

メタンフェタミンを1日1回連続5日間または1日のみ投与したラットの脳を使用して mRNA 発現量を検討した。摘出した脳は、直ちにトリゾール (Bio Rad, USA) 中で保存し、全RNAを抽出した。Superscript II First-Strand Synthesis System を用いてcDNAを合成した。このcDNA1 μ gをもとに、TNF- α に対する特異的プライマー (TaqMan Assay Reagents) と蛍光プローブを用いて、リアルタイム RT-PCR (ABI PRIZM 7700 Sequence Detection System, Perkin Elmer, USA)を行った。

3. メタンフェタミンの逆耐性と自発運動量の測定

C57/BL6 にメタンフェタミン 1mg/kg を1日1回9日間皮下投与し、投与直後から1時間の自発運動量を運動量解析システム(ニューロサイエンス社)を用いて測定した。TNF- α は、メタンフェタミン投与1時間前に腹腔内投与を行った。また、運動量に対する TNF- α の影響についても検討した。

4. 条件性場所嗜好(Conditioned Place Preference; CPP) 試験

CPP試験には2-compartment boxを用いて、既報に従って行った⁴⁾。TNF- α (1.0-4 μ g) およびメタンフェタミン (2 mg/kg)の投与は実験の直前および1時間前にそれぞれ行った。

5. 薬物弁別試験

摂餌制限したラットを fixed ratio 20 (FR-20) 餌強化スケジュールで訓練し、

レバー押し学習をさせた。その後、常法に従って⁵⁾、メタンフェタミン 0.5 mg/kg と生理食塩水による薬物弁別試験を行った。メタンフェタミンの薬物弁別を獲得した動物を用いて、メタンフェタミンの弁別刺激作用に対する TNF- α の作用を検討し、このときのラットの脳を用いて、c-Fos の組織化学免疫染色を行った。TNF- α は薬物弁別試験の1時間前に腹腔内投与を行った。

6. 免疫組織化学染色

4%ホルムアルデヒドで固定した脳切片を用いて、ABC 法または蛍光抗体法で免疫組織化学染色を行った。抗 TNF- α および抗 c-Fos 抗体は、Santa Cruz Biochemistry 社 (USA) から購入した。アストログリア細胞のマーカーとして抗酸性グリア繊維性タンパク (GFAP; Chemicon 社、USA)、マイクログリアのマーカーとして抗 Mac-1 (抗 CD116 抗体; Serotec 社、USA) および神経細胞のマーカーとして微小管結合タンパク II (Upstate Biochemistry 社、USA) を用いた。ビオチン化および蛍光2次抗体は Beck Stain 社 (USA) および Molecular Probe 社 (USA) からそれぞれ購入した。c-Fos 陽性細胞の計数にはイメージアナライザー (Image System; Compix Inc., USA) を用いた。

7. 統計処理

実験結果は平均±標準誤差で示した。有意差検定は一元配置分散分析の後、Bonferroni's テストを用いて行った。2群間比較には、Student's t-test を用いて

検定した。

C、結果

1. ラットへのメタンフェタミン連続投与による TNF- α mRNA の発現誘導

昨年度も報告したようにメタンフェタミンの連続投与によってラット脳内各部位（側坐核、海馬、線条体、扁桃体）で TNF- α mRNA が増加した (Fig1)。単回投与の場合には、TNF- α mRNA の増加は観察されなかった。この時の脳を用いて、抗 TNF- α と MAP-2 抗体で免疫組織化学染色を行ったところ、両タンパクは同一の細胞において発現していた (Fig.2)。また、GFAP および Mac-1 陽性細胞では TNF- α は発現はしていなかった（データ示さず）。

2. メタンフェタミンにより誘発される精神神経毒性における TNF- α の保護作用

メタンフェタミンにより誘発される自発運動量増加の逆耐性（データ示さず）や CPP の形成は TNF- α （4 μ g）の腹腔内投与により抑制された (Fig3)。TNF- α のみを投与されたマウスでは、自発運動量増加の逆耐性や CPP の形成に変化はなかった。側坐核に直接 TNF- α （10 μ g/0.5 μ l）を注入した場合にもメタンフェタミン投与によって誘発される運動量の増加が抑制された (Fig4)。

3. メタンフェタミンによる薬物弁

別刺激効果に対する TNF- α の作用

Fig. 5 に示すように、メタンフェタミンによる薬物弁別刺激効果は TNF- α の腹腔内投与によって、抑制された。しかし、TNF- α を投与してもラットのレバー押し反応速度には変化はなかった。このラット脳から凍結切片を作成し、側坐核、線条体および扁桃体の c-Fos 陽性細胞数を計数したところ、メタンフェタミンによる薬物弁別刺激実験を行う時に、TNF- α を投与されたラットでは、側坐核の c-Fos 陽性細胞数が減少していた (Fig. 6)。

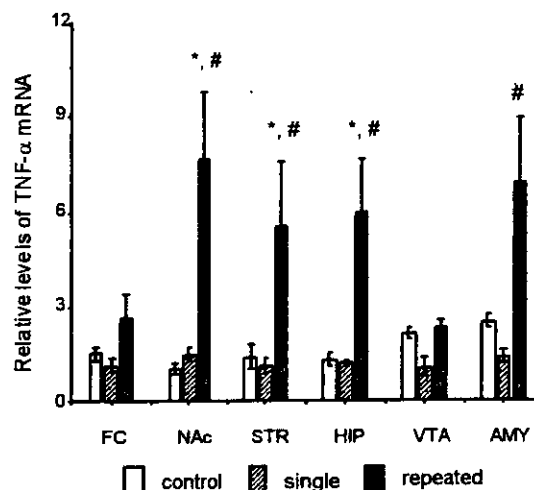


Fig. 1. TNF- α mRNA expression in the brain after single and repeated MAP treatment in rats. Rats were killed 2 hr after single (2 mg/kg, s.c.) or repeated MAP treatment once a day for 5 days. *P<0.05 vs control, #P<0.05 vs single treatment.

