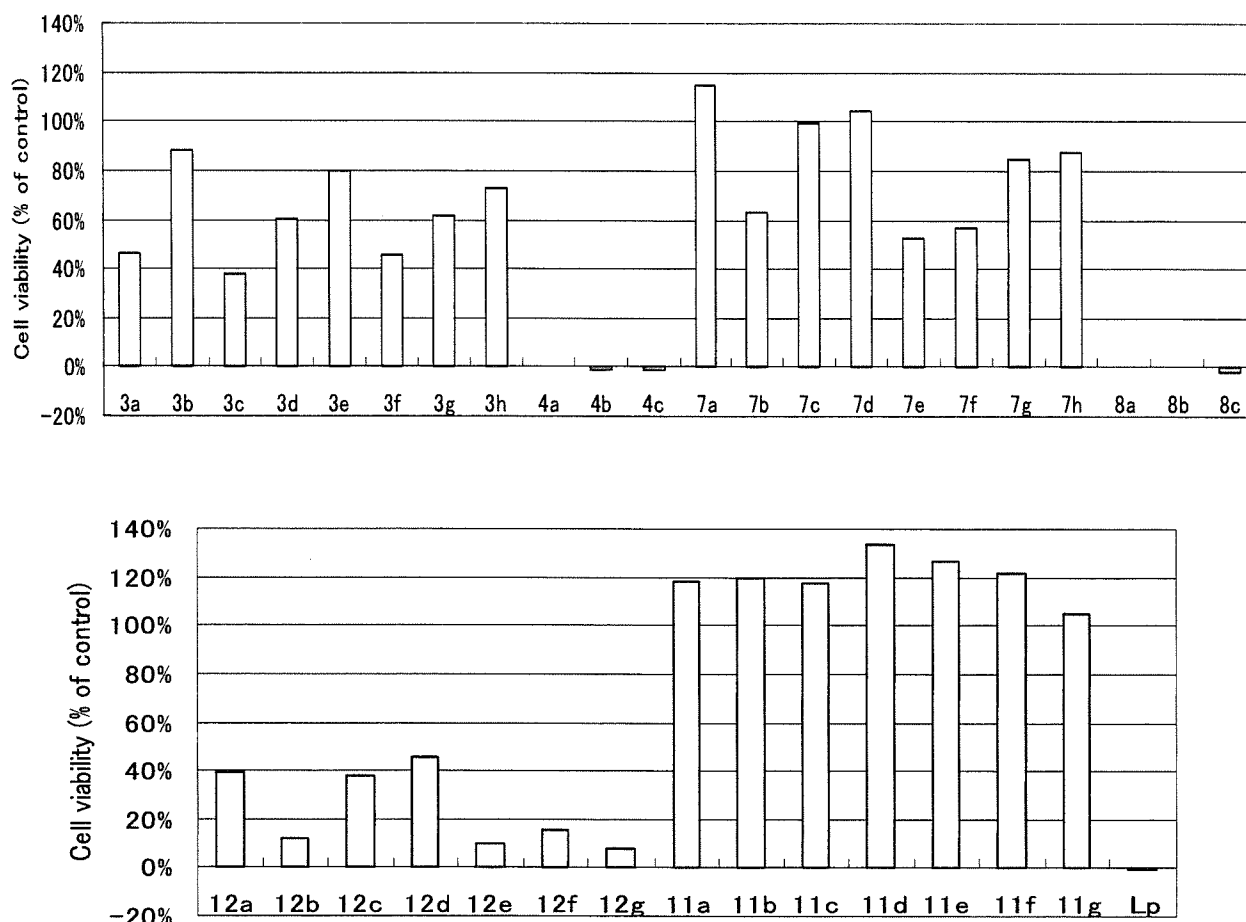


Table 4. Cell viability of NG108-15 with mCPP related compounds (100 μ M) by MTT assay.



S., Ueda, H. (2005) 岐阜薬大紀要, **54**, 45-50.

5. Kinoshita, H., Osamura, T., Mizuno, K., Kinoshita, S., Iwamura, T., Watanabe, S., Kataoka, T., Muraoka, T., Tanabe, G. (2006) *Chem. Eur. J.*, **12**, 3896-3904.
6. Watanabe, S., Miura, Y., Iwamura, T., Nagasawa, H., Kataoka, T. (2007) *Tetrahedron Lett.*, **48**, 813-816.

(2) 学会発表

1. Iwamura, T., Kataoka, T., "Synthesis of 4-Aralkyl-1-(2,3-dichlorophenyl)piperazines and their Affinities for Serotonergic Receptors", the

18th International Symposium on Medicinal Chemistry, Copenhagen, Denmark, 2004 年 8 月.

2. 塩田勝利、西嶋康一、吉野達規、岩村樹憲「MDMA による高体温に対するダントレンの有効性の検討」, 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合同年会, 大阪, 2005 年 7 月.
3. Iwamura, T., Kinoshita, H., Watanabe, S., Yoshihara, S., Mizuno, K., Kataoka, T., "Synthesis of 3-phenylpropanols containing three-cumulative stereocenters via tandem Michael-aldol reaction of enoyloxazolothiones with aldehydes or acetals", SICC-4, Singapore, 2005, Dec.

