

平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金
(厚生労働科学特別研究事業)

脱法ドラッグの構造修飾特性とその依存性
および神経毒性発現の関連性

課題番号：H17-特別-033

研究報告書

平成 18 年 3 月

主任研究者：船田正彦

目 次

Ⅰ. 総括研究報告書	
脱法ドラッグの構造修飾特性とその依存性および神経毒性発現の関連性-----	1
主任研究者：船田正彦 (国立精神・神経センター 精神保健研究所)	
Ⅱ. 分担研究報告書	
MDMA 類似誘導体の薬物依存性評価システム構築に関する研究-----	9
分担研究者：船田正彦 (国立精神・神経センター 精神保健研究所)	
脱法ドラッグ（違法ドラッグ）の構造修飾に基づく神経毒性発現の研究-----	22
分担研究者：浅沼幹人 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科脳神経制御学講座神経情報学)	
Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	34
Ⅳ. 研究成果の刊行物・別冊-----	36

脱法ドラッグの構造修飾特性とその依存性および神経毒性発現の関連性

主任研究者 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 依存性薬物研究室長)

【研究要旨】

メチロン (2-methylamino-1-[3,4-methylenedioxy-phenyl]propan-1-one) は規制薬物である 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) の benzylic position がケトン基に修飾されたもので、違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)として流通している。本研究では、メチロンの精神依存性および神経細胞毒性の評価を行い、MDMA 類似構造を有する化学物質の乱用危険度および毒性を推測する研究システムの構築を試みた。規制薬物である methamphetamine (MAP) または MDMA を比較対照薬としてメチロンの効果を評価した。1) MDMA およびメチロンの行動解析：薬物を投与し、運動量の測定を行った。MDMA の投与により、著明な運動促進作用が発現した。同様に、メチロンによっても用量依存的かつ著明な運動促進作用が発現した。また、この効果は、ドパミン受容体拮抗薬の前処置で有意に抑制された。メチロンは MDMA と同等の中枢興奮作用を有し、その効果の発現にはドパミン神経系が関与していることが明らかになった。薬物の精神依存形成能は、マウスを使用し conditioned place preference (CPP) 法により報酬効果を評価した。MDMA およびメチロンにより報酬効果が発現し、精神依存形成能を有することが確認された。メチロンは MDMA 同様に乱用される危険性が極めて高いものと危惧される。2) 脳内モノアミンに対する影響：薬物投与 1 時間後に、側坐核を分画し HPLC 法に従って、ドパミンおよび代謝産物の含量を測定した。メチロン投与により、ドパミンおよび 3-MT 含量の増加が確認された。乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、ドパミンおよびその代謝産物の変動が利用できると考えられる。3) メチロンによる脳内遺伝子発現：MAP および MDMA 投与後の、側坐核における遺伝子発現変動をマイクロアレイ法で解析した。MAP および MDMA の投与により共通して glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) 発現レベルが増加していた。メチロン (10 mg/kg) 投与による側坐核における GILZ mRNA 発現を測定したところ、有意な増加が確認された。GILZ は中枢興奮薬の依存形成の危険性を予測するための、有用な生化学的マーカーの 1 つである可能性が示唆された。今後は、さらに多くの依存形成能を有する薬物による遺伝子およびタンパク質の変動を検索し、GILZ の役割およびマーカーとしての意義について詳細な解析が必要である。4) 細胞毒性の評価：ドパミン系培養神経細胞 CATH.a 細胞とセロトニン系培養神経細胞 B65 細胞を用いて、メチロン添加 24 時間後の細胞毒性 (LDH 放出量測定) および形態学的変化を検討した。メチロン (50 μ M - 1mM) 単独暴露により、いずれの細胞においても著明な LDH 放出量の増加は認められなかった。MAP および MDMA 単独暴露では、1 mM 以上で一部にアポトーシス様形態変化および LDH 放出量の増加が認められた。薬物併用実験では、B65 細胞において、単独では LDH 放出量増加のみられないメチロンと MAP もしくは MDMA の併用暴露により、LDH 放出量の有意な増加がみられた。一方、CATH.a 細胞では相乗効果はほとんどみられなかった。B65 細胞での形態学的変化については、単独では障害性の低いメチロンと MAP もしくは MDMA の併用により、細胞死ならびにアポトーシス様形態変化は増強された。セロトニ

ン系培養神経細胞では、メチロンと MAP もしくは MDMA との併用暴露により、細胞毒性ならびにアポトーシスが相乗的に増強されることが判明した。これらの結果から、メチロンは MDMA と比較して、その構造修飾によりドパミン系およびセロトニン系神経に対して単独暴露では強い毒性は示さないものの、MAP もしくは MDMA との同時乱用では強いセロトニン神経毒性をもたらす危険性があると考えられる。本研究より、メチロンは MDMA と同様に、非常に強力な中枢興奮作用と精神依存形成能を有することが明らかになった。MDMA 類似の構造を有する薬物の精神依存形成能を評価する場合、中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験を行うことにより、効率良く化学物質の精神依存性を評価できると考えられる。メチロンは MDMA 同様に乱用される危険性が極めて高いものと危惧される。メチロンの細胞毒性に関しては、MAP もしくは MDMA との同時乱用では強いセロトニン神経毒性をもたらす危険性があると考えられる。培養細胞を利用した細胞毒性の評価は、薬物単独および規制薬物との併用実験などの様々な環境設定が可能であり、迅速かつ正確な毒性評価法として有用である。CPP 法による依存性評価および培養細胞による毒性の評価システムは、迅速に科学的データを得ることが可能であり、違法ドラッグによる重大な健康被害の発生を未然に防ぐために必要である。本研究において、メチロンに着目して解析を行い MDMA の benzylic position がケトン基に修飾されても、MDMA と同等の依存性および毒性が発現することが明らかになった。したがって、MDMA の構造において、この部分の構造修飾に希少差異があっても、MDMA と類似した効果が発現する危険性が示唆された。今後は、依存性薬物の化学構造および構造修飾に着目し、多くの化合物について、その薬物依存性と毒性発現の関連性についての検討が不可欠である。

分担研究者：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
依存性薬物研究室長

分担研究者：浅沼幹人

岡山大学大学院医歯薬学
総合研究科脳神経制御学講座
神経情報学 助教授

A. 研究目的

薬物乱用は若年層を中心に浸透しているのが現状であり、麻薬として規制されている 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) に代表される“クラブ・ドラッグ”の乱用は、依然大きな社会問題である。特に、MDMA は錠剤型で流通しており、経口投与で十分な効果が発現するため、従来の静注による乱用などに比べてその拡大は深刻である。一方、インターネット等の通信手段の普及により、薬物等の化学物質に関する情報伝播は非常に

高速化している。それに伴い様々な化学物質の取引は容易かつ迅速になっている。近年、法的規制を受けない化学物質で、乱用を目的として売買されている違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）の氾濫は重大な社会問題となっている。国内で流通が確認されている違法ドラッグとしては、既に麻薬として規制されている 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT) に類似したトリプタミン誘導体と覚せい剤類似骨格を有するフェネチルアミン誘導体が知られている。その中でも MDMA に構造が類似した 2-methylamino-1-[3,4-methylenedioxyphenyl]propan-1-one (メチロン)の流通が確認されており、現在最も爆発的な広がりが懸念される違法ドラッグの 1 つである。メチロンは MDMA の benzylic position がケトン基に修飾された β ケトン誘導体であり、通称“メチ”などとして錠剤や粉末で取引されている。

