



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（薬学）
報告番号	乙 第1851号
学位記番号	論 第 192 号
氏 名	村井 建之
授与年月日	平成 26年 12月 24日
学位論文の題名	新規抗精神病薬ランシドンの認知機能および睡眠脳波への作用に関する非臨床研究
論文審査担当者	主査： 糸 和彦 副査： 今泉 祐治, 服部 光治, 田中 正彦

名古屋市立大学学位論文

新規抗精神病薬ルラシドンの
認知機能および睡眠脳波への作用に関する非臨床研究

2014 年

村井 建之

大日本住友製薬株式会社 創薬開発研究所

Effects of lurasidone on cognitive function and electroencephalogram

Takeshi Murai

Drug Development Research Laboratories

Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd.

一、本論文は2014年12月名古屋市立大学大学院薬学研究科において審査されたものである。

主査 桑 和彦 教授

副査 今泉 祐治 教授

副査 服部 光治 教授

副査 田中 正彦 准教授

二、本論文は、学術情報雑誌に掲載された次の報文を基礎とするものである。

1. Takeshi Murai, Tomokazu Nakako, Masaru Ikejiri, Takeo Ishiyama, Mutsuo Taiji, Kazuhito Ikeda: Effects of lurasidone on executive function in common marmosets., Behavioural Brain Research 2013;246:125-131.
2. Takeshi Murai, Tomokazu Nakako, Kazuhito Ikeda, Masaru Ikejiri, Takeo Ishiyama, Mutsuo Taiji: Lack of dopamine D4 receptor affinity contributes to the procognitive effect of lurasidone., Behavioural Brain Research 2014;261:26-30.
3. Takeshi Murai, Keiko Nakamichi, Isao Shimizu, Kazuhito Ikeda: Lurasidone suppresses rapid eye movement sleep and improves sleep quality in rats., Journal of Pharmacological Sciences 2014;126:164-167.

三、本研究の基礎となる研究は、大日本住友製薬株式会社創薬開発研究所において、池田和仁博士の指導の下で行われた。

目次

第一章 要旨.....	1
第二章 諸言.....	2
第三章 コモンマーモセットを用いた object retrieval with detour task (ORDT)に おけるルラシドンおよびその他の抗精神病薬の作用検討	
3-1. 諸言.....	6
3-2. 実験方法.....	7
3-2-1. 使用動物.....	7
3-2-2. ORDT 試験手順.....	7
3-2-3. 薬剤調製および投与.....	9
3-2-4. 統計処理.....	9
3-3. 実験結果.....	10
3-3-1. マーモセット ORDT におけるトレーニング結果.....	10
3-3-2. ORDT easy trial におけるルラシドンおよびその他の抗精神病薬の作 用.....	10
3-3-3. ORDT difficult trial におけるルラシドンおよびその他の抗精神病薬 の作用.....	14
3-4. 要約と考察.....	15
第四章 ORDT におけるルラシドンの作用メカニズム検討	
4-1. 諸言.....	18
4-2. 実験方法.....	19

4-2-1. 使用動物.....	19
4-2-2. ORDT 試験手順.....	20
4-2-3. 薬剤調製および投与.....	20
4-2-4. 統計処理.....	20
4-3. 実験結果.....	21
4-3-1. Ro10-5824 単独およびルラシドンとの併用作用.....	21
4-3-2. L-745,870 単独およびルラシドンとの併用作用.....	22
4-3-3. Ro10-5824 とクロザピンの併用作用.....	23
4-4. 要約と考察.....	23

第五章 ラット睡眠脳波に対するルラシドンの作用

5-1. 諸言.....	28
5-2. 実験方法.....	28
5-2-1. 使用動物.....	28
5-2-2. 手術.....	29
5-2-3. 脳波および筋電位の記録.....	29
5-2-4. 睡眠ステージの解析.....	30
5-2-5. 脳波周波数解析.....	30
5-2-6. 薬剤調製および投与.....	31
5-2-7. 統計処理.....	31
5-3. 実験結果.....	32
5-3-1. NREM 睡眠および REM 睡眠の総時間および潜時.....	32
5-3-2. 各ステージの出現回数および平均持続時間.....	33
5-3-3. NREM 睡眠中の各周波数帯の存在比率の変化.....	33
5-4. 要約と考察.....	34

第六章 総括.....	36
第七章 謝辞.....	37
第八章 参考文献.....	39

略語集

本論文中で用いた略号は以下のとおりである。

略号

FDA: the US Food and Drug Administration

ED50: half maximum effective dose

5-HT: 5-hydroxytryptamine

MC: methyl cellulose

NMDA: N-methyl-D-aspartate

NREM: non rapid eye movement

ORDT: object retrieval with detour

PDE5: phosphodiesterase type 5

PET: positron emission tomography

QOL: quality of life

REM: rapid eye movement

第一章

要旨

背景：ルラシドンは2010年にFDAに承認された比較的新しい非定型抗精神病薬である。他の非定型抗精神病薬と同様に、ドパミン D₂ およびセロトニン 5-HT_{2A} 受容体に対する強い拮抗作用を持つほか、セロトニン 5-HT_{1A} 受容体部分作動性やセロトニン 5-HT₇ 受容体拮抗性といった独自の受容体親和性プロファイルを示す。また、ドパミン D₄ 受容体に対して親和性が低いことも他剤と異なる特徴である。統合失調症においては陽性症状に対する有効性は高いものの、認知機能障害に対する満足度は低く、また併発する睡眠障害による QOL の低下も懸念される。

目的：本研究では、非臨床試験からルラシドンの認知機能および睡眠脳波に対する作用を明らかにすることを目的とした。

方法：高次脳機能である認知機能については、ヒトと脳構造や脳機能が近い非ヒト霊長類の一種であるコモンマーモセットを用い、object retrieval with detour task (ORDT)により作用を評価した。また、ラットに慢性電極を留置し、明期（非活動期）の脳波および筋電位を自由行動下で測定することで睡眠ステージに対する作用を検討した。

結果：ORDTにおいてルラシドンを含むいくつかの抗精神病薬を評価したところ、ルラシドンのみで認知機能の向上が認められた。この作用はドパミン D₄ 受容体の作動薬併用で増強し、拮抗薬により消失した。また、ルラシドンは持続的で深い睡眠を誘発し、かつ REM 睡眠を抑制した。これらの作用にはセロトニン 5-HT_{1A} や 5-HT_{2A}、5-HT₇ 受容体の寄与が示唆された。

結論：ルラシドンはその独自の受容体親和性プロファイルから認知機能障害や睡眠障害といった統合失調症患者におけるアンメットニーズを満たし、QOL を改善する治療薬であることが期待される。

第二章

諸言

ルラシドン

((1R,2S,3R,4S)-N-[(1R,2R)-2-[4-(1,2-benzisothiazol-3-yl)-1-piperazinylmethyl]-1-cyclohexylmethyl]-2,3-bicyclo[2.2.1]heptanedicarboximide hydrochloride, LATUDA®)は2010年に米国食品医薬品局(FDA)に承認された非定型抗精神病薬である(図1)。

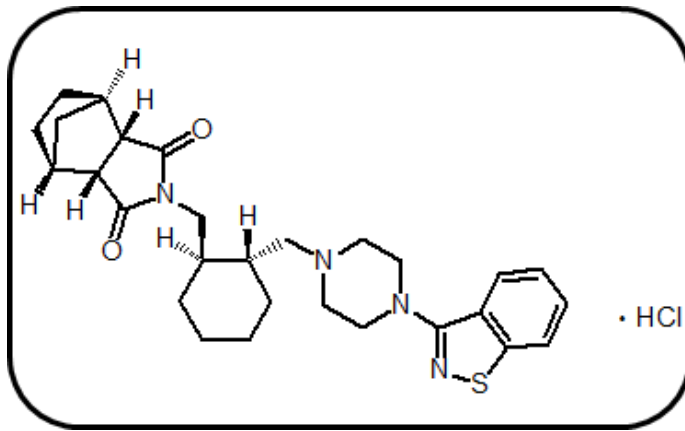


図1
ルラシドン塩酸塩の構造式

他の非定型抗精神病薬と同様に、ドパミン D_2 およびセロトニン $5-HT_{2A}$ 受容体に対する強い拮抗作用を持つほか、セロトニン $5-HT_{1A}$ 受容体部分作動性やセロトニン $5-HT_7$ 受容体拮抗性といった独自の受容体親和性プロファイルを示す(図2)[1]。また、他の抗精神病薬において副作用の要因とされるヒスタミン H_1 受容体やムスカリン M_1 受容体等とほとんど結合を示さず、5つの臨床試験により忍容性と安全性が確認されている[2]。近年、双極I型障害うつ病患者を対象とした大規模な臨床試験が実施された[3,4]。ルラシドンは単剤投与ならびにリチウムまたはバルプロ酸との併用投与下において有効性を示したことから、2013年にFDAにより適応追加承認を受けた。なお、日本においては統合失調症、双極I型障害うつともに第三相試験を実施中である(表1)。

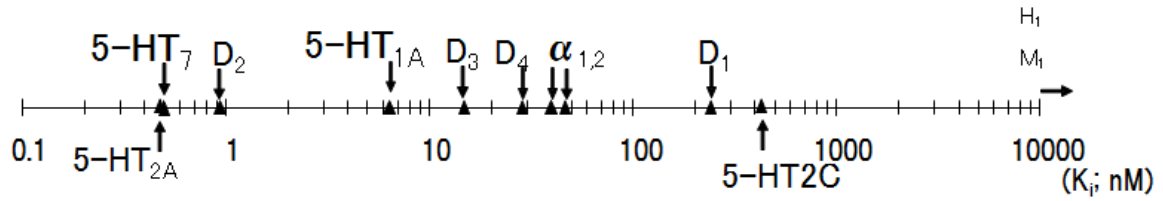


図 2
 ルラシドンの受容体親和性プロファイル

表 1
 ルラシドンの臨床開発状況

適応疾患	状況
統合失調症	承認: 米国、カナダ、欧州、オーストラリア 申請中: 台湾 フェーズⅢ: 国内、中国
双極Ⅰ型障害うつ	承認: 米国、カナダ フェーズⅢ: 国内、欧州
双極性障害メンテナンス	フェーズⅢ: 米国、欧州、国内
大うつ病	フェーズⅢ: 米国、欧州

統合失調症は生涯罹患率 1%ほどの精神疾患であり、その症状は幻覚や妄想に代表される陽性症状、意欲の低下や感情の平坦化に代表される陰性症状および認知機能障害の大きく 3 種に分類される (図 3) [5]。既存薬は陽性症状に対して高い有効性を示すものの、陰性症状や認知機能障害に対してはその効果はまだ十分とは言えず、患者の社会復帰を妨げる要因となっている[6-8]。これまで抗精神病薬の非臨床試験においては、比較的簡便かつスループットの良い評価系が確立されているという背景から、主にげっ歯類を用いて認知機能の評価が行われてきた。多くの抗精神病薬はそのような評価系においては認知機能改善作用を示すものの実際の臨床効果はまだ十分とは言えない[9,10]。その一因として、ヒトとげっ歯類の脳構造や脳機能の違いが挙げられる。例えば統合失調症における認知機能障害

は主に前頭前皮質の機能低下によるものである[11]。一方、げっ歯類ではこの部位の発達が不十分であり、げっ歯類を用いた認知機能評価試験の責任部位は海馬がメインである[12,13]。ルラシドンもげっ歯類では認知機能改善作用を示したものの[1,14-16]、臨床作用をより正確に予測するためには、適切な動物種を用いて評価する必要があると考えた。

本研究で用いたコモンマーモセットは南米に生息する新世界ザルの一種であり、マカクザルと比較して小型（最大で 500g 程度）であるほか、繁殖しやすい（性成熟まで 1 年ほどかつ妊娠期間が 140 日程度）といった、創薬研究に適した特長を有する（図 4）。また、前頭前皮質を含む複数の脳部位においてヒトと近い脳構造・脳機能を有するほか、近年トランスジェニック技術も確立され、さまざまな分野で活用が期待されている動物種である[17-20]。我々はコモンマーモセットを用いた認知機能評価試験からルラシドンの臨床薬効推定を試みた。