4. 小田 誠, 岩村樹憲, 片岡 貞「乱用薬物
の中樞作用を解明するための 3,4-methylene-
dioxymethamphetamine をモデルとした化合物
の合成」日本薬学会第 126 年会・仙台・2006
年 3 月.
5. 周 金培, 岩村樹憲, 片岡 貞, 「Synthesis of
piperidine derivatives with potential antitumor
activity」日本薬学会第 126 年会・仙台・2006
年 3 月.
6. 長山智幸, 岩村樹憲, 片岡 貞「腫瘍細胞増
殖抑制作用を有するアリールピペリラジン
型化合物の合成」日本薬学会第 126 年会・仙
台・2006 年 3 月.
7. Kimura, S., Iwamura, T., Watanabe, S.,
Nagasawa, H., Kataoka, T. “Asymmetric Morita-
Baylis-Hillman reaction using chiral thiocarbon-
ate”, 22nd International Symposium on the
Organic Chemistry of Sulfur, 大宮・2006 年 8
月
8. 財津 桂, 鎌田寛恵, 三木昭宏, 片木宗弘,
岩村樹憲, 土橋 均「3,4,5-トリメトキシアン
フェタミン(TMA)および異性体の分析」第 12
回法科学技術学会・東京・2006 年 11 月
9. 長山智幸, 岩村樹憲, 片岡 貞, 永澤秀子,
「がん細胞増殖抑制作用を有するアリール
ピペリジン型化合物の合成」日本薬学会第
127 年会・富山・2007 年 3 月.

(3) 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

「依存性薬物および未規制薬物による神経毒性と精神病の発現機序」3年間のまとめ

覚醒剤およびMDMAによる精神障害の発現と依存形成の分子機序

分担研究者：¹野田幸裕

研究協力者：²鍋島俊隆，²毛利彰宏，²森瀬貴子，²新田淳美，³岩村樹憲

(¹名城大学大学院薬学研究科病態解析学 ²名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部，
³岐阜薬科大学薬化学)

1. はじめに

覚醒剤であるメタンフェタミン (MAP) は、現在わが国で最も深刻な社会的影響を及ぼしている依存性薬物であり、長期乱用により、休薬後も長期間に渡り、少量の MAP の再投与やストレスによって幻覚・妄想や認知障害といった統合失調症の急性期に酷似した精神行動障害 (覚醒剤精神病) を示す。MAP は、中枢神経系においてドパミンの再取り込みを抑制するとともに遊離を促進し、ドパミン作動性神経系を亢進させることから、MAP の連続投与により惹起される精神行動障害の発現には、ドパミン作動性神経機能異常が関与していると示唆されている。しかし、MAP の連続投与により誘発される精神行動障害の発現には、ドパミン作動性神経機能異常の一次的な作用にとどまらず、二次的な分子レベルでの機能変化および他の神経回路との相互作用、特に側坐核におけるグルタミン酸作動性神経系との相互作用が関与していることが示唆されている。しかし、その発現に関わる分子機序は未だ明確でない。

一方、遊興用ドラッグである 3,4-メチレンジオキシメタンフェタミン (MDMA：エクスタシー) の乱用は、欧米諸国ばかりでなく、日本においても深刻な社会問題となっている。すなわち、MDMA は、安全な薬であるという誤解のもとに従来の覚醒剤乱用群と異なり、社会的逸脱群でない若年層に急速に普及している。MDMA は、遊興的使用量でも明らかな精神毒性を示し、日本で

最も乱用されている MAP と同様に、精神障害は使用を中止した後も残遺し、長期使用により重度の精神障害を発症させることが知られている。

本研究では、MAP や MDMA の連続投与により誘発される精神行動障害 (自発性障害および認知障害) の発現機序について行動薬理学的および分子生物学的に検討した。

2. メタンフェタミン誘発精神行動障害の分子機序について

平成 16 年度では、メタンフェタミン (MAP) 連続投与後の精神行動障害の発現機序および MDMA の精神行動障害について調べた。

野生型マウスに MAP (1 mg/kg/day) を 7 日間連続投与すると、MAP 誘発運動過多および驚愕反応試験における感覚運動情報制御の障害が増強され、逆耐性が形成された (Fig. 1)。これらの行動障害に対して逆耐性が形成された MAP 連続投与マウスの側坐核における Ca^{2+} /calmodulin kinase II (CaMKII) と cAMP response element binding protein (CREB) のリン酸化蛋白の発現および G-蛋白/cAMP を介する protein kinase A (PKA) の活性化は、saline 連続投与マウスのそれらと比べ有意に増加していた (Fig. 2)。しかし、ドパミン合成機能を遺伝的に低下させたチロシン水酸化酵素遺伝子変異 ($\text{TH}^{+/}$) マウスおよび N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体機能を遺伝的に低下させた NMDA 受容体サブユニット $\epsilon 1$ 遺伝子欠損

(NR2A^{-/-}) マウスでは、そのような逆耐性やリン酸化蛋白の発現と PKA 活性化の増加は認められなかった (Figs. 1 and 2)。

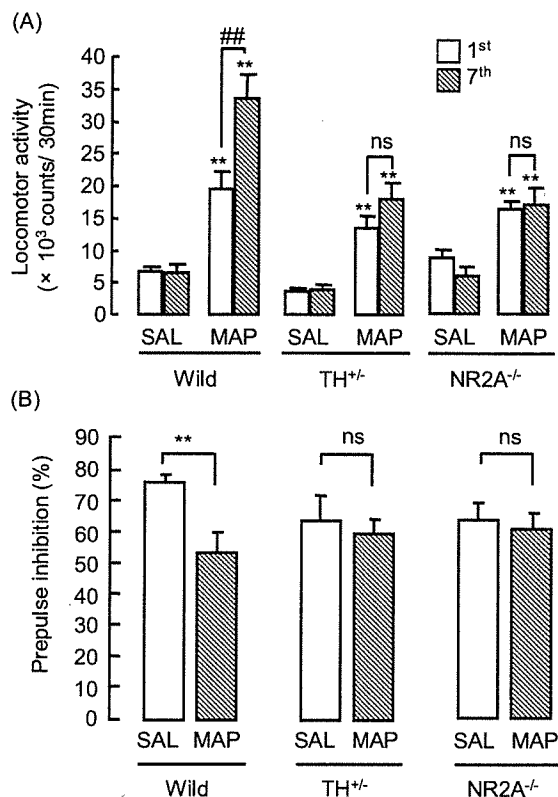


Fig. 1 (A) Development of behavioral sensitization to methamphetamine (MAP)-induced hyperlocomotion in mice. (B) Performance of prepulse inhibition (PPI) in mice treated with methamphetamine (MAP) repeatedly. Mice were administered saline (SAL) or MAP (1mg/kg) once a day for 7 days. On the 7th day, animals were placed in the PPI test box immediately after the treatment with MAP, and they were tested. Values are the means $\pm$ S.E. ** $P < 0.01$ vs corresponding SAL-treated mice. ## $P < 0.01$ vs the 1st day. ns: not significant. TH^{+/-}: tyrosine hydroxylase mutant, NR2A^{-/-}: NMDA 2A receptor knockout.