D、考察

昨年度の本研究班の報告書において、TNF- α 遺伝子欠損マウスでは、メタンフェタミンの弁別刺激効果やドパミン神経毒性が増強することを示した。その機構のひとつとして、TNF- α がドパミン取り込みを促進して細胞外ドパミン量を減少することによりメタンフ

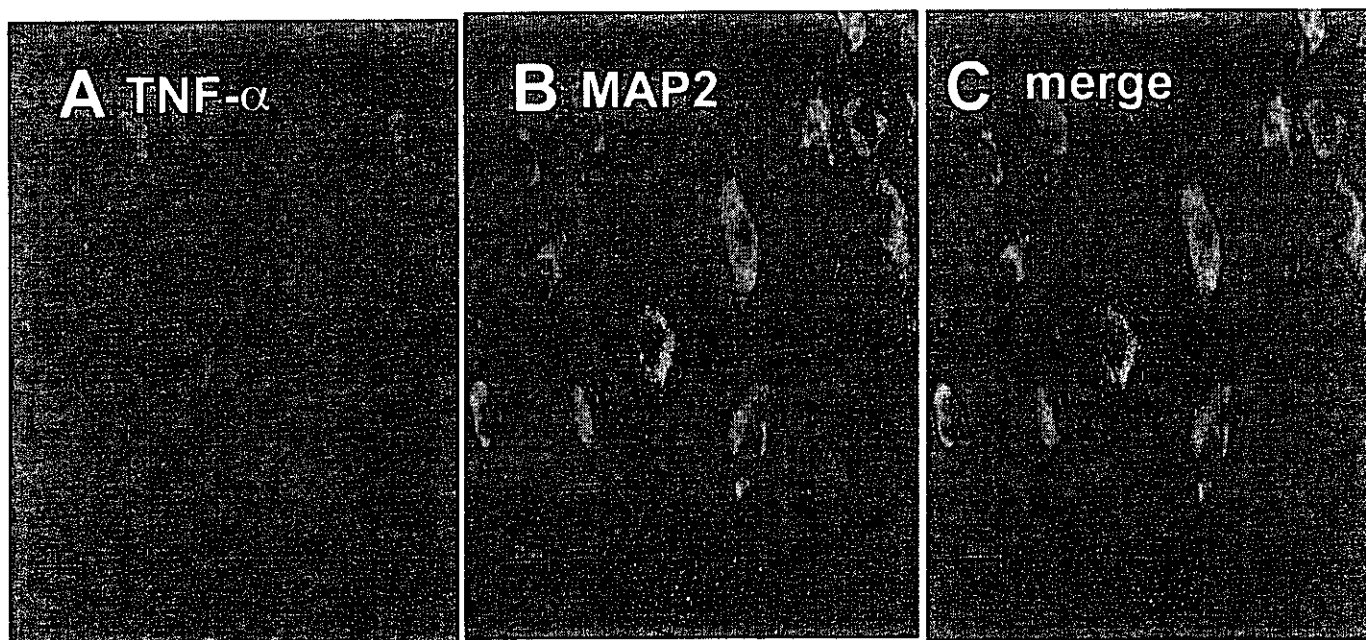


Fig. 2 Double-labelling fluorescence photomicrographs for TNF- α (A) and MAP2(B) immunoreactive cells were co-localized with MAP2-positive cells in the nucleus accumbens at 4 hrs after repeated methamphetamine treatment.

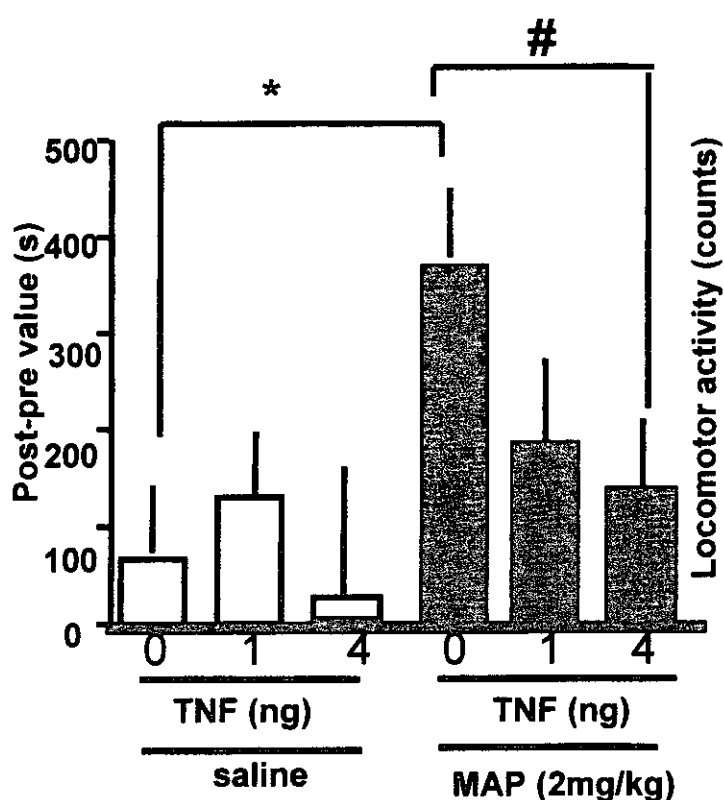


Fig. 3 Effects of TNF- α on methamphetamine-induced place preference in mice. * $p < 0.05$ vs saline-treated group, # $p < 0.05$ vs MAP alone-treated group

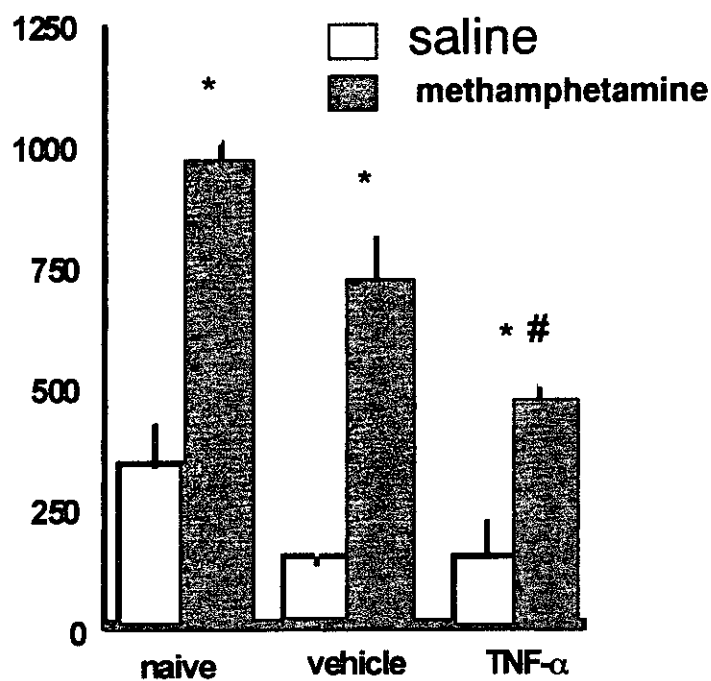


Fig.4 Effects of intra-nucleus accumbens TNF- α infusion on spontaneous locomotor activity and methamphetamine-induced hyperactivity. * $p < 0.05$ vs spontaneous locomotor activity, # $p < 0.05$ vs vehicle-treated group.

