

KOLECYSTOKININ-RECEPTORER

Mål för morgondagens psykofarmaka?

Studier av neuropeptiden kolecystokinin och dess verkningar öppnar nya vägar inom den psykofarmakologiska forskningen.

Receptorerna för kolecystokinin delas in i två typer: CCK_A- och CCK_B-receptorer. Ämnen som binder specifikt till dessa, s k ligander, kan sannolikt modulera bland annat panikångest, smärta och motoriska rubbningar såsom Parkinsonism. Möjligen kan även dessa ligander i framtiden prövas som medicinering vid schizofrena sjukdomar.

Kolecystokinin, CCK, fick sitt namn tack vare förmågan att kontrahera gallblåsan. Sökandet efter hormonet började redan vid sekelskiftet och aminosyrasekvensen för CCK-33 fastställdes 1968 av Mutt och Jorpes, i samband med isoleringen av hormonet från tunntarmen hos gris [1].

Sju år senare, 1975, fann Vanderhaegen även CCK i hjärnan hos diverse ryggradsdjur inklusive människa [2]. Denna form av CCK visade sig vara den sulfaterade formen av CCK-8 [3], (Figur 1).

Det stod snart klart att den utgjorde en stor del av den aktiva formen i hjärnan [4]. CCK förekommer rikligt i hjärnregioner som är viktiga för medvetandet, kognitiva funktioner och känslolivet. CCK samexisterar med andra signalsubstanter i nervceller, som till exempel med dopamin i det mesolimbiska systemet. Detta visades för första

gången 1980 av Hökfelt och medarbetare [5]. Upptäckten har tjänat som inspirationskälla i forskningen kring CCK och schizofreni.

År 1984 klonades prepro-CCK-cDNA från råtta [8]. cDNA står för komplementärt DNA och ger sekvensen för peptidkodande mRNA. 1985 klonades prepro-CCK-cDNA från människa [9]. Detta ledde till en ökad förståelse för kemin kring CCK. Hos människa är CCK-genen lokaliserad till kromosom 3 [10].

Liten kunskap om hormonets roll i hjärnan

CCK är etablerat som ett gastrointestinallyt hormon och väl dokumenterat avseende mag-tarmfysiologi men även avseende psykiska rubbningar kring ätande [11-13]. Dess specifika roll i hjärnan är däremot sämre beskriven.

CCK uppfyller många kriterier för en signalsubstans, Faktaruta 1. I hjärnan förekommer CCK rikligt i hjärnbarken och i hippocampus-regionen samt måttligt i basala ganglier och hypothalamus [14]. CCK-mRNA, som markör för CCK-producerande nervceller, ses framför allt i storhjärnbarken och hippocampus [15]. Lägre nivåer av CCK-mRNA ses i amygdala, thalamus och substantia nigra [15], (Figur 2).

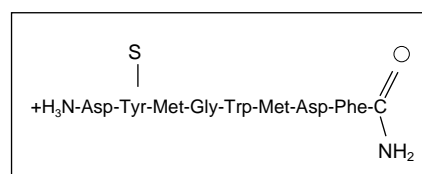
Två stycken högaffinitetsreceptorer finns för CCK. I början av 1980-talet då dessa upptäcktes delade man in dem i perifer respektive centrala CCK-receptorer [16-18].

1986 publicerade Moran och medarbetare [19] autoradiografiska studier på dessa receptorer, och sedan dess har receptorerna klassificerats som CCK_A- och CCK_B-receptorer oberoende av deras lokalisation.

CCK_B-typen är den vanligaste förekommande CCK-receptorn i hjärnan och binder både sulfaterat CCK-8, icke-sulfaterat CCK-8 samt CCK-4 med lika hög affinitet [18, 20].

CCK_A-receptorn är främst den perifera receptorn och finns i bland annat bukspottkörteln och gallblåsan men också i vissa hjärnregioner.

CCK_A-receptorn har högst affinitet för den sulfaterade formen av CCK-8 med tusenfalt lägre affinitet för CCK-4



Figur 1. CCK-8 med den sjunde aminosyran från karboxyländen, tyrosin, sulfaterad (S). Den mest aktiva delen utgörs av de sista fyra peptiderna i karboxyländen, men sulfateringen är också väsentlig för aktiviteten [6, 7]. Karboxyländen på CCK-peptiden är amidrad.

och för den icke-sulfaterade formen av CCK-8 [17].