以上の結果から、MAP 連続投与によって側坐核におけるドパミン作動性神経系機能が亢進された結果、ドパミン受容体を介する PKA/CaMKII、CREB などの神経可塑性に関わる細胞内情報伝達系が増強され、ドパミン作動性神経系とグルタミン酸作動性神経系の異常な神経ネットワークが構築され、MAP 誘発行動障害が惹起されるものと推察される。

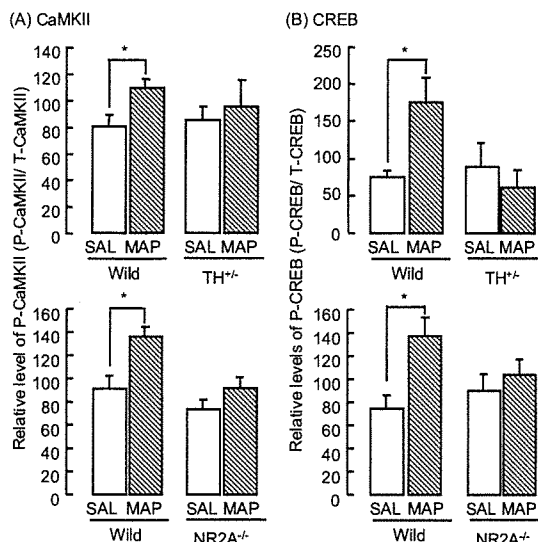


Fig. 2 Relative levels of phosphorylated CaMKII (A) and CREB (B) in the nucleus accumbens of mice treated with methamphetamine (MAP) repeatedly. Mice were administered saline (SAL) or MAP (1mg/kg) once a day for 7 days. On the 7th day, mice were sacrificed 30min after treatment with MAP. Values are the means $\pm$ S.E. * $P < 0.05$ vs corresponding SAL-treated mice. CaMKII: Ca²⁺/calmodulin kinase II, P-CaMKII: phosphorylated CaMKII, T-CaMKII: total CaMKII, CREB: cyclic AMP response element binding protein, P-CREB: phosphorylated CREB, T-CREB: total CREB. TH^{+/-}: tyrosine hydroxylase mutant, NR2A^{-/-}: NMDA 2A receptor knockout.

2. MDMA 誘発精神行動障害の分子機序について

平成 17 年度では、MDMA 連続投与による運動過多の増強（逆耐性）の形成過程におけるドパミン作動性神経系およびグルタミン酸作動性神経系の関与について調べた。

野生型マウスに MDMA (10 mg/kg/day) を 7 日間連続投与すると、MDMA 誘発運動過多は増強され、逆耐性が形成された (Fig. 3)。MDMA 連続投与マウスの側坐核における細胞外ドパミン遊離量は、MDMA 単回投与マウスのそれらと比べ有意に増加していた (Fig. 4)。しかし、ドパミン合成機能を遺伝的に低下させたチロシン水酸化酵素遺伝子変異 (TH^{+/-}) マウス、N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体機能を遺伝的に低下させた NMDA 受容体サブユニット $\epsilon 1$ 遺伝子欠損 (NR2A^{-/-}) マウスおよび低親和性 NMDA 受容体拮抗薬であるメマンチンを MDMA と連続併用投与したマウスでは、MDMA 連続投与による運動過多の増強や細胞外ドパミン遊離量の増加は、認められなかった (Figs. 3 and 4)。

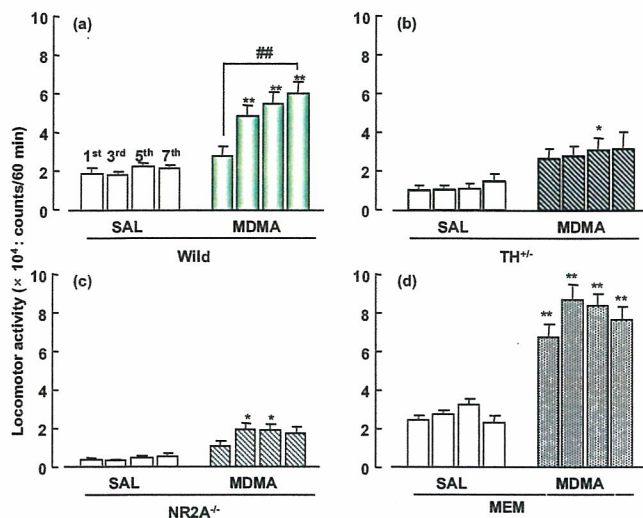


Fig. 3 Development of behavioral sensitization to MDMA-induced hyperlocomotion in (a) wild-type, (b) TH^{+/−}, (c) NR2A^{−/−} and (d) memantine-treated mice. Mice were administered MDMA (10 mg/kg s.c.) or saline (SAL) once a day for 7 days. Memantine (MEM) was pretreated 15 min before every MDMA treatment. On the 1st, 3rd, 5th and 7th day, animals were treated MDMA 30 min after placement in the test cage. Locomotor activity was measured for 60 min. *P<0.05 **P<0.01 vs corresponding SAL-treated mice. ##P<0.01 vs the 1st day. TH^{+/−}: tyrosine hydroxylase mutant, NR2A^{−/−}: NMDA receptor subunit ϵ 1 knockout.

