

原著論文

マウスにおける apomorphine 誘発 climbing behavior および prepulse inhibition 障害に対する varenicline の改善効果

眞島 健, 吉川 弥里, 阿蘇 寛明, 渡辺 雅彦, 末丸 克矢*
就実大学薬学部公衆衛生学

Ameliorating effects of varenicline on apomorphine-induced climbing behavior and disruption of prepulse inhibition in mice

Takeru Majima, Misato Yoshikawa, Hiroaki Aso, Masahiko Watanabe, Katsuya Suemaru*

Department of Public Health, School of Pharmacy, Shujitsu University

(Received 4 November 2020; accepted 23 December 2020)

Abstract: The rate of smoking in patients with schizophrenia is higher than that in the general population. Nicotine has been reported to normalize attentional abnormalities in schizophrenia, via the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor (nAChR). Varenicline and cytisine, widely used smoking cessation drugs, have partial agonistic activity at $\alpha 4\beta 2$ nAChR and full agonistic activity at $\alpha 7$ nAChR. The present study investigated the effects of varenicline and cytisine on the climbing behavior induced by apomorphine, a dopamine agonist, in mice. Nicotine, varenicline and cytisine dose-dependently inhibited the climbing behavior and the inhibitory effect of nicotine was significantly antagonized by methyllycaconitine, a selective $\alpha 7$ nAChR antagonist. Prepulse inhibition of acoustic startle response was used to test the sensorimotor gating functioning. Varenicline slightly but significantly ameliorated the disruption of prepulse inhibition by apomorphine. However, cytisine showed no significant effect on the dopaminergic disruption of prepulse inhibition. These results suggest that varenicline has the potential to improve on the behavioral disturbances induced by dopaminergic abnormalities.

Keyword

Varenicline, Cytisine, $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor, Prepulse inhibition, Climbing behavior

緒言

統合失調症は大別すると、陽性症状、陰性症状、認知機能障害、感情症状からなる多様な症状を呈する精神疾患で、薬物療法が不可である。陽性症状に対する薬物療法として、

chlorpromazine などのドパミン (DA) 受容体遮断作用が中心となる定型抗精神病薬や DA 受容体部分作動薬の aripiprazole が開発されている。さらに、DA とセロトニン (5-HT₂) 受容体を遮断する非定型抗精神病薬の開発により陰性症状に対

しても改善が図られるようになってきている。一方、認知機能障害は患者の QOL を低下させ社会復帰を困難にさせる一つの要因であるが、従来の抗精神病薬では有効な改善効果が確認されていない^{1,2)}。

一般人口の喫煙率 16%未満と比較して、統合失調症患者の喫煙率は 45~88%と高い³⁾。その背景としては、統合失調症の認知機能障害による情報処理障害や注意障害を nicotine 摂取によって自ら症状を改善する働き (self-medication) を反映していると推測されている⁴⁾。脳内の nicotine 性アセチルコリン受容体 (nAChR) には様々なサブタイプが存在する。主要な nAChR サブタイプは、 $\alpha 4, \beta 2$ からなるヘテロ 5 量体の $\alpha 4\beta 2$ と $\alpha 7$ からなるホモ 5 量体である。脳内の $\alpha 7$ 型 nAChR は統合失調症における情報処理障害に関与していることが示されており、新規治療薬開発の標的受容体として有益と考えられている⁵⁾。 $\alpha 7$ 型 nAChR 作動薬として、禁煙補助薬の varenicline が報告されており、同受容体作動薬の cytisine も海外で禁煙補助薬として臨床使用がなされている^{6,7,8)}。これらの化合物は、 $\alpha 4\beta 2$ 型 nAChR の部分作動薬であると同時に、 $\alpha 7$ 型 nAChR の完全作動薬である。しかしながら、統合失調症治療薬としての可能性には不明な点を多く残している。

新規統合失調症薬の開発には、疾患動物モデルを用いた評価が重要となる。統合失調症のモデルには、遺伝子改変モデルや神経変性仮説に基づいた薬剤誘発性動物モデル等がある。薬剤誘発性動物モデルとしては、統合失調症では脳内 DA 神経の機能亢進がみられるため、DA 作動薬を投与するモデルが汎用されている。マウスに DA 受容体作動薬の apomorphine を投与すると金網に登ったまま一定時間連続して固定されたかのように続き続ける climbing behavior が観察される⁹⁾。この異常行動は、通常観察される登り行動とは質的に異なる行動である。この climbing behavior は DA 遮断作用を有する抗精神病薬で改善されるこ