図 3

統合失調症の主症状

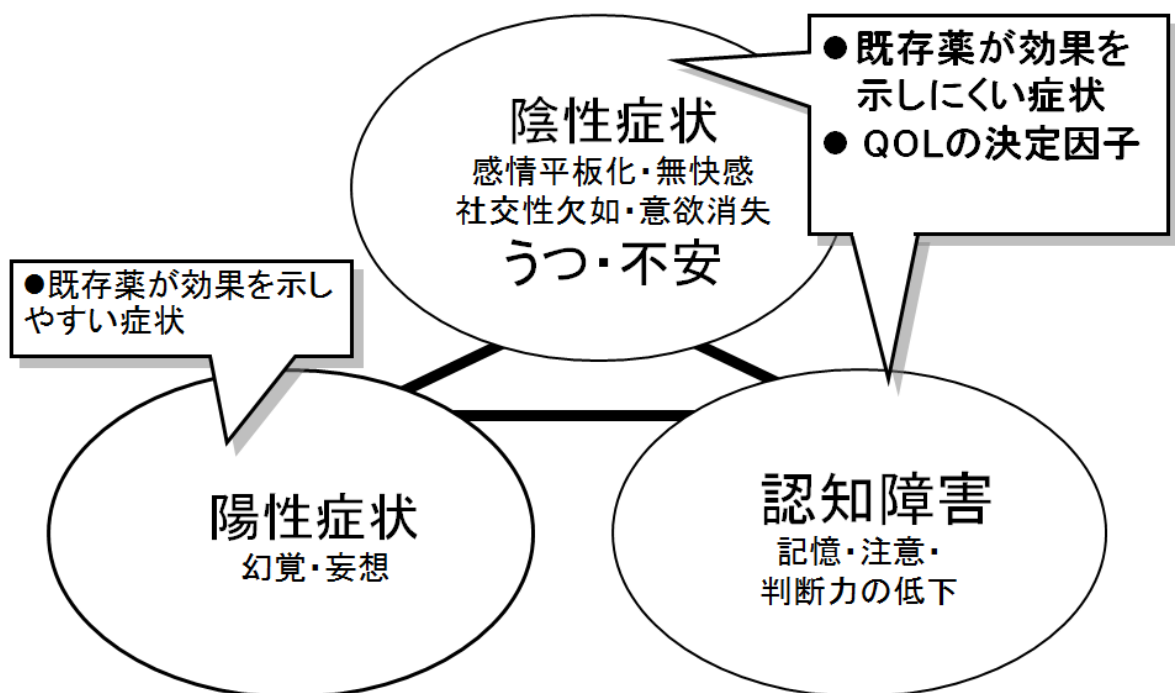


図 4

コモンマーモセットの特徴



common marmoset
(*Callithrix jacchus*)

- **ブラジル東部に生息する新世界ザル**
- **老齢ラット程度の体重 (~500g)**
- **昼行性、社会性行動を示す**
- **げっ歯類と比較して脳構造が発達**
- **大型サルと比較して扱いやすい**
- **繁殖しやすい(1歳齢で性成熟、妊娠期間140日程度)**
- **トランスジェニック技術導入が可能**

また、統合失調症の多くの患者において初期から入眠困難、中途覚醒、早朝覚醒や睡眠相後退症候群等何らかの睡眠障害が併発することが知られている[21,22]。これら睡眠障害は日中の強い眠気や集中力の低下等につながり、患者の QOL 低下の一因となっている。統合失調症患者の睡眠は、NREM 睡眠の減少および REM 睡眠の増加が特徴である。特に REM 睡眠は大うつ病や双極性障害のうつ期にも増加することが知られ、うつ症状の重症度との相関からバイオマーカーとしての有用性も期待されている[23,24]。睡眠の量や質への作用は単に統合失調症の周辺症状への影響という以上に、陰性症状や認知機能障害といった中核症状の改善・増悪につながる可能性も考えられる。そこで本研究ではげっ歯類の脳波を指標とし、ルラシドンの睡眠ステージに対する作用についても検討した。

第三章

コモンマーモセットを用いた ORDT におけるルラシドンおよびその他の抗精神病薬の作用検討

3-1. 諸言

統合失調症の薬物治療において、定型および非定型抗精神病薬が陽性症状に対して治療効果を示すのに対し、認知機能障害（実行機能、言語流暢性、視覚認知、ワーキングメモリーおよび情報処理等）に対しては十分に改善作用がない[6-8]。これは患者の社会復帰を妨げる要因となっており、従って認知機能改善に有用な新薬が期待されている。

一方、化合物の臨床作用を適切に非臨床研究から予測するためには、それに適した動物種と試験系の選択が必要である。動物種として、これまで多くの化合物のスクリーニングに用いられてきたげっ歯類は、簡便性や試験系の多様さから有用である。しかしながら特に精神疾患領域においてはヒトとの脳構造や脳機能の違いから十分に臨床成績の予測ができない可能性がある[12,13]。非ヒト霊長類はよりヒトに近い脳構造や脳機能を有し、コミュニティを形成し社会性行動を呈する、道具を使用する等高次脳機能を評価する上で適した特長を持つ。一方で、大型ザルは取り扱いが難しく、薬効薬理試験において多くの評価化合物量を要し、また大規模な飼育実験施設が必要である等いくつかの難点がある。そこで我々は小型の新世界ザルの一種であるコモンマーモセットに注目した。

また、統合失調症の認知機能障害に対する薬効評価系として object retrieval with detour task (ORDT) を利用した。ORDT は脳部位破壊実験から、海馬ではなく前頭前皮質、特に眼窩前頭皮質の機能評価系であることが知られている[25-27]。この部位は統合失調症において機能異常が起こっている部位である。ORDT は注意力、

衝動性抑制力および固執の評価系であることがサルを用いた研究から明らかとなっている[25]。

今回我々は ORDT をコモンマーモセットに適用し、初めてルラシドンを含むいくつかの抗精神病薬の評価を行った。ルラシドンはドパミン D₂ 受容体およびセロトニン 5-HT_{2A} 受容体に対する親和性の他、セロトニン 5-HT_{1A} やセロトニン 5-HT₇ 受容体に対して高い親和性を示す[1]。逆に副作用を惹起するといわれるヒスタミン H₁ 受容体やムスカリン M₁ 受容体には親和性をほとんど持たない。これまでげっ歯類およびヒトにおいて認知機能が亢進されることが明らかとなっているが、非ヒト霊長類を用いた評価は行われていない[1,2,14-16]。本研究において、非ヒト霊長類におけるルラシドンの作用を明らかにするとともに他の抗精神病薬との薬効を比較した。

3-2. 実験方法

3-2-1. 使用動物

雄性 9 匹および雌性 15 匹のコモンマーモセット (*Callithrix jacchus*) を実験に用いた。実験に供与した時点で 2-11 年齢であった。実験動物は室温 28±2 °C、湿度 50±20 % で管理された室内で個別に飼育された。7:00-19:00 を明期とし、食餌は (CMS-1M、日本クレア株式会社) 毎朝 1 回与えた。給水は自動給水で自由に飲める環境とした。すべての手順は大日本住友製薬株式会社実験動物委員会の承認の下実施された。

3-2-2. ORDT 試験手順

本研究では 2008 年に Rutten らから報告されている手法を用いた[28]。まずホームケージ内でコモンマーモセットを、一面のみ開放面のある透明の亚克力製立

方体（4cm × 4cm × 4cm）の中に置いた報酬（0.5g 程度のバームクーヘン）に手を伸ばして得るよう訓練した。開放面をコモンマーモセットの正面に向けて、もしくは報酬を開放面に近い位置に置き左側または右側に向けて提示する場合を **easy trial**、報酬を開放面から遠い位置（反対面近く）に置き、開放面をコモンマーモセットの左側または右側に向けて提示する場合を **difficult trial**（図 5）とし、提示後 30 秒以内に透明な壁に触れることなく報酬を取ることができれば正答とした。Trial 間には 70%エタノールを用いてアクリル製立方体を清掃した。Difficult trial の際には、報酬に近い側面から手を伸ばすと壁に手が触れてしまう。近い面から取ろうとする衝動性を抑えて、開放面を注意深く観察し報酬に手を伸ばすという一連の行動が必要とされ、前頭前皮質を責任部位とする認知機能（実行機能）の評価系と考えられている。1セッションを 9 回の **easy trial** と 8 回の **difficult trial** とし、1日 1セッションのトレーニングを行った。1日に 1セッションを週に 2 または 3 回施行した。図 5 に示すように 1セッション中の提示の仕方は常に一定とした。Easy trial および difficult trial の成績が安定した後に、薬剤の作用を検討した。薬効評価は **drug-free session** と 2 日後の **drug-treated session** における正答数の差から行った。各 session 時には給餌は session 後に行った。以下の数式から薬剤投与前後での **difficult trial** 正答率の変化を算出し、認知機能に対する作用を検討した。

$$\text{正答率の変化 (\%)} = (N^{\text{drug-treated}} - N^{\text{drug-free}}) \times 100 / 8 \text{ または } 9$$

ここで $N^{\text{drug-free}}$ を **drug-free session** における正答数、 $N^{\text{drug-treated}}$ を **drug-treated session** における正答数とし、**difficult trial** では 8 を **easy trial** では 9 を用いた。

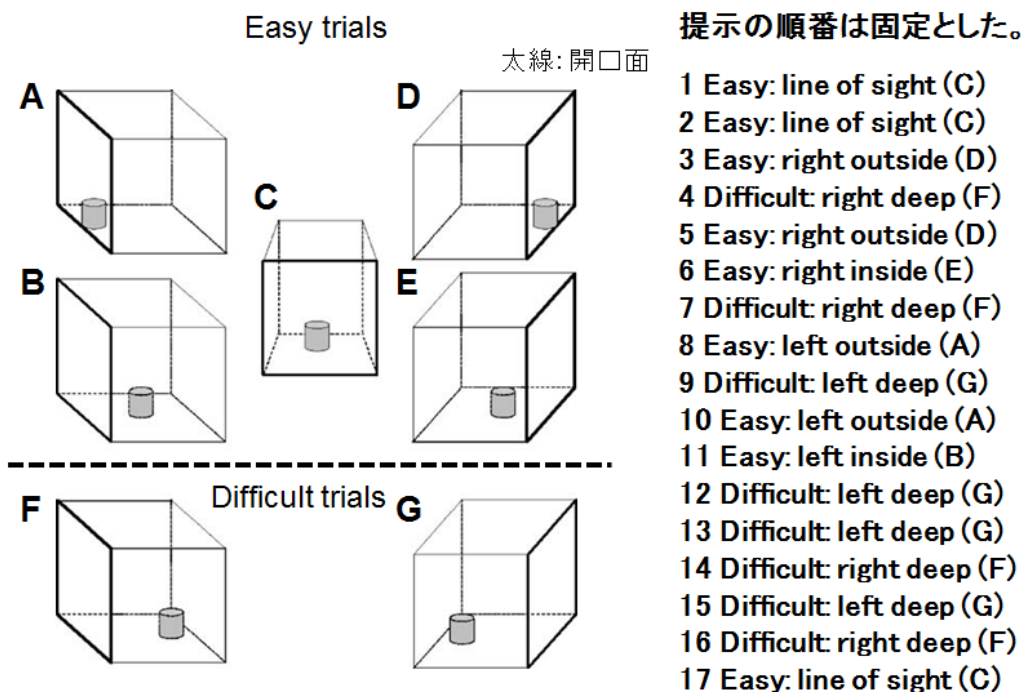


図 5
ORDT の提示種類および順番 (文献 28 より改変)

3-2-3. 薬剤調製および投与

ルラシドン、ハロペリドール、オランザピン、リスペリドン、クエチアピンおよびクロザピンは大日本住友製薬株式会社で合成した。これらの薬剤は 0.5% メチルセルローズ(MC)に懸濁し、ORDT の 120 分前に 5mL/kg の容量で経口投与した。

3-2-4. 統計処理

全ての値は平均値±標準誤差で表した。t 検定後にボンフェローニ補正を行い、投与群間における薬剤の作用を評価した。

3-3. 実験結果

3-3-1. マーモセット ORDT におけるトレーニング結果

図 6 に示すように、トレーニングの初日には difficult trial において報酬を取得できる個体はいなかった。しかしながら 2 日目から正答率は徐々に上昇し、8 日目には 50% を越えその後ほぼ一定となった。一方、easy trial では初回のセッションから 70% 近い正答率を示し、その後 3 日目から 80% を超える正答率が保たれた。

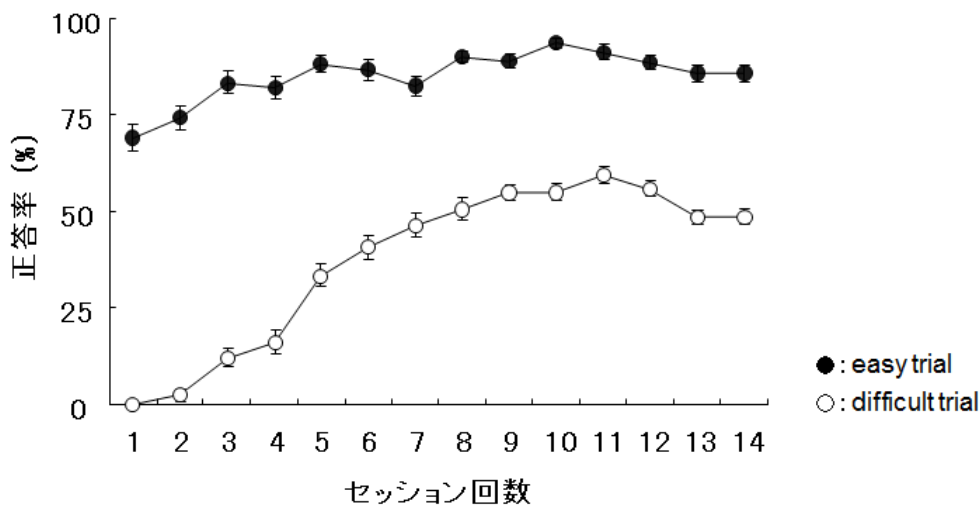


図 6

ORDT における easy trial および difficult trial のトレーニング効果 easy trial(●)および difficult trial(○)におけるセッション回数毎の正答率を示した。各群 N=8 の結果である。