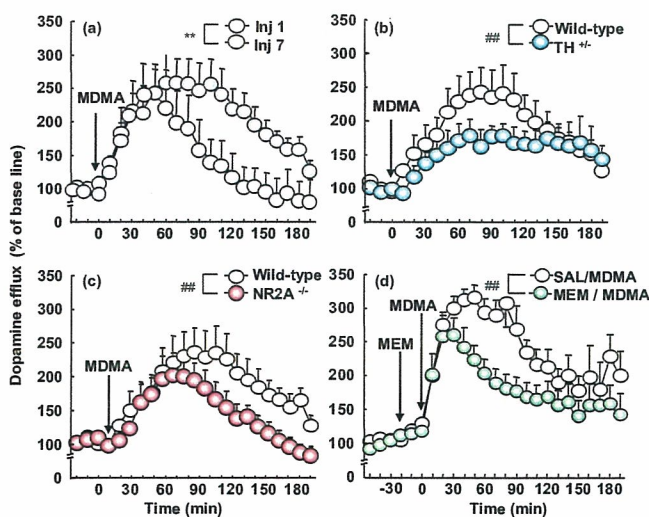


Fig. 4 MDMA-induced dopamine release in the nucleus accumbens of (a) wild-type, (b) TH^{+/−}, (c) NR2A^{−/−} and (d) memantine-treated mice. The extracellular levels of dopamine in the nucleus accumbens of MDMA-treated mice were measured by in vivo microdialysis. Mice were administered MDMA (10 mg/kg, s.c.) acutely (injection 1) or repeatedly (injection 7: once a day for 7 days). Memantine (MEM) was pretreated 15 min before every MDMA treatment. Values are the means $\pm$ S.E. **P<0.01 vs injection 1. ##P<0.01 vs wild-type or SAL/MDMA-treated mice. TH^{+/−}: tyrosine hydroxylase mutant, NR2A^{−/−}: NMDA receptor subunit ϵ 1 knockout.

以上の結果から、MDMA の連続投与によって側坐核におけるドパミン作動性神経機能が亢進された結果、ドパミン作動性神経系とグルタミン酸作動性神経系の間に異常なネットワークが構築され、運動過多が増強されたものと示唆される。

3. MDMA 誘発認知障害の分子機序について

平成 18 年度では、MDMA の連続投与による認知障害の発現機序を調べるため、認知機能と海馬セロトニン作動性神経の機能の関係について行動薬理学的および神経化学的に検討した。また、MDMA 連続投与による認知障害やセロトニン作動性神経毒性が、ミトコンドリア内カルシウムレベルの変化によるかどうかについても検討した。

新奇物質探索試験のテスト試行において、saline 連続投与マウスでは新奇 object に対する探索行動時間が既存 object のそれに比べて有意に増加したが、MDMA (10 mg/kg s.c.) 連続投与マウスでは、そのような増加は認められず、認知障害が惹起されていた (Fig. 5)。このような認知障害は、MDMA 最終投与から 20 日間後においても認められた。MDMA 連続投与マウスに fluoxetine を訓練試行前に投与すると、新奇 object に対する探索行動時間は有意に増加し、認知障害が改善された (Fig. 5)。

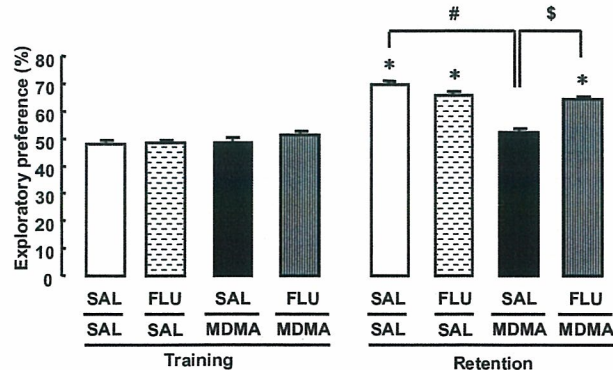


Fig. 5 The effect of fluoxetine on MDMA-induced cognitive impairment in a novel-object recognition test. Mice were treated with MDMA (10 mg/kg s.c.) once a day for 7 days, and then were subjected training session of novel-object recognition test 6 days after the last treatment. Fluoxetine (10 mg/kg i.p.) was administered 30 min before training session. The retention session was performed 24 hr after the training session. Values are the means $\pm$ S.E. *p<0.05 vs. corresponding training. #p<0.05 vs. (SAL+SAL)-treated, trained mice. \$p<0.05 vs. (MDMA+SAL)-treated, trained mice. SAL: saline, FLU: fluoxetine.

MDMA 連続投与マウスの海馬セロトニン含量は、saline 連続投与マウスのそれに比べて有意に減少していた (Fig. 6)。このマウスでは高濃度カリウム刺激による海馬セロトニン遊離量は有意に減少し、海馬セロトニン作動性神経系の応答性も低

下していた。さらに MDMA 連続投与により海馬ミトコンドリアへのカルシウム流入は有意に増加していた。シクロスポリン A を MDMA と連続併用投与すると、MDMA 連続投与マウスに認められた認知障害、ミトコンドリア内カルシウム濃度の増加および海馬セロトニン含量の減少は緩解された (Figs. 6 and 7)。

