute CMP	463±54	66±17	29±9	ND	6,770±1,390	663±60ab	473±61b
<b>Mesencephalon</b>							
Control	393±34	131±25	40±8	ND	5,630±1,050	1,060±180	582±78
CMP (10mg/kg)	418±33	68±10a	30±4	ND	5,900±617	563±76a	398±80a
plus acute CMP	423±39	186±88b	49±18b	ND	5,800±917	1,141±149b	476±160
<b>Amygdala</b>							
Control	463±59	1,049±337	147±43	148±41	6,520±1,260	808±100	340±56
CMP (10mg/kg)	499±53	1,087±155	144±23	152±31	7,320±720	809±67	310±41
plus acute CMP	560±54a	1,096±145	151±19	157±17	7,060±1,110	882±63	271±39a
<b>Hippocampus</b>							
Control	349±27	152±31	30±6	ND	5,740±1,020	565±63	386±47
CMP (10mg/kg)	367±30	208±34a	37±6	ND	6,290±444	578±48	340±40
plus acute CMP	350±69	156±59b	35±16	ND	6,360±1,200	585±80	298±38a
<b>Occipital</b>							
Control	295±29	382±123	47±12	62±23	5,230±1,010	570±60	221±25
CMP (10mg/kg)	318±39	447±86	53±11	72±18	5,840±490	582±54	202±30
plus acute CMP	294±31	416±81	60±10	78±33	5,630±500	569±40	156±21ab

Values are expressed as ng/g tissue. Results are mean±SD. Numbers of rats are 9, 11 and 10 in the control, CMP (10mg/kg) and plus acute CMP group, respectively. Significant differences from control group; a p<0.05; from CMP (10mg/kg) group; b p<0.05. Comparisons by one way ANOVA followed by Scheffé's multiple-comparison procedure. ND=not detectable

Table 4. Regional differences in sensitivity in the concentrations of 5HIAA to acute CMP administration

	CMP (15mg/kg)	plus acute CMP
Bulbus olfactorius +septum	+	+
Basal ganglia	+	-
Frontal cortex	+	-
Hypothalamus	+	-
Thalamus	+	+
Cerebellum	+	-
Pons+medulla oblongata	+	-
Mesencephalon	+	-
Amygdala	+	+
Hippocampus	+	+
Occipital cortex	+	+

Significant differences from each control group. In CMP (15mg/kg) group: comparisons by Student's t-test. In plus acute group: comparisons by one way ANOVA followed by Scheffé's multiple-comparison procedure.

の減少, その代謝産物の増加がもたらされる. この様な死後変化を阻止するために通常脳組織を急速に凍結して死後変化を阻止する凍結法が用いられている. しかし凍結法の問題点として1) 脳組織が凍結するまでの時間 (30-90秒) および抽出時に物質量が変動する可能性と, 2) 脳組織を細部にきりだすことの困難さが考えられ<sup>12)</sup>ている. 本研究では死後変化を阻止するために脳内酵素を急速に失活させるマイクロ波照射装置<sup>13)</sup>を用いたが, この装置は現在のところ死後変化阻止に最も有効とされている. そこで著者はマイクロ波照射による影響を検討したところマイクロ波照射群では対照群と比較すると神経伝達物質である NE, DA, 5HT が増加し, それらの代謝産物は減少しておりこれまでの報告<sup>13,14)</sup>と一致していた. 従来, 断頭後に種々の脳内アミン測定による研究がなされてきたが上述のように死後変化の問題もあり, これらの研究の評価は慎重になされなければならないであろう.