3-3-2. ORDT easy trial におけるルラシドンおよびその他の抗精神病薬の作用

ルラシドンは最高用量でも easy trial の成績に影響を与えなかった (図 7A)。またいずれの用量でも行動異常は見られなかった。

ハロペリドールは easy trial 時の正答率を下げる傾向があったものの、統計学的に有意ではなかった (図 7B)。1mg/kg のハロペリドールを投与した 6 例の動物のう

ち1例が鎮静作用によりタスクを遂行することができなかった。この個体のデータは解析から外した。

オランザピンは10mg/kgを投与した際、5例中2例において、3mg/kgでは5例中1例においてケージの前面に出てこないためにタスクの遂行ができなかった。これらの個体を除いてデータ解析を行った結果、図7Cに示すように10mg/kg投与群において正答率の有意な低下が認められた(vehicle: 6.7 ± 4.4 , オランザピン 10 mg/kg: $-44.4 \pm 19.3\%$, $t_6 = -3.35$, $P = 0.015$)。

図7Dにはリスペリドンの作用を示した。最高用量(1mg/kg)投与群ではeasy trialの正答率に作用は認められなかったものの、0.3mg/kg投与群において有意な正答率の低下が惹起された(vehicle: 2.2 ± 3.6 , リスペリドン 0.3 mg/kg: $-23.8 \pm 8.2\%$, $t_{15} = -3.23$, $P = 0.006$)。0.1mg/kg投与群において6例中2例、0.3mg/kgおよび1mg/kg投与群においてそれぞれ10例および8例中3例ずつ、傾眠や嘔吐、ケージの前面に出てこないことによりタスクの遂行ができない個体があった。これらの動物はデータ解析には用いていない。

クエチアピンおよびクロザピンはeasy trialの正答率に影響を与えなかった(図7Eおよび7F)。しかしながらクエチアピンでは30mg/kgを投与した際は8例中5例が、クロザピンにおいては6例中2例が傾眠や嘔吐によってタスクを遂行することができなかった。これらの個体のデータは正答率の解析には用いていない。

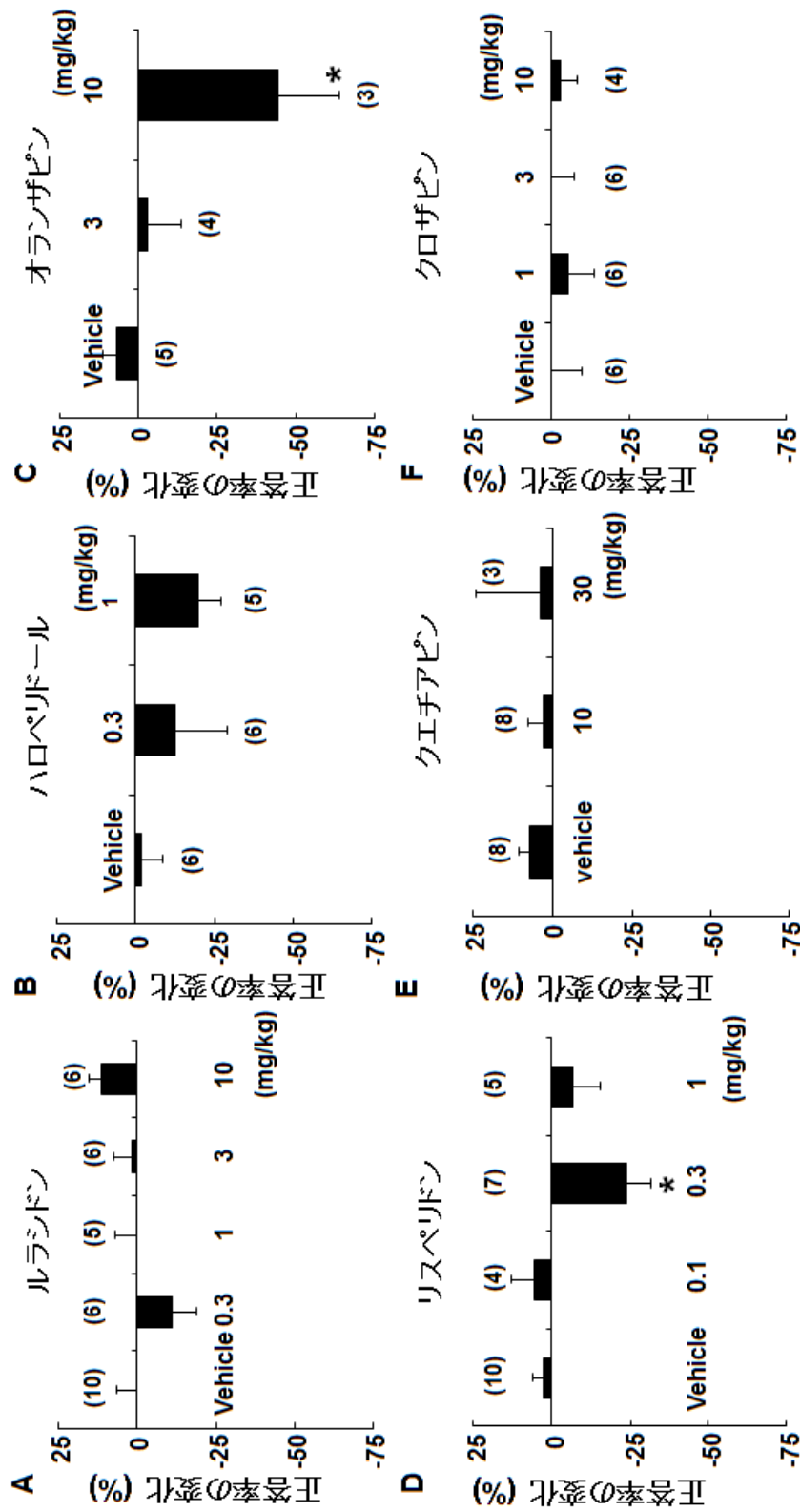


図7
 ORDT easy trial における抗精神病薬の作用
 括弧内の数字はデータに含まれる動物数を示す。 *: P<0.05 vs vehicle

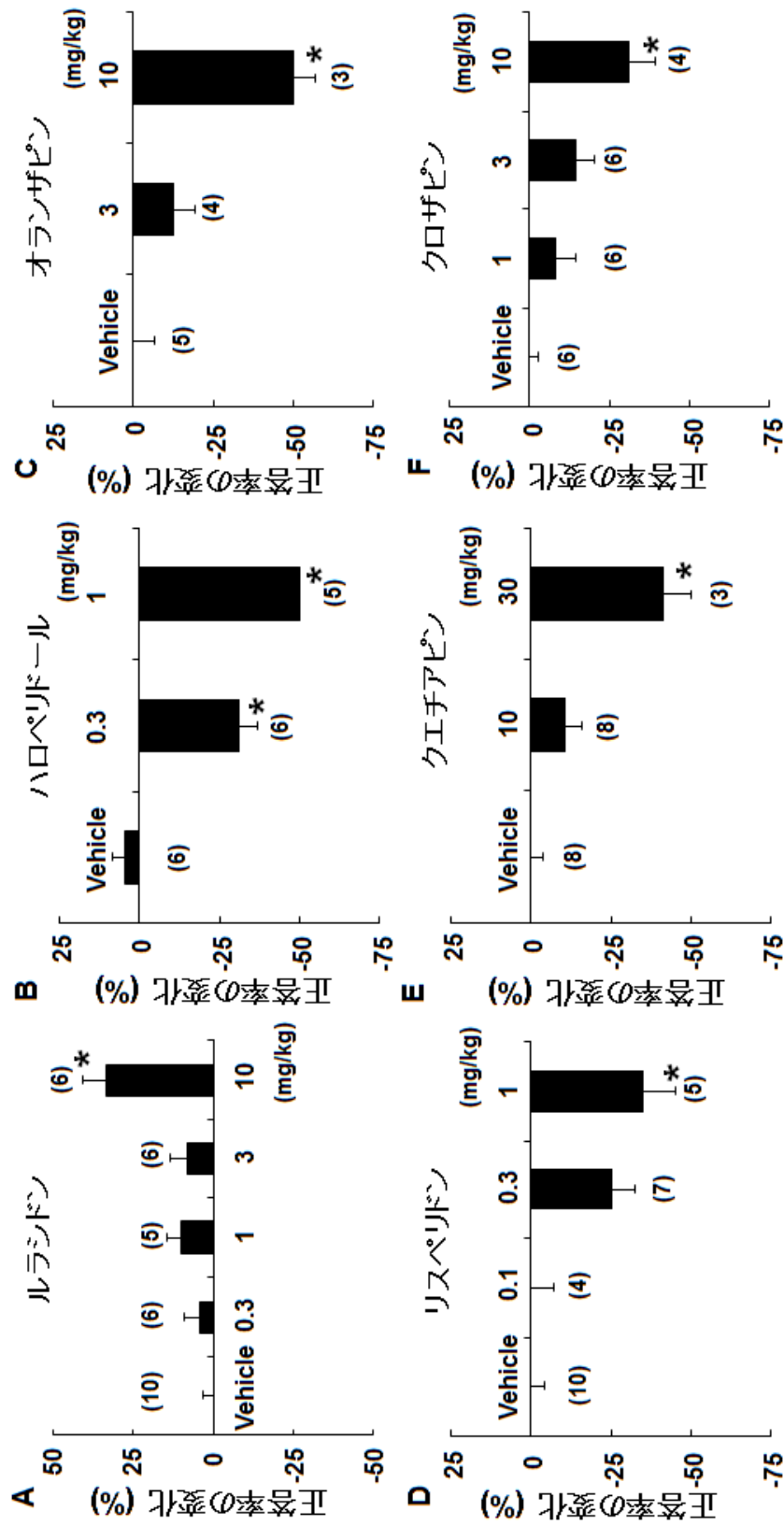


図 8
 ORDT difficult trial における抗精神病薬の作用
 括弧内の数字はデータに含まれる動物数を示す。 *: P<0.05 vs vehicle

3-3-3. ORDT difficult trial におけるルラシドンおよびその他の抗精神病薬の作用

Difficult trial において、ルラシドンは用量依存的に正答率を増加させた(vehicle: 0.0 ± 3.2 , lurasidone 10 mg/kg: $33.3 \pm 7.7\%$, $t_{14}=4.64$, $P=0.0004$ 、図 8A)。10mg/kg 投与群では統計学的に有意な上昇であった。一方、ルラシドン以外の抗精神病薬を投与した際には、中用量もしくは高用量投与時に正答率の低下が惹起された (図 8B-F)。

表 2 にはルラシドン投与群として用いた動物 (No.22、78、81、144、147 および 155) を他の抗精神病薬の評価に使用した際のデータをすべて示した。10mg/kg のルラシドン投与時に正答率の上昇を示した個体は、他の薬剤を投与した際には正答率の上昇を示さず、タスクの遂行さえしないことがあった。

表 2 ルラシドンの 10mg/kg を投与した 6 個体の全データ

薬剤	用量 (mg/kg)	動物数	Difficult trial における正答率変化(%)	Omission 動物数
溶媒	-	5	0.0 ± 5.6	0
ルラシドン	0.3	1	0.0	0
	1	2	12.5	0
	10	6	33.3 ± 7.7	0
ハロペリドール	1	2	-50.0	0
オランザピン	3	1	0.0	0
	10	1	-37.5	1
リスペリドン	0.1	2	0.0	0
	0.3	1	-50.0	2
	1	1	-	1
クエチアピン	10	1	0.0	0

	30	1	-50.0	1
クロザピン	3	3	-12.5±7.2	0
	10	1	0.0	0

3-4. 要約と考察

コモンマーモセットに ORDT を適用し、ルラシドンとその他の抗精神病薬の作用を検討した。その過程でルラシドンのみが、**difficult trial** において正答率の上昇を誘発することを見出した。他の全ての抗精神病薬は成績を悪化させた。

Easy trial においては、コモンマーモセットはトレーニングの最初のセッションから透明な試験箱の壁に触れることなく報酬を得ることができ、試験を通して 80-90% の正答率を示した。このことから今回用いた報酬は、動物が課題を遂行する上でモチベーションを保つのに十分機能していたことを意味する。一方、**difficult trial** においてはトレーニング開始時には正答することは難しかったものの、徐々に正答率が上昇した。8 回目のトレーニングから 50% を超える正答率を示しその後ほぼ一定となったことから、正答率を上げる要素（例えば注意力、行動抑制力）と下げる要素（例えば衝動性、固執）が 50% 付近で釣り合っていると推測される。同様の 50% 付近での正答率の上止まりは、マカクザルを用いた研究においても報告されている[28,29]。このことは、ORDT の **difficult trial** を遂行するための脳機能がコモンマーモセットと他の非ヒト霊長類で同等であることを示唆する。また、ORDT の手法がヒトとコモンマーモセットで近いことから、本試験において得られた結果はヒトへの外挿性が高いと考える。Rutten らは PDE5 阻害剤であるシルデナフィルがマカクザルの認知機能を亢進することを報告した[28]。シルデナフィルはヒトにおいても注意機能を指標とした認知機能を亢進することが知られている[30,31]。その他、臨床でアルツハイマー病患者に用いられているドネペジルもサル（マカクザル）の ORDT において認知機能を亢進させることが知られて