とから、新規抗精神病薬の評価方法の一つとして汎用されている¹⁰⁾。一方、統合失調症の情報処理障害を評価する方法として、音刺激に対する反応性の変化を利用した prepulse inhibition (PPI) 法が確立している。PPI とは、突然の音刺激に対する驚愕反応 (startle response) が、直前に単独では反応を示さない弱い音刺激を先行させることにより抑制される現象のことで (図 1)、統合失調症患者で減弱している¹¹⁾。さらに、この PPI 障害は DA 作動薬を投与した動物でも認められることから、apomorphine 誘発 PPI 障害は統合失調症の情報処理障害のモデルとして有用とされている¹²⁾。

本実験では、統合失調症の DA 仮説に基づいた動物モデルである apomorphine 誘発 climbing behavior と PPI 障害に対する禁煙補助薬の nicotine, varenicline および cytisine の影響を検討した。

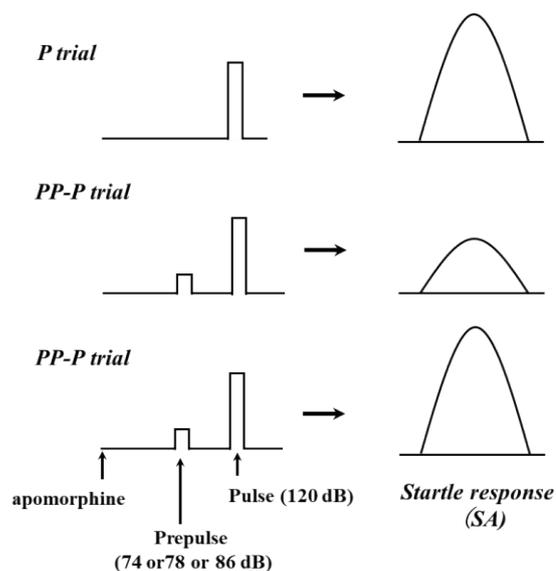


図 1. Prepulse inhibition の概略図

方法

・実験動物

動物は、ICR 雄性マウス (日本エスエルシー株式会社) を用いた。室温 23 ± 2 °C の動物飼育室内にて、紙製床敷を敷いたプラスチックケージ内で 5-6 匹ずつ飼育した。餌および水は自由に摂取さ

せた。本実験は、就実大学動物実験委員会（許可番号: 044-011）の承認を得て行った。

・実験試薬

Apomorphine hydrochloride hemihydrate (Sigma-Aldrich) は、酸化を防ぐため、0.1 %アスコルビン酸を含む生理食塩水に溶解し、使用直前まで遮光氷冷下保存した。Varenicline tartrate (Tocris Bioscience), dihydro-β-erythroidine hydrobromide (DHβE, Sigma-Aldrich), methyllycaconitine citrate salt (MLA, Sigma-Aldrich) は生理食塩水に溶解した。Aripiprazole (Tokyo Chemical Industry) は、1% Tween80 溶液を用いて調製した。Nicotine hydrogen tartrate salt (Sigma-Aldrich) および cytisine (Tokyo Chemical Industry) は、pH7.4 に調整したリン酸緩衝生理食塩水に溶解した。全ての試薬は、マウスの体重 10 g 当たり 0.1 mL の投与量になるように調製した。

・Climbing behavior の測定方法

マウスを蓋付き金網ケージ (19×14×14 cm) に一匹ずつ入れ、1 時間測定環境に慣らした後に実験を開始した。Climbing behavior の測定は、apomorphine を皮下投与 (sc) した 5 分後に開始し、30 分間 5 分ごとに行動を観察した。この時、各 5 分経過と同時に 1 分間で 20 秒ごとに 3 回行動を観察し、3 回の平均を各 5 分の Score とした。Protais らの方法⁹⁾ に準じて、Score 0：全足が床に付いている状態 Score, 1：前両足で壁をつかんでいる状態、Score 2：全足で壁をつかんでいる状態 (climbing) の 3 段階に分類して評価した。データは、30 分間の total score で表した。