今回の研究で薬物投与方法として急性および慢性投与群ともに皮下投与を用いた. CMP を皮下に急性投与すると, CMP の血漿内濃度は他の塩基性薬剤と同様に3-コンパートメント類似のパターンを示しながら急速に減衰し, 脳内-血漿内濃度比 (kp 値) は30分頃より一定となり, この時点より血中 CMP 濃度が脳

内濃度を反映すると報告<sup>15)</sup>されている. この比については岸谷<sup>6)</sup>は15.1, Kurata ら<sup>8)</sup>は静脈投与で22.2, と報告している. 抗うつ薬の排出はラットにおいては人間に比較して速く, Friedman ら<sup>16)</sup>はラットにおける CMP の生物学的半減期を急性では6時間, 慢性では2時間と報告している. くわえてラットでは人間に比べて first-pass effect が大きい事が報告<sup>16)</sup>されており, 従来の方法では薬物濃度の変動が大きく, 定常状態を作り出すことは困難であった. そこで著者は定常状態を作製するためにミニ浸透圧ポンプを用いた. Kurata ら<sup>7)</sup>により本法においてはうめ込み2日目より CMP 血中濃度は定常状態に達し濃度の変動がないことが報告されている. したがって CMP 定常状態下におけるモノアミン代謝の解析にあたっては, ミニ浸透圧ポンプを用いることは大きな利点であると考えられる. また CMP の活性代謝産物でノルアドレナリン代謝に大きな役割をもつ<sup>17)</sup>DMCMP は急性投与群, 慢性投与群とも検出されず, これはこれまでの報告<sup>18,19)</sup>と一致していた.

本研究において急性投与群では全11部位において CMP 投与により 5HIAA が減少 ( $p < 0.01$  または  $p < 0.05$ ) し, TRP と 5HT は変化しなかった. 一方 NE, DA, DOPAC, HVA のそれぞれの濃度に变化

は認められなかった。これは CMP が急性投与ではインドールアミン代謝回転の抑制だけを示し、カテコールアミン代謝には影響を与えない事を示している。このインドールアミン代謝回転の抑制は急性投与における CMP の選択的 5HT 取込み阻害作用<sup>19)</sup>によりシナプス間の 5HT 濃度が上昇し、前シナプスにある 5HT 自己受容体を介してネガティブフィードバックが働いた結果と考えられる。CMP の急性投与での濃度分布は不均一である<sup>9)</sup>にもかかわらず、インドールアミン代謝への影響はすべての部位で認められた。CMP 投与による脳内モノアミン変化を部位別に検討した報告は少なく、Auzou ら<sup>20)</sup>は CMP 急性投与による脳 5 部位(視床下部、海馬、線条体、橋+延髄、残りの部位)すべてでの 5HIAA の減少と線条体での HVA, DOPAC の増加を報告している。CMP には無月経、悪性症候群をひきおこす抗 DA 作用(主として DA タイプ 2 受容体のアンタゴニスト)があり<sup>21)</sup>、このために線条体で DA の代謝産物である HVA, DOPAC が増加する可能性がある。しかし本研究では HVA, DOPAC の増加は認めなかった。その異なる理由としては実験動物の断頭処理方法の差異が考えられる。すなわち本実験では断頭後に生じるカテコールアミンやインドールアミンの代謝産物の増加という死後変化を阻止するためにマイクロ波照射装置<sup>13)</sup>を用いているが、Auzou らはマイクロ波照射を行っておらず DA の含有量の多い線条体において代謝産物の増加が認められたためではないかと考えられる。

以上が CMP 急性投与における結果の解析であるが、CMP をはじめとする抗うつ薬の NE や 5HT 取込み阻害作用が必ずしも治療効果と相関しない<sup>3)</sup>ことや、これらの薬理作用は投与後直ちに起こるが臨床的抗うつ効果の発現は遅い<sup>3)</sup>ことなどから、慢性投与下での解析はより重要と思われる。これまで抗うつ薬の慢性投与の結果、 $\beta$  受容体の減少、NE-stimulated adenylyl cyclase 感受性低下、5HT<sub>2</sub> 受容体の減少<sup>22,23)</sup>等がおこることが報告され、抗うつ効果との関連において薬物の慢性投与におけるモノアミン機能の適応変化が注目されている。そこで著者は、CMP 慢性投与時の 5HT 系の変化を急性投与時と比較するために検討した。慢性 CMP 群では対照群と比較して 5HIAA の減少 ( $p < 0.05$ ) が認められたのは中脳だけであり、またこの部位では 5HT の減少 ( $p < 0.05$ ) も認めている。この事実は TRP に変化がないことより、5HT 合成の低下および代謝回転の抑制が中脳で認められていることを示している。急性投与と同様にミニ浸透圧ポンプを用いた慢性投与においても CMP