メチロンは MDMA と非常に構造が似ているため、MDMA 同様の依存形成能を有する可能性が考えられる。また、メチロン単独もし

くは混入物質の有無などにより、さらに強力な精神依存性や未知の毒性などが発現する危険性が存在する。したがって、薬物の精神依存性および神経毒性発現の有無を評価する基礎的な検討が必要である。覚せい剤およびMDMAなどの依存性薬物との比較を通じ、違法ドラッグの依存形成の強度と神経毒性について明確にするのは緊急課題である。

研究1:MDMA類似誘導体の薬物依存性評価システム構築に関する研究(分担研究者: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 依存性薬物研究室長)では、規制薬物である methamphetamine (MAP)、MDMA および違法ドラッグであるメチロンの精神依存性と神経毒性の発現に関する基盤的検討を行った。本研究を通じ、1)メチロンなどのMDMA類似誘導体の乱用危険性を推測するための実験バッテリーの構築を試みた。また、薬物乱用危険性を予測しうる生化学的マーカー候補の基礎的な検索を行った。今回の研究では、メチロン投与による側坐核における2)脳内モノアミンおよび3)glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ)遺伝子発現レベルの変動に関する解析を行った。研究2:脱法ドラッグ(違法ドラッグ)の構造修飾に基づく神経毒性発現の研究(分担研究者:浅沼幹人、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科脳神経制御学講座神経情報学 助教授)では、ドパミン系培養神経細胞 CATH.a 細胞とセロトニン系培養神経細胞 B65 細胞を用いて、メチロン添加 24 時間後の細胞毒性(LDH 放出量測定)および形態学的変化を検討した。

本研究を通じ、MDMA類似誘導体の乱用危険性および神経細胞毒性の発現を推測する研究バッテリー構築の可能性を検討した。また、乱用危険性を予測し得る生化学的マーカー候補の検索を行った。違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)規制に向け、薬物の希少構造差異に基づく、迅速かつ総合的な薬物依存性および毒性評価システム構築に関する基盤研究を行った。

B. 研究方法

1. MDMA 類似誘導体の薬物依存性評価システム構築に関する研究

メチロン(MDMAのbenzylic positionがケトン基に修飾された薬物)の中枢興奮作用および精神依存性の評価を行った。実験には、ICR系雄性マウスを使用した。1)MDMAおよびメチロンの行動解析:薬物を投与し、運動量の測定を行った。また、ドパミン受容体拮抗薬の前処置の影響も検討した。薬物の精神依存形成能は、マウス conditioned place preference (CPP)法により報酬効果を評価した。2)脳内モノアミンに対する影響:薬物投与1時間後に、側坐核を分画しHPLC法に従って、ドパミンおよび代謝産物の含量を測定した。3)メチロンによる脳内遺伝子発現:MAPおよびMDMAの投与により、共通して側坐核においてGILZ mRNA発現レベルは増加する。そこで、メチロン(10 mg/kg)投与による側坐核におけるGILZ mRNA発現を検討した。

2. 脱法ドラッグ(違法ドラッグ)の構造修飾に基づく神経毒性発現の研究

MDMAの構造修飾体であるメチロンのドパミン系神経あるいはセロトニン系神経への毒性、ならびにMDMAあるいはMAPとの併用による神経毒性発現について検討した。神経細胞毒性の評価:ドパミン系培養神経細胞CATH.a細胞とセロトニン系培養神経細胞B65細胞を用いた。メチロンの添加ならびにMDMAあるいはMAPとの同時添加を行い、24時間後の細胞毒性(LDH放出量測定)、形態学的変化を検討した。また、Hoechst33342による核染色を行い、アポトーシス様の形態学的変化についても検討した。

C. 研究結果

1. MDMA 類似誘導体の薬物依存性評価システム構築に関する研究

1) 行動解析: MDMA の投与により、著明な運動促進作用が発現した。同様に、メチロンによっても用量依存的かつ著明な運動促進作用が発現した。また、この効果はドパミン受容体拮抗薬の前処置で有意に抑制された。メチロンは MDMA と同等の中枢興奮作用を有し、その効果の発現にはドパミン神経系が関与していることが明らかになった。薬物の精神依存形成能は、マウスを使用し CPP 法により報酬効果を評価した。MDMA およびメチロンにより報酬効果が発現し、精神依存形成能を有することが確認された。メチロンは MDMA 同様に乱用される危険性が極めて高いものと危惧される。2) 脳内モノアミンに対する影響: メチロン投与により、ドパミンおよび 3-MT 含量の増加が確認された。乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、ドパミンおよびその代謝産物の変動が利用できると考えられる。3) メチロンによる GILZ 遺伝子発現: MAP および MDMA の投与により共通して GILZ 発現レベルが増加していた。メチロン投与による側坐核における GILZ mRNA 発現を測定したところ、有意な増加が確認された。GILZ は中枢興奮薬の依存形成の危険性を予測する有用な生化学的マーカーの1つである可能性が示唆された。

2. 脱法ドラッグ (違法ドラッグ) の構造修飾に基づく神経毒性発現の研究

メチロン(1mM 以下)単独暴露により、ドパミン系培養神経細胞 CATH.a 細胞とセロトニン系培養神経細胞 B65 細胞いずれにおいても著明な LDH 放出量の増加は認められなかった。メチロンの 2mM においてのみ、LDH 放出量の増加が認められた。MDMA および MAP 単独暴露では、1 mM 以上で一部にアポトーシス様形態変化および LDH 放出量の増加が認められた。メチロンと MDMA あるいは MAP との併用暴露では、B65 細胞において、単独では LDH 放出量増加のみられないメチロン (500 μ M, 1 mM) + MDMA (500 μ M-1 mM) および MAP (500 μ M-1 mM) の同時

暴露により、LDH 放出量の有意な増加がみられた。一方、CATH.a 細胞ではこの様な相乗効果はほとんどみられなかった。B65 細胞での形態学的変化については、単独では障害性の低いメチロン (500 μ M) は、MDMA (500 μ M, 1 mM) および MAP (500 μ M, 1 mM) との併用により、細胞死ならびにアポトーシス様形態変化は増強された。

D. 考察

1. MDMA 類似薬物の依存性評価

MDMA 類似薬物の精神依存性を評価するシステム構築を試みた。メチロンにより用量依存的な運動促進作用が発現し、中枢興奮作用を有することが明らかになった。メチロンの精神依存形成能を、マウスを使用し CPP 法により評価した。メチロンの条件付けで報酬効果の発現が確認され、精神依存形成能を有することが確認された。また、この効果はドパミン神経系を介して発現することが明らかとなった。薬物による中枢興奮作用と精神依存形成能の相関性に注目すると、中枢興奮作用が発現する用量付近から低用量側で報酬効果が発現することが示唆された。したがって、中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験を行うことにより、効率良く化学物質の精神依存性を評価できると考えられる。メチロンは MDMA と同様に、ドパミン神経系を介して、強力な中枢興奮作用および精神依存性を発現させるため、乱用される危険性が極めて高いことが明らかになった。

物質の乱用危険度を推測するために、脳内の生化学的マーカー同定を試みた。側坐核を含有する limbic forebrain を標的部位として、脳内モノアミンに対する影響を検討した。メチロン投与で MAP および MDMA 同様に、limbic forebrain においてドパミンおよび 3-MT 含量の著明な増加が確認された。化学物質投与による脳内ドパミン含量および代謝産物 3-MT の増加もしくは減少は、中枢作用を反映しており、その化学物質の乱用危険性