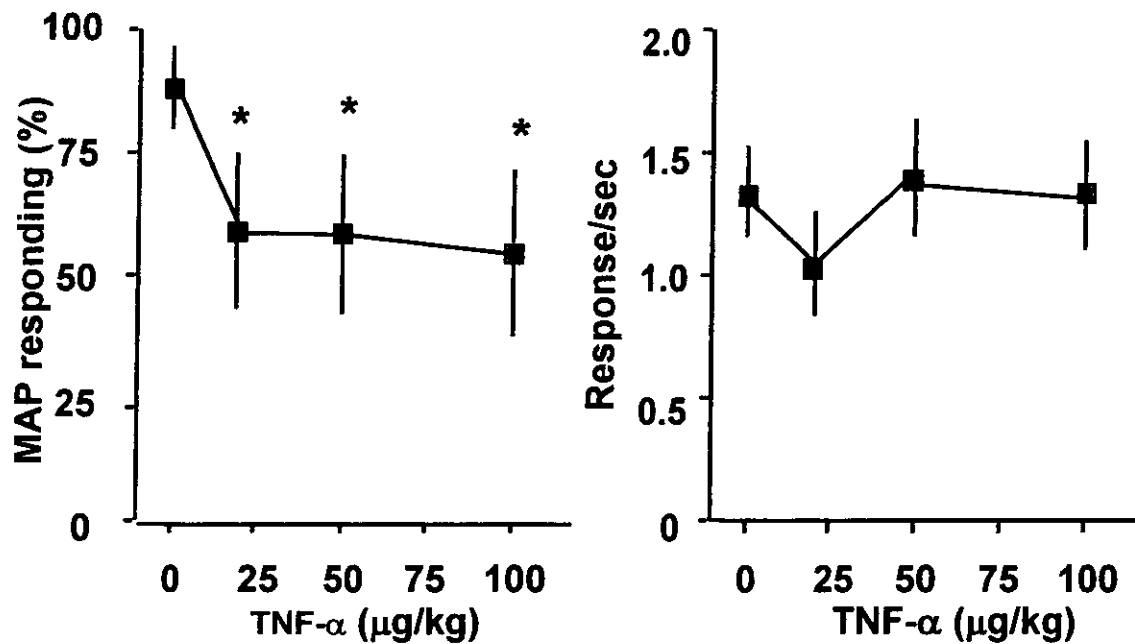


Fig.5 Effects of TNF- α on discriminative stimulus effects of methamphetamine in rats. *P<0.05 vs control.

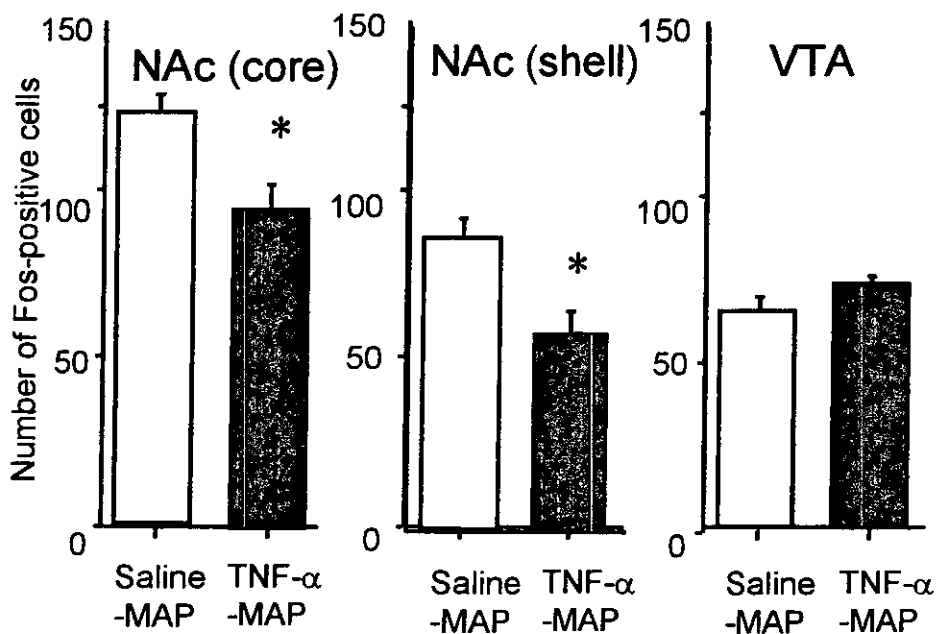


Fig. 6 Effect of TNF- α on Fos expression associated with discriminative stimulus effect of MAP in rats. *P<0.05 vs saline-pretreated group.

エタミンの弁別刺激効果やドパミン神経毒性に対して抑制的に働いている可能性を示唆した。今年度はTNF- α を投与することにより、メタンフェタミンの弁別刺激効果やドパミン神経毒性を抑制されることを示した。さらに、この時の作用部位のひとつがドパミン作動性神経系の終末である側坐核である可能性を示した。

メタンフェタミンの連続投与や薬物弁別刺激反応によってc-Fosの発現量が増加し¹³⁾、その下流のタンパクの発現が促進された結果、シナプスの可塑的構造変化によって精神神経毒性が発現している可能性が考えられている^{2,6)}。TNF- α は神経細胞の突起の伸展や分岐形成を抑制することが報告されていること⁷⁾から、TNF- α は、c-Fosの発現増加を抑制することによって、シナプスの可塑的構造変化に対して抑制的に作用することが考えられた。今後は、c-Fosとシナプスの可塑的構造変化の間に介在するタンパクの同定を試みたいと考えている。

リポポリサッカロイド(LPS)を投与された感染症モデルマウスでは、コカインによる薬物弁別刺激効果が成立しにくいことが報告されている¹²⁾が、この時の理由の1つに血中や脳内のTNF- α 濃度が増加している可能性が考えられる。以上を考え合わせると、TNF- α が、依存性薬物による、薬物自覚効果や求薬反応に対して抑制的に働くことが考えられる。今後は詳細なメカニズムの解明およびTNF- α の産生誘導を介した薬物依存への治療薬や予

防薬の開発に繋げていきたいと考えている。

E. 結語

本研究の結果より、(1)メタンフェタミンの連続投与により脳各部位でTNF- α が誘導されること、(2)TNF- α はメタンフェタミンの精神神経毒性や弁別刺激効果に対して抑制的に作用し、(3)その作用点の一つとして、側坐核におけるc-Fosの発現が関与している可能性が考えられた。