は不均一に分布しており、中脳は CMP 濃度の低い部位<sup>7)</sup>である。このためインドールアミン代謝への影響には薬物濃度とは別の因子が関与していることが考えられる。CMP と同様の薬理作用を有するイミプラミンの慢性投与によっても杉田ら<sup>24)</sup>が中脳、大脳皮質での 5HIAA 減少を報告しており、この結果は本実験の結果とほぼ一致する。このように代表的な抗うつ薬である CMP とイミプラミンの慢性投与が中脳においてインドールアミン代謝の特異な変化を惹起することは興味深い所見であると思われ、今後他の抗うつ薬による追試が必要であろう。急性 CMP 群と慢性+急性処置群でそれぞれ対照群と比較して 5HIAA の減少が認められた部位の対比をすると、急性 CMP 群では全部で 5HIAA の減少が認められのに対して、慢性+急性処置群では基底核、前大脳皮質、視床下部、小脳、橋+延髄、中脳では 5HIAA の減少が認められなかった。CMP 血漿内濃度は急性 CMP 群では  $257 \pm 77 \text{ ng/ml}$ 、慢性+急性処置群では  $251 \pm 94 \text{ ng/ml}$  と両群間で有意な差は認めておらず、薬物速度論的観点からは両群間で急性効果に差はないと考えられる。5HIAA の減少は 5HT 代謝回転の抑制をあらわしており、それが抑制されてないとするれば、代謝回転にネガティブフィードバックが働いていないことを示している。前述のようにネガティブフィードバックは 5HT 自己受容体を介して行われるため、5HIAA の減少が認められなかった基底核、前大脳皮質、視床下部、小脳、橋+延髄、中脳では 5HT 自己受容体の感受性低下が生じている可能性が考えられた。近年従来 5HT 自己受容体と考えられていた 5HT<sub>1</sub> 受容体は種々の亜型に分けられ、その内自己受容体は 5HT-1B<sup>25,26)</sup>と考えられるようになった。5HT<sub>1</sub> 受容体全体をみれば抗うつ薬慢性投与による変化は必ずしも一定しない<sup>27,28)</sup>が、5HT<sub>1B</sub> だけを例にとった場合、脳部位により感受性の差異が生じる可能性があり、今後の検討を要する問題と思われる。

NE 系については慢性+急性処置群では対照群と比較して同様の急性処置を行った急性 CMP 群とは異なる結果が得られ、急性 CMP 群では認められなかった NE が視床下部、扁桃核で増加していた。前者は背側 NE 路、後者は腹側背側 NE 路のいずれも 5HT 系の感受性低下が示唆される橋+延髄より投射される部位である。抗うつ薬慢性投与により生じる  $\beta$  受容体のダウンレギュレーションには正常な 5HT 系が必要なこと<sup>29,30)</sup>や、NE 系を損傷させると 5HT 系の抗うつ薬への反応性が損なわれること<sup>28)</sup>等に示されるような NE 系と 5HT 系の相互作用にもとづく変化であるのかも

しれない。急性・慢性投与とも CMP 脳内濃度は視床下部は低い方に、扁桃核は高い方に<sup>28)</sup>分類されており濃度分布との関連はないと考えられる。