を予測するための生化学的マーカーの一つとして有用であることが示唆された。脳組織内のモノアミン量の測定は簡便かつ高感度であり、違法ドラッグ（脱法ドラッグ）の特性を判断する生化学的マーカーとして有用である。また、MAP および MDMA の投与により GILZ 発現レベルが増加していた。同様に、メチロン投与で側坐核において GILZ mRNA 発現増加が確認された。したがって、GILZ mRNA 発現は、中枢興奮薬の依存形成の危険性を予測する有用な生化学的マーカーの一つである可能性が示唆された。今後は、依存性薬物による GILZ 遺伝子およびタンパク質の発現変動の意義について、多角的に解析する必要がある。

2. 神経細胞毒性発現に関する研究

ドパミン系培養神経細胞およびセロトニン系培養神経細胞を利用して、メチロンの単独添加ならびに MDMA あるいは MAP との同時添加を行い、細胞毒性ならびに形態学的変化について検討した。ドパミン系およびセロトニン系培養神経細胞では、メチロンの低濃度単独暴露では細胞毒性はみられないが、高濃度暴露により細胞毒性ならびに細胞死が惹起されることを明らかにした。このメチロンの毒性は MDMA とほぼ同程度であった。また、核染色による形態学的観察から、メチロン単独では核の凝縮、分葉化などのアポトーシス様形態変化を惹起しないことがわかった。

さらに、単独では障害性の低い濃度のメチロンと MDMA あるいは MAP の併用暴露では、セロトニン系の B65 細胞において、細胞障害 (LDH の放出量) ならびにアポトーシス様の細胞死が相乗的に増強されることが判明した。一方、このようなメチロン併用暴露による MDMA あるいは MAP の神経毒性の増強効果は、ドパミン系 CATH.a 細胞では認められなかった。

これらの結果から、メチロンは単独では強い毒性を示さないものの、MDMA あるいは MAP との同時乱用はセロトニン系神経細胞

に強い神経毒性をもたらす危険性があると考えられる。さらに、規制薬物の一部の構造を修飾した多種の類似体を用いて神経毒性について同様の検討を行うことにより、特定の構造毒性相関を明らかにすることができると考えられる。

E. 結論

メチロンは MDMA と類似した作用を発現し、中枢興奮作用および精神依存形成能を有することが明らかになった。薬物による中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験を行うことにより、効率良く化学物質の精神依存性を評価できると考えられる。物質の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、脳内のドパミン含量の増加およびドパミン代謝回転の増加は危険因子である。さらに、GILZ mRNA 発現の増加も依存形成能を有する薬物に共通した危険因子である可能性が示唆された。メチロンは MDMA と非常に類似した作用を発現する可能性が高く、規制薬物として指定する必要がある。

メチロンの神経毒性発現に関する検討を行い、ドパミン系およびセロトニン系培養神経細胞において、MDMA と同程度の神経毒性を惹起しうることを明らかにした。また、メチロンは MDMA もしくは MAP との同時乱用により、強いセロトニン神経毒性をもたらす危険性を有することが判明した。

こうした動物実験と培養細胞を利用する一連の薬物評価システムにより、違法ドラッグの精神依存性および神経毒性の検討を迅速に行うことが可能である。将来的に乱用拡大につながる化学物質を特定し、規制薬物指定への早期の対策に有用であると考えられる

規制薬物の構造修飾による薬物依存性および神経毒性発現の差異を検討することにより、特定の構造毒性相関を明らかにし、薬物乱用の危険性および神経毒性を予測することが可能になると考えられる。

F. 健康危険情報

本研究は、規制薬物と違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)であるメチロンの精神依存性および細胞毒性に関する研究であり、結果はすべて、健康危険情報に該当する。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 船田 正彦. 条件付け場所嗜好性試験による薬物報酬効果の評価：基礎と応用. 日本薬理学雑誌 126: 10-16, 2005.
- 2) Sato M, Wada K, Funada M.: Barium potentiates the conditioned aversion to, but not the somatic signs of, morphine withdrawal in mice. *Eur J Pharmacol.* 519: 215-222, 2005.
- 3) 船田正彦, 佐藤美緒, 周曉華, 金井裕子, 和田清. 揮発性有機溶剤の精神依存形成メカニズム. 日本神経精神薬理学雑誌. 25: 1-9, 2005.
- 4) 船田正彦, 佐藤美緒, 青尾直也, 和田清. 依存性薬物による脳内遺伝子群の発現調節. *生体の科学.* 56: 323-327, 2005.
- 5) Diaz-Corrales, F.J., Asanuma, M., Miyazaki, I., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Rotenone induces aggregation of gamma-tubulin protein and subsequent disorganization of the centrosome: Relevance to formation of inclusion bodies and neurodegeneration. *Neuroscience*, 133: 117-135, 2005.
- 6) Machida, Y., Chiba, T., Takayanagi, A., Tanaka, Y., Asanuma, M., Ogawa, N., Koyama, A., Iwatsubo, T., Ito, S., Jansen, P.H., Shimizu, N., Tanaka, K., Mizuno, Y. and Hattori, N.: Common anti-apoptotic roles of parkin and γ -synuclein in human dopaminergic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 332: 233-240, 2005.
- 7) Asanuma, M., Miyazaki, I., Diaz-Corrales, F.J., Shimizu, M., Tanaka, K. and Ogawa, N.: Pramipexole has ameliorating effects on levodopa-induced abnormal dopamine turnover in parkinsonian striatum and quenching effects on dopamine-semiquinone generated in vitro. *Neurol. Res.*, 27: 533-539, 2005.
- 8) Miyazaki, I., Asanuma, M., Diaz-Corrales, F.J., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Dopamine agonist pergolide prevents levodopa-induced quinoprotein formation in parkinsonian striatum and shows quenching effects on dopamine-semiquinone generated in vitro. *Clin. Neuropharmacol.*, 28: 155-160, 2005.
- 9) Ogawa, A., Nakamura, K., Matsubara, H., Fujio, H., Ikeda, T., Kobayashi, K., Miyazaki, I., Asanuma, M., Miyaji, K., Kusano, F., Date, H. and Ohe, T.: Prednisolone inhibits proliferation of cultured pulmonary artery smooth muscle cells of patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation*, 112: 1806-1812, 2005.
- 10) Diaz-Corrales, F.J., Asanuma, M., Miyazaki, I., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Centrosome overduplication induced by rotenone treatment affects the cellular distribution of p53 tumor suppressor protein in the neuroblastoma B65 cell line. *Psychiat. Clin. Neurosci.*, 60: S26-34, 2006.
- 11) Miyazaki, I., Asanuma, M., Diaz-Corrales, F.J., Fukuda, M., Kitaichi, K., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity is regulated by quinone formation-related molecules. *FASEB J.*, 10.1096/fj.05-4996fje. Published online January 10, 2006.
- 12) Narimatsu, S., Yonemoto, R., Saito, K., Takaya, K., Kumamoto, T., Ishikawa, T., Asanuma, M., Funada, M., Kiryu, K., Naito, S., Yoshida, Y., Yamamoto, S. and Hanioka, N.: Oxidative metabolism of 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine

- (Foxy) by human liver microsomes and recombinant cytochrome P450 enzymes. *Biochem. Pharmacol.*, in press.
- 13) Ogawa, N., Asanuma, M., Miyazaki, I., Diaz-Corrales, F.J. and Miyoshi, K.: L-DOPA treatment from the viewpoint of neuroprotection: Possible mechanism of specific and progressive dopaminergic neuronal death in Parkinson's disease. *J. Neurol.*, 252 (Suppl 4): iv23-iv31, 2005.
 - 14) 浅沼幹人, 宮崎育子: 薬物依存・毒性発現にかかわる分子の分子生物学的検索法—網羅的プロファイリングを中心に. *日本薬理学雑誌*, 126: 30-34, 2005.
 - 15) 浅沼幹人: ドパミン受容体アゴニストによるドパミンニューロン死の制御. *Clinical Neuroscience*, 23: 1342-1343, 2005.
 - 16) 浅沼幹人, 小川紀雄: 酸化ストレスによる神経障害と神経保護療法—ドパミン神経特異的酸化ストレスとしてのキノン体毒性. *医学のあゆみ*, 215: 785-792, 2005.
2. 学会発表
- 1) 船田正彦, 佐藤美緒, 周 曉華, 青尾直也, 和田 清. トルエン精神依存形成におけるドパミン神経系の役割. 第40回日本アルコール薬物医学会総会. 金沢 9月 8-9日 (2005)
 - 2) Ogawa, N., Asanuma, M., Miyazaki, I. and Diaz-Corrales, F.J.: Dopamine agonist pergolide prevents levodopa-induced quinoprotein formation in parkinsonian striatum and shows quenching effects on dopamine-semiquinone generated in vitro. 9th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, New Orleans, 2005, 3, 7.
 - 3) Francisco J. Diaz-Corrales, 浅沼幹人, 宮崎育子, 三好 耕, 小川紀雄: ロテノンのドパミン神経毒性における中心体-微小管構成異常の関与. 第13回カテコールアミンと神経疾患研究会, 東京, 2005, 4, 23.
 - 4) 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: パーキンソン病モデル線条体に特異的な L-DOPA 誘発キノン体生成. 第46回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005, 5, 26.
 - 5) 宮崎育子, 浅沼幹人, 小川紀雄: 過剰ドパミンおよびメタンフェタミン誘発ドパミン神経障害における共通因子としてのキノン体生成. 第32回日本脳科学会, 千葉, 2005, 6, 3.
 - 6) 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: ドパミン神経特異的酸化ストレスとしてのドパミンキノンに対するシステイン基含有分子の消去作用. 第32回日本脳科学会, 千葉, 2005, 6, 3.
 - 7) 浅沼幹人: ドパミン神経特異的酸化ストレスとしてのドパミンキノン生成. 第27回日本生物学的精神医学会・第35回日本神経精神薬理学会合同年会, シンポジウム2「ドパミン神経の脆弱性とその保護」, 大阪, 2005, 7, 6.
 - 8) 宮崎育子, 浅沼幹人, Francisco J. Diaz-Corrales, 三好 耕, 清水雅子, 北市清幸, 小川紀雄: キノン生成体のメタンフェタミン急性ドパミン神経毒性発現における関与. 第27回日本生物学的精神医学会・第35回日本神経精神薬理学会合同年会, 大阪, 2005, 7, 7.
 - 9) 田中健一, 福原薫子, 浅沼幹人, 小川紀雄: レボドパは6-ヒドロキシドパミン由来の小胞体ストレスを増悪するがドパミンアゴニスト併用は抑制する. 第27回日本生物学的精神医学会・第35回日本神経精神薬理学会合同年会, 大阪, 2005, 7, 7.
 - 10) Francisco J. Diaz-Corrales, Masao Asanuma, Ikuko Miyazaki, Ko Miyoshi and Norio Ogawa: Aggregation of proteins in the centrosome and its importance in the neurodegenerative process. 第27回日本生物学的精神医学会・第35回日本神経精神薬理学会合同年会, 大阪, 2005, 7, 8.
 - 11) 浅沼幹人, 清水雅子, 宮崎育子, Francisco J. Diaz-Corrales, 三好 耕, 小川紀雄: パ

ーキンソン病モデルへの L-DOPA 投与により誘発されるアポトーシス促進因子 PAG608 の運動ニューロンでの特異的発現. 第 28 回日本神経科学大会, 横浜, 2005, 7, 26.

- 12) 三好 耕, 大西一成, 浅沼幹人, 宮崎育子, Francisco J. Diaz-Corrales, 小川紀雄: 発達期マウスにおける pericentrin の発現解析. 第 28 回日本神経科学大会, 横浜, 2005, 7, 26.
- 13) 宮崎育子, 浅沼幹人, Francisco J. Diaz-Corrales, 清水雅子, 三好 耕, 小川紀雄: メタンフェタミン神経毒性発現におけるキノン生成の関与. 第 28 回日本神経科学大会, 横浜, 2005, 7, 27.
- 14) 浅沼幹人, 宮崎育子, 清水雅子, 小川紀雄: p53 関連アポトーシス促進因子 PAG608 のパーキンソン病モデル線条体での L-DOPA 投与による特異的誘導と脳神経核運動ニューロンでの特異的局在. 第 3 回神経科学研究会, 東京, 2005, 9, 17.
- 15) 浅沼幹人, 宮崎育子, Francisco J. Diaz-Corrales, 難波正義, 小川紀雄: Transplantation of tyrosinase cDNA-transfected hepatocytes into the atriatum of hemi-parkinsonian model. 第 48 回日本神経化学会, 福岡, 2005, 9, 28.
- 16) 宮崎育子, 辻 武史, 浅沼幹人, Francisco J. Diaz-Corrales, 三好 耕, 小川紀雄: Mechanism of protective effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on methamphetamine-induced neurotoxicity. 第 48 回日本神経化学会, 福岡, 2005, 9, 28.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

特になし

実用新案登録

特になし

その他

特になし

MDMA 類似誘導体の薬物依存性評価システム構築に関する研究

分担研究者：松田正彦（国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部）

研究協力者：青尾直也（国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部）

【研究要旨】

規制薬物（麻薬）である 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) の β ケトン誘導体である 2-methylamino-1-[3,4-methylenedioxy-phenyl]propan-1-one (メチロン)は違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)として、流通が確認されている。本研究では、メチロンの精神依存性の評価を行い、MDMA 類似構造を有する化学物質の乱用危険度を推測する動物研究の実験バッテリー構築を試みた。規制薬物である methamphetamine (MAP)または MDMA を比較対照薬としてメチロンの効果を評価した。1) MDMA およびメチロンの行動解析：薬物を投与し、運動量の測定を行った。MDMA の投与により、著明な運動促進作用が発現した。同様に、メチロンによっても用量依存的かつ著明な運動促進作用が発現した。また、この効果はドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 の前処置で有意に抑制された。メチロンは MDMA と同等の中枢興奮作用を有することが明らかになり、その効果の発現にはドパミン神経系が関与していることが明らかになった。薬物の精神依存形成能は、マウスを使用し conditioned place preference (CPP)法により報酬効果を評価した。MDMA およびメチロンにより報酬効果が発現し、精神依存形成能を有することが確認された。薬物による中枢興奮作用と精神依存形成能の相関性に着目すると、中枢興奮作用が発現する用量付近で報酬効果が発現することが示唆された。2) 脳内モノアミンに対する影響：薬物投与 1 時間後に、側坐核を分画し HPLC 法に従ってドパミン、セロトニンおよび代謝産物の含量を測定した。メチロン投与により、ドパミンおよび 3-MT 含量の増加が確認された。乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、ドパミンおよびその代謝産物の変動が利用できると考えられる。3) メチロン神経毒性の評価：MAP、MDMA およびメチロン連続投与(15mg/kg、3 時間間隔で 3 回)を行い 3 日後、線条体におけるドパミンおよびセロトニン含量を HPLC 法により測定した。MAP 投与群ではドパミン含有量の有意な減少が認められ、神経毒性が発現した。一方、MDMA およびメチロンでは有意な効果が見られなかった。メチロンの大量投与では、MAP で見られる神経毒性は発現し難いことが明らかになった。4) MAP および MDMA による脳内遺伝子発現：MAP (4 mg/kg) および MDMA (10 mg/kg) 投与 4 時間後の側坐核における遺伝子発現変動をマイクロアレイ (3130 種) 法で解析した。MAP および MDMA の投与により共通して glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) 発現レベルが増加していた。そこで、メチロン (10 mg/kg) 投与による GILZ mRNA 発現を測定したところ、有意な増加が確認された。GILZ は中枢興奮薬の依存形成の危険性を予測する有用な生化学的マーカーの 1 つである可能性が示唆された。今後は、さらに多くの依存形成能を有する薬物による遺伝子およびタンパク質の変動を検索し、GILZ の役割およびマーカーとしての意義について詳細な解析が必要である。MDMA 類似誘導体を解析する場合、薬物による中枢興奮作用の発現用量を参考に、CPP 試験を行うことにより、効率良く精神依存形成能を評価できると考えられる。