・Prepulse inhibition (PPI) の測定方法

PPI の測定には、SR-LAB の小動物用驚愕反応測定装置 (San Diego Instrument inc.) を使用した。この装置は、検出器付き動物保定用フレームを取り付けた動物固定用ホルダー、スピーカー付きアイソレーションキャビネット等から構成されて

いる。動物の驚愕反応は、動物保定用フレームの下部に取り付けた検出器によって検出した。測定箱には防音を施し、64 dB のホワイトノイズを常時流した。マウスを測定用チャンバーに入れ、5 分間測定環境に慣らした後、PPI 測定による音刺激を合計 60 トライアル与えた。

PPI 測定には 4 種類の音刺激を用いた。4 種類の音刺激は、120 dB、持続時間 20 msec の単一音刺激 (P) と、この P 刺激の 100 ms 前に 74 dB、78 dB、86 dB (持続時間 120 msec) の prepulse を挿入したもの (pp74, pp78, pp86) である。まず、マウスの驚愕反応を確認する目的で、60 トライアルのうち最初の 5 トライアルは単一音刺激 (P) をランダムな間隔で 5 回与えた後、PPI 測定を行った。PPI 測定において単一音刺激 (P) を 15 回、pp74, pp78, pp86 の音刺激を各 10 回 (計 30 回)、さらに音刺激のないトライアルを 10 回、合計で 55 回のトライアルを用いてランダムな順番、さらに 12, 16, 20, 28 sec のランダムな間隔で負荷した。驚愕反応は各音刺激直後より 100 msec の間に測定した。測定された動物の運動速度の最高値 (V_{max}) を PPI の算出に用いた。それぞれの音刺激、 V_{max} 値の平均値より、式 1 を用いて、それぞれの音圧の prepulse により生じた PPI (%) を算出した。

$$PPI(\%) = \frac{SA(\text{Pulse alone}) - SA(\text{Prepulse+Pluse})}{SA(\text{Pulse alone})} \times 100$$

SA; Startle Amplitude(V_{max})

式 1. Prepulse inhibition の計算式

・薬物投与

Climbing behavior の実験では、aripiprazole, varenicline および cytisine は、apomorphine 皮下投与の 30 分前に腹腔内 (ip) に投与した。Nicotine は、apomorphine 投与の 15 分前に皮下投与した。nAChR のサブタイプの選択性について検討するため、 $\alpha 4\beta 2$ 型 nAChR 遮断薬の DHβE および $\alpha 7$ 型 nAChR 遮断薬の MLA を前処置する拮抗実験

を行った。MLA および DHβE は、nicotine 投与の 30 分前に脳室内 (icv) に投与した。PPI の測定では、apomorphine の皮下投与 5 分後から驚愕反応を測定した。PPI 障害の実験に用いた薬物投与スケジュールは、climbing behavior と同様である。

・統計処理

得られたデータは、全て 平均値 ± 標準誤差 (SE) で示した。Climbing behavior のデータは Kruskal-Wallis test を行った後、多重比較検定には Steel's test を用いた。PPI のデータは、prepulse (74,78 および 86 dB) と薬剤を 2 要因とした繰り返しのある二元配置分散分析 (two-way repeated measure ANOVA) を行った後、多重比較検定には Dunnett's test を使用した。なお、*p* 値が 0.05 以下の場合を有意な差とした。

結果

・ Apomorphine 誘発 climbing behavior に対する aripiprazole の影響

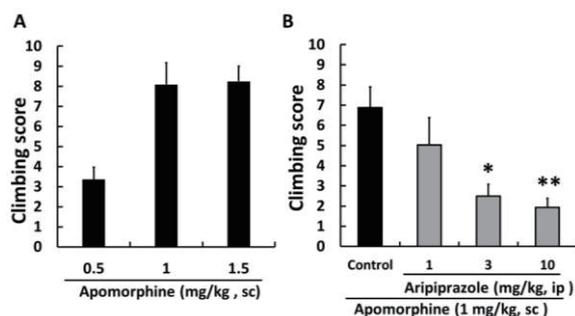


図 2. Apomorphine 誘発 climbing behavior に対する aripiprazole の影響

A) Apomorphine (0.5-1.5 mg/kg, sc) による climbing behavior の発現。B) Apomorphine (1.0 mg/kg, sc) 誘発 climbing behavior に対する aripiprazole の影響。値は全て n=10 の平均 climbing score ± SE を示す。**p*<0.05, ***p*<0.01 vs control group (Kruskal-Wallis test followed by Steel's test)。