CCK_A- och CCK_B-receptorerna hos människa har nyligen blivit klonade [21-23]. Både A- och B-typen är membranpenetrerande receptorer och tillhör gruppen G-proteinkopplade receptorer med stora likheter i aminosyrasekvens och tredimensionell struktur. I denna grupp ingår till exempel receptorer för andra neuropeptider samt receptorer för monoaminer såsom dopamin, noradrenalin och serotonin.

En forskningsgrupp som leds av GN Woodruff vid Parke-Davis Neuroscience Research Centre, bedriver intressanta djurförsök kring CCK och CCK-receptorer. De gav, till exempel, 1991 starka belägg för att CCK_B-receptorn är

FAKTARUTA 1

CCK uppfyller följande kriterier för en signalsubstans:

Lokalisering: I hjärnan förekommer CCK i nervceller.

Frisättning: CCK kan frisättas från isolerade synaptosomer från hjärna med hjälp av kalium eller elektricitet.

Effekt på nervceller: CCK har elektrofysiologiska effekter i hippocampus.

Receptorer: Två högaffinitetsreceptorer finns för CCK, CCK_A- samt CCK_B-receptorerna; dessa kan blockeras med antagonist.

Agonist: En effekt av exogen agonist kan induceras.

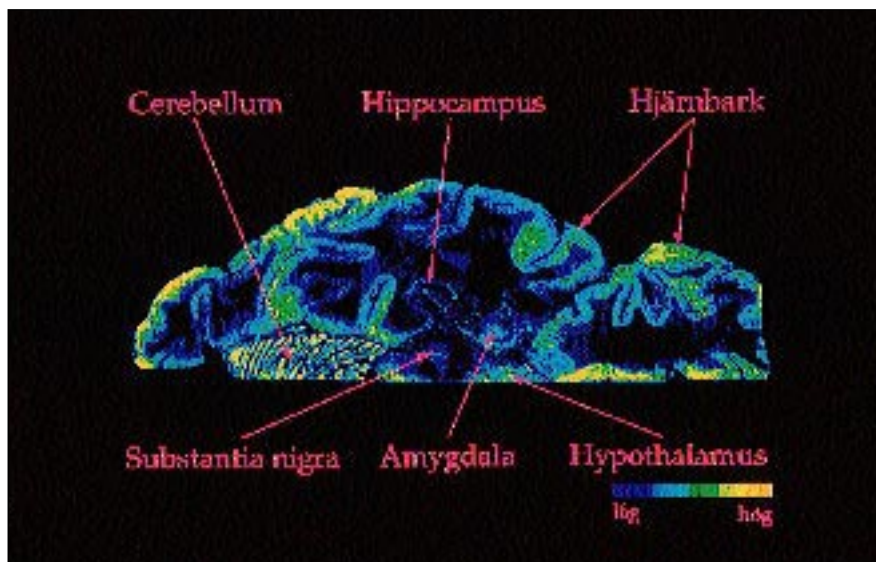
Degradering: CCK är snabbt enzymatiskt nedbrutet efter frisättning.

Författare

OLOF ZACHRISSON
doktorand

NILS LINDEFORS

docent; båda vid institutionen för klinisk neurovetenskap, sektionen för psykiatri, Karolinska institutet, Karolinska sjukhuset.



Figur 2. Autoradiogram av ett horisontalt, 100 µm tunt, snitt från en hemisfär från postmortalt människohjärna. Bilden visar relativ mängd av CCK_B-receptor-mRNA, angivet med en linjär arbitrar skala. Signal som tyder på CCK_B-receptorsyntes ses bland annat i hjärnbarken, hippocampus, amygdala och hypothalamus. För detektion har in situ-hybridisering med ett cRNA-fragment använts.

involverad i mekanismer som kan utlösa ångest [24].