DA 系については慢性 CMP 群で対照群と比較して DA が中脳で減少、海馬で増加していた。中脳に含まれる黒質で 5HT 系ニューロンの神経終末が DA 系ニューロンと直接結合して<sup>29)</sup>、5HT が 5HT<sub>2</sub> 受容体を介して DA 系に抑制的に働くこと<sup>30)</sup>が報告されている。CMP 慢性投与は中脳で 5HT に拮抗的に作用しており黒質では DA 濃度の増加が考えられるが、中脳全体を測定したためにこのような結果になったのかもしれない。また情動と深くかかわる中脳辺縁系に属する海馬で抗うつ薬により DA が増加したことは、DA 前駆体および DA アゴニストが抗うつ効果を示すこと<sup>31)</sup>との関連を示唆しているのかもしれない。

一方慢性+急性処置群の DA 系で注目すべき変化が認められたのは基底核である。DA および代謝産物の DOPAC、HVA がいずれも対照群と比較して増加を認めた。この変化は急性 CMP 群では認められず、CMP 慢性投与による適応変化、つまり CMP 急性投与に対して DA 代謝回転に変化をきたしやすい準備状態にもとづくものと考えられる。DA 系については Heninger ら<sup>28)</sup>は生理学的感受性の研究より前シナプス受容体の感受性の低下、行動学的感受性の研究から後シナプス受容体の感受性の増加を抗うつ薬慢性投与後の所見としてまとめている。そしてこのような受容体の感受性の変化が基底核で生じ、急性 CMP 群で認めなかった抗 DA 作用<sup>21)</sup>にもとづく DA 代謝回転の変化が発現したと考えられる。DA 系についても CMP 投与により変化を認めた部位は必ずしも濃度の高い部位に一致しておらず濃度分布との関連はないと考えられる。

## 結 論

三環系抗うつ薬 CMP のカテコールアミン、インドールアミン代謝への薬理作用についてラット脳11部位で検討した。方法としては CMP 15mg/kg を皮下投与した急性投与、ミニ浸透圧ポンプで CMP 10mg/kg を14日間連続投与した慢性投与と15日目に CMP 15mg/kg を皮下投与した慢性+急性処置を行い高速液体クロマトグラフィー法を用いて脳11部位でカテコールアミン、インドールアミンとそれらの代謝産物の脳内濃度測定を行った。得られて結果は以下の通りである。

1. CMP 血漿内濃度は急性 CMP 群で 257±77ng/ml (n=10)、慢性 CMP 群で 35±8ng/ml

(n=11)、慢性+急性処置群で 251±94ng/ml (n=10) であり DMCMMP は検出できなかった。

2. CMP 急性投与により 5HIAA の有意の減少が全11部位で認められた。5HT, TRP, NE, DA, DOPAC, HVA は対照群と比較して差は認めなかった。

3. CMP 慢性投与により 5HT, 5HIAA, DA の減少が中脳で認められ同時に DA の増加が海馬で認められた。

4. 慢性+急性処置群では急性投与で認められなかった視床下部、扁桃核での NE の増加、基底核での DA, DOPAC, HVA の増加が認められた。また急性投与で全部位での 5HIAA の減少が認められのに対して、慢性+急性処置では基底核、前大脳皮質、視床下部、小脳、橋+延髄、中脳では 5HIAA の減少は認められなかった。

以上の結果より急性投与では CMP の薬理作用が全部位でインドールアミン代謝回転の抑制に限られるのに対して、慢性投与においては 5HT 系での基底核、前大脳皮質、視床下部、小脳、橋+延髄、中脳での受容体感受性低下や NE 系での視床下部、扁桃核における 5HT 系との相互作用、DA 系での基底核における受容体感受性の変化等に及ぶことが示唆された。また CMP の薬理作用の発現部位と CMP の脳内分布との間に関連はないと考えられた。