Apomorphine (0.5-1.5 mg/kg, sc) 投与によって誘発された climbing behavior の total score を図 2-A に示す。Apomorphine (0.5-1.0 mg/kg) の投与量において、用量依存的な total score の増加がみ

られた。しかし、apomorphine の 1.5 mg/kg では 1.0 mg/kg と同程度の score となった。DA 受容体部分作用を有する aripiprazole の影響を図 2-B に示す。Apomorphine (1.0 mg/kg, sc) 誘発 climbing behavior に対して、aripiprazole (1-10 mg/kg, ip) が用量依存的な抑制作用を示すことを確認した。

・ Apomorphine 誘発 climbing behavior に対する 禁煙補助薬の影響

禁煙補助薬の nicotine, varenicline および cytisine が apomorphine 誘発 climbing behavior に及ぼす影響を図 3 に示す。Apomorphine (1.5 mg/kg, sc) 誘発 climbing behavior に対して nicotine (0.25-1.0 mg/kg, sc) は投与量依存的な抑制作用を示した (図 3-A)。Apomorphine (1.0 mg/kg, sc) によって誘発された climbing behavior に対しても nicotine (0.5mg/kg, sc) は、有意な抑制作用 (*p*<0.01) を示した (図 4)。従って、nicotine の climbing behavior の抑制作用が認められた。

Apomorphine (1.0 mg/kg, sc) 誘発 climbing behavior に対する varenicline (0.3-3 mg/kg, ip) および cytisine (1-3 mg/kg, ip) の影響を図 3-B および C に示す。Varenicline は apomorphine 誘発 climbing behavior に対して用量依存的な抑制作用を示した。Cytisine は、3 mg/kg の投与量において有意な抑制 (*p*<0.05) がみられた。

・ Apomorphine 誘発 climbing behavior に対する nicotine の抑制作用に及ぼすニコチン受容体拮抗薬の影響

α4β2 型 nAChR 拮抗薬の DHβE および α7 型 nAChR 拮抗薬の MLA を用いて、nicotine の climbing behavior 抑制作用に対する影響を検討した。MLA (5 μg/5 μL, icv) の前処置は、nicotine の apomorphine 誘発 climbing behavior 抑制作用に対して有意な (*p*<0.05) 拮抗作用を示した。DHβE (5 μg/5 μL, icv) の前処置は、climbing score を上昇さ

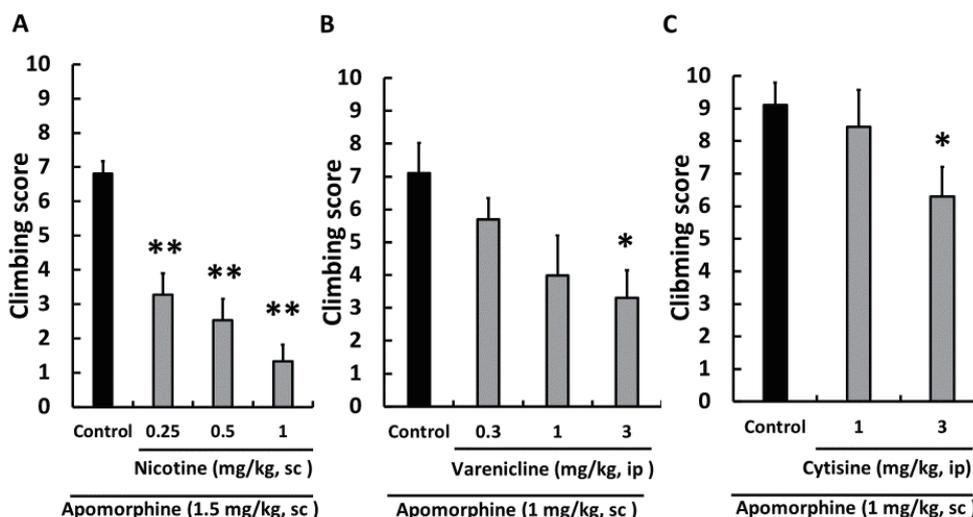


図3. Apomorphine 誘発 climbing behavior に対する禁煙補助薬の影響

値は control (n=10), nicotine (n=10), cytosine (n=10), varenicline (n=10-14) における平均 climbing score ± SE 示す.* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control group (Kruskal-Wallis test followed by Steel's test).