Specifika CCK-agonister och antagonister

Forskningen kring hur de delar av centrala nervsystemet som använder CCK som signalsubstans fungerar (och inte fungerar) har på senare tid blivit extra spännande. Den starkast bidragande faktorn är framtagandet av syntetiska, selektiva CCK-receptorblockerare, så kallade antagonister [25]. Detta har möjliggjort en ökad förståelse för de farmakologiska och fysiologiska egenskaperna som CCK har. Några antagonister kan intas oralt och passerar lätt blod-hjärnbarriären, vilket gör det möjligt att studera bland annat beteendeförändringar. Man har nu betydligt förbättrade möjligheter att lägga fram och pröva specifika hypoteser för CCKs funktion i ett intakt nervsystem.

De första CCK-antagonisterna var svaga, IC₅₀ vid 100–500 µM, och tämligen ospecifika. IC₅₀ är en hämningskonstant som beskriver vid vilken koncentration antagonisten i fråga blockerar hälften av alla aktuella receptorer. Den första antagonisten som kom att syntetiseras var dibutyrylcykliskt guanosinmonofosfat [26], och när Chang [27] fann den första naturliga CCK-antagonisten 1985 fick forskningen kring detta område ett rejält uppsving. Denna naturligt förekommande CCK-antagonist var en bensodiazepinliknande molekyl som utvanns från *Aspergillus alliaceus*, en mögelsvamp, och fick namnet asperlicin – en substans besläktad med penicillin. Efter några få år har man nu en mängd olika antagonister och agonister, deriverade från cykliska nukleotider, aminosyror, CCK, bensodiazepiner m m. Det finns ett stort intresse att vidareutveckla agonister och antagonister för CCK_A- och CCK_B-receptorer

med tanke på alla tänkbara fysiologiska effekter av CCK. Affiniteterna av några CCK_A- och CCK_B-antagonister är sammanfattade i Tabell I.

Smärta

Det bedrivs en betydande forskning kring CCK och smärta. CCK existerar i regioner i centrala nervsystemet som är associerade med smärtreglering. Vi fokuserar dock CCKs roll vid psykiatriska störningar och behandlar inte dess roll inom smärtforskningen mer ingående. Dock kan det nämnas att Wiesnfeld-Hallin visat att PD134308, en CCK_B-antagonist, förstärker den analgetiska effekten av morfin genom en potentiering av morfins effekt på spinala smärtreflexen [28].

Ångest

En omfattande forskning på CCK-området idag gäller hormonets roll inom panikångest. Man har bland annat kunnat påvisa förhöjda halter av CCK i cerebrospinalvätskan från patienter som lider av syndrom med panikångest [29]. Flera studier har visat att om man ger CCK-4 till en grupp ångestpatienter och till en grupp friska försökspersoner så framkallas panikattacker i båda grupperna. Attackerna kan blockeras med lorazepam, ett bensodiazepinderivat [30, 31]. Patienter med panikångest är känsligare för CCK-4 än personerna i kontrollgruppen. Studier har visat att om man förbehandlar med en CCK_B-antagonist, L-365,260, hämmas effek-

ten av CCK-4 [32]. Emellertid har Kramer och medarbetare inte kunnat påvisa någon signifikant skillnad mellan placebo och L-365,260 i en dubbelblindstudie av 88 patienter med paniksyndrom under en sex veckors period [33]. Dock märktes en tendens till förbättring mot slutet av perioden hos de patienter som fick L-365,260. Vi anser för övrigt att högre doser än de som gavs måste studeras innan man kan utesluta L-365,260 som ett anxiolytiskt preparat.

Till skillnad från CCK-4, som kan inducera panikattacker hos friska människor, har inte CCK-8 liknande effekt, vilket kan bero på att CCK-8 har svårare att penetrera centrala nervsystemet. CCK-8 har dock visats framkalla panik- eller ångestliknande symtom hos råttor om den injiceras direkt i nucleus accumbens i ventrala striatum [34]. Dessa djurförsök motsäger alltså inte att CCK tycks kunna inducera panikattacker, och CCK-antagonister kan således möjligen vara anxiolytiska. Det finns således anledning att hoppas att CCK-receptorblockerare kan komma att bli nyttillskott inom gruppen ångestdämpande medel.

Kan ha betydelse vid depression och suicid

Det är också möjligt att CCK kan ha betydelse vid depression och självmordsbeteende. Vissa patienter med manodepressiv sjukdom tycks ha lägre halter av CCK i cerebrospinalvätskan [35]. Dessutom ses förhöjda nivåer av CCK-receptorer i frontala hjärnbarken, vilket framgår av en jämförande undersökning av obduktionsmaterial från självmordsoffer respektive material från jämförbara avlidna personer utan psykiska besvär [36].