いる[32]。これらの知見は、ORDT を用いた薬効評価結果が臨床効果を予想し得ることをサポートするものである。ルラシドンと同様に、これらの薬剤も easy trial の成績には作用を示さなかった。easy trial における結果は、認知機能を反映するものではなく、報酬に対するモチベーションや運動機能の指標と考えられる。

Nakazawa らは PET を用いて、ルラシドンとオランザピンが投与後 120 分の時点において、コモンマーモセットの線条体の D_2 受容体および前頭前皮質のセロトニン $5-HT_{2A}$ 受容体を十分占有していることを確認しており[33]、その ED_{50} はラットを用いたメタンフェタミン誘発行動量過多に対する ED_{50} と同等であった[1]。これらの結果から、本試験においてはラットの薬理試験を参考に用量設定した。しかしながら、各薬剤の薬物動態やバイオアベイラビリティについてはラット、マーモセットおよびヒトで必ずしも同等でない可能性は考えられる。

ルラシドン以外の薬剤では、傾眠や鎮静、嘔吐により課題に参加しない個体が見られた。これらの個体はデータ解析に含めていないので、difficult trial における不正答は間違った壁を触ってしまうという認知機能障害を反映していると考えられる。今回の試験では正確な反応時間は測定していないものの、30 秒というカットオフ時間の設定は、報酬に対するモチベーションの低下や重篤な運動機能障害を検出するには適切であったと考える。前述のような副作用はルラシドン投与群では最高用量でも出現しなかった。ルラシドンは認知機能に対して有用であるとともに高い忍容性を持つことが分かった。このような特長は患者の QOL の向上につながると考えられる。

今回の試験では同一の個体をすべての薬剤評価においてクロスオーバーで用いていないため、直接的に作用を比較することが難しい。しかしながら、10mg/kg のルラシドンを投与した際に正答率の上昇を示した 6 個体が、他の薬剤を投与された際には正答率の低下や omission を示したことから、ルラシドンによる認知機能向上作用は、投与された個体特有の反応ではなく薬剤の作用と考えられる。

ルラシドンはこれまで、ラットを用いた受動回避試験、モーリス水迷路試験、放射迷路試験や新規物体認知試験において認知機能が亢進されることが報告されている[14-16]。しかしながらその詳細なメカニズムについてはまだ明らかになっていない部分が多い。ルラシドンはドパミン D₂、セロトニン 5-HT_{2A} 受容体以外にも、セロトニン 5-HT_{1A} やセロトニン 5-HT₇ 受容体に高い親和性を持つ[1]。セロトニン 5-HT_{1A} 受容体作動薬やセロトニン 5-HT₇ 受容体拮抗薬はラット用いた受動回避試験、モーリス水迷路試験、新規物体認知試験において NMDA 受容体拮抗薬誘発の障害を改善することが報告されている[16,34]。セロトニン 5-HT_{1A} 受容体は眼窩前頭皮質に発現し、セロトニン神経系の機能を調節している[35]。またセロトニン 5-HT₇ 受容体拮抗薬がマイクロダイアリシスにおいて脳内のセロトニン量を増加させることが報告されている[36]。本試験系がセロトニン量に感受性があることを踏まえると、これらのメカニズムがルラシドンの認知機能向上メカニズムに関与している可能性が考えられる[37]

ヒトに ORDT を適用した際、difficult trial において幼児期には正答率が低いものの、成長とともに衝動性を抑えて正答を導くことを学び、最終的にはほぼ 100% の正答率を示すことが報告されている[38]。コモンマーモセットにおける正答率が 50% 程度にしか達しないことを考えると、naïve な状態でも何らかの疾患モデルと考えられるかもしれない。今後、ケタミンやフェンサイクリジンのような NMDA 受容体拮抗薬等を投与した統合失調症の病態モデル動物[39]と比較し、より臨床病態を反映した評価系構築を目指したい。さらに本試験では急性投与により薬効評価を行った。しかしながら臨床では抗精神病薬は長期にわたり服用される。作用、副作用ともより正確に予測するためには長期投与の検討も必要であろう。

第四章

ORDT におけるルラシドンの作用機序検討

4-1. 諸言

前章において、抗精神病薬の中でルラシドンのみが ORDT のパフォーマンスを向上させることを示した[40]。次にルラシドンによる認知機能改善作用のメカニズムについて検討を行った。ルラシドンの特徴であるセロトニン 5-HT_{1A} 受容体作動性やセロトニン 5-HT₇ 受容体拮抗作用は認知機能を改善することが報告されている[16,34]。しかしながら、例えばクロザピンやクエチアピンはセロトニン 5-HT_{1A} 受容体作動性を有し、セロトニン 5-HT₇ 受容体拮抗作用はオランザピンやリスペリドンも有するためこれらの作用のみで説明することは難しい。他と異なるルラシドン特異的な特徴として、我々はドパミン D₄ 受容体に対する親和性に注目した。

表 3 各種抗精神病薬のドパミン D₂ および D₄ 受容体に対する親和性

薬剤	親和性, Ki (nM)		D ₄ /D ₂ ratio
	D ₂	D ₄	
ルラシドン	0.99	29.7	30
ハロペリドール	0.4	1.9	4.8
クロザピン	63.6	32.6	0.51
リスペリドン	6.1	6.2	1.0
オランザピン	22	18	0.82
クエチアピン	420	1400	3.3

表 3 に各非定型抗精神病薬のドパミン D₂ 受容体およびドパミン D₄ 受容体に対する親和性を示した。他の非定型抗精神病薬がドパミン D₂ 受容体に対しほぼ同等

のドパミン D₄ 受容体親和性を示すのに対し、ルラシドンのみが 30 倍ほどの乖離がある[41-44]。ドパミン D₄ 受容体は 1991 年にクローニングされた G_{i/o} 共役型のドパミン D₂ 受容体ファミリーの一つである[45]。統合失調症の患者の死後脳で発現が上昇していること、ドパミン D₄ 受容体に強い拮抗活性を持つクロザピンが治療抵抗性の統合失調症に効果を示すこと等からドパミン D₄ 受容体と統合失調症の関連が示唆されていた。しかしながら、いくつかのドパミン D₄ 受容体選択的な拮抗薬が臨床試験において統合失調症の病態を改善しなかったため、正確な関連については現在でも明らかになっていない[48,49]。

一方、ドパミン D₄ 受容体が認知機能に対し重要な役割を持つことが、前頭前皮質や海馬における局在やドパミン D₄ 受容体の発現減少が注意機能低下を惹起すること等の非臨床試験から明らかとなってきた[50-52]。Sood らはドパミン D₄ 受容体の作動薬である PD168077 が NMDA 受容体拮抗薬誘発の認知機能障害を改善することをラットの新規物体認識試験で明らかにしている[53]。詳細なメカニズムは明らかになっていないものの、ドパミン神経系への直接的な関与およびノルアドレナリン神経系を介した間接的な関与から認知機能に何らかの役割を持っていると推測される[54,55]。

本研究において、我々はドパミン D₄ 受容体作動薬である Ro10-5824 および拮抗薬である L-745,870 の ORDT における作用を、コモンマーモセットを用いて検討した。また、ルラシドンとクロザピンの作用に対するドパミン D₄ 受容体システムの役割を検討した。

4-2. 実験方法

4-2-1. 使用動物

雄性 9 匹および雌性 14 匹のコモンマーモセット (*Callithrix jacchus*) を実験に

用いた。実験に供与した時点で 2-11 年齢であった。実験動物は室温 28 ± 2 °C、湿度 50 ± 20 % で管理された室内で個別に飼育された。7:00-19:00 を明期とし、食餌は (CMS-1M、日本クレア株式会社) 毎朝 1 回与えた。給水は自動給水で自由に飲める環境とした。すべての手順は大日本住友製薬株式会社実験動物委員会の承認の下実施された。

4-2-2. ORDT 試験手順

3-2-2 と同様に行った。

4-2-3. 薬剤調製および投与

ルラシドンおよびクロザピンは大日本住友製薬株式会社で合成した。これらの薬剤は 0.5% メチルセルロース(MC)に懸濁し、ORDT の 120 分前に 5mL/kg の容量で経口投与した。L-745,870 および Ro10-5824 は Tocris Bioscience より購入した。これらの薬剤は生理食塩水に溶解し使用した。L-745,870 は試験の 30 分前、Ro10-5824 は 60 分前に、大腿部の筋肉内に 0.5mL/kg の容量で投与した。

4-2-4. 統計処理

全ての値は平均値 \pm 標準誤差で表した。 t 検定後にボンフェローニ補正を行い、投与群間における薬剤の作用を評価した。

4-3. 実験結果

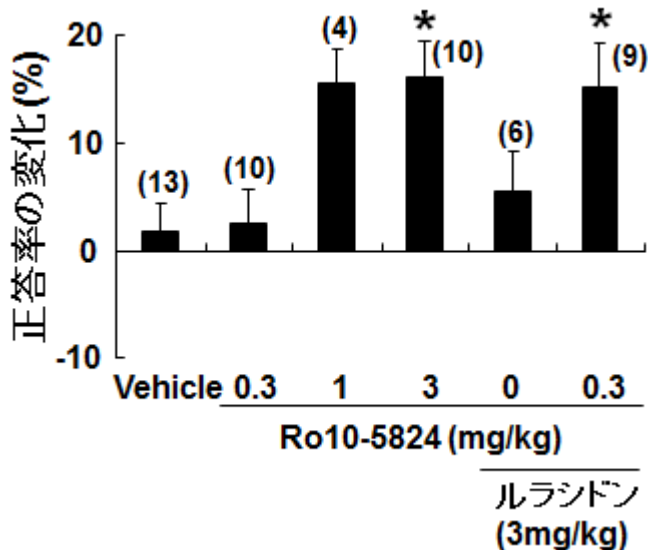
4-3-1. Ro10-5824 単独およびルラシドンとの併用作用

Ro10-5824 を投与されたコモンマーモセットでは、difficult trial において用量依存的な正答率の上昇が誘発された (図 9)。正答率の上昇は 3mg/kg 投与時に統計学的に有意であった(vehicle: 1.8 ± 2.6 , Ro10-5824 3 mg/kg: $16.3 \pm 3.3\%$, $t_{22}=3.53$, $P=0.0019$)。3mg/kg のルラシドンはほとんど正答率を上昇させない($5.6 \pm 3.7\%$, $t_{21}=0.87$, $P=0.40$)が、0.3mg/kg の Ro10-5824 と併用投与された際に、有意に正答率が上昇した($15.3 \pm 4.1\%$, $t_{21}=2.96$, $P=0.0074$)。Easy trial に対しては、どのような投与条件でも作用は見られなかった (データ省略)。

図 9

ORDT difficult trial における Ro10-5824 の作用
括弧内の数字はデータに含まれる動物数を示す。

* : $P < 0.05$ vs vehicle



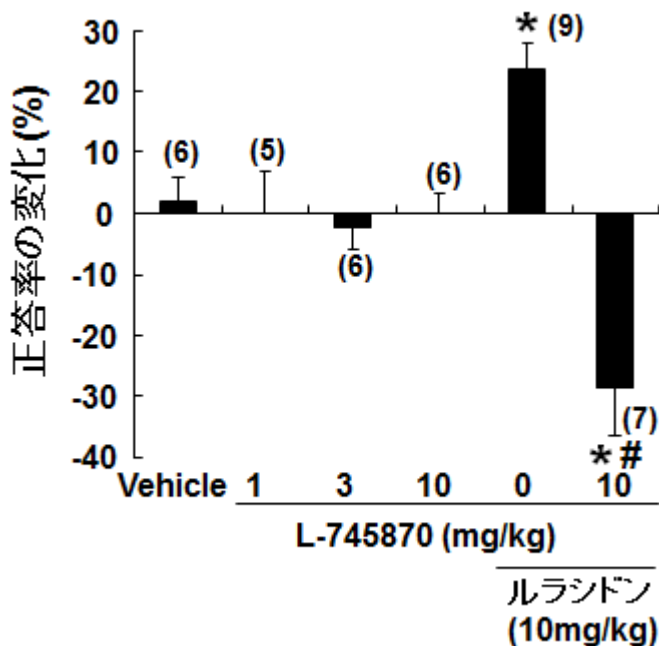
4-3-2. L-745,870 単独およびルラシドンとの併用作用

D₄受容体拮抗薬である L-745,870 は単独では 10mg/kg まで difficult trial の正答率に影響を与えなかった(vehicle: 2.1 ± 3.8, L-745,870: 0.0 ± 3.2%, $t_{10}=-0.42$, $P=0.69$ 、図 10)。しかしながら、ルラシドンと併用投与したところ、ルラシドン誘発の正答率の上昇に対し拮抗するのみではなく、vehicle 投与時よりも正答率を悪化させた(-28.6 ± 8.1%, $t_{14}=-6.04$, $p<0.0001$)。Easy trial に対しては、どのような投与条件でも作用は見られなかった (データ省略)。