せる傾向にあったが、統計学的に有意な差を認めなかった (図4)。

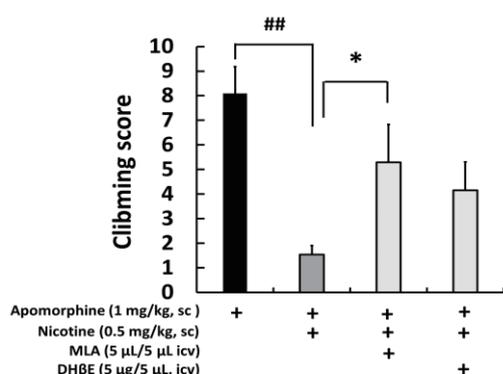


図4. Apomorphine 誘発 climbing behavior に対する nicotine の抑制作用に及ぼすニコチン受容体拮抗薬の影響

値は apomorphine 単独 (n=10), nicotine + apomorphine (n=10), MLA (n=6), DHβE (n=9) における平均 climbing score ± SE を示す.* $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs nicotine + apomorphine group (Kruskal-Wallis test followed by Steel's test).

・ Apomorphine 誘発 PPI 障害に対する aripiprazole の影響

薬剤 (naive, apomorphine および aripiprazole) と prepulse (74, 78 および 86 dB) を 2 要因として繰り返しのある二元配置分散分析により統計解析を行った結果、薬剤 ($F_{(2,114)} = 7.51$,

$p < 0.001$) および prepulse ($F_{(2,114)} = 10.50$, $p < 0.001$) に有意差がみられたが、交互作用には有意な差は認められなかった ($F_{(4,114)} = 0.18$, $p = 0.95$). 二元配置分散分析後に Dunnett's test を用いて多重比較検定を行った結果、naive 群と apomorphine を投与した control 群の群間に有意な差 ($p < 0.01$) が認められた。また、control 群と aripiprazole (3 mg/kg, ip) 群の群間にも有意な差 ($p < 0.01$) が認められた (図5)。

・ Apomorphine 誘発 PPI 障害の禁煙補助薬の影響

薬剤 (control, varenicline 1 および 3 mg/kg) と prepulse (74, 78 および 86 dB) を 2 要因として繰り返しのある二元配置分散分析により統計解析を行った結果、varenicline の薬剤投与 ($F_{(2,95)} = 4.69$, $p < 0.05$) および prepulse ($F_{(2,96)} = 7.32$, $p < 0.01$) に有意差がみられたが、交互作用には有意な差は認められなかった ($F_{(4,96)} = 0.09$, $p = 0.98$). Dunnett's test を用いた多重比較検定では、apomorphine を投与した control 群と varenicline (1 および 3 mg/kg, ip) 群の両群間に有意な差 ($p < 0.05$) が認められ、varenicline による PPI 障害の改善効果が示された。

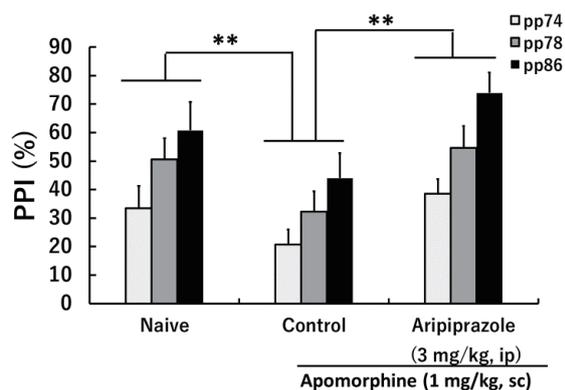


図 5. Apomorphine 誘発 PPI 障害に対する aripiprazole の影響

値は naive (n=16), control (n=16), aripiprazole (n=9) における平均 PPI ± SE を示す. ** $p < 0.01$ vs control group (two-way repeated measure ANOVA followed by Dunnett's test).

二元配置分散分析により統計解により, cytisine は prepulse ($F_{(2,69)} = 3.33, p < 0.05$) に有意差を示したが, cytisine (3 mg/kg) の投与 ($F_{(1,69)} = 0.57, p = 0.45$) ならびに交互作用 ($F_{(4,69)} = 0.05, p = 0.94$) に有意な差は認められなかった (図 6).