<参考文献>

1. Iida R., Saito K., Yamada K., et al., Suppression of neurocognitive damage in LP-BM5 infected mice with a targeted deletion of the TNF α gene. *FASEB J.* 14: 1023-1031, 2000.
2. Lee Y. W., Hennig, B., Yao J. et al.: Methamphetamine induces AP-1 and NF-kappaB binding and transactivation in human brain endothelial cells. *J. Neurosci. Res.*, 66: 583-591, 2001
3. Kalivas PW.: Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Res. Rev.* 16: 223-244, 1991
4. Miyamoto Y., Noda Y., Komori Y. et al., Involvement of nitric oxide in phencyclidine-induced place aversion

- and preference in mice. *Behav. Brain Res.* 116: 187-196, 2000.
5. Mori A., Noda Y., Mamiya T., et al.: Phencyclidine-induced discriminative stimulus is mediated via phencyclidine binding sites on the N-methyl-D-aspartate receptor-ion channel complex, not via sigma receptors. *Behav. Brain Res.* 119: 33-40, 2000.
 6. Nestler EJ.: Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat. Neurosci.* 2: 119-128, 2001
 7. Neumann H., Schweigreiter R., Yamashita T., et al.: Tumor necrosis factor inhibits neurite outgrowth and branching of hippocampal neurons by a Pho-dependent mechanism. *J. Neurosci.* 22: 854-862, 2002
 8. Sandoval V., Riddle E., Ugarte YV., et al.: Methamphetamine-induced rapid and reversible changes in dopamine transporter function: an in vitro model. *J. Neurosci.* 21: 1413-1419, 2001
 9. Sato M., Chen CC. and Akiyama K.: Acute exacerbation of paranoid psychotic state after long-term abstinence in patients with previous methamphetamine psychosis. *Biol. Psychiatry* 18: 429-440, 1983
 10. Satoh J., and Kuroda Y.: β -catein expression in human neural cell lines following exposure to cytokines and growth factors. *Neuropathology.* 20, 113-123, 2000
 11. Seiden LS., Sabol KE. and Ricaurte GA.: Amphetamine: effects on catecholamine systems and behavior. *Annu. Res. Pharmacol. Toxicol.* 33: 639-677, 1993
 12. Suzuki T., Funada M., Sugano T., et al., Effects of a lipopolysaccharide from *Pantoea agglomerans* on the cocaine-induced place preference. *Life Sci.* 54, 75-80, 1994
 13. Thiret N., Zwiller J., and Ali S.F.: Induction of immediate early genes *egr-1* and *c-fos* by methamphetamine in mouse brain. *Brain Res.* 919: 31-40, 2001
 14. Yamada K., Iida R., Miyamoto Y., et al.: Neurobehavioral alterations in mice with a targeted deletion of the tumor necrosis factor- α gene: implications for emotional behavior. *J. Neuroimmunol.* 111: 131-18, 2000.

厚生科学研究費補助金(医薬安全総合研究事業)

分担研究報告書

分担研究課題名：覚醒剤による神経毒性発現下における覚醒剤体内動態の変化に関する基礎的検討

分担研究者：長谷川 高明

共同研究者：高木 健三、柴田 英治、高木 健次、北市 清幸

名古屋大学医学部保健学科 検査技術科学専攻

研究要旨

これまでに我々は規制薬物の薬物依存形成と薬物体内動態の関係を明らかにすることを目的としてメタンフェタミン(METH)逆耐性動物を用いて様々な検討を行ってきた。そしてMAP逆耐性動物ではMAPの血中濃度-時間推移および脳組織間隙内濃度-時間推移が健常動物に比して有意に高値を示すことを明らかにしてきた。今回はMETH神経毒性モデルにおけるMAP体内動態の変化の詳細を明らかにすることを試みた。

METH神経毒性モデルは常法に基づき、METH(5 mg/kg)を2時間おきに4回投与することによって作成した。まず、我々は、この神経毒性モデル作成時におけるMETH血漿中濃度の経時的推移を評価した。その結果、METH血漿中濃度はMETHの投与回数に依存して、初回投与より予測した血漿中濃度よりも高値を示すことが明らかになった。

この結果を薬物動態学的に解析したところ、投与回数に依存して、METHの全身クリアランスと組織移行を示す分布容積が有意に低下することが明らかになった。なお、METH血中半減期には変化が見られなかった。以上の結果より、METH神経毒性モデル作成時にはMETH組織移行の低下に起因するMETH体内動態の変化が起きることが示唆された。この示唆を実証すべく、METH血漿中濃度に対する脳および腎臓におけるMETH濃度の比(K_p 値)を用いてMETH組織移行を評価した。その結果、脳、腎臓のいずれにおいてもMETH組織移行は投与回数依存的に有意に低下することが明らかになった。したがって、METH神経毒性モデルにおけるMETH組織移行の低下はMETH薬理作用における標的臓器である脳を含む全身の臓器で起きている可能性が示唆された。また、METH神経毒性形成時には組織障害が見られないことから、このような変化にはMETH生体膜輸送機構の障害が関与していることが示唆された。

METH神経毒性に対して保護作用を持つハロペリドール(HAL)およびMK-801の処置はこのMETH組織移行の低下に対して保護作用を示し、血中濃度の上昇を抑制した。したがって、これら薬物の神経保護作用には一部、METH生体内挙動の保護作用が関与していることが示唆された。

一方、METH神経毒性形成後のMETH血漿中濃度もまた組織移行の低下を伴って上昇することが明らかになった。しかしながら、METH組織移行の低下の度合いはMETH神経毒性形成時に比べると軽度であり、METH神経毒性形成時のMETH組織移行の低下は一部が可逆的であることが明らかになった。以上の結果より、METH神経毒性モデルにおいてもMETH生体内挙動の変化が重要であることが示唆された。

A. 研究目的

メタンフェタミン(METH)は依存惹起薬である。METH 依存の本体は未だに明らかではなく、そのメカニズムの解明が待たれるところである。

臨床において METH 依存患者では神経細胞の脱落が観察される¹⁾。実験動物においても高用量の METH を動物に投与する神経細胞変性あるいは細胞死が観察される。一般に、この動物モデルは METH 神経毒性モデルと呼ばれ、METH 依存の研究に用いられている²⁾。