本研究より、メチロンは MDMA 同様に非常に強力な中枢興奮作用と精神依存形成能を有することが明らかになった。

A. 研究目的

薬物乱用は若年層を中心に浸透しているのが現状であり、麻薬として規制されている 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) に代表される“クラブ・ドラッグ”の乱用は、依然大きな社会問題である。特に、MDMA は錠剤型で流通しており、経口投与で十分な効果が発現するため従来の静注による乱用などに比べてその拡大は深刻である。一方、インターネット等の通信手段の普及により、薬物等の化学物質に関する情報伝播は非常に高速化している。それに伴い様々な化学物質の取引は容易かつ迅速になっている。近年、乱用を目的として売買されている法的規制を受けない違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)の氾濫は重大な社会問題となっている。国内で流通が確認されている違法ドラッグとしては、既に麻薬指定されている 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT)¹⁾に類似したトリプタミン誘導体と覚せい剤類似骨格を有するフェネチルアミン誘導体²⁾が知られている。その中でも MDMA に構造が類似した 2-methylamino-1-[3,4-methylenedioxy-phenyl]propan-1-one (メチロン)の流通が確認されており、現在最も爆発的な広がり懸念される違法ドラッグの1つである³⁾。メチロンは MDMA のβケトン誘導体であり、通称“メチ”などとして錠剤や粉末で取引されている。

メチロンは MDMA と非常に構造が似ているため、MDMA 同様の依存形成能を有する可能性が考えられる。また、メチロン単独もしくは混入物質の有無などにより、さらに強力な精神依存性や未知の毒性などが発現する危険性が存在する。したがって、薬物の精神依存性および神経毒性発現の有無を評価する動物実験などの基礎的な検討が必要である。覚せい剤および MDMA などの依存性薬物との比較を通じ、違法ドラッグの依存形成の強度と神経毒性について明確にするのは緊急課題

である。

本研究では、規制薬物である methamphetamine (MAP)、MDMA および違法ドラッグであるメチロンの精神依存性と神経毒性の発現に関する基盤的検討を行った。本研究を通じ、1)メチロンなどの MDMA 類似誘導体の乱用危険性を推測する動物研究の実験バッテリーの構築を試みた。また、2)薬物乱用危険性を予測しうる生化学的マーカー候補の基礎的な検索を行った。今回の研究では、メチロンによる脳内モノアミンおよび遺伝子発現レベルの変動に関する解析を行った。当研究部ではマイクロアレイ法を用いて、MAP および MDMA の急性投与において変動する脳内遺伝子群の検索結果から、glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) の重要性を見出している⁴⁾。そこで、メチロン投与による GILZ mRNA 発現レベルの変動を解析した。

本研究では、違法ドラッグとして流通している MDMA 類似誘導体の乱用危険度と神経毒性を迅速に推測する研究バッテリーの構築を目指す。さらに、生化学的マーカーの同定により、規制薬物と違法ドラッグ使用の危険性に関する科学的証拠を収集する。本研究を通じ、MDMA 類似誘導体の化学構造の差異に基づいた乱用危険度が明確になる。将来的に乱用拡大につながる化学物質を特定し、規制薬物指定への早期の対策が可能になる。

B. 研究方法

使用動物：すべての行動薬理実験には、ICR 系雄性マウス (Jcl, 20 - 25g, 日本クレア) を使用した。

使用薬物：規制薬物は methamphetamine (MAP)、3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA)、違法ドラッグとしては MDMA 類似の誘導体である 2-methylamino-1-[3,4-methylenedioxy-phenyl]propan-1-one (メチロン, Fig. 1)を使用した。

1. メチロンによる運動活性への影響

メチロン (1 - 10 mg/kg, i.p.) および MDMA (5 mg/kg, i.p.) により誘発される運動活性を、自発運動量測定装置 (ACTIMO-100, バイオリサーチセンター社) を用いて測定した。5 時間の環境適応後、薬物投与から 60 分間にわたって運動量を測定した。また、メチロンにより誘発される行動変化に対するドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 (0.5mg/kg, i.p.) 前処置の効果を検討した。さらに、6-hydroxydopamine (6-OHDA, 100 μ g/i.c.v.) 処置による脳内ドパミン神経破壊動物を使用して、メチロンの行動変化に対する影響を検討した。

2. メチロンの精神依存性評価

精神依存形成の評価には、conditioned place preference (CPP)法を用いた。白黒 2 区画の CPP 装置 (ENS-CPP, Neuroscience 社) を用いて、メチロン (0.5 - 5 mg/kg, i.p.) を 1 日おきに投与し、40 分間装置内に閉じ込め、6 日間にわたって条件付けを行った。対照群は溶媒である生理食塩液を投与し、薬物および溶媒投与の組み合わせはカウンターバランスの実験デザインとした (Table 1)。

Table 1. 薬物条件付けスケジュール

DAY	1	2	3	4	5	6	7
白 or 黒	◎	○	◎	○	◎	○	T
白 or 黒	○	◎	○	◎	○	◎	T

◎：薬物、○：溶媒、T：テスト (薬物、溶媒ともに処置せず)

テストセッションは、7 日目に薬物および溶媒ともに投与せず、15 分間の白区画および黒区画の滞在時間を測定した。

また、メチロン条件付けの効果に対するドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 (0.5mg/kg, i.p.) 前処置の効果を検討した。

3. メチロンによる脳内モノアミンに対する影響

メチロン (10 mg/kg, i.p.) 投与 1 時間後にマウス全脳を摘出し、中脳辺縁系ドパミン神経系の主要投射先である側坐核を含む limbic forebrain および黒質からの主要投射先にあたる線条体(striatum) を分画⁵⁾した。高速液体クロマトグラフ(HPLC-ECD)法に従い、内標準物質としてイソプレテレノールを使用し、ドパミン、セロトニンおよび関連代謝産物の測定を行った。ドパミン代謝産物としては、3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC)、homovanilic acid (HVA)、3-methoxytyramine (3-MT)、セロトニンの代謝産物としては 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)を測定した。

4. メチロン連続投与による神経毒性の評価

覚せい剤である MAP を 2 から 3 時間間隔で 3 から 4 回連続で投与すると、3 日後に線条体においてモノアミン含量の低下が観察される⁶⁾。これは脳内モノアミン神経の障害を反映する指標とされている。そこで、MAP を陽性対照薬として MDMA およびメチロンの影響を検討した。MAP (15 mg/kg, i.p.)、MDMA (15 mg/kg, i.p.) およびメチロン (15 mg/kg, i.p.) を 3 時間間隔で 3 回投与した。薬物投与 3 日後に線条体を分画⁵⁾した。高速液体クロマトグラフ法に従い、内標準物質としてイソプレテレノールを使用し、ドパミン、セロトニンおよび関連代謝産物の測定を行った。ドパミン代謝産物としては、3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC)、homovanilic acid (HVA)、3-methoxytyramine (3-MT)を測定した。