図 10

ORDT difficult trial における L-745,782 の作用
括弧内の数字はデータに含まれる動物数を示す。

* : $P<0.05$ vs vehicle



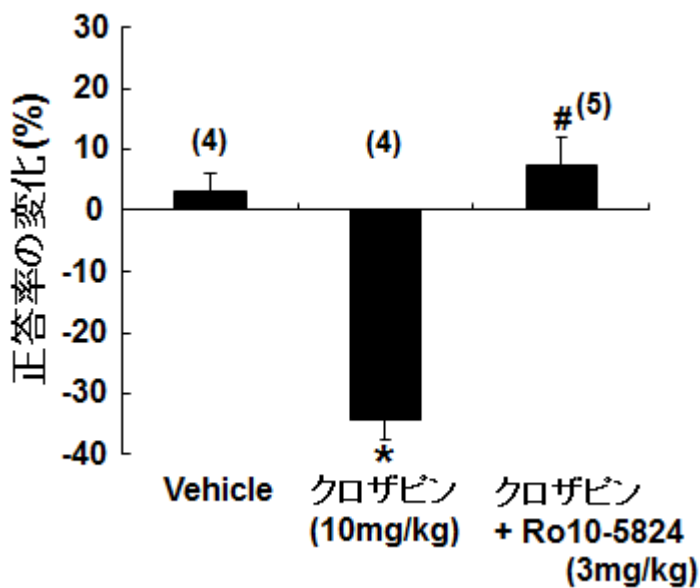
4-3-3. Ro10-5824 とクロザピンの併用作用

10mg/kg のクロザピンは difficult trial における正答率を低下させた(vehicle: 3.1 ± 3.1 , clozapine 10 mg/kg: $-34.4 \pm 3.1\%$, $t_6=8.49$, $p=0.0001$ 、図 11)。この正答率の低下は Ro10-5824 を併用することにより拮抗された($7.5 \pm 3.1\%$, $t_7=-9.46$, $p<0.0001$)。併用投与群の正答率変化は、溶媒投与群のものと差はなかった($t_7=-0.97$, $p=0.36$)。Easy trial に対しては無作用であった (データ省略)。

図 11

ORDT difficult trial におけるクロザピンと Ro10-5824 の併用効果
括弧内の数字はデータに含まれる動物数を示す。

* : $P<0.05$ vs vehicle # : $P<0.05$ vs クロザピン



4-4. 要約と考察

本研究では、 D_4 受容体作動薬である Ro10-5824 が ORDT の difficult trial における正答率を上昇させ、またクロザピン誘発の正答率低下に拮抗することを見出した。また、ルラシドンによる正答率の上昇が D_4 受容体拮抗薬である L-745,870 によって消失し、さらには正答率の低下が惹起されることを見出した。一方、いず

れの薬剤も easy trial には作用をしなかった。このことから、difficult trial における正答率の変化が報酬に対する意欲や運動機能の変化を反映したのではなく、認知機能（特に注意機能と衝動性のバランス）の変化を反映したものであると考えられる。今回得られた知見から、D₂とD₄受容体を同時に拮抗すると認知機能が障害されること[40]、ルラシドンがD₄受容体に低親和性であることが認知機能亢進作用に寄与している可能性が示された。

D₄拮抗薬であるL-745,870は単独ではdifficult trialの正答率に影響を与えなかった。一方、本化合物は臨床試験において統合失調症の病態を悪化させた[48]。また、Jentschらは他のD₄拮抗薬であるNDG94-1がnaïveなサルを用いたORDTによって正答率を悪化させることを報告している[56]。今回の結果と乖離する正確な理由は不明であるものの、例えば動物種、化合物や用量といった実験条件の違いが原因であるかもしれない。我々はコモンマーモセットを用いているが、KramerらやJentschらはそれぞれヒト、ベルベットモンキーを対象にしている。D₄受容体の生理機能の発現に関与するとの報告のあるタンデムリピート構造は、コモンマーモセット、マカクザルおよびヒトで共通であるという知見があるが[57]、認知機能に対するD₄受容体の寄与は種によって違いがあるのかもしれない。L-745,870とNDG94-1はともに他の代表的なモノアミン受容体と比較してD₄受容体を選択的であるが[58,59]、報告で使用されていた用量が多かった可能性がある。例えばNDG94-1は1mg/kg投与において既に、シグナルの伝達阻害の指標である脳脊髄液内のhomovanilic acid量が上昇していた[56]。従って、認知機能障害を惹起した5mg/kgは過用量であったと考えられる。また、臨床研究においてL-745,870は4週にわたり90%以上受容体が占有された状態であることが報告されていることから[48]、過剰にドパミンD₄受容体シグナルを阻害することは認知機能障害を惹起するのかもしれない。

Ro10-5824はdifficult trialにおいて用量依存的な正答率の上昇を誘発した。本化

合物はマウスの新規物体認識試験においても認知機能亢進作用が報告されている[60]。また別のドパミン D₄ 受容体選択的な作動薬である A-412997 もラットを用いた試験から認知機能を亢進することが報告されている[51]。これらの試験において、ドパミン D₄ 受容体作動薬を投与された動物は新規物体に対して長時間探索行動を示した。Young らは、5 肢選択課題試験においてドパミン D₄ 受容体ノックアウトマウスが衝動性に関わるエラーが増えたことを報告している[52]。これらの知見から、ドパミン D₄ 受容体システムが注意機能や衝動性に関わっていることが予想される。今回我々が得た結果もこの仮説に沿うものであり、かつ初めて非ヒト霊長類を用いてドパミン D₄ 受容体作動薬が実行機能を亢進することを見出したものである。

いずれも低用量の Ro10-5824 とルラシドンと同時に投与することによって difficult trial における正答率が上昇したことから、ルラシドンの作用メカニズムに少なくとも一部ドパミン D₄ 受容体活性化が関与している可能性が示された。ドパミン D₄ 受容体は前頭前皮質に広く分布しており種々の脳機能を調節している。そのため、同部位におけるドパミンシグナルの低下は、特に統合失調症に伴う認知機能障害だけではなく陰性症状も惹起する。ルラシドンが今回評価した抗精神病薬の中で唯一ドパミン D₄ 受容体に対して親和性が低いこと、また、前頭前皮質においてドパミンの代謝物を増加させることから、ルラシドンが間接的にドパミン D₄ 受容体を活性化させていることが考えられた[61]。

興味深いことに、L-745,870 単独では ORDT の成績に影響を与えないが、ルラシドンと L-745,870 を併用投与することで認知機能障害が惹起された。このことからドパミン D₂ と D₄ 受容体が同時に拮抗されることで認知機能障害が惹起されるという仮説を立てた (図 12)。一方、クロザピンが単独で difficult trial における正答率を低下させた結果は、アフリカミドリザルを用いた報告とも一致する[62]。さらに、ハロペリドール、オランザピン、リスペリドンおよびクエチアピンの全

てにおいて **difficult trial** における正答率が低下することが示された[40]。ここで、ルラシドン以外の薬剤はすべてドパミン D₂に加え D₄受容体に対しても強い拮抗活性を有する。これらの知見は上記仮説を支持するものであると考えられる。ドパミン D₄受容体はドパミン D₂受容体とヘテロダイマーを形成することが近年報告され、それぞれの受容体を介したシグナル伝達に相補的に働いていると考えられる[63]。クロザピンをはじめとする抗精神病薬やルラシドンとドパミン D₄受容体拮抗薬を併用投与時には、ドパミン神経系機能の過剰な低下が起こる結果として認知機能障害が現れることが考えられる。

仮説を検証する実験の一つとして、クロザピンと Ro10-5824 を併用投与した。認知機能の向上を予想したものの、我々の予想とは異なり溶媒投与群と同程度までしか正答率を改善しなかった。これにはいくつかの理由が考えられる。一つはドパミン D₄受容体の活性化が不十分であった可能性がある。クロザピンはドパミン D₂受容体よりも強いドパミン D₄受容体の拮抗活性を持つ (表 3)。そのため今回用いた用量の Ro10-5824 では認知機能の改善までには不十分であったのかもしれない。あるいは、他の受容体が関与する可能性も考えられる。クロザピンは、認知機能を低下させることが知られている抗コリン作用や抗ヒスタミン作用を有していることから、ドパミン D₄受容体を介した認知機能向上作用を消失させた可能性が考えられる[64,65]。

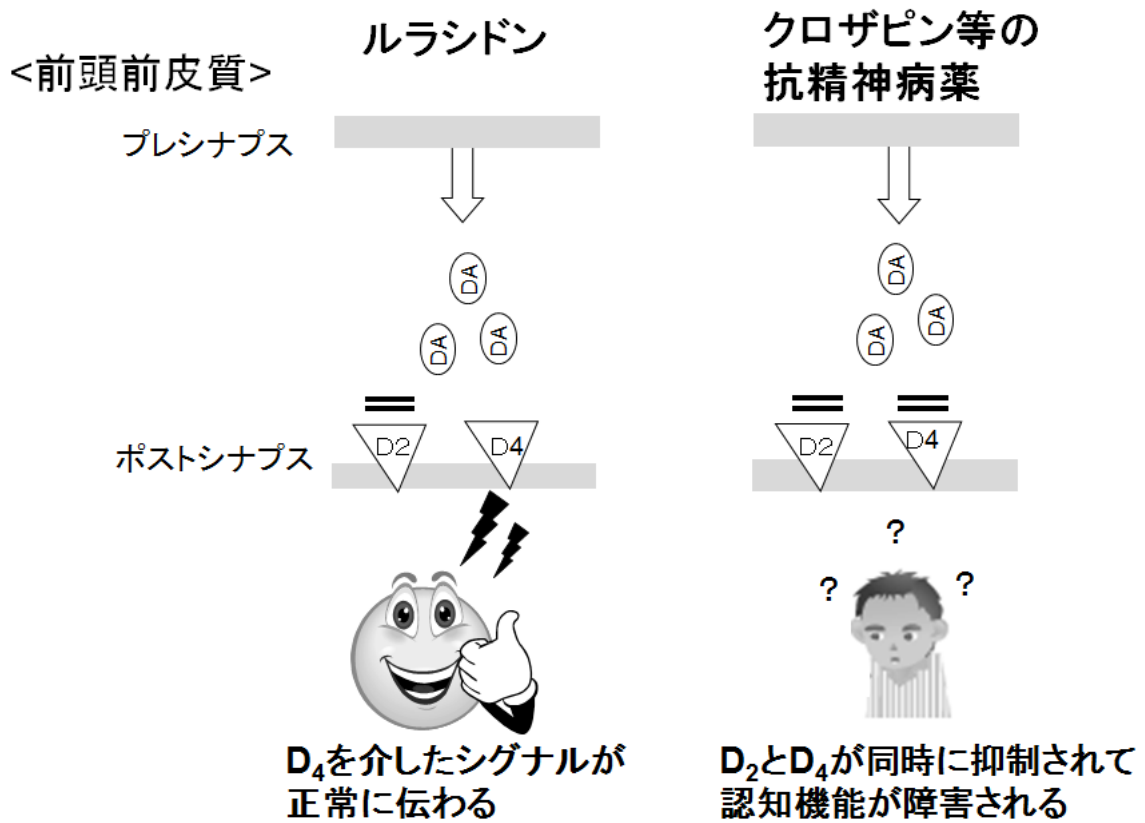


図 12

ドパミン D₂および D₄受容体を介した想定メカニズムの概図

第五章

ラット睡眠脳波に対するルラシドンの作用検討

5-1. 諸言

ルラシドンは統合失調症以外にも、臨床試験において単独またはリチウムやバルプロ酸との併用により双極 I 型障害うつを改善することが明らかとなり、2013 年に FDA に同疾患への適応拡大が認められた[2,3,66]。双極性障害や統合失調症では入眠困難、中途覚醒や早朝覚醒といった睡眠障害が報告されている[21, 22,67]。また、うつ症状と相関して REM 睡眠異常が現れることが明らかになっており、睡眠の質や量の改善は患者の QOL に直結すると考えられる。抗うつ薬による REM 睡眠の抑制は健常人でも観察されることから、REM 睡眠は抗うつ作用のバイオマーカーとしての有用性も期待されている[24,68]。

本研究では、ラットの睡眠脳波を測定した。NREM 睡眠および REM 睡眠の長さや潜時、出現頻度の他、NREM 睡眠中の各周波数帯の存在比率から抗うつ作用や睡眠改善作用のポテンシャルを検討した。

5-2. 実験方法

5-2-1. 使用動物

7 匹の雄性 Wistar ラットを実験に用いた。実験動物は室温 23 ± 3 °C、湿度 55 ± 15 % で管理された室内で個別に飼育された。7:00-19:00 を明期とし、自由に摂餌および飲水ができる環境とした。すべての手順は大日本住友製薬株式会社実験動物委員会の承認の下実施された。