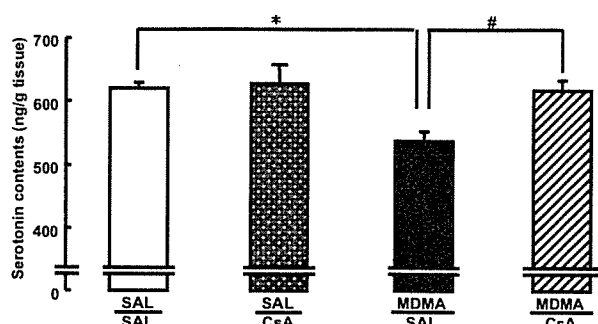


Fig. 6 The effect of cyclosporin A on MDMA-induced decrease of serotonin contents in the hippocampus of mice treated with MDMA repeatedly. Mice were treated with MDMA (10 mg/kg s.c.) once a day for 7 days. Cyclosporin A (10 mg/kg i.p.) was administered 30 min before every treatment with MDMA (10 mg/kg s.c.) for 7 days. Serotonin contents in the hippocampus were measured on 6 days after the last injection of MDMA. Values are the means $\pm$ S.E. * $p < 0.05$ vs. (SAL+MDMA)-treated mice. # $p < 0.05$ vs. (SAL+SAL)-treated mice. SAL: saline, CsA: cyclosporin A.

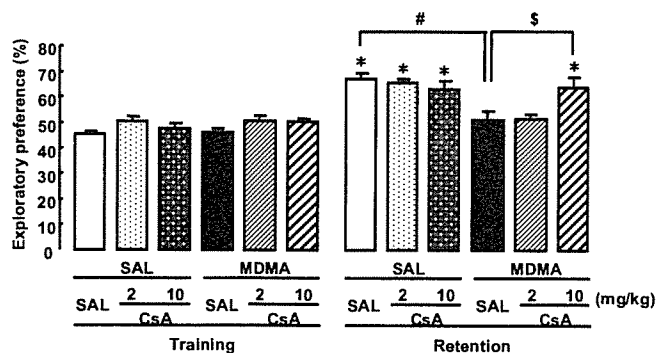


Fig. 7 The effect of cyclosporin A on MDMA-induced cognitive impairment in a novel-object recognition test. Mice were treated with MDMA (10 mg/kg s.c.) once a day for 7 days, and then were subjected training session of novel object test 6 days after the last treatment. Cyclosporin A (2 and 10 mg/kg) was administered 30 min before every treatment with MDMA (10 mg/kg s.c.) for 7 days. The retention session was performed 24 hr after the training session. Values are means $\pm$ S.E. * $p < 0.05$ vs. corresponding training. # $p < 0.05$ vs. (SAL+SAL)-treated, trained mice. \$ $p < 0.05$ vs. (SAL+MDMA)-treated, trained mice. SAL: saline, CsA: cyclosporin A.

以上の結果から、MDMA の連続投与による認知障害の発現にはセロトニン作動性神経の機能低下が関与していることが示唆された。また、認知障害に関連した海馬セロトニン作動性神経の機能障害の形成過程には、MDMA 連続投与による海馬ミトコンドリア内へのカルシウム流入の

増加が関与しているものと推察される。

【研究業績】

(1) 論文発表

- 1) Hamdy M. M., Noda Y., Miyazaki M., Mamiya T., Nozaki A., Nitta A., Sayed M. Assi A.-A., Gomaa A., Nabeshima T.: Molecular mechanisms in dizocilpine-induced attenuation of development of morphine dependence: an association with cortical Ca^{2+} /calmodulin-dependent signal cascade. *Behav. Brain. Res.*, 152: 263-270, 2004.
- 2) Ren X., Noda Y., Mamiya T., Nagai T., Nabeshima T.: A neuroactive steroid, dehydroepiandrosterone sulfate, prevents the development of morphine dependence and tolerance linked to the extracellular signal-regulated protein kinase. *Behav. Brain. Res.*, 152: 243-250, 2004.
- 3) Nagai T., Yamada K., Yoshimura M., Ishikawa K., Miyamoto Y., Hashimoto K., Noda Y., Nitta A., Nabeshima T.: Tissue plasminogen activator-plasmin system participates in the rewarding effect of morphine by regulating dopamine release. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 3650-3655, 2004.
- 4) Miyamoto Y., Yamada K., Nagai T., Mori H., Mishina M., Furukawa H., Noda Y., Nabeshima T.: Behavioural adaptations to addictive drugs in mice lacking the NMDA receptor epsilon1 subunit. *Eur. J. Neurosci.*, 19: 151-158, 2004.
- 5) Mizoguchi H., Yamada K., Mizuno M., Mizuno T., Nitta A., Noda Y., Nabeshima T.: Regulations of methamphetamine reward by extracellular signal-regulated kinase 1/2/ets-like gene-1 signaling pathway via the activation of dopamine receptors. *Mol. Pharmacol.*, 65: 1293-1301, 2004.
- 6) Zou LB, Mouri A, Iwata N, Saido TC, Wang MW, Wang D, Mizoguchi M, Noda Y, Nabeshima T. Inhibition of neprilysin by infusion of thiorphan