これまでに我々は別の覚醒剤依存動物モデルである METH 逆耐性動物を用い、その METH 体内動態について検討を行ってきた³⁾。その結果、METH を 1 日 1 回 5 日間連続投与した後、休薬して作成した METH 逆耐性動物では、血漿中および脳組織間隙中の METH 濃度が上昇することが明らかになった³⁾。すなわち、MAP 逆耐性動物での行動感作現象やさまざまな神経機能の変化の一部には血漿中 METH 濃度の上昇と METH 脳移行性の増大による脳組織間隙内遊離型 METH 濃度上昇が関与している可能性があることを示唆してきた³⁾。また、このような METH 体内動態の変化には神経以外に局在する薬物輸送担体である OCT3 の発現低下とおそらくはそれに起因する METH 組織移行の低下や METH 腎排泄能の低下が重要であることも示唆してきた³⁾。

しかしながら、METH 神経毒性モデルにおける METH 体内動態の変化については全く検討が行われていない。

そこで本研究では、まず、METH 神経毒性動物モデルにおける METH 体内動態および組織移行について検討を行った。

次に METH 神経毒性保護薬が METH 神経毒性モデルにおける METH 体内動態および組織移行の変化にどのような影響を及ぼすかについても検討を行った。

B. 研究方法

1. 試薬

塩酸メタンフェタミン (METH)は大日本製薬製、 β -フェニルエチルアミン (PEA)、(+)-MK-801 (MK) およびハロペリドール (HAL)は Sigma 社製、ダンシルクロライド (DNS)は Merck 社製をそれぞれ使用した。その他の試薬はすべて市販の特級品を使用した。

2. 動物

日本 SLC で購入した Wistar 系雄性ラット(体重 260-300 g)を使用した。動物は温度(22 - 24 °C)、湿度(55 ± 5 %)の条件下で自由摂取、自由給水のもと少なくとも 3 日間飼育したものを使用した。

3. METH 神経毒性モデルの作成

METH 神経毒性モデルの作成は常法に従い²⁾、ラットに METH (3 または 5 mg/kg)を 2 時間おきに 4 回投与することにより作成した。また、神経毒性モデルはモデル作成より 7 日後の動物を使用した。なお、今回、データには示さないが、METH 神経毒性モデルではコントロール群に比して線条体ドパミン含量の有意な低下が起きることを観察している。

3. 手術

METH 投与後の血液採取のための静脈へのカニューレーションはすべてペントバルビタール (50 mg/kg)麻酔下で行った。

すなわち、右頸静脈内にはポリエチレンチューブを埋め込んだ。

4. 採血

METH 血中濃度は神経毒性モデル作成時あるいは METH 神経毒性モデル作成より 1 週間後に METH(5 mg/kg)を投与した後、経時的に採血を行った。

血液は直ちに遠心し、得た血漿は -30℃で保存し、METH 濃度測定に供した。

5. METH 測定³⁾

METH 測定は既法に準じて行った。すなわち、血漿はその 50 μ l を取り、5% NaOH 溶液 10 μ l、内部標準物質 β -フェニルエチルアミン (0.5 μ g/ml, PEA) 含有アセトニトリル溶液 350 μ l と激しく混和し、除蛋白および METH の抽出を行った。遠心して蛋白を沈殿させた後、アセトニトリル層 300 μ l を分取し、窒素ガスにて蒸発乾固させた。乾固したサンプルに 10 mM 炭酸ナトリウム緩衝液 (pH 9.0) 100 μ l、1 mM ダンシルクロライド (DNS) 含有アセトニトリル溶液 100 μ l を加え、遮光下で 45℃、1 時間反応させた。反応後、サンプルは HPLC による METH 定量に供した。

また、組織中 METH 濃度は組織の 4-20 倍容の生理食塩水中でホモジナイズした組織懸濁液を血漿と同様に 50 μ l を取り、血漿と同様の方法で抽出・ダンシル化を行って評価した。

なお、検量線には既知濃度の METH を血漿中またはリンゲル液中に添加したものを上記と同様の抽出および反応操作により METH をダンシル化したものを使用した。

DNS-METH の測定は LC-10A システ

ム(島津)を用い、移動相には 1mM イミダゾール含有アセトニトリル-水(66:33)溶液 (pH 7.0)を用いた。蛍光検出器(RF-530)はその波長を Ex. 343 nm、Em. 530 nm として蛍光を検出した³⁾。

C. 研究結果

METH 神経毒性作成時の METH 血漿中濃度について検討を行った。その結果、METH を複数回投与することにより、METH 血漿中濃度は、初回投与で得た METH 血漿中濃度-時間曲線より予測されるよりも高値を示すことが明らかになった(Fig. 1)。例えば、4 回目投与 30 分後の METH 血漿中濃度は初回投与 30 分後のその 4 倍強に達することが明らかになった(Fig. 1, 1 回目: 635 ng/ml vs. 4 回目: 2,781 ng/ml)。

この結果を薬物動態学的に解析したところ、METH の全身クリアランスおよび組織移行を示す分布容積が METH の投与回数に依存して低下していることが明らかになった(Fig. 2)。しかしながら、METH の消失半減期($t_{1/2}$)には変化が見られなかった(Fig. 2)。したがって、METH の血漿中濃度の回数依存的な上昇には METH

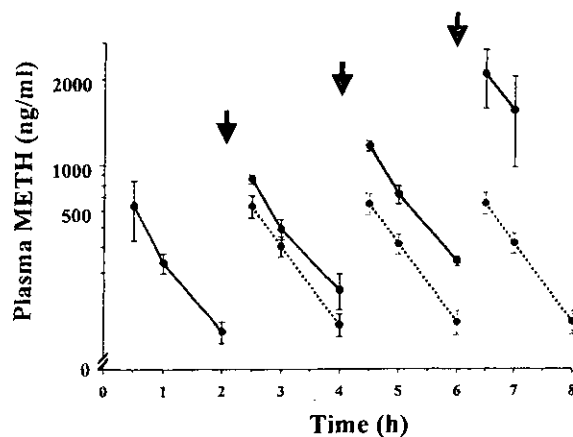


Fig. 1 Plasma concentration-time data of METH in METH neurotoxic model.

— : observed; : predicted.