考察

ドラッグリプロファイリングとは, 既にヒトでの安全性が確認され臨床使用されている既存薬に関して新しい薬理作用を発見し, 別の疾患治療薬として開発する研究のことである.

喫煙者における nicotine の依存形成には $\alpha 4\beta 2$

型 nAChR の関与が最も深く, varenicline や cytisine は $\alpha 4\beta 2$ 型 nAChR 部分作用を介して禁煙補助薬としての有用性を示すことが明らかになっている. さらに, 両禁煙補助薬は $\alpha 7$ 型 nAChR 完全刺激作用を有する^{6,7)}. 現在, $\alpha 7$ 型 nAChR は記憶や学習などの認知機能の促進作用と神経保護作用を示すため, アルツハイマー病などの認知機能障害を標的とした治療薬の開発が進められている⁵⁾. 本研究では, ドラッグリプロファイリングの観点から, varenicline ならびに cytisine の統合失調症治療薬としての可能性を DA 仮説に基づいた apomorphine 誘発モデルを用いて検討した.

Apomorphine は線条体の DA 受容体の刺激作用を介して climbing behavior を誘発すること⁹⁾, DA 受容体遮断作用を有する定型抗精神病薬や非定型抗精神病薬ならびに DA 受容体部分的作用薬の aripiprazole が climbing behavior を抑制することが報告されている¹⁰⁾. 本研究において, aripiprazole の投与が apomorphine 誘発 climbing behavior を用量依存的に抑制することを確認した. さらに, 禁煙補助薬の nicotine, varenicline ならびに cytisine が apomorphine 誘発 climbing behavior を有意に抑制することを見出した. 中でも, nicotine と varenicline の抑制作用は cytisine

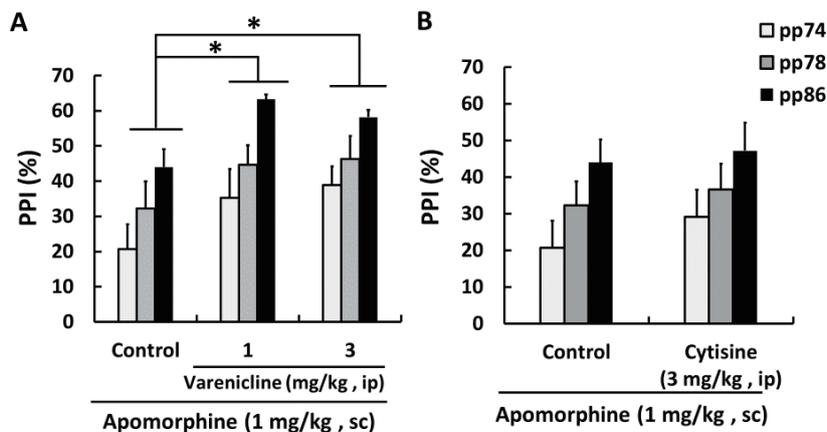


図 6. Apomorphine 誘発 PPI 障害に対する varenicline および cytisine の影響

値は control (n=16), varenicline (n=9-10), cytisine (n=9) における平均 PPI (%) ± SE を示す. * $p < 0.05$ vs control group (two-way repeated measure ANOVA followed by Dunnett's test).

と比較して強い抑制効果を示した。

ニコチン依存症の形成は、脳内 nAChR 刺激を介した中脳辺縁系における DA の遊離促進により、快刺激を得ることに起因する。α4β2 型 nAChR の部分作動薬作用を有する禁煙補助薬は、少量の DA を放出させ禁煙に伴う離脱症状やタバコに対する欲求を軽減するとされている。部分作動薬は部分的な活性しか示さないため、同時に部分的な競合的遮断作用を示す。従って、α4β2 型 nAChR 部分作動薬の apomorphine 誘発 climbing behavior に対する抑制効果には、DA 神経の安定化作用が関与している可能性が考えられる。

本研究において nicotine は apomorphine によって誘発される climbing behavior を抑制した。Nicotine は α4β2 型 nAChR 完全刺激作用を有し varenicline と比較して強い DA の遊離促進を示すため⁷⁾、apomorphine で惹起される climbing score が上昇すると予想された。しかし、nicotine は逆に climbing score を低下させたことから、α4β2 型 nAChR とは異なる nAChR サブタイプや他の神経系の関与が考えられる。