5. GILZ 遺伝子発現解析

MAP (4 mg/kg, i.p.)、MDMA (10 mg/kg, i.p.) およびメチロン (10 mg/kg, i.p.) それぞれ投与 4 時間後にマウス全脳を摘出し、中脳辺縁系ドパミン神経系の主要投射先である側坐核を含む limbic forebrain を分画⁵⁾し、mRNA の抽出を行った。プライマーとして random primer (hexadeoxyribonucleotide mixture; pd(N)₆,

TAKARA) を使用し、polyA RNA を鋳型として reverse transcriptase により逆転写反応で cDNA を合成した。GILZ primer を作成し、RT-PCR 法により解析した。データは house keeping (β -actin) 遺伝子の発現強度に対する変化率を算出することにより解析した。

C. 研究結果

1. メチロンによる運動活性への影響

メチロン (1 - 10 mg/kg, i.p.) により用量依存的な運動促進作用が発現し、中枢興奮作用を有することが示された (Fig. 2A)。同様に、MDMA (5 mg/kg, i.p.) により運動促進作用が誘発され 645.8 ± 156.5 counts/60min (n=10) であった。同用量 (5 mg/kg, i.p.) で発現する運動促進作用は、メチロン > MDMA であった。また、メチロン 5 mg/kg で発現する運動促進作用は、ドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 および 6-OHDA 前処置により有意に抑制された (Fig. 2B)。

2. メチロンの精神依存性評価

マウスを使用し conditioned place preference (CPP) 法による精神依存性の評価を行った (Fig. 3A,B)。メチロンおよび MDMA の条件付けによって用量依存的な CPP の発現、すなわち報酬効果の発現が認められた。メチロンおよび MDMA とともに、2.5 mg/kg 以上の用量で有意な報酬効果が発現した。メチロンによって発現する報酬効果はドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 の前処置により有意に抑制された (Fig. 4)。

3. メチロンによる脳内モノアミンに対する影響

メチロン (10 mg/kg) 投与 1 時間後に、limbic forebrain および striatum を分画し HPLC-ECD 法に従って、モノアミン関連物質の含量を測定した (Fig. 5A,B)。メチロン投与後、limbic forebrain においてドパミン含量は増加傾向、代謝産物である HVA 含量は有意な減少効果

が認められた。また、ドパミン代謝産物である 3-MT は著明かつ有意な増加が認められた。一方、セロトニン含量は変化が認められなかったが、代謝産物である 5-HIAA は有意に減少していた (Fig. 5A)。メチロン投与後、striatum においてドパミン含量は増加傾向にあり、3-MT は著明かつ有意な増加が認められた。一方、セロトニン含量は変化が認められなかったが、代謝産物である 5-HIAA は有意に減少していた (Fig. 5B)。

4. メチロン連続投与による神経毒性の評価

MAP (15 mg/kg, 3 時間間隔で 3 回) 投与の 3 日後に striatum のモノアミン含量を測定した。MAP 投与群では、ドパミン含量、代謝産物である DOPAC および 3-MT 含量は有意な減少が認められた。一方、セロトニン含量は変化が認められなかった (Fig. 6A)。MAP と等用量の MDMA およびメチロン投与群では、ドパミンおよびセロトニン含量、それぞれの代謝産物量は有意な変化が認められなかった (Fig. 6B, C)。薬物投与後の striatum におけるモノアミンの減少を指標に、神経毒性を比較すると MAP >> MDMA = メチロンであった。

5. GILZ 遺伝子発現解析

MAP、MDMA およびメチロン投与 4 時間後の limbic forebrain における GILZ 遺伝子発現変動を検討した (Fig. 7)。その結果、すべての薬物において GILZ mRNA レベルの有意な増加が認められた。

D. 考察

違法ドラッグとして流通が確認されている MDMA の β ケトン誘導体であるメチロンの行動薬理学特性を解析した。メチロンおよび MDMA 投与により、運動促進作用が発現し、中枢興奮作用を有することが明らかになった。この効果は、メチロン > MDMA であった。また、メチロンの運動促進作用はドパミン D1 受容体拮抗薬で抑制された。さらに、ドパミ

ン神経毒である6-OHDAにより脳内ドパミン神経を破壊した動物においても、メチロンの運動促進作用は抑制された。これらの結果から、メチロンの中枢興奮作用は脳内ドパミン神経系を介して発現し、特にドパミン D1 受容体が重要な役割を果たしていることが明らかになった。

メチロンの精神依存形成能を、マウス conditioned place preference(CPP)法により評価した。メチロン(2.5, 5 mg/kg)の条件付けにより、有意な報酬効果の発現が確認された。この効果は、メチロン=MDMA の強度であった。したがって、メチロンは MDMA と同等の精神依存形成能を有することが明らかになった。また、メチロンの報酬効果はドパミン D1 受容体拮抗薬で抑制された。これらの結果から、メチロンの精神依存形成にはドパミン D1 受容体が重要な役割を果たしていることが明らかになった。

薬物による中枢興奮作用と精神依存形成能の相関性から、中枢興奮作用が発現する用量付近から低用量側で報酬効果が発現することが判明している^{7,8)}。本研究においてメチロンの運動活性および報酬効果の検討より、MDMA 類似の誘導体においても中枢興奮作用が発現する用量付近から低用量側で報酬効果が発現することが判明した。したがって、MDMA 類似の誘導体の場合も、中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験を行うことにより、効率良く精神依存性を評価できると考えられる。

物質の乱用危険度を推測する実験バッテリー構築の一環として、脳内の生化学的マーカー同定を試みた。現在までに、依存性薬物による精神依存形成および中枢興奮作用の発現には中脳辺縁系ドパミン神経系の関与が示唆されている^{9,10)}。そこで、中脳辺縁系ドパミン神経系の主要投射先である側坐核を含有する limbic forebrain を標的部位として、脳内モノアミンに対する影響を検討した。メチロン投与により、limbic forebrain において 3-MT 含量の著明な増加が確認された。黒質からの

主要投射先である striatum においても同様に 3-MT 含量の著明な増加が確認された。3-MT はドパミン遊離の指標になると考えられており¹¹⁾、メチロン投与によるドパミン遊離が中枢興奮作用および精神依存形成に関与していると考えられる。したがって、化学物質投与による脳内(limbic forebrain および striatum)のドパミン含量および 3-MT などの代謝産物の増加もしくは減少は、中枢作用を反映⁸⁾しており、その化学物質の乱用危険性を予測するための生化学的マーカーの一つとして有用であることが示唆された。一方、脳内(limbic forebrain および striatum)のセロトニン含量に変化は認められなかったが、セロトニン代謝産物は減少しており、代謝回転の低下が引き起こされることから、脳内のセロトニン神経系機能が抑制的に調節される可能性が示唆された。したがって、メチロンの中枢作用の発現にセロトニン神経系も重要な役割を果たしていると考えられる。今後、セロトニン神経系の役割についても解析する必要がある。脳組織内のモノアミンおよび関連代謝産物量の測定は簡便かつ高感度であり、違法ドラッグ(脱法ドラッグ)の特性を判断する生化学的マーカーとして有用である。

次に、メチロンの神経毒性発現に関して検討を行った。先行研究では、覚せい剤である MAP を 2 から 3 時間間隔で 3 から 4 回連続で投与すると、3 日以降で striatum においてモノアミン含量が低下することが明らかにされている⁶⁾。これは脳内モノアミン神経の障害を反映する指標とされている。そこで、MAP を陽性対照薬として MDMA およびメチロンの影響を検討した。MAP 投与群では、striatum のドパミン含量、代謝産物である DOPAC および 3-MT 含量は有意な減少が認められた。一方、セロトニン含量は変化が認められなかった。したがって、MAP 頻回投与によりドパミン神経系が選択的に障害されることが示唆された。一方、MAP と等用量の MDMA およびメチロン投与群では、striatum におけるドパミンおよびセロトニン含量、それぞれの代