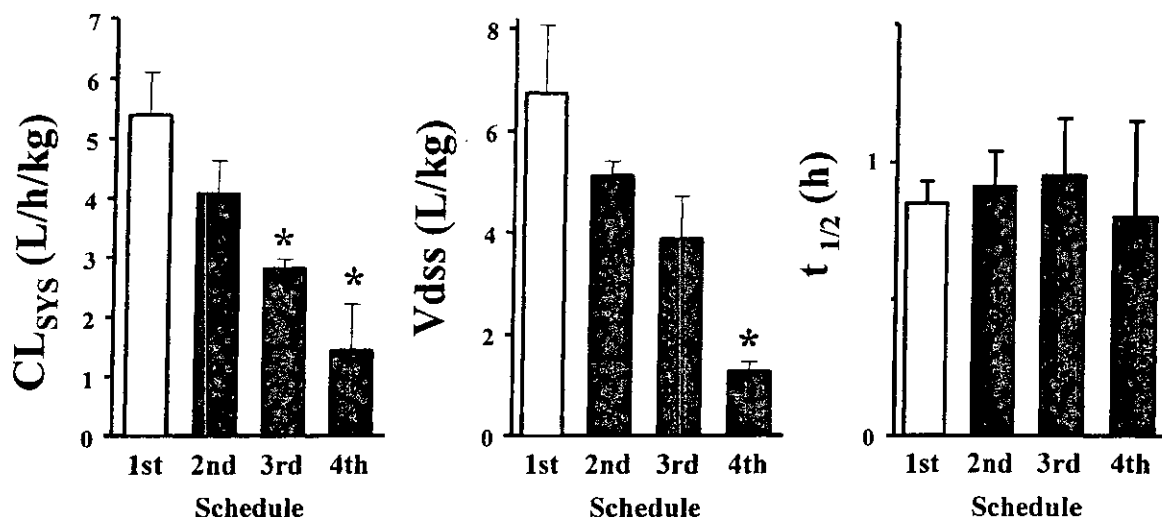


Fig. 2 Pharmacokinetic parameters of METH in METH neurotoxic model.

* $p < 0.05$ vs 1st METH injection.

代謝や排泄の低下ではなく、METH 組織移行の低下が主に関与していることが明らかになった。

この METH 組織移行の変化を確認するために、脳および腎臓における METH 濃度を測定した。その結果、METH の組織中濃度と血漿中濃度の比 (K_p) は投与回数に依存していずれの組織においても低下していることが明らかになった (Fig. 3)。

臓器である脳以外の組織でも METH 組織移行の変化が起きていることが明らかになった。

次に METH 神経毒性の保護薬である HAL および MK が METH 神経毒性モデルにおける METH 体内動態および組織移行にどのような影響を及ぼしているかについて検討を行った。その結果、HAL および MK は METH 血漿中濃度の上昇に対して抑制効果を示していることが明らかになった (Fig. 4)。また、HAL および MK

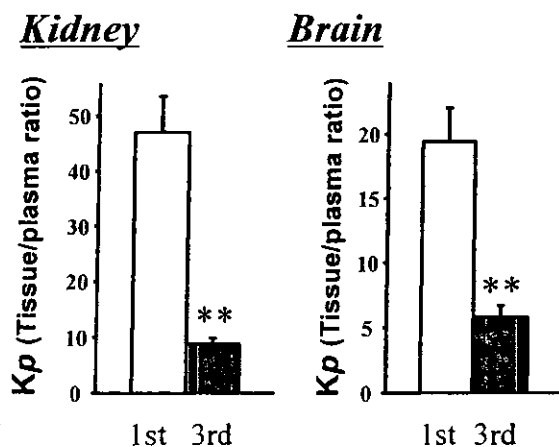


Fig. 3 The tissue/plasma ratio (K_p) of METH in kidney and brain

** $p < 0.01$, corresponding 1st METH injection.

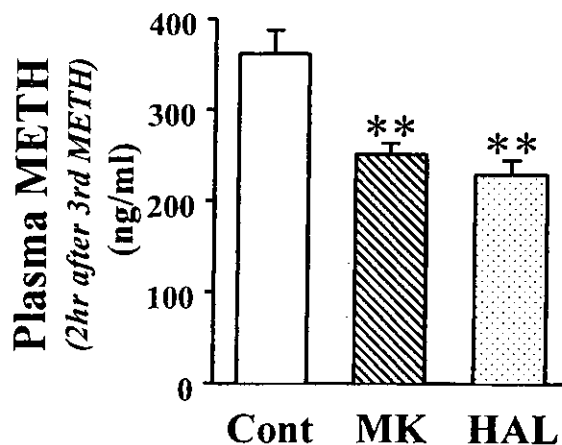


Fig. 4 Effect of haloperidol and MK-801 in METH neurotoxic model. ** $p < 0.01$ vs. control

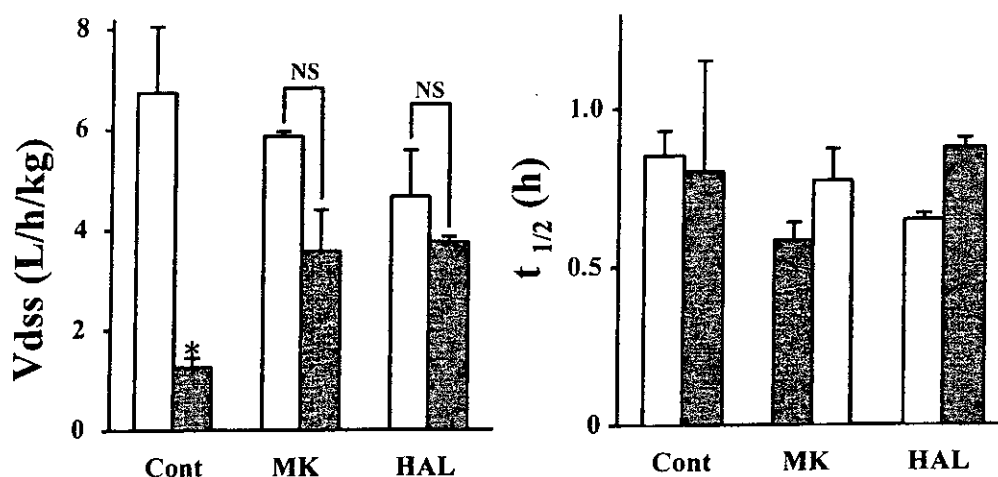


Fig. 5 Effect of MK-801 and haloperidol in METH neurotoxic model. □ : 1st METH; ■ : 4th METH. * $p < 0.05$ vs. corresponding 1st METH; NS: no significance from corresponding 1st METH.

は METH の組織移行の低下に対しても保護作用を示すことが明らかになった (Figs. 5 and 6).