5-2-2. 手術

ラットは40mg/kgのペントバルビタールナトリウムで麻酔後、脳定位固定装置に保定した。消毒後、頭皮を5cmほど切開し頭蓋を露出させた。送信器(Data Science Internatinal社のTL11M2-F40-EET)を頸部の切開面から挿入し、背部皮下に留置した。ブレグマから2mm前方、正中から2mm左の点と、ブレグマから4mm後方、正中から4mm左の点に2mm径のドリルで穴を開け、硬膜上に脳波測定用電極を留置した(図13)。アンカーとしてステンレス製のネジを、ブレグマから2mm後方、正中から2mm左の点に刺入した。電極およびアンカーネジは歯科用セメントを用いて固定した。筋電位測定用の電極は背側頸部に刺入し、手術用糸を用いて固定した。手術後、抗生物質と鎮痛剤を投与し回復させた。

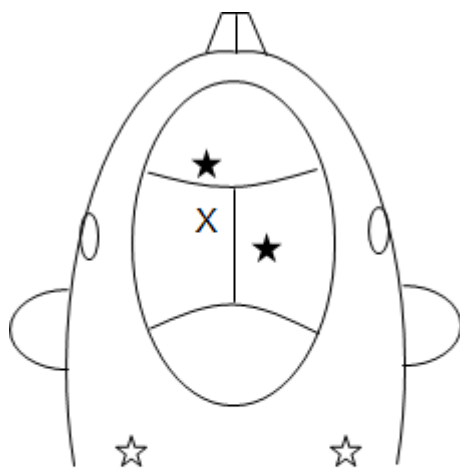


図 13
電極留置位置概図

- ★ 皮質脳波電極
- ☆ 筋電位電極
- X アンカーネジ留置

5-2-3. 脳波および筋電位の記録

動物は外科手術後に測定室に移動し、2週間以上の回復期間をおいた。測定室は10:00点灯-22:00消灯の明暗サイクルとした。脳波および筋電位測定は防音箱

内で実施した。薬剤または溶媒は明期の開始時に投与し、その後 6 時間脳波および筋電位の記録を行った。データ収集には Data Science International 社の Dataquest A.R.T software を用いた。薬効評価にあたり動物はクロスオーバー方式で使用し、全ての個体がすべての用量をランダムに投与されるようにした。少なくとも 5 日間の休薬期間を設けた。

5-2-4. 睡眠ステージの解析

睡眠ステージ解析にはキッセイコムテック社の Sleepsign3 ソフトウェアを用い 10 秒を 1 エポックとして覚醒 (WAKE)、ノンレム睡眠 (NREM 睡眠) およびレム睡眠 (REM 睡眠) の 3 ステージに分類した。図 14 にステージ判定アルゴリズムおよび各ステージの代表的なトレースを載せた。WAKE は筋電位の積分値が閾値を超えた場合とし定義した。筋電位がなく、かつデルタ波 (0.5-4Hz) のパワーが $1500\mu V^2$ を超えた場合を NREM 睡眠と定義した。REM 睡眠は、筋電位がなく、かつシータ波 (4-8Hz) のパワーが解析全域周波数帯 (0.5-80Hz) のパワーの 40% を超えた場合と定義した。記録時間 6 時間中の総 NREM 睡眠時間および REM 睡眠時間、最初に NREM 睡眠および REM 睡眠が出現するまでの潜時を算出した。なお、最初の NREM 睡眠および REM 睡眠は、初めてそれぞれ 6 エポックまたは 2 エポック連続して出現した場合と定義した。また、2 時間ごとの各ステージの出現回数および出現一回当たりの平均持続時間を算出した。

5-2-5. 脳波周波数解析

各ステージの判定をした後、NREM 睡眠中の各周波数帯域を定量化し、全周波数帯域中の存在比率を算出した。なお、周波数帯域は、全体を 0.5-80Hz とし、デルタ波を 0.5-4Hz、シータ波を 4-8Hz、アルファ波を 8-12Hz、ベータ波を 12-30Hz、ガンマ波を 30-80Hz とした。

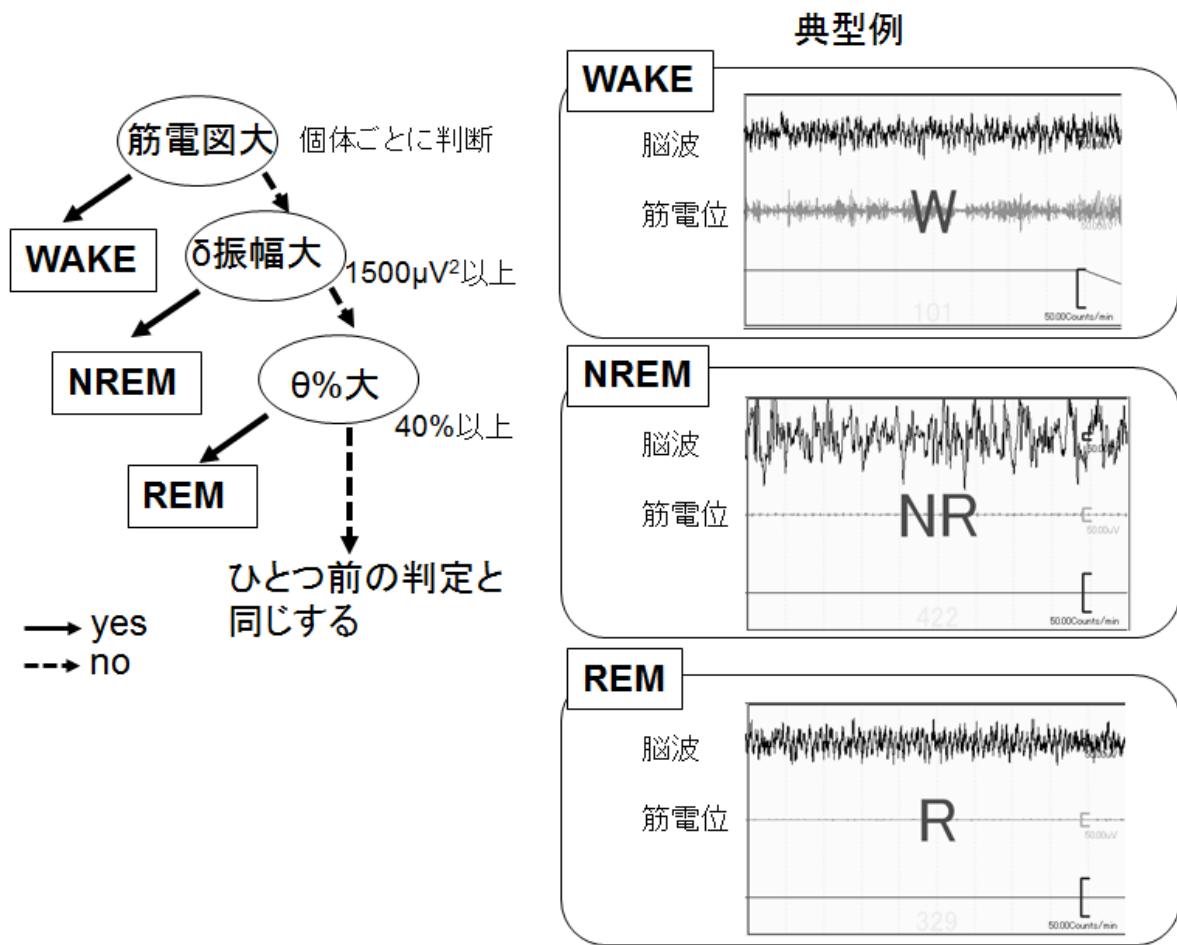


図 14
睡眠ステージ判定アルゴリズムと典型トレース

5-2-6. 薬剤調製および投与

ルラシドンは大日本住友製薬株式会社で合成した。0.5% メチルセルロース (MC)に懸濁し、5mL/kg の容量で経口投与した。

5-2-7. 統計処理

全ての値は平均値±標準誤差で表した。投与群間比較は Dunnett 型の多重比較法を用いて行い、薬剤の作用を評価した。

5-3. 実験結果

5-3-1. NREM 睡眠および REM 睡眠の総時間および潜時

ルラシドンは NREM 睡眠の総時間を 3mg/kg から有意に増加させた(3 mg/kg: 251.4 ± 4.1 , $t_{24}=3.8$, $P=0.0024$, 10 mg/kg: 259.8 ± 2.8 , $t_{24}=5.28$, $P<0.0001$)。潜時はやや短縮傾向を示したものの、10mg/kg でも有意な変化は見られなかった (図 15A、B)。REM 睡眠の総時間は 3 および 10mg/kg のルラシドンによって有意に減少した(3 mg/kg: 44.4 ± 5.2 , $t_{24}=2.59$, $P=0.042$, 10 mg/kg: 35.0 ± 3.2 , $t_{24}=-4.24$, $P=0.0008$)。潜時は延長傾向を示したものの、10mg/kg でも有意な変化ではなかった (図 15C、D)。

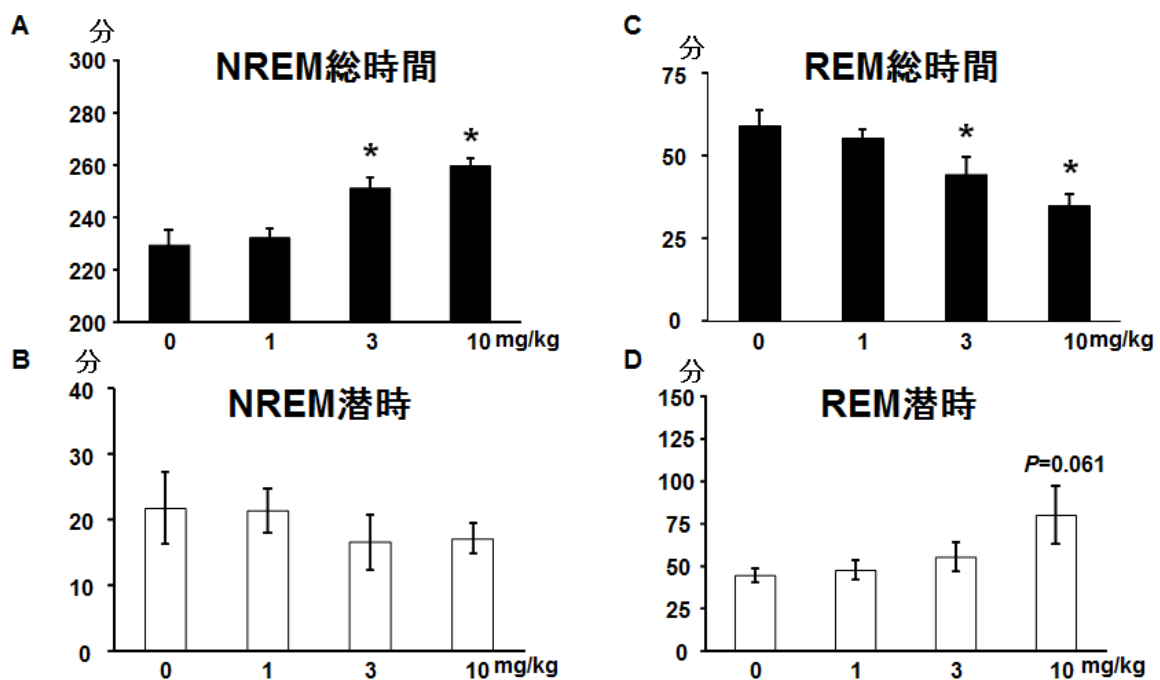


図 15

NREM 睡眠および REM 睡眠に対するルラシドンの作用

*: $P<0.05$ vs vehicle

5-3-2. 各ステージの出現回数および平均持続時間

記録開始から2時間の各ステージの出現回数と平均持続時間を表4に示した。ルラシドンはすべてのステージの出現回数を減少させた。また、NREM睡眠の平均持続時間が3mg/kgから有意に増加した。WAKEおよびREM睡眠の持続時間はそれぞれ増加および減少傾向を示した。

Dose (mg/kg)	Number of bouts			Bout duration (sec)		
	WAKE	REM	NREM	WAKE	REM	NREM
0	14.3 ± 0.9	10.4 ± 1.6	21.6 ± 1.6	134.4 ± 17.8	84.3 ± 11.0	214.3 ± 26.3
1	12.3 ± 1.2	7.4 ± 0.6	17.1 ± 1.6	157.7 ± 16.8	98.9 ± 8.6	281.7 ± 40.7
3	10.1 ± 2.0	5.7 ± 1.2*	14.3 ± 1.9*	167.7 ± 38.0	91.6 ± 13.3	405.3 ± 58.8*
10	8.6 ± 1.5*	3.0 ± 1.0*	11.0 ± 1.5*	257.9 ± 62.8	50.5 ± 15.5	530.6 ± 68.9*

表4 各ステージの出現回数および平均持続時間に対するルラシドンの作用

*: P<0.05 vs vehicle

5-3-3. NREM睡眠中の各周波数帯の存在比率の変化

表5には0.5-80Hzを全体とした際の、NREM睡眠中の各周波数帯の存在比率の変化を示した。デルタ波がルラシドン投与により増加を示した。一方、アルファ波からガンマ波の速波成分は有意に減少した。