Samspel mellan CCK och dopamin

CCK och dopamin, samt mRNA för CCK och det dopaminsyntetiserande enzymet tyrosinhydroxylas, samexisterar

Tabell I. Hämningskonstanter, IC₅₀, för olika högaffinitets-CCK-antagonister. Ett lägre värde innebär högre affinitet för receptorn. IC₅₀-värdet anger vid vilken antagonistkoncentration som hälften av receptorerna är blockerade [34].

Antagonist	IC ₅₀ för receptor	
	CCK _A	CCK _B
A-65186	5 nM	4 µM
C1988 (PD134308)	3 µM	2 nM
L-364,718 (devazepide; MK329)	1 nM	300 nM
L-365,260	300 nM	1 nM
LY262691	10 µM	30 nM

rar i nervceller i såväl det mesostriatala som i det mesolimbiska systemet [5, 37-40]. I det mesostriatala systemet ingår bland annat substantia nigra. Denna region är rik på dopamininnehållande nervceller, vilka är kraftigt degenererade vid Parkinsons sjukdom.

Det mesolimbiska dopaminsystemet har under många år varit i fokus vad gäller schizofreniforskningen. Systemet förmodas vara ett målområde för dagens neuroleptika. I systemet finns nämligen rikligt med nervceller som har dopaminreceptorer. Den gemensamma funktionsmekanismen för de flesta förekommande antipsykotiska läkemedlen inom gruppen neuroleptika tycks vara en blockad av dopamin-D₂-receptorn och till en viss del de nyupptäckta D₃- samt D₄-receptorerna.

Ett flertal undersökningar har gjorts på hur dopamin påverkar syntes, receptorbindning, farmakologi och frisättning av CCK samt vice versa [41, 42]. Varierande, ibland motsägelsefulla resultat har dock presenterats. De olika metodologiska tillvägagångssätten varierar i hög grad, vilket gör en direkt jämförelse av resultaten svår. Sammanfattningsvis visar dock framför allt djurexperiment att CCK-receptoraktiva substanser modulerar dopaminerg transmission i framhjärnan. CCK-8, injicerat i nucleus accumbens, har bland annat visats modulera amfetaminframkallade effekter [43], men det föreligger skillnader mellan olika delar av nucleus accumbens. I djurexperiment framgår att motoriskeffekten av dopamin hämmas om man injicerar CCK-8 i rostrala accumbens, medan en injicering i caudala accumbens förstärker effekten [43]. Vidare framkallar amfetamin en utsöndring av CCK och dopamin i nucleus accumbens [44] (Faktaruta 2).

Banar väg för neuropeptider

Schizofreniforskningen är idag starkt fokuserad på dopamin. CCKs uppenbara samröre med dopamin öppnar en väg in i psykosforskningen även för neuropeptider [45]. Detta forskningsintresse för dopamin har gjort att striatum, ett område med hög dopaminomsättning är noga undersökt i detta avseende. Man har observerat att stimulering av CCK_B-receptorn i striatum verkar hämma dopaminsignalen där [34].

Även i forskningen kring Parkinsons sjukdom är CCKs samröre med dopamin relevant. Sänkta halter av CCK har nämligen dokumenterats i substantia nigra hos patienter med Parkinsons sjukdom [46]. I experiment på apa där man framkallat Parkinsons sjukdom kemiskt (1-metyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin, MPTP) har man även kunnat påvisa lägre halter av CCK_A-re-

FAKTARUTA 2

Potentiella indikationer för CCK-ligander:

- CCK_B-antagonister → Ångest, smärta
- CCK_A-agonister → Parkinsonism
- ??? → Schizofreni

ceptorn i substantia nigra, och delar av striatum [47].

CCK_A-receptorn har alltså högst affinitet för den sulfaterade formen av CCK-8. Sulfaterat CCK-8 har de facto en positiv inverkan på apor med framkallad parkinsonism [48]. Eftersom stimulering av CCK_B-receptorn i striatum verkar hämma dopaminsignalen kan man anta att CCK_B-antagonister ökar dopaminerg transmission i detta område, vilket också skulle kunna motverka parkinsonism.