- into the hippocampus causes accumulation of amyloid β and impairment of learning and memory. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 317: 334-340, 2005.
- 7) Ishikawa K, Kajita Y, Hasegawa Y, Noda Y, Yoshida J, Nabeshima T. Irinotecan therapy in a 12-year-old girl with recurrent brain stem glioma and without functional polymorphisms in UGT1A1 activity: case report. *J Neurooncol.* 74, 283-286, 2005.
 - 8) Nagai T, Noda Y, Ishikawa K, Miyamoto Y, Yoshimura M, Ito M, Takayanagi M, Takuma K, Yamada K, Nabeshima T. The role of tissue plasminogen activator in methamphetamine-related reward and sensitization. *J. Neurochem.* 92, 660-667, 2005.
 - 9) Enomoto T, Noda Y, Mouri A, Shin EJ, Wang D, Murai R, Hotta K, Furukawa H, Nitta A, Kim HC, Nabeshima T. Long-lasting impairment of associative learning is correlated with dysfunction of NMDA-ERK signaling in mice following withdrawal from repeated administration of phencyclidine. *Mol. Pharmacol.*, 68, 1765-74, 2005.
 - 10) Mouri A, Zou LB, Iwata N, Saido TC, Wang D, Wang MW, Noda Y, Nabeshima T. Inhibition of neprilysin by thiorphan (i.c.v.) causes an accumulation of amyloid beta and impairment of learning and memory. *Behav. Brain Res.*, 168, 83-91, 2006.
 - 11) Cen X, Nitta A, Ohya S et al.,: An analog of a dipeptide-like structure of FK506 increases glial cell line-derived neurotrophic factor expression through cAMP response element-binding protein activated by heat shock protein 90/Akt signaling pathway. *J Neurosci*, 26: 3335-3344, 2006.
 - 12) Ishikawa K, Nitta A, Mizoguchi H et al.,: Effects of single and repeated administration of methamphetamine or morphine on neuroglycan C gene expression in the rat brain. *Int J Neuropsychopharmacol*, 9: 407-415, 2006.
 - 13) Niwa M, Nitta A, Yamada Y et al.,: An inducer for glial cell line-derived neurotrophic factor and tumor necrosis factor-alpha protects against methamphetamine-induced rewarding effects and sensitization. *Biol Psychiatry*, inpress, 2006
 - 14) Niwa M, Nitta A, Yamada Y et al.: Tumor necrosis factor-alpha and its inducer inhibit morphine-induced rewarding effects and sensitization. *Biol Psychiatry*, inpress, 2007
- (2) 総説
- 1) Noda Y, Nabeshima T. Opiate physical dependence and N-methyl-D-aspartate receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 500, 121-128, 2004.
 - 2) Noda Y, Nabeshima T. Involvement of signal transduction cascade via dopamine-D1 receptors in phencyclidine dependence. *Ann N. Y. Acad. Sci.* 1025, 62-68, 2004.
 - 3) 亀井浩行、野田幸裕、山田清文、鍋島俊隆. 薬物依存と前頭前野. *Clinical Neuroscience*, 23: 682-684, 2005.
 - 4) Nabeshima T, Mouri A, Murai R et al.,: Animal model of schizophrenia: dysfunction of NMDA receptor-signaling in mice following withdrawal from repeated administration of phencyclidine. *Ann N Y Acad Sci.*, 1086:160-168, 2006.
 - 5) Mouri A, Noda Y, Mizoguchi H et al.,: Dysfunction of glutamatergic systems and potential animal models of schizophrenia. *Nippon Yakurigaku Zasshi (Japanese Review)*, 127: 4-8, 2006.
- (3) 学会発表
国内発表

- 1) 溝口博之, 毛利彰宏, 丹羽美苗, 水野朋子, 山田清文, 野田幸裕, 新田淳美, 鍋島俊隆. メタンフェタミン誘発行動障害における Matrix metalloproteinase (MMP)/Tissue inhibitor of Matrix metalloproteinase (TIMP) システムの関与. 第 105 回日本薬理学会近畿部会 (徳島市, 2004. 6)
- 2) 村井里菜, 野田幸裕, 永井拓, 鍋島俊隆. フェンシクリジン連続投与マウスに認められる情動障害におけるグルタミン酸作動性神経系の関与. 第 34 回日本神経精神薬理学会/第 26 回日本生物学的精神医学会・合同年会 (東京, 2004. 7).
- 3) Mouri A., Noda Y., Noda A., Furukawa H. and Nabeshima T. Repeated treatment with phencyclidine impairs latent learning in mice: association with the cortical Ca^{2+} /Calmodulin kinase II. 第 27 回日本神経科学大会・第 47 回日本神経化学会大会合同大会 (大阪, 2004. 9)
- 4) 大谷晋, 新田淳美, Cen Xiaobo, Zhao Yinglan, 野田幸裕, 川越徹也, 鍋島俊隆. 神経保護作用および薬物依存形成抑制作用を示す疎水性ジペプチド Leu-Ile の脳内結合タンパクの同定. 第 106 回日本薬理学会近畿部会 (京都, 2004. 11)
- 5) 野田幸裕, 鍋島俊隆. 非競合的 N-methyl-D-aspartate 受容体拮抗薬を連続投与したマウスに認められる精神行動障害と N-methyl-D-aspartate 受容体シグナル伝達系の変化. 日本トキシコロジー学会学術年会シンポジウム (大阪, 2004. 7).
- 6) 野田幸裕, 鍋島俊隆. NMDA 受容体機能障害による認知障害の分子機序: グルタミン酸作動性神経系の関与. 第 27 回日本神経科学大会・第 47 回日本神経化学会大会合同大会 (大阪, 2004. 9).
- 7) 毛利彰宏, 野田幸裕, 鍋島俊隆. フェンシクリジン連続投与マウスに認められる認知障害の分子機構. 第 5 回 ABC 研究会 (大阪, 2004. 10).
- 8) Yan Yijin, 山田清文, 溝口博之, 野田幸裕, 永井拓, 新田淳美, 鍋島俊隆. Tissue plasminogen activator (tPA) knockout mice over-respond to morphine self-administration mediated by dopamine D1 receptor. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋, 2005.3.)
- 9) 永井拓, 石川和宏, 宮本嘉明, 橋本和樹, 野田幸裕, 新田淳美, 山田清文, 鍋島俊隆. 麻薬依存における組織プラスミノゲン活性化因子/プラスミン系シグナルの役割. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋, 2005.3.)
- 10) 宮本嘉明, 山田清文, 永井拓, 森寿, 三品昌美, 古川宏, 野田幸裕, 鍋島俊隆. 依存性薬物誘発行動変化における NMDA 受容体・1 サブユニットの役割. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋, 2005.3.)
- 11) 宮崎雅之, 野田幸裕, 毛利彰宏, 鍋島俊隆. メタンフェタミン誘発精神行動障害の発現機序に関する研究. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋, 2005.3.)
- 12) 溝口博之, 山田清文, 水野誠, 水野朋子, 新田淳美, 野田幸裕, 鍋島俊隆. ドーパミン受容体の活性化を介した ERK1/2/Elk-1 シグナルによるメタンフェタミンの報酬効果の調節. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋, 2005.3.)
- 13) 溝口博之, 山田清文, 丹羽美苗, 毛利彰宏, 新田淳美, 野田幸裕, 坂野喜子, 鍋島俊隆. ラットにおけるメタンフェタミン誘発細胞外ドーパミン量の増大に対する MMP/TIMP の調節機構. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋, 2005.3.)
- 14) 永井拓, 野田幸裕, 石川和宏, 宮本嘉明, 伊藤美奈, 高柳匡徳, 田熊一敬, 亀井浩行, 山田清