	1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg
デルタ波	1.07 ± 1.2	2.34 ± 0.5	4.55 ± 0.9*
シータ波	-0.44 ± 0.4	-0.09 ± 0.2	-0.25 ± 0.3
アルファ波	-0.20 ± 0.3	-0.80 ± 0.1*	-1.51 ± 0.3*
ベータ波	-0.27 ± 0.6	-1.21 ± 0.2	-2.32 ± 0.6*
ガンマ波	-0.16 ± 0.2	-0.25 ± 0.1	-0.48 ± 0.2*

表5 NREM睡眠中の周波数帯域に対するルラシドンの作用

*: P<0.05 vs vehicle

5-4. 要約と考察

本研究からルラシドンが①NREM 睡眠を増加させ、かつ中途覚醒を抑制すること、②うつ症状のバイオマーカーである REM 睡眠を抑制すること、および③生理的な深い睡眠を誘発することが明らかとなった。

ルラシドンは総 NREM 睡眠時間を増加させかつ総 REM 睡眠時間を減少させた。またすべての睡眠ステージの出現回数を減少させ、NREM 睡眠の出現一回当たりの平均持続時間を延長した。これらの結果からルラシドンには中途覚醒を抑制する作用があると考えられる。睡眠の分断化は睡眠潜時の増加や早朝覚醒と同様に双極性障害患者で報告されており、ルラシドンの作用は患者の QOL の改善につながることを期待される[67]。

REM 睡眠は抗うつ作用のバイオマーカーと考えられている[24,68]。本研究において、ルラシドンは REM 睡眠抑制作用を示した。データは示していないものの、抗うつ薬の一つであるパロキセチンでも同様の知見を得ている。ルラシドンによる抗うつ作用は、ラットにおいては嗅球摘出モデルにおいて、また臨床試験においても、うつに関連するスコアを改善することが明らかとなっている[1-3,66]。今回得られた知見は、ルラシドンのうつ症状に対する有効性を生理学的変化の側面からサポートするものであると考えられる。

いくつかの抗精神病薬による睡眠導入作用がこれまでに報告されている。そのメカニズムにはセロトニン 5-HT_{2A} 受容拮抗作用、抗ヒスタミン作用、抗コリン作用および抗アドレナリン作用等が示唆されている[69-71]。ルラシドンはセロトニン 5-HT_{2A} 受容体拮抗作用を有している。セロトニン 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬である MDL100907 はラットを用いた試験において、睡眠潜時には作用しないものの WAKE と NREM 睡眠の総時間をそれぞれ減少および増加させ、さらにそのステージの出現回数及び平均持続時間もルラシドンと同様の作用を呈し、REM 睡眠に対しては影響しないことが報告されている[72]。一方、セロトニン 5-HT_{1A} 受容体作

動薬であるブスピロンやイプサピロンは、NREM 睡眠や REM 睡眠の潜時を延長するとともに REM 睡眠の総時間を減少させることが報告されている[73-75]。同様にセロトニン 5-HT₇ 受容体拮抗薬である SB-269970 や JNJ-18038683 も、REM 睡眠抑制作用並びに抗うつ作用を有し、NREM 睡眠には影響しないことがラットやヒトの試験から明らかとなっている[68,76,77]。以上の報告からルラシドンによる NREM 睡眠惹起作用および REM 睡眠抑制作用は、セロトニン 5-HT_{2A}、5-HT_{1A} および 5-HT₇ 受容体を含む複合メカニズムの結果である可能性が示された。本メカニズムを明確にするためには、特定の受容体の作動薬・拮抗薬の併用、あるいは遺伝子改変動物を使用する実験等、より直接的なアプローチが必要であると考えられる。

NREM 睡眠中の周波数解析からは、ルラシドンがデルタ波の割合を増加させて深い睡眠を惹起していることが明らかとなった。ベンゾジアゼピン系の睡眠薬も睡眠を惹起する。しかしながらそれらは速波成分を増加させることが知られている[78]。ルラシドンによる睡眠はより生理的なものであり、このことはルラシドンの利点と考えられる。本研究はラットの非活動期において実施された。夜間における迅速な入眠は理想的であるものの、抗精神病薬による日中の眠気は副作用の一つと考えられている。今後、ルラシドンがラットの活動期において睡眠ステージにどのように作用するか明らかにしていきたい。

第六章

総括

今回の一連の研究から、以下のことが新しく明らかとなった。

- ①非ヒト霊長類において、代表的な抗精神病薬のうちルラシドンのみが認知機能亢進作用を示した。これは臨床データと一致するものであり、これまでのげっ歯類を用いた評価からは得られなかった知見である。本試験系の臨床効果予測性の高さが示された。
- ②ドパミン D₂ および D₄ 受容体が同時に阻害されることにより認知機能障害が惹起される可能性が見出された。今後の中枢神経系疾患治療における創薬の方向性の手掛かりとなる情報である。
- ③ルラシドンが睡眠障害を改善する可能性および抗うつ作用を示す可能性がラットを用いた検討から示された。統合失調症や双極性障害における不眠やうつ状態を改善し得ることは他の抗精神病薬に比べてメリットとなると考えられる。

上記のうち認知機能向上作用には、ルラシドンがドパミン D₄ 受容体に親和性を持たないことが寄与している可能性が示唆された。また、脳波を指標にした睡眠ステージ解析から、ルラシドンはセロトニン 5-HT_{1A} 受容体活性化作用やセロトニン 5-HT_{2A} 受容体拮抗作用、セロトニン 5-HT₇ 受容体拮抗作用等複数の受容体を介し、NREM 睡眠の誘発や REM 睡眠を抑制する可能性が示された。

ルラシドンはその独自の受容体親和性プロファイルから認知機能障害や睡眠障害といった統合失調症患者におけるアンメットニーズを満たし、患者の QOL を改善する治療薬となることが期待される。

第七章

謝辞

本研究に際し、終始ご懇切なご指導を賜りました名古屋市立大学大学院薬学研究科 糸和彦教授に深甚なる敬意を表します。

本論文の作成にあたり、ご高閲を賜りました名古屋市立大学大学院薬学研究科 今泉祐治教授、服部光治教授、田中正彦准教授に深く感謝いたします。

本研究を進めるにあたり、絶えざるご助言とご協力を頂きました大日本住友製薬（株）先端創薬研究所長の石山健夫博士、創薬開発研究所の池田和仁博士、池尻勝様、中道景子様、仲子友和様をはじめとする中枢薬理担当の皆様にご心から感謝の意を表します。

最後に本研究を遂行する機会を与えてくださり、また終始ご理解とご激励を賜りました大日本住友製薬（株）研究本部長の野口浩博士、研究本部の泰地睦夫博士、創薬開発研究所長の志水勇夫博士に厚くお礼申し上げます。

第八章

参考文献

- [1] Ishibashi T, Horisawa T, Tokuda K, Ishiyama T, Ogasa M, Tagashira R, Matsumoto K, Nishikawa H, Ueda Y, Toma S, Oki H, Tanno N, Saji I, Ito A, Ohno Y, Nakamura M. 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: 171-81.
- [2] Citrome L. Lurasidone for schizophrenia: a review of the efficacy and safety profile for this newly approved second-generation antipsychotic. *Int J Clin Pract* 2011; 65: 189-210.
- [3] Loebel, A., Cucchiaro, J., Silva, R., Kroger, H., Sarma, K., Xu, J., Calabrese, J.R., 2013. Lurasidone as Adjunctive Therapy With Lithium or Valproate for the Treatment of Bipolar I Depression: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Am J Psychiatry* 2014; 171: 169-77.
- [4] Loebel, A., Cucchiaro, J., Silva, R., Kroger, H., Hsu, J., Sarma, K., Sachs, G., 2013. Lurasidone Monotherapy in the Treatment of Bipolar I Depression: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Am J Psychiatry* 2014; 171: 160-8.
- [5] Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, “just the facts” what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res* 2008; 102: 1-18.
- [6] Green MF, Nuechterlein KH, Gold JM, Barch DM, Cohen J, Essock S, Fenton WS, Frese F, Goldberg TE, Heaton RK, Keefe RS, Kern RS, Kraemer H, Stover E, Weinberger DR, Zalcman S, Marder SR. Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: the NIMH-MATRICES conference to select cognitive domains and test criteria. *Biol Psychiatry* 2004; 56: 301-7.

- [7] Harvey PD, Green MF, Keefe RS, Velligan DI. Cognitive functioning in schizophrenia: a consensus statement on its role in the definition and evaluation of effective treatments for the illness. *J Clin Psychiatry* 2004; 65: 361-72.
- [8] Green MF, Kern RS, Braff DL, Mintz J. Neurocognitive deficits and functional outcome in schizophrenia: are we measuring the "right stuff"? *Schizophr Bull* 2000; 26: 119-36.
- [9] Sharma T, Antonova L. Cognitive function in schizophrenia. Deficits, functional consequences, and future treatment. *Psychiatr Clin North Am* 2003; 26: 25-40.
- [10] Nuechterlein KH, Barch DM, Gold JM, Goldberg TE, Green MF, Heaton RK. Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. *Schizophr Res* 2004; 72: 29-39.
- [11] Wu JC, Buchsbaum MS, Bunney WE. Positron emission tomography study of phencyclidine users as a possible drug model of schizophrenia. *Yakubutsu Seishin Kodo* 1991; 11: 47-8.
- [12] Brown VJ, Bowman EM. Rodent models of prefrontal cortical function. *Trends Neurosci* 2002; 25: 340-3.
- [13] Uylings HB, Groenewegen HJ, Kolb B. Do rats have a prefrontal cortex? *Behav Brain Res* 2003; 146: 3-17.
- [14] 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* 2007; 572: 160-70.
- [15] Enomoto T, Ishibashi T, Tokuda K, Ishiyama T, Toma S, Ito A. Lurasidone reverses MK-801-induced impairment of learning and memory in the Morris water maze and radial-arm maze tests in rats. *Behav Brain Res* 2008; 186: 197-207.
- [16] Horiguchi M, Huang M, Meltzer HY. The role of 5-hydroxytryptamine 7 receptors in

- the phencyclidine-induced novel object recognition deficit in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 338: 605-14.
- [17] Newman JD, Kenkel WM, Aronoff EC, Bock NA, Zametkin MR, Silva AC. A combined histological and MRI brain atlas of the common marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. *Brain Res Rev* 2009; 62: 1-18.
- [18] Sasaki E, Suemizu H, Shimada A, Hanazawa K, Oiwa R, Kamioka M, Tomioka I, Sotomaru Y, Hirakawa R, Eto T, Shiozawa S, Maeda T, Ito M, Ito R, Kito C, Yagihashi C, Kawai K, Miyoshi H, Tanioka Y, Tamaoki N, Habu S, Okano H, Nomura T. Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature* 2009; 459: 523-7.
- [19] Schatten G, Mitalipov S. Developmental biology: Transgenic primate offspring. *Nature* 2009; 459: 515-6.
- [20] Cagni P, Gonçalves I Jr, Ziller F, Emile N, Barros M. Humans and natural predators induce different fear/anxiety reactions and response pattern to diazepam in marmoset monkeys. *Pharmacol Biochem Behav* 2009; 93: 134-40.
- [21] Peterson MJ, Benca RM. Sleep in mood disorders. *Psychiatr Clin North Am* 2006; 29: 1009-32.
- [22] Argyropoulos S, Wilson S. Sleep disturbances in depression and the effects of antidepressants. *International Review of Psychiatry* 2005; 17: 237-45.
- [23] Kluge M, Schüssler P, Steiger A. Duloxetine increases stage 3 sleep and suppresses rapid eye movement (REM) sleep in patients with major depression. *Eur Neuropsychopharmacol* 2007; 17: 527-31.
- [24] Murck H, Nickel T, Künzel H, Antonijevic IA, Schill J, Zobel A, et al. State markers of depression in sleep EEG: dependency on drug and gender in patients treated with tianeptine or paroxetine. *Neuropsychopharmacology* 2003; 28: 348-58.
- [25] Diamond A, Zola-Morgan S, Squire LR. Successful performance by monkeys with

- lesions of the hippocampal formation on AB and object retrieval, two tasks that mark developmental changes in human infants. *Behav Neurosci* 1989; 103: 526-37.
- [26] Wilkinson LS, Dias R, Thomas KL, Augood SJ, Everitt BJ, Robbins TW, Roberts AC. 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* 1997; 80: 717-30.
- [27] 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; 13: 1797-808.
- [28] 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)* 2008; 196: 643-8.
- [29] Ballard TM, Knoflach F, Prinssen E, Borroni E, Vivian JA, Basile J, Gasser R, Moreau JL, Wettstein JG, Buettelmann B, Knust H, Thomas AW, Trube G, Hernandez MC. RO4938581, a novel cognitive enhancer acting at GABAA alpha5 subunit-containing receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 2009; 202: 207-23.
- [30] Grass H, Klotz T, Fathian-Sabet B, Berghaus G, Engelmann U, Kaferstein H. Sildenafil (Viagra): is there an influence on psychological performance? *Intern Urol Nephrol* 2001; 32: 409–12.
- [31] Schultheiss D, Muller SV, Nager W, Stief CG, Schlote N, Jonas U, Asvestis C, Johannes S, Munte TF. Central effects of sildenafil (Viagra) on auditory selective attention and verbal recognition memory in humans: a study with event-related brain potentials. *World J Urol* 2001; 19: 46–50.
- [32] Tinsley MR, Basile JL, Van-Natta K, Yeo H. Cognition enhancing effects of nicotinic acetylcholine alpha-7 receptor agonists in prefrontal cortex mediated tasks in adult monkeys. 37th Annu Meet Soc Neurosci (November 3-7, San Diego) 2007; Abst

746.3.