次に、METH 神経毒性モデル作成後の METH 体内動態についても検討を行った。すなわち、モデル作成より 1 週間後に METH (5 mg/kg) を再投与し、METH 血漿中濃度を測定した。その結果、METH 血漿中濃度もまたコントロール群に比して高値を示した (Fig. 7)。しかし、その程度はモデル作成時の変化ほど著明

ではないことが明らかになった。また、薬物動態学的解析より、METH 神経毒性モデル作成後も METH 全身クリアランスと分布容積の低下が起きていることが明らかになった (Fig. 7)。

D. 考察

今回、我々は METH 神経毒性モデルにおける METH 体内動態について検討を行った。その結果、METH 神経毒性モデル作成時の METH 血漿中濃度は

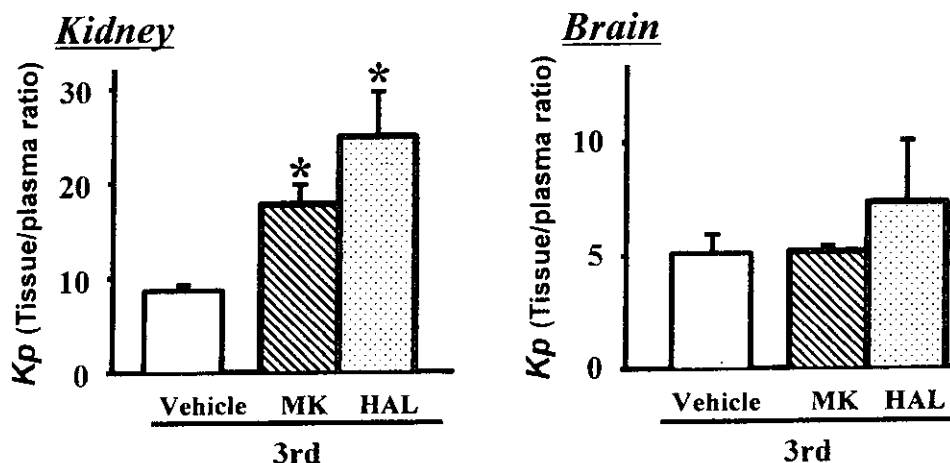


Fig. 6 The tissue/plasma ratio (K_p) of METH in kidney and brain. * $p < 0.05$ vs. vehicle.

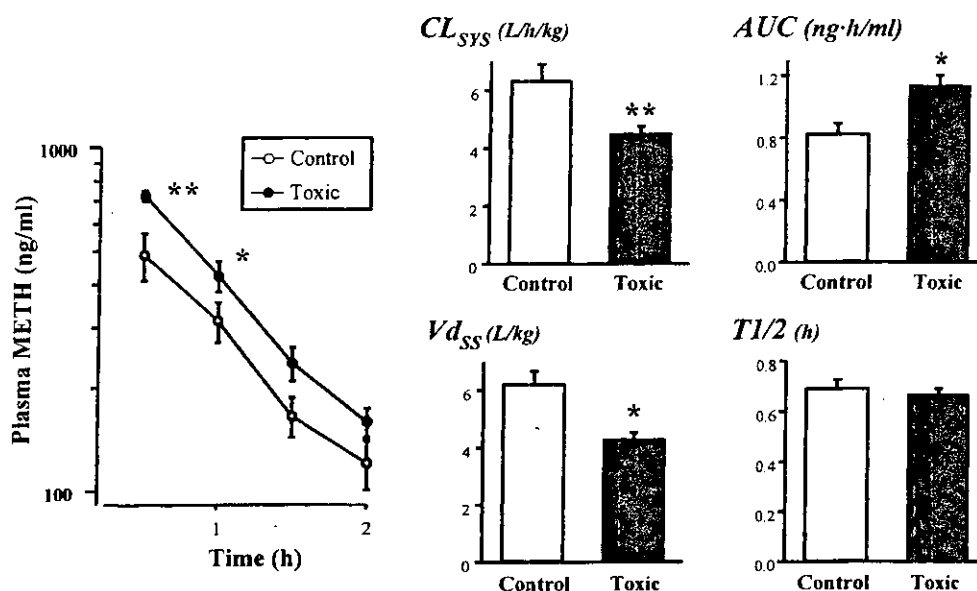


Fig. 7 Concentration-time profile and pharmacokinetic parameters of METH in METH neurotoxic model. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ vs. control.

METHの投与回数に依存して上昇することが明らかになった。また、この変化にはMETH組織移行の低下が重要な役割を果たしていることが明らかになった。

一般に薬物の血中濃度は薬物を複数回投与することにより、定常状態に達する。Choらは彼らのレビューにおいてMETHの複数回投与もまた他の薬剤と同様にMETH血中濃度を定常状態に到達させると予測している⁴⁾。我々の知見はこの予測とは矛盾するものである。また、ChoらはMETH組織移行の変化についてを考慮していない。ただし、Choらのシミュレーションは0.5mg/kgを15分おきに投与したもので、我々が今回用いたプロトコール(3または5 mg/kg、2時間おきに4回)とは用量、回数ともに異なるものである⁴⁾。また、彼らが論拠とする別の論文ではWistarラットではなく、Sprague-Dawley(SD)ラットが用いられている。事実、我々はWistarラットとSDラットのMETH生体内挙動に

は大きな差があることを確認している。

このような点については今後詳細に検討する余地はあるが、いずれにせよ、METHの短期間複数回投与はMETHの血漿中濃度および組織移行を著明に変化させることが明らかになった。

METHによる神経毒性はいくつかの薬剤あるいは処置によって保護されることが報告されている。薬剤としてはドパミン受容体拮抗薬HALやNMDA受容体拮抗薬MK、処置としては低温状態などがそれに当たる^{2,5)}。

そこで我々はHALおよびMKがMETH神経毒性モデル作成時のMETH体内動態の変化にどのような影響を与えるかについて検討を行った。その結果、HALおよびMKはMETH神経毒性モデル作成時のMETH血漿中濃度の上昇や組織移行の低下に一定の保護作用を有することが明らかになった。

次に、METHによる神経毒性モデル形

成後の METH 体内動態についても検討を行った。その結果、METH 神経毒性形成後の METH 血漿中濃度もまた正常群に比して上昇しており、それにはやはり METH 組織移行の低下が関与していることが明らかになった。しかしながら、METH 組織移行の減少の度合を示す分布容積 Vd は METH 神経毒性モデル作成時のそれよりも高く、METH 神経毒性モデル作成時に起きた METH 組織移行の低下の一部は可逆的に回復することが明らかになった。

METH 神経毒性モデルは神経細胞の脱落を伴う。したがって、METH 脳移行性の低下が METH 神経毒性モデルにおける METH 組織移行の低下に関与していることは容易に考えられる。しかしながら、モデル作成時からモデル形成後に起きた変化はどのように考えるべきであろうか？

今回データには示さないが、我々は METH 神経毒性モデル作成直後には腎臓や脳の組織障害は観察されないことをすでに見出している。この点を考慮すると、METH 神経毒性モデル作成時には細胞死ではなく、METH 生体膜輸送機構に障害が起きていることが推察される。一方、モデル作成後には神経細胞以外の組織では METH 組織移行性が回復するものの高濃度の METH を曝露された神経細胞が死に至ることから、軽度の METH 組織移行低下につながっていることが推察される。今後、この仮説については各組織への移行性および病理組織所見を用いて今後詳細に検討する予定である。