- 文、鍋島俊隆. メタンフェタミンの報酬効果における組織プラスミノゲン活性化因子の関与. 第8回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋, 2005.3.)
- 15) 丹羽美苗、新田淳美、山田裕一郎、斉藤邦明、清島満、Liya Shen、野田幸裕、鍋島俊隆. TNF- α および GDNF を介したメタンフェタミン依存に対する Leu-Ile の抑制効果. 第8回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋, 2005.3.)
- 16) 毛利彰宏、野田幸裕、野田明宏、新田淳美、古川宏、鍋島俊隆. 依存性薬物フェンシクリジン連続投与により惹起される認知障害とその分子機序の解明. 第8回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋, 2005.3.)
- 17) 村井里菜、野田幸裕、永井拓、堀江里奈、新田淳美、鍋島俊隆. 依存性薬物フェンシクリジン連続投与マウスに認められる精神行動障害におけるグルタミン酸神経系の関与. 第8回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋, 2005.3.)
- 18) 鍋島俊隆、野田幸裕 (シンポジウム). グルタミン酸神経系機能障害と統合失調症. 第78回日本薬理学会年会 (横浜, 2005.3.)
- 19) 野田幸裕、鍋島俊隆 (シンポジウム). N - メチル D - アスパラギン酸受容体機能障害による認知障害の分子機序. 第78回日本薬理学会年会 (横浜, 2005.3.)
- 10) 毛利彰宏、野田幸裕、野田明宏、新田淳美、古川宏、鍋島俊隆 (ミニシンポジウム). フェンシクリジン連続投与に認められる認知障害に対するクロザピンの作用. 第78回日本薬理学会年会 (横浜, 2005.3.)
- 21) 溝口博之、山田清文、丹羽美苗、毛利彰宏、水野朋子、野田幸裕、新田淳美、坂野喜子、鍋島俊隆. ラットのメタンフェタミン誘発行動障害における MMP/TIMP システムのドーパミンシグナルを解した調節. 第78回日本薬理学会年会 (横浜, 2005.3.)
- 22) 永井拓、野田幸裕、石川和宏、宮元嘉明、伊藤美奈、高柳匡徳、田熊一徹、山田清文、鍋島俊隆. メタンフェタミン報酬効果における組織プラスミノゲン活性化因子 (tPA) の役割. 第78回日本薬理学会年会 (横浜, 2005.3.)
- 23) 丹羽美苗、新田淳美、山田清文、斉藤邦明、清島満、Liya SHEN L.、野田幸裕、鍋島俊隆. メタンフェタミン依存に対する Leu-Ile の治療薬としての可能性. 第78回日本薬理学会年会 (横浜, 2005.3.)
- 24) 新田淳美、岑小波、大谷晋、小沢直也、野田幸裕、鍋島俊隆. 培養神経細胞においてジペプチドは CRBE を介して GDNF を発現させる. 第78回日本薬理学会年会 (横浜, 2005.3.)
- 25) 丹羽美苗、新田淳美、山田裕一郎、斉藤邦明、清島満、Liya S.、野田幸裕、鍋島俊隆. GDNF の産生誘導剤 Leu-Ile のメタンフェタミン依存抑制効果. 第107回日本薬理学会近畿部会 (金沢, 2005.6.)
- 26) 石川和宏、新田淳美、溝口博之、毛利彰宏、村井里菜、宮本嘉明、野田幸裕、北市清幸、山田清文、鍋島俊隆. メタンフェタミン連続投与による脳内ニューログリカン C の発現変化. 第51回日本薬学会東海支部総会・大会 (岐阜, 2005.7.)
- 27) 丹羽美苗、新田淳美、山田裕一郎、柴田葉子、斉藤邦明、清島満、Liya Shen、野田幸裕、鍋島俊隆. A possibility of Leu-Ile as a novel therapeutic agent for morphine-induced dependence. 第48回日本神経化学学会大会 (福岡, 2005.9.)
- 28) 村井里菜、野田幸裕、毛利彰宏、新田淳美、鍋島俊隆. フェンシクリジン連続投与マウスに認められる情動障害の発現における前頭前皮質グルタミン酸伝達系の関与. 第108回日本薬理