謝産物量は有意な変化が認められなかった。薬物投与後の striatum におけるモノアミンの減少を指標に、神経毒性を比較すると MAP>>MDMA=メチロンであった。したがって、MAP と比較して MDMA 類似の構造を有する化合物では神経毒性が発現しにくい可能性が示唆された。一方、MDMA が神経毒性を誘発するという報告もあり、使用動物種、薬物の投与用量および投与間隔などにより結果が異なると考えられる¹²⁾。本研究では薬物用量を等量に設定し、各薬物の効果の比較を行った。今後、神経毒性の発現しやすい動物種を導入して解析をする必要がある⁹⁾。神経毒性の評価方法として、薬物を短時間で頻回投与し、脳内モノアミン含量の低下の有無を評価するのは、簡便かつ迅速な方法として期待される。

我々は、マイクロアレイ法¹³⁾により MAP および MDMA 急性投与により誘導される(増加する)遺伝子の検索を行った^{4,8)}。MAP および MDMA による遺伝子発現変動について、双方の薬物で共通して増加する遺伝子群の抽出を試みた。その結果、glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) を見出した。そこで、MDMA 類似の誘導體メチロン投与による GILZ mRNA 発現に対する影響を検討した。その結果、MAP、MDMA 同様に、メチロン投与により GILZ mRNA 発現は有意に増加していた。さらに多くの薬物を使用しての検証が必要であるが、動物において精神依存形成能を有する MAP、MDMA およびメチロンで引き起こされる GILZ mRNA 発現増加は共通した変動であることから、薬物の依存形成能を推測するマーカーになり得るものと期待される。

GILZ は glucocorticoid により発現が誘導される遺伝子であることから、MAP、MDMA、およびメチロンにより glucocorticoid を中心とする下垂体副腎系の制御に変化が生じて、依存形成につながる可能性がある。MAP の逆耐性形成において中脳辺縁ドパミン神経系が重要な役割を果たしていることが報告されてい

る^{9,10)}。一方、生体内の corticosterone 量の変動は中脳辺縁ドパミン神経系に影響を与えることが報告されていることから¹⁴⁾、おそらく、MAP など依存性薬物の慢性投与によって生じる下垂体副腎系の異常がドパミン神経系に影響を与えているものと考えられる。今後は、慢性投与による影響を含め、薬物依存形成における GILZ mRNA 発現増加の意義について解析する必要がある。

E. 結論

メチロンは MDMA と非常に類似した作用を発現し、中枢興奮作用および精神依存形成能を有することが明らかになった。また、メチロンの中枢興奮作用および精神依存形成には脳内ドパミン神経系が関与していることが示された。薬物による中枢興奮作用と精神依存形成能の相関性から、中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験を行うことにより、効率良く化学物質の精神依存性を評価できると考えられる。

物質の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、脳内のドパミンおよびその代謝産物の変動が利用できると考えられる。脳内のドパミン含量の増加およびドパミン代謝回転の増加は危険因子である。さらに、GILZ mRNA 発現の増加も依存形成能を有する薬物に共通した危険因子である可能性が示唆された。

薬物の神経毒性発現の有無については、「脳内モノアミン量の減少」を指標にする方法は、迅速かつ正確な評価が可能であり、その有用性が明確になった。

こうした一連の評価システムにより、国内で流通が確認されている違法ドラッグの精神依存性および神経毒性の検討を行い、危険化合物の迅速な発見に活用できると考えられる。また、将来的に乱用拡大につながる化学物質を特定し規制薬物指定への早期の対策に有用であると考えられる。

人において、メチロンは MDMA と非常に

類似した作用を発現する可能性が高く、規制薬物として指定する必要がある。

F. 参考文献

- 1) Drug Enforcement Administration, Department of Justice. Schedules of controlled substances: temporary placement of alpha-methyltryptamine and 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine into Schedule I. Final rule. Fed Regist. 68, 16427-1630, 2003.
- 2) De Boer, D., Bosman, I.: A new trend in drugs-of-abuse; the 2C-series of phenethylamine designer drugs. *Pharmacy World and Science*. 26, 110-113, 2004.
- 3) Bossong M.G., Van Dijk J.P., Niesink R.J.M.: Methylone and mCPP, two new drugs of abuse? *Addiction Biology* 10: 321-323, 2005.
- 4) 船田正彦, 佐藤美緒, 青尾直也, 和田清: 依存性薬物による脳内遺伝子群の発現調節. *生体の科学*. 56: 323-327, 2005.
- 5) Franklin K.B.J., Paxinos G.: *The mouse brain in stereotaxic coordinates*, Academic Press, San Diego 1997.
- 6) Kita T., Wagner G.C., Nakashima T.: Current research on methamphetamine-induced neurotoxicity: animal models of monoamine disruption. *J Pharmacol Sci*, 92: 178-195, 2003.
- 7) 船田 正彦: 条件付け場所嗜好性試験による薬物報酬効果の評価: 基礎と応用. *日本薬理学雑誌* 126: 10-16, 2005.
- 8) 船田正彦: MDMA および 5-MeO-DIPT 精神依存性評価とその形成メカニズムの解明. 平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金 (厚生労働科学特別研究事業) 「MDMA 及び脱法ドラッグの神経毒性ならびに精神依存発現メカニズムの解明」研究報告書 (主任研究者: 船田正彦). P4-14, 2004
- 9) Pierce R.C., Kalivas P.W.: A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res Brain Res Rev*, 25: 192-216, 1997.
- 10) White F.J., Kalivas P.W.: Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. *Drug Alcohol Depend*, 51: 141-153, 1998.
- 11) Ponzio F., Achilli G., Perego C., Algeri S.: Differential effects of certain dopaminergic drugs on the striatal concentration of dopamine metabolites, with special reference to 3-methoxytyramine. *Neurosci. Lett*. 27: 61-67, 1981.
- 12) Colado M.I., Camarero J., Mecha A.O., Sanchez V., Esteban B., Elliott J.M., Green R.: A study of the mechanisms involved in the neurotoxic action of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy) on dopamine neurones in mouse brain. *Br. J. Pharmacol.*, 134: 1711-1723, 2001.
- 13) Sokolov, B.P., Poleskaya, O.O., Uhl, G.R.: Mouse brain gene expression changes after acute and chronic amphetamine. *J. Neurochem*. 84: 244-252, 2003.
- 14) Louk J. M., Vanderschuren J., Donne Schmidt, E., et al.: A single exposure to amphetamine is sufficient to induce long-term behavioral, neuroendocrine, and neurochemical sensitization in rats. *J.*

Neurosci., 19(21): 9579-9586, 1999.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 船田 正彦. 条件付け場所嗜好性試験による薬物報酬効果の評価:基礎と応用. 日本薬理学雑誌 126: 10-16, 2005.
- 2) Sato M, Wada K, Funada M.: Barium potentiates the conditioned aversion to, but not the somatic signs of, morphine withdrawal in mice. Eur J Pharmacol. 519: 215-222, 2005.
- 3) 船田正彦, 佐藤美緒, 周曉華, 金井裕子, 和田清. 揮発性有機溶剤の精神依存形成メカニズム. 日本神経精神薬理学雑誌. 25: 1-9, 2005.
- 4) 船田正彦, 佐藤美緒, 青尾直也, 和田清. 依存性薬物による脳内遺伝子群の発現調節. 生体の科学. 56: 323-327, 2005.