本研究において nicotine の apomorphine 誘発 climbing behavior 抑制作用に寄与する nAChR サブタイプを確認するため、α4β2 型 nAChR 遮断作用を有する DHβE と α7 型 nAChR 遮断作用をもつ MLA の前処置の影響を検討した。その結果、MLA が有意な拮抗作用を示した。DHβE は nicotine の抑制作用を改善する傾向を示したが、統計学上有意な差を認めなかった。これらの結果より、nicotine の apomorphine 誘発 climbing behavior の抑制作用には、α4β2 型 nAChR より α7 型 nAChR の関与が大きい可能性が示唆された。

PPI を構成する神経回路網として前頭葉—線条体—視床回路が明らかにされている¹¹⁾。また、apomorphine によって誘発される PPI 障害モデルは、DA 神経抑制作用を有する抗精神病薬の

スクリーニング法として汎用されている。本研究において、DA 受容体部分的作動薬の aripiprazole が apomorphine 誘発 PPI 障害を改善することを確認した。既に、nicotine ならびに α7 型 nAChR 部分刺激作用を有する tropisetron が、α7 型 nAChR を介して apomorphine 誘発 PPI 障害を改善作用することが報告されている^{12,13)}。PPI 障害に対する varenicline の効果については、病態モデルによって異なった結果が報告されている。Kucinski らは、varenicline が統合失調症の遺伝子改変動物モデルマウス (th-fgfr1 mice) の PPI 障害を改善したことを報告している¹⁴⁾。Goktalay らは、ラットにおける apomorphine ならびに非競合的 NMDA 受容体遮断薬の MK-801 によって誘発される PPI 障害に対して、varenicline が改善作用を示さなかったことを報告している¹⁵⁾。本研究では、ICR マウスにおいて varenicline が apomorphine 誘発 PPI 障害に対して改善作用を示したが、cytisine は今回用いた投与量では有意な改善作用を示さなかった。Varenicline と cytisine は、共に α4β2 型 nAChR 部分刺激作用および α7 型 nAChR 完全刺激作用を有する^{6,7)}。しかし、両 nAChR サブタイプへの結合親和性が異なる。Rollemma らは、α4β2 型および α7 型 nAChR に対する K_i 値は、varenicline でそれぞれ 0.4 nM, 125 nM, cytisine でそれぞれ 2.0 nM, 5,890 nM であり、varenicline は cytisine と比較して α7 型 nAChR に対して高い親和性を示すことが報告されている⁶⁾。これらのことから、varenicline の apomorphine 誘発 PPI 障害抑制作用には α7 型 nAChR が関与している可能性が示唆された。

以上、本研究において DA 作動薬の apomorphine 誘発 climbing behavior と PPI 障害に対する varenicline および cytisine の影響を比較した結果、varenicline が有意な改善作用を示した。その作用には、α7 型 nAChR が関与している可能性が示唆された。

$\alpha 7$ 型nAChRはグルタミン酸神経終末に存在し、グルタミン酸の遊離促進作用を介してDA神経過活動を抑制していることが報告されている¹⁶⁾。PPIには、DA、5-HTおよびグルタミン酸神経系など複数の神経系が関連し、グルタミン酸受容体拮抗作用のphencyclidineや5-HT_{2A}作動薬のDOIはPPI障害を誘発することが報告されている¹⁷⁾。従って、他のPPI障害モデルを用いた更なる検討が必要と考えられる。