## 謝 辞

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜りました恩師山口成良教授に謹んで感謝いたします。また、御指導を頂いた富山医科薬科大学神経精神医学教室の倉知正佳教授、倉田孝一助教授、御協力・御教示を頂いた当教室の木戸日出喜博士、坂本宏医学士、および教室員各位、統計学的処理について御指導頂いた本学衛生学教室橋本和夫教授の御厚意に感謝いたします。本論文の一部は第8回日本生物学的精神医学会(1986, 札幌)、4th scientific meeting of the pacific rim college of psychiatrists (1988, Hong Kong)、第10回日本生物学的精神医学会(1989, 東京)において発表した。またこの研究の一部は松原三郎記念精神医学育成基金、文部省科学研究費補助金奨励研究(A)課題番号63770810の援助を受けたもので附記して謝意を表します。

山口教授の還暦を祝してこの論文を捧げます。

## 文 献

- 1) 中嶋照夫, 平井基陽: 躁うつ病. 生化学的精神医学(加藤信勝監修, 西村 健, 中嶋照夫, 清水宏俊編), 第1版, 181-216 頁, 星和書店, 東京, 1986.
- 2) Kuhn, R.: The treatment of depressive states with G 22355 (imipramine hydrochloride)

Am. J. Psychiatry, **115**, 459-464 (1958).

3) 三国雅彦: 抗うつ剤の作用機序に関する研究の進歩. 神経精神薬理, **9**, 231-245 (1987).

4) 高橋 良: うつ病のアミン仮説の変遷—薬物療法との関連—. 精神誌, **86**, 286-294 (1984).

5) Wachtel, H.: Dysbalance of neural second messenger function in the affective disorders: a pathophysiological concept hypothesising defects beyond first messenger receptors. J. Neural. Transm., **75**, 21-29 (1989).

6) 岸谷和之: Clomipramine の脳内・血漿内濃度と 5-Hydroxytryptamine 代謝に関する研究. 十全医会誌, **95**, 797-812 (1986).

7) Kurata, K., Kurachi, M. & Tani, Y.: Distribution of clomipramine in various brain regions of rats under steady-state serum concentrations. Psychopharmacology, **95**, 167-170 (1988).

8) Kurata, K., Kishitani, K., Kido, H., Kurachi, M. & Yamaguchi, N.: A pharmacokinetic study of clomipramine in regions of the brain. Jpn. J. Psychiatr. Neurol., **40**, 631-638 (1986).

9) Preskorn, S. H. & Glotzbach, R. K.: A liquid chromatographic method for quantitating amitriptyline in brain tissue. Psychopharmacology, **78**, 23-24 (1982).

10) 倉田孝一, 古田寿一, 木戸日出喜, 岸谷和之, 山口成良: 高速液体クロマトグラフィー法による 3 環系抗うつ薬脳内・血清内濃度の検討. 十全医会誌, **95**, 664-669 (1986).

11) Kurata, K., Kurachi, M., Hasegawa, M., Kido, H. & Yamaguchi, N.: A simultaneous analytical method for catecholamine, indoleamines, and related compounds in 11 rat brain regions. Jpn. J. Psychiatr. Neurol., **41**, 291-300 (1987).

12) 丸山悠司: 脳内活性物質の測定に先立つ脳組織のマイクロウェーブ固定法. 蛋白質核酸酵素, **26**, 1201-1206 (1981).

13) Ikarashi, Y., Maruyama, Y. & Stavinoha, W. B.: Study of the use of the microwave magnetic field for the rapid inactivation of brain enzymes. Jpn. J. Pharmacol., **35**, 371-387 (1984).

14) Ikarashi, Y., Sasahara, T. & Maruyama, Y.: Postmortem changes in catecholamines, indoleamines, and their metabolites in rat brain regions: prevention with 10-kw microwave

irradiation. J. Neurochem., **45**, 935-939 (1985).

15) Friedman, E. & Cooper, T. B.: Pharmacokinetics of clomipramine and its demethylated metabolite in blood and brain regions of rats treated acutely and chronically with clomipramine. J. Pharmacol. Exp. Ther., **225**, 387-390 (1983).