- [33] Nakazawa S, Yokoyama C, Nishimura N, Horisawa T, Kawasaki A, Mizuma H, Doi H, Onoe H. Evaluation of dopamine D₂/D₃ and serotonin 5-HT_{2A} receptor occupancy for a novel antipsychotic, lurasidone, in conscious common marmosets using small-animal positron emission tomography. *Psychopharmacology (Berl)* 2013; 225: 329-39.
- [34] Horisawa T, Ishibashi T, Nishikawa H, Enomoto T, Toma S, Ishiyama T, Taiji M. The effects of selective antagonists of serotonin 5-HT₇ and 5-HT_{1A} receptors on MK-801-induced impairment of learning and memory in the passive avoidance and Morris water maze tests in rats: mechanistic implications for the beneficial effects of the novel atypical antipsychotic lurasidone. *Behav Brain Res* 2011; 220: 83-906.
- [35] Puig MV, Gullledge AT. Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. *Mol Neurobiol* 2011; 44: 449-64.
- [36] Wesółowska A, Kowalska M. Influence of serotonin 5-HT(7) receptor blockade on the behavioral and neurochemical effects of imipramine in rats. *Pharmacol Rep* 2008; 60: 464-74.
- [37] Walker SC, Mikheenko YP, Argyle LD, Robbins TW, Roberts AC. Selective prefrontal serotonin depletion impairs acquisition of a detour-reaching task. *Eur J Neurosci* 2006; 23: 3119-23.
- [38] Diamond A. Developmental time course in human infants and infant monkeys, and the neural bases of, inhibitory control in reaching. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 608: 637-76.
- [39] Krystal JH, D'Souza DC, Mathalon D, Perry E, Belger A, Hoffman R. NMDA receptor antagonist effects, cortical glutamatergic function, and schizophrenia: toward a paradigm shift in medication development. *Psychopharmacology (Berl)* 2003; 169: 215-33.

- [40] Murai T, Nakako T, Ikejiri M, Ishiyama T, Taiji M, Ikeda K. Effects of lurasidone on executive function in common marmosets. *Behav Brain Res* 2013; 246: 125-31.
- [41] Ishiyama T, Loebel A, Cucchiaro J, Horisawa T, Tokuda K, Ogasa M, Ishibashi T, Stahl SM. Comparative receptor binding profile of lurasidone and other first and second generation antipsychotics. 27th World Congr CINP 2010; Abst P-20.038.
- [42] Millan MJ, Brocco M, Gobert A, Schreiber R, Dekeyne A. S-16924 [(R)-2-[1-[2-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-5-yloxy)-ethyl]-pyrrolidin-3yl]-1-(4-fluorophenyl)-ethanone], a novel, potential antipsychotic with marked serotonin_{1A} agonist properties: III. Anxiolytic actions in comparison with clozapine and haloperidol. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 288: 1002-14.
- [43] Shahid M, Walker GB, Zorn SH, Wong EH. Asenapine: a novel psychopharmacologic agent with a unique human receptor signature. *J Psychopharmacol* 2009; 23: 65-73.
- [44] Vangveravong S, Zhang Z, Taylor M, Bearden M, Xu J, Cui J, Wang W, Luedtke RR, Mach RH. Synthesis and characterization of selective dopamine D₂ receptor ligands using aripiprazole as the lead compound. *Bioorg Med Chem* 2011; 19: 3502-11.
- [45] Van Tol HHM, Bunzow JR, Guan HC, Sunahara RK, Seeman P, Niznik HB, Civelli O. Cloning of the gene for a human dopamine D₄ receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 1991; 350: 610-4.
- [46] Seeman P, Guan HC, Van Tol HH, Dopamine D₄ receptors elevated in schizophrenia. *Nature* 1993; 365: 441-5.
- [47] Murray AM, Hyde TM, Knable MB, Herman MM, Bigelow LB, Carter JM, Weinberger DR, Kleinman JE. Distribution of putative D₄ dopamine receptors in postmortem striatum from patients with schizophrenia. *J Neurosci* 1995; 15: 2186-91.
- [48] Kramer MS, Last B, Getson A, Reines SA. The effects of a selective D₄ dopamine

- receptor antagonist (L-745,870) in acutely psychotic inpatients with schizophrenia. D4 Dopamine Antagonist Group. *Arch Gen Psychiatry* 1997; 54: 567-72.
- [49] Corrigan MH, Gallen CC, Bonura ML, Merchant KM. Effectiveness of the selective D4 antagonist sonepiprazole in schizophrenia: a placebo-controlled trial. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 445-51.
- [50] Bernaerts P, Tirelli E. Facilitatory effect of the dopamine D4 receptor agonist PD168,077 on memory consolidation of an inhibitory avoidance learned response in C57BL/6J mice. *Behav Brain Res* 2003; 142: 41-52.
- [51] Woolley ML, Waters KA, Reavill C, Bull S, Lacroix LP, Martyn AJ, Hutcheson DM, Valerio E, Bate S, Jones DN, Dawson LA. Selective dopamine D4 receptor agonist (A-412997) improves cognitive performance and stimulates motor activity without influencing reward-related behaviour in rat. *Behav Pharmacol* 2008; 19: 765-76.
- [52] Young JW, Powell SB, Scott CN, Zhou X, Geyer MA. The effect of reduced dopamine D4 receptor expression in the 5-choice continuous performance task: Separating response inhibition from premature responding. *Behav Brain Res* 2011; 222: 183-92.
- [53] Sood P, Idris NF, Cole S, Grayson B, Neill JC, Young AM. PD168077, a D(4) receptor agonist, reverses object recognition deficits in rats: potential role for D(4) receptor mechanisms in improving cognitive dysfunction in schizophrenia. *J Psychopharmacol* 2011; 25: 792-800.
- [54] Lanau F, Zenner MT, Civelli O, Hartman DS. Epinephrine and norepinephrine act as potent agonists at the recombinant human dopamine D4 receptor. *J Neurochem* 1997; 68: 804-12.
- [55] Newman-Tancredi A, Audinot-Bouchez V, Gobert A, Millan MJ. Noradrenaline and adrenaline are high affinity agonists at dopamine D4 receptors. *Eur J Pharmacol* 1997; 319: 379-83.

- [56] Jentsch JD, Taylor JR, Redmond DE Jr, Elsworth JD, Youngren KD, Roth RH. Dopamine D4 receptor antagonist reversal of subchronic phencyclidine-induced object retrieval/detour deficits in monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 1999; 142: 78-84.
- [57] Matsumoto M, Hidaka K, Tada S, Tasaki Y, Yamaguchi T. Polymorphic tandem repeats in dopamine D4 receptor are spread over primate species. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 207: 467-75.
- [58] Tallman JF, Primus RJ, Brodbeck R, Cornfield L, Meade R, Woodruff K, Ross P, Thurkauf A, Gallager DW. I. NGD 94-1: identification of a novel, high-affinity antagonist at the human dopamine D4 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 282: 1011-9.
- [59] Millan MJ, Newman-Tancredi A, Brocco M, Gobert A, Lejeune F, Audinot V, Rivet JM, Schreiber R, Dekeyne A, Spedding M, Nicolas JP, Peglion JL. S 18126 ([2-[4-(2,3-dihydrobenzo[1,4]dioxin-6-yl)piperazin-1-yl methyl]indan-2-yl]), a potent, selective and competitive antagonist at dopamine D4 receptors: an in vitro and in vivo comparison with L 745,870 (3-(4-[4-chlorophenyl]piperazin-1-yl)methyl-1H-pyrrolo[2, 3b]pyridine) and raclopride. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 287: 167-86.
- [60] Powell SB, Paulus MP, Hartman DS, Godel T, Geyer MA. RO-10-5824 is a selective dopamine D4 receptor agonist that increases novel object exploration in C57 mice. *Neuropharmacology* 2003; 44: 473-81.
- [61] Huang M, Horiguchi M, Felix AR, Meltzer HY. 5-HT1A and 5-HT7 receptors contribute to lurasidone-induced dopamine efflux. *Neuroreport* 2012; 23: 436-40.
- [62] Jentsch JD, Redmond DE Jr, Elsworth JD, Taylor JR, Youngren KD, Roth RH. Enduring cognitive deficits and cortical dopamine dysfunction in monkeys after long-term administration of phencyclidine. *Science* 1997; 277: 953-5.

- [63] Borroto-Escuela DO, Van Craenenbroeck K, Romero-Fernandez W, Guidolin D, Woods AS, Rivera A, Haegeman G, Agnati LF, Tarakanov AO, Fuxe K. Dopamine D2 and D4 receptor heteromerization and its allosteric receptor-receptor interactions. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 404: 928-34.
- [64] Kamei C, Chung YH, Tasaka K. Influence of certain H1-blockers on the step-through active avoidance response in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 1990; 102: 312-8.
- [65] Mori K, Yamashita H, Nagao M, Horiguchi J, Yamawaki S. Effects of anticholinergic drug withdrawal on memory, regional cerebral blood flow and extrapyramidal side effects in schizophrenic patients. *Pharmacopsychiatry* 2002; 35: 6-11.
- [66] Citrome L, Ketter TA, Cucchiaro J, Loebel A. Clinical assessment of lurasidone benefit and risk in the treatment of bipolar I depression using number needed to treat, number needed to harm, and likelihood to be helped or harmed. *J Affect Disord* 2014; 155: 20-7.
- [67] Harvey AG. Sleep and circadian rhythms in bipolar disorder: seeking synchrony, harmony, and regulation. *Am J Psychiatry* 2008; 165: 820-9.
- [68] Bonaventure P, Dugovic C, Kramer M, De Boer P, Singh J, Wilson S, Bertelsen K, Di J, Shelton J, Aluisio L, Dvorak L, Fraser I, Lord B, Nepomuceno D, Ahnaou A, Drinkenburg W, Chai W, Dvorak C, Sands S, Carruthers N, Lovenberg TW. Translational evaluation of JNJ-18038683, a 5-hydroxytryptamine type 7 receptor antagonist, on rapid eye movement sleep and in major depressive disorder. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 342: 429-40.
- [69] Gerlach J, Peacock L. New antipsychotics: the present status. *Int Clin Psychopharmacol* 1995; 10: 39-48.
- [70] Ishida T, Obara Y, Kamei C. Effects of some antipsychotics and a benzodiazepine

- hypnotic on the sleep-wake pattern in an animal model of schizophrenia. *J Pharmacol Sci* 2009; 111: 44-52.
- [71] Krystal AD, Goforth HW, Roth T. Effects of antipsychotic medications on sleep in schizophrenia. *Int Clin Psychopharmacol* 2008; 23: 50-60.
- [72] Morairty SR, Hedley L, Flores J, Martin R, Kilduff TS. Selective 5HT_{2A} and 5HT₆ receptor antagonists promote sleep in rats. *Sleep* 2008; 31: 34-44.
- [73] Lerman JA, Kaitin KI, Dement WC, Peroutka SJ. The effects of buspirone on sleep in the rat. *Neurosci Lett* 1986; 72: 64-8.
- [74] Monti JM, Jantos H, Silveira R, Reyes-Parada M, Scorza C. Sleep and waking in 5,7-DHT-lesioned or (-)-pindolol-pretreated rats after administration of buspirone, ipsapirone, or gepirone. *Pharmacol Biochem Behav* 1995; 52: 305-12.
- [75] Shelton J, Bonaventure P, Li X, Yun S, Lovenberg T, Dugovic C. 5-HT₇ receptor deletion enhances REM sleep suppression induced by selective serotonin reuptake inhibitors, but not by direct of 5-HT_{1A} receptor. *Neuropharmacology* 2009; 56: 448-454.
- [76] Hagan JJ, Price GW, Jeffrey P, Deeks NJ, Stean T, Piper D, Smith MI, Upton N, Medhurst AD, Middlemiss DN, Riley GJ, Lovell PJ, Bromidge SM, Thomas DR. Characterization of SB-269970-A, a selective 5-HT(7) receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 539-48.
- [77] Hedlund PB, Huitron-Resendiz S, Henriksen SJ, Sutcliffe JG. 5-HT₇ receptor inhibition and inactivation induce antidepressantlike behavior and sleep pattern. *Biol Psychiatry* 2005; 58: 831-7.
- [78] Tan X, Uchida S, Matsuura M, Nishihara K, Iguchi Y, Kojima T. Benzodiazepine effects on human sleep EEG spectra: a comparison of triazolam and flunitrazepam. *Life Sci* 1998; 63: 675-84.