利益相反：本研究は学内の研究費のみで実施しており、開示すべき利益相反はない。

謝辞：本研究を遂行するにあたり、実験手技のサポート頂きました実験動物管理者の小倉邦彰氏に感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 日本神経精神薬理学会：統合失調症薬物治療ガイドライン(CQ5-4), 医学書院 (2015).
- 2) 橋本謙二：統合失調症の病態から見た新しい治療薬の開発, 日本精神神経雑誌, 113(4) 368-373 (2007).
- 3) Morisano D., Bacher I., Audrain-McGovern J., George T.P.: Mechanisms underlying the comorbidity of tobacco use in mental health and addictive disorders., *Can. J. Psychiatry*, 54(6) 356-67 (2009).
- 4) Dalack G.W., Healy D.J., Meador-Woodruff J.H.: Nicotine dependence in schizophrenia: clinical phenomena and laboratory findings., *Am. J. Psychiatry*, 155(11) 1490-501 (1998).
- 5) Bertrand D., Lee C.H., Donnelly-Roberts D.: Therapeutic potential of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors., *Pharmacol. Rev.*, 67 (4) 1025-1073 (2015).
- 6) Rollema H., Shrikhande A., Ward K.M., Tingley F.D., Coe J.W., O'Neill B.T., Tseng E., Wang E.Q., Mather R.J., Hurst R.S., Williams K.E., Vries M.D., Cremers T., Bertrand S., Bertrand D.: Pre-clinical properties of the $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor partial agonists varenicline, cytisine and dianicline translate to clinical efficacy for nicotine dependence., *Br. J. Pharmacol.*, 160(2) 334-45 (2010).
- 7) Coe J.W., Brooks P.R., Vetelino M.G., Wirtz M.C., Arnold E.P., Huang J., Sands S.B., Davis T.I., Lebel L.A., Fox C.B., Shrikhande A., Heym J.H., Schaeffer E., Rollema H., Lu Y., Mansbach R.S., Chambers L.K., Rovetti C.C., Schulz D.W., Tingley F.D., O'Neill B.T.: Varenicline: an $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptor partial agonist for smoking cessation., *Med. Chem.*, 48(10) 3474-3477 (2005).
- 8) Walker N., Howe C., Glover M., McRobbie H., Barnes J., Nosa V., Parag V., Bassett B., Bullen C.: Cytisine versus nicotine for smoking cessation., *N. Engl. J. Med.*, 371(25), 2353-2362 (2014).
- 9) Protais P., Costentin J., Schwartz J.C.: Climbing behavior induced by apomorphine in mice: a simple test for the study of dopamine receptors in striatum., *Psychopharmacology (Berl)*, 50(1) 1-6 (1976).
- 10) Bardin L., Kleven M.S., Barret-Grévoz C., Depoortère R., Newman-Tancredi A.: Antipsychotic-like vs cataleptogenic actions in mice of novel antipsychotics having D₂ antagonist and 5-HT₁ agonist properties., *Neuropsychopharmacology*, 31(9) 1869-1879 (2006).
- 11) Takahashi H., Hashimoto R., Iwase M., Ishii R., Kamio Y., Takeda M.: Prepulse inhibition of startle response recent advances in human studies of psychiatric disease., *Clin.*

- Psychopharmacol. Neurosci.*, 9(3) 102-10 (2011).
- 12) Suemaru K., Yasuda K., Umeda K., Araki H., Shibata K., Choshi T., Hibino S., Gomita Y.: Nicotine blocks apomorphine-induced disruption of prepulse inhibition of the acoustic startle in rats: Possible involvement of central $\alpha 7$ nicotinic receptors., *Br. J. Pharmacol.*, 142(5): 843-850 (2004).
- 13) Kohnomi S., Suemaru K., Goda M., Choshi T., Hibino S., Kawasaki H., Araki H.: Ameliorating effects of tropisetron on dopaminergic disruption of prepulse inhibition via the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor in Wistar rats., *Brain Res.*, 1353:152-158 (2010).
- 14) Kucinski A., Wersinger S., Stachowiak E.K, Becker C., Lippiello P., Bencherif M., Stachowiak M.K.: The effects of varenicline on sensory gating and exploratory behavior with pretreatment with nicotinic or 5-HT_{3A} receptor antagonists., *Behav. Pharmacol.*, 26(1-2):217-26 (2015).
- 15) Goktalay T., Buyukuysal S., Uslu G., Coskun A.S., Yorgancioglu A., Kayir H., Uzbay T., Goktalay G.: Varenicline disrupts prepulse inhibition only in high-inhibitory rats., *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 53: 54-60 (2014).
- 16) Corradi J., Bouzat C.: Understanding the Bases of Function and Modulation of $\alpha 7$ Nicotinic Receptors: Implications for Drug Discovery, *Mol. Pharmacol.*, 2016 90(3): 288-99 (2016).
- 17) Sipes T.E., Geyer M.A.: DOI disruption of prepulse inhibition of startle in the rat is mediated by 5-HT_{2A} and not by 5-HT_{2C} receptors., *Behav Pharmacol.*, 6(8) 839-842 (1995).