16) Beaubien, A. R. & Pakuts, A. P.: Influence of dose on first-pass kinetics of <sup>14</sup>C-imipramine in the isolated perfused rat liver. Drug. Metab. Dispos., **7**, 34-39 (1979).

17) Maj, J., Stala, L., Gorka, Z. & Adamus, A.: Comparison of the pharmacological actions of desmethylclomipramine and clomipramine. Psychopharmacology, **78**, 165-169 (1982).

18) Nagy, A.: Blood and brain concentrations of imipramine, clomipramine and their monomethylated metabolites after oral and intramuscular administration in rats. J. Pharm. Pharmac., **29**, 104-107 (1977).

19) Waldmeier, P. C., Baumann, P., Greengrass, P. M. & Maitre, L.: Effects of clomipramine and other tricyclic antidepressants on biogenic amine uptake and turnover. Postgrad. Med. J., **52**, 33-39 (1976).

20) Auzou, G. & Rips, R.: The effects of acute and chronic antidepressant administration on mouse brain levels of catecholamines, indoleamines and their metabolites. High performance liquid chromatographic evaluation. Biogenic Amines, **3**, 201-208 (1985).

21) 清水浩光, 畑 典男, 小片 寛, 融 道雄: ヒト死後脳膜標品を用いた向精神薬のドーパミン, ノルアドレナリン, アセチルコリン受容体遮断作用の研究. 精神薬療基金研究年報, **17**, 140-147 (1986).

22) 朝倉幹雄, 塚本 徹: 抗うつ薬と中枢モノアミン受容体. 薬物・精神・行動, **5**, 303-319 (1985).

23) Heninger, G. R. & Charney, D. S.: Mechanism of action of antidepressant treatments: implications for the etiology and treatment of depressive disorders. In H. Y. Meltzer (ed.), Psychopharmacology: the Third Generation of Progress, 1st ed., p535-544, Raven Press, New York, 1987.

24) 杉田荘太郎, 鈴木 滋, 沓名桃代, 小林昭麿, 中澤欽哉: イミプラミンの脳内薬物動態とその薬理効果の相関性について—セロトニン系に対する効果—. 薬

物・精神・行動, 8, 261-262 (1988).

25) **Peroutka, S. J.**: Pharmacological differentiation and characterization of 5HT<sub>1A</sub>, 5HT<sub>1B</sub>, and 5HT<sub>1C</sub> binding sites in rat frontal cortex. *J. Neurochem.*, **47**, 529-540 (1986).

26) **Peroutka, S. J.**: Functional correlates of central 5HT binding site. In N. N. Osbor & M. Hamon (eds.), *Neural Serotonin*, 1st ed. p423-447, John Wiley & Sons Ltd., London, 1988.

27) 小山 司: 抗うつ薬と脳内受容体. *臨床精神医学*, **16**, 1261-1275 (1987).

28) **Gravel, P. & Montigny, C.**: Noradrenergic denervation prevents sensitization of rat forebrain neurons to serotonin by tricyclic antidepressant treatment. *Synapse*, **1**, 233-239 (1987).

29) **Nedergaard, S., Bolam, J. P. & Greenfield, S. A.**: Facilitation of a dendritic calcium conductance by 5-hydroxytryptamine in the substantia nigra. *Nature*, **333**, 174-177 (1988).

30) **Ugedo, L., Grenhoff, J. & Svensson.**: Ritanserin, a 5-HT<sub>2</sub> receptor agonist, activates midbrain dopamine neurons by blocking serotonergic inhibition. *Psychopharmacology*, **98**, 45-50 (1989).

31) **Jimerson, D. C.**: Role of dopamine mechanisms in the affective disorders. In H. Y. Meltzer (ed.), *Psychopharmacology: the Third Generation of Progress*, 1st ed., p505-511, Raven Press, New York, 1987.