METH 生体膜輸送に関して、我々はすでに有機カチオン輸送担体 OCT3 が重要であることを証明している³⁾。非常に興味深いことに METH の活性代謝物である

アンフェタミン(AMP)もまた OCT3 に同等の親和性を持つ基質である⁶⁾。したがって、METH 代謝物 AMP の血中濃度の上昇が METH 組織移行を可逆的に変化させている可能性がある。先にも述べたように Cho らの報告では AMP 血中濃度の上昇が、METH 血漿中濃度に及ぼす影響についても全く言及していない⁴⁾。今後はこの点についても AMP を用いて検討を進めていきたいと考えている。

F. 結論

本実験において

- 1) METH 神経毒性モデル作成時の METH 血漿中濃度は METH の投与回数に依存して上昇すること、
 - 2) この変化には METH の組織分布の低下が関与していること、
 - 3) METH 組織分布の低下は METH の薬理作用に重要な脳だけでなく、末梢臓器でも起きていること、
 - 4) METH 神経毒性に対して保護作用を示す HAL および MK は METH 血漿中濃度の上昇および組織分布の低下に対しても抑制効果を示すこと、
 - 5) METH 神経毒性モデル形成後にも METH 血漿中濃度の上昇と METH 組織分布の低下が観察されること、
- が明らかになった。

以上より、METH 依存モデルである METH 逆耐性モデルおよび神経毒性モデルのいずれにおいても METH 体内動態の変動が起きていることが明らかになった。METH 体内動態と METH 生体膜輸送機構の詳細について特に OCT を中心に検討し、薬物依存メカニズム解明を試

みることが今後の課題となった。

[参考文献]

- 1) Volkow N.D., Chang L., Wang G.J., Fowler J.S., Leonido-Yee M., Franceschi D., Sedler M.J., Gatley S.J., Hitzemann R., Ding Y.S., Logan J., Wong C., Miller E.N.: Association of dopamine transporter reduction with psychomotor impairment in methamphetamine abusers. *Am J Psychiatry*, 158: 377-382, 2001.
- 2) 喜田大三, 中嶋敏勝: Methamphetamine 神経毒性における最近の動向. *日本神経精神薬理学雑誌*, 22: 35-47, 2002.
- 3) Kitaichi K., Morishita Y., Doi Y., Ueyama J., Matsushima M., Zhao Y.L., Takagi K., Hasegawa T.: Increased plasma concentration and brain penetration of methamphetamine in behaviorally sensitized rats. *Eur J Pharmacol*, 464: 39-48, 2003.
- 4) Cho A.K., Melega W.P., Kuczenski R., Segal D.S.: Relevance of pharmacokinetic parameters in animal models of methamphetamine abuse. *Synapse*, 39: 161-166, 2001.
- 5) Bowyer J.F., Davies D.L., Schmued L., Broening H.W., Newport G.D., Slikker Jr W., Holson R.R.: Further studies of the role of hyperthermia in methamphetamine neurotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther*, 268: 1571-1580, 1994.
- 6) Wu X., Kekuda R., Huang W.: Identity of the organic cation transporter OCT3 as the extraneuronal monoamine

transporter (uptake2) and evidence for the expression of the transporter in the brain. *J. Biol. Chem.*, 273: 32776-32786, 1998.

平成14年度 分担研究者氏名一覧

「規制薬物の依存及び神経毒性の発現にかかわる仕組みの分子生物学的解明に関する研究」

区 分	氏 名	所属施設・職名	住 所
主 任	佐藤 光源	東北福祉大学大学院・ 精神医学・教授	〒981-8522 仙台市国見1-8-1 TEL : 022-301-1241, FAX : 022-301-1241
分 担	谷内 一彦	東北大学大学院医学系研究科・ 細胞薬理学・教授	〒980-8575 仙台市青葉区星陵町2-1 TEL : 022-717-8055, FAX : 022-717-8060
分 担	西川 徹	東京医科歯科大学大学院・ 精神行動医科学・教授	〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45 TEL : 03-5803-5237, FAX : 03-5803-0135
分 担	氏家 寛	岡山大学大学院医歯学総合研究科・ 精神神経病態学分野・助教授	〒700-8558 岡山市鹿田町2-5-1 Tel : 086-235-7241, Fax : 086-235-7246
分 担	伊豫 雅臣	千葉大学医学部 精神医学教室・教授	〒260-8670 千葉市中央区亥鼻1-8-1 TEL : 043-222-7171, FAX : 043-226-2150
分 担	秋山 一文	獨協医科大学 精神神経医学教室・教授	〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町大字北小林 880 TEL : 0282-86-1111 内線 2730 FAX : 0282-86-5187
分 担	内村 直尚	久留米大学医学部 精神科学・助教授	〒830-0011 久留米市旭町 67 TEL : 0942-31-7564, FAX : 0942-35-6041
分 担	小島 卓也	日本大学医学部 精神神経科学教室・教授	〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1 TEL : 03-3972-8111 内線2430, FAX : 03-3974-2920
分 担	鍋島 俊隆	名古屋大学大学院医学研究科・ 臨床薬物情報学講座医療薬学・教授	〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町65番地 TEL : 052-744-2674, FAX : 052-744-2682
分 担	浅沼 幹人	岡山大学大学院医歯学総合研究科・ 脳神経制御学講座	〒700-8558 岡山市鹿田町2-5-1 Tel : 086-235-7408 / 7410, Fax: 086-235-7412
分 担	石原 熊寿	広島大学大学院医歯薬学総合研究 科・病態薬物治療学講座・助教授	〒734-8551 広島市南区霞1-2-3 Tel: 082-257-5338 Fax: 082-257-5332
分 担	曾良 一郎	東北大学大学院医学系研究科・ 精神・神経生物学・教授	〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1 TEL : 022-717-7808, FAX : 022-717-7809
分 担	長谷川 高明	名古屋大学医学部保健学科・教授	〒461-8673 名古屋市東区大幸南1-1-20 TEL : 052-719-1558(居室), FAX : 052-719-3009
分 担	船田 正彦	国立精神・神経センター・精神保健 研究所 薬物依存研究部・室長	〒272-0827 千葉県市川市国府台1-7-3 TEL : 047-372-0141 (内線1222), FAX : 047-371-2900
分 担	大熊 誠太郎	川崎医科大学薬理学教室・教授	〒701-0192 倉敷市松島577 TEL : 086-462-1111 ex.3620, FAX : 086-462-1199