Denna kunskap kan komma att utgöra grunden för nya mediciner för schizofreni och Parkinsons sjukdom. För övrigt har man observerat en förlust av CCK_B-receptorer i hippocampus-regionen och hjärnbarken hos schizofrena, avlidna patienter [49]. Detta visar att även andra hjärnregioner förutom striatum är av intresse för psykosforskningen.

Litteratur

5. Hökfelt T, Rehfeld JF, Skirboll L, Ivemark B, Goldstein M, Markey K. Evidence of co-existence of dopamine and CCK in mesolimbic neurons. *Nature* 1980; 285: 476-8.
9. Takahashi Y, Kato K, Hayashizaki Y, Wakabayashi T, Ohtsuka E, Matsuki S et al. Molecular cloning of the human cholecystokinin gene by use of a synthetic probe containing deoxyinosine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 1931-5.
15. Lindfors N, Lindén A, Brené S, Sedvall G, Persson H. CCK Peptides and mRNA in the human brain. *Prog Neurobiol* 1993; 40: 671-90.
21. de Weerth A, Piseña JR, Huppi K, Wank SA. Molecular cloning, functional expression, and chromosomal localization of the human cholecystokinin type A receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 194: 811-8.
23. Lee YM, Beinborn M, McBride EW, Lu M, Kolakowski LF, Kopin AS. The human brain cholecystokinin-B/gastrin receptor. Cloning and characterization. *J Biol Chem* 1993; 268: 8164-9.
24. Singh L, Lewis AS, Field MJ, Hughes J, Woodruff GN. Evidence for an involvement of the brain cholecystokinin B receptor in anxiety. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 1130-3.
25. Woodruff GN, Hughes J. Cholecystokinin antagonists. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1991; 31: 469-501.
28. Wiesenfeld-Hallin Z, Xu XJ, Hughes J, Horwell DC, Hökfelt T. PD 134308, a selective antagonist of cholecystokinin type B receptor, enhances the analgesic effect of morphine and synergistically interacts with intrathecal galanin to depress spinal noci-

ceptive reflexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7105-9.

32. Bradwejn J, Koszycki D, Dutertre AC, Vanmegen H, Denboer J, Westenberg H et al. The panicogenic effects of cholecystokinin-tetraptide are antagonized by L-365,260, a central cholecystokinin receptor antagonist, in patients with panic disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1994; 51: 486-93.
36. Harro J, Marcusson J, Orelund L. Alterations in brain cholecystokinin receptors in suicide victims. *Eur Neuropsychopharm* 1992; 2: 57-63.
40. Schalling M, Friberg K, Seroogy K, Riederer P, Bird E, Schiffman SN et al. Analysis of expression of cholecystokinin in dopamine cells in the ventral mesencephalon of several species and in humans with schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 8427-31.
47. Graham WC, Hill DR, Woodruff GN, Sambrook MA, Crossman AR. Reduction in [125I]Bolton Hunter CCK8 and [3H]MK-329 (devazepine) binding to CCK receptors in the substantia nigra/VTA complex and its forebrain projection areas following MPTP-induced hemi-parkinsonism in the monkey. *Neurosci Lett* 1991; 131: 129-34.

Fullständig litteraturlista kan erhållas från Olof Zachrisson, Institutionen för klinisk neurovetenskap, Sektionen för psykiatri, Psykiatriska kliniken, Karolinska sjukhuset, 171 76 Stockholm.

Summary

Cholecystokinin receptors. A target for tomorrow's psychotropic drugs?

Olof Zachrisson, Nils Lindfors

Läkartidningen 1996; 93: 1225-7

The neuropeptide cholecystokinin (CCK) and its receptors are highly expressed in brain regions important for cognitive functions, emotions and the initiation of movements. Two high-affinity receptors exist for CCK, the A- and B-type. A number of ligands are developed for these receptors. Evidence for the involvement of CCK and its receptors in the pathophysiology of neuropsychiatric disorders is discussed. In addition, we discuss the possible use of CCK receptors ligands in the treatment of such disorders.

Correspondence: Olof Zachrisson, Department of psychiatry, Karolinska sjukhuset, S-171 76 Stockholm.