学会近畿部会（西宮, 2005.11.）

- 29) 毛利彰宏, 野田幸裕, 野田明宏, 新田淳美, 古川宏, 鍋島俊隆: フェンシクリジン連続投与による前頭皮質ドーパミンおよびグルタミン酸作動性神経系の機能低下と認知機能障害. 第 79 回日本薬理学会年会（横浜, 2006. 3.）
- 30) 村井里菜, 野田幸裕, 鍋島俊隆: フェンシクリジン連続投与マウスに認められる情動障害の発現における前頭前皮質グルタミン酸トランスポーターの関与. 第 4 回 21 世紀 COE 若手研究フォーラム「名古屋大学発のブレイクスルーをめざして」（名古屋, 2006. 4.）
- 31) 毛利彰宏, 野田幸裕, 新田淳美, 古川宏, 鍋島俊隆: 統合失調症モデル動物を用いた認知障害の分子機序の解明および抗精神病薬の効果. 第 4 回 21 世紀 COE 若手研究フォーラム「名古屋大学発のブレイクスルーをめざして」（名古屋, 2006. 4.）
- 32) 丹羽美苗, 新田淳美, 山田裕一郎, 斉藤邦明, 清島満, Liya SHEN, 野田幸裕, 鍋島俊隆: GDNF および TNF- α 誘導剤はメタンフェタミン依存を抑制する - 覚せい剤依存症治療薬の開発を目指して -. 第 17 回 21 世紀 COE プログレスレポート会議《神経再生・発生》（名古屋大学医学部 21 世紀 COE プログラム「神経疾患・腫瘍の統合分子医学の拠点形成」）（名古屋, 2006. 7.）
- 33) 村井里菜, 野田幸裕, 永井拓, 松井香奈枝, 亀井浩行, 新田淳美, 松葉和久, 鍋島俊隆: フェンシクリジン連続投与マウスに認められる情動障害の発現過程における神経 - グリア細胞の関与. 第 12 回日本行動薬理研究会（石川県羽咋郡, 2006. 9.）
- 34) 松井香奈枝, 野田幸裕, 亀井浩行, 村井里菜, 毛利彰宏, 永井拓, 新田淳美, 松葉和久, 鍋島俊隆: フェンシクリジン連続投与マウスに認められる情動障害の発現過程における前頭皮質 NMDA-CaMK II 伝達系の関与. 第 12 回日本行動薬理研究会（石川県羽咋郡, 2006. 9.）
- 35) 溝口博之, 山田清文, 丹羽美苗, 毛利彰宏, 野田幸裕, 新田淳美, 糸原重美, 坂野喜子, 鍋島俊隆: メタンフェタミン連続投与による異常行動とマトリクスメタロプロテアーゼの生理活性変化. 第 12 回日本行動薬理研究会（石川県羽咋郡, 2006. 9.）
- 36) 王大勇, 野田幸裕, 周園, 新田淳美, 鍋島俊隆: Role of Dopamine in synergistic effects of galantamine and risperidone on phencyclidine-treated mice. 第 28 回日本生物学的精神医学会, 第 36 回日本神経精神薬理学会, 第 49 回日本神経化学学会大会合同年会（名古屋, 2006. 9.）
- 37) 村井里菜, 野田幸裕, 仲嶋一範, 澤明, 鍋島俊隆: Biochemical and behavioral abnormalities in mice suppressed endogenous DISC1 during neurodevelopment. 第 28 回日本生物学的精神医学会, 第 36 回日本神経精神薬理学会, 第 49 回日本神経化学学会大会合同年会（名古屋, 2006. 9.）
- 38) 丹羽美苗, 新田淳美, 山田裕一郎, 斉藤邦明, 清島満, Liya SHEN, 野田幸裕, 鍋島俊隆: Involvement of GDNF and TNF- α in inhibitory effects of Leu- Ile on methamphetamine-induced dependence. 第 28 回日本生物学的精神医学会, 第 36 回日本神経精神薬理学会, 第 49 回日本神経化学学会大会合同年会（名古屋, 2006. 9.）
- 39) 毛利彰宏, 野田幸裕, 森瀬貴子, 江崎光剛, 新田淳美, 亀井浩行, 松葉和久, 鍋島俊隆: Involvement of glutamatergic-dopaminergic systems in MDMA-induced psychobehavioral deficits. 第 28 回日本生物学的精神医学会, 第 36 回日本神経精神薬理学会, 第 49 回日本神経化学学会大会合同年会（名古屋, 2006. 9.）
- 40) 奥野友香, ZENG Nan, 丹羽美苗, 宮崎雅之, 野田幸裕, 新田淳美, 鍋島俊隆: ストレス誘発う

つ病モデル動物におけるニコチン連続投与による抗うつ作用. 第110回日本薬理学会近畿部会 (京都, 2006. 11.)

- 41) 森瀬貴子, 野田幸裕, 毛利彰宏, 江崎光剛, 亀井浩行, 新田淳美, 松葉和久, 岩村樹憲, 鍋島俊隆: MDMA 連続投与マウスに認められる自発行動および認知行動障害におけるミトコンドリアの関与. 第110回日本薬理学会近畿部会 (京都, 2006. 11.)

国際学会

- 1) Nabeshima T, Ishikawa K, Nitta A, Mizoguchi H, Mohri A, Murai R, Miyamoto Y, Noda Y, Kitaichi K and Yamada K. Effects of single and repeated administration of methamphetamine or morphine on neuroglycan C gene expression in the rat brain. 8th World Congress of Biological Psychiatry (Vienna, Austria, 2005. 6.)
- 2) Nabeshima T, Nakajima A, Mizoguchi H, Nitta A, Noda Y and Yamada K. The brain areas related to methamphetamine dependence in rats. 8th World Congress of Biological Psychiatry (Vienna, Austria, 2005. 6.)
- 3) Nagai T, Noda Y, Ishikawa K, Miyamoto Y, Ito M, Takuma K, Yamada K and Nabeshima T. Tissue plasminogen activator participates in methamphetamine-related reward and locomotor sensitization. 35th Annual meeting Society for Neuroscience (Washington, DC, USA, 2005. 11.).
- 4) Yan Y, Nitta A, Mizoguchi H, Noda Y, Yamada K and Nabeshima T. Reinstatement of methamphetamine-seeking behavior in C57BL/6J mice demonstrated by intravenous self-administration. 35th Annual meeting Society for Neuroscience (