2. 学会発表

- 1).船田正彦, 佐藤美緒, 周 曉華, 青尾直也, 和田 清. トルエン精神依存形成におけるドパミン神経系の役割. 第 40 回日本アルコール薬物医学会総会. 金沢 9月 8-9日 (2005)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

特になし

実用新案登録

特になし

その他

特になし

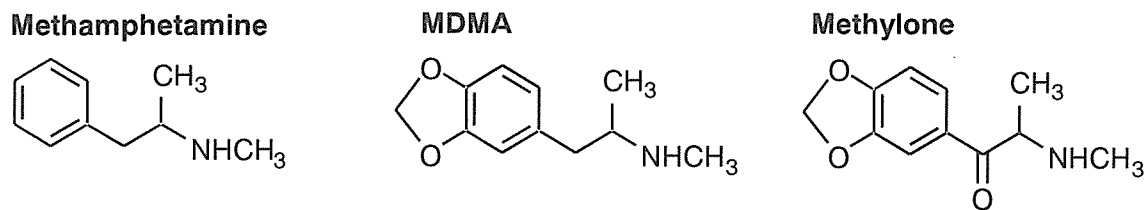


Fig. 1. Chemical structures of methamphetamine, 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) and 2-methylamino-1-[3,4-methylenedioxy-phenyl] propan-1-one (methylone).

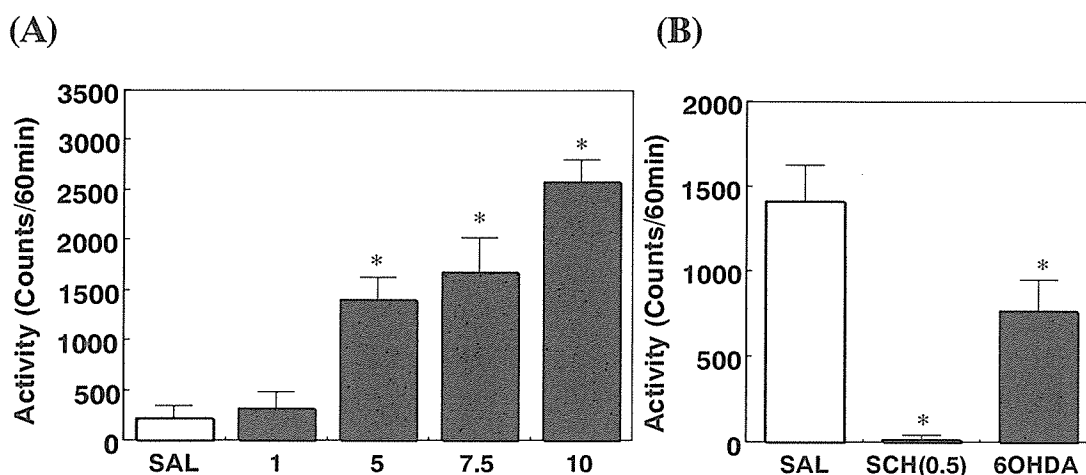
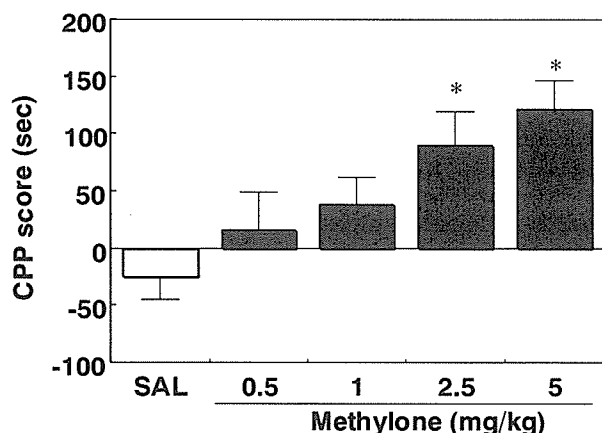


Fig. 2. (A) Effect of acute treatment with methylone on the locomotor activity in mice. Total locomotor activity changes after acute administration of methylone (1 – 10 mg/kg, i.p.) in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. of 10-13 animals for 60 min after drug treatment. (B) Effect of pretreatment with a dopamine receptor antagonist SCH23390 or a dopaminergic neurotoxin 6-hydroxydopamine (6-OHDA) on the methylone-induced hyperlocomotion in mice. For antagonist study, SCH23390 (SCH, 0.5 mg/kg) was administered 10 min before treatment of methylone (5 mg/kg). 6-OHDA (100 μ g/i.c.v.) was administered 3 days before the locomotor activity test. Each column represents the mean with S.E.M. of 10 - 12 animals.

*P<0.05 vs. saline(SAL)-treated group.

(A) Methylone



(B) MDMA

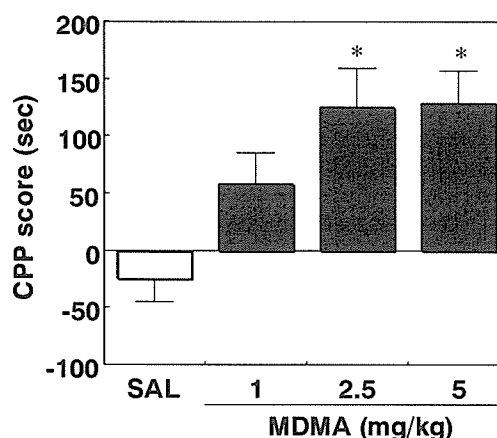


Fig. 3. Effect of methylone or MDMA on place conditioning in mice. Place conditioning produced by (A) methylone (0.5-5 mg/kg, i.p.) and (B) MDMA (1-5 mg/kg, i.p.). Conditioning sessions (3 for drug; 3 for saline) were conducted. On day 7, test of conditioning was performed. Conditioning scores (CPP score) represent the time spent in the drug-paired place minus the time spent in the saline-paired place. Each column represents the mean with S.E.M. of 8 - 14 animals.

*P<0.05 vs. saline(SAL)-treated group.

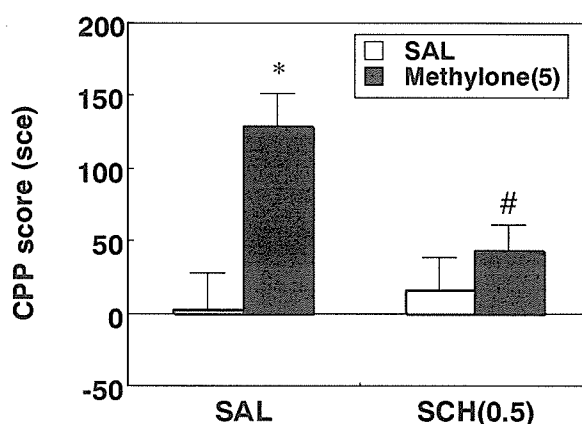


Fig. 4. Effect of pretreatment with a dopamine receptor antagonist SCH23390 on the methylone-induced rewarding effect in mice. Conditioning sessions (3 for methylone; 3 for saline) were conducted. SCH23390 (SCH, 0.5 mg/kg) was administered 10 min before treatment of methylone (5 mg/kg). On day 7, test of conditioning was performed. Conditioning scores (CPP score) represent the time spent in the drug-paired place minus the time spent in the saline-paired place. Each column represents the mean with S.E.M. of 10 - 13 animals.

*P<0.05 vs. saline(SAL)-pretreated saline-treated group.

#P<0.05 vs. saline(SAL)-pretreated methylone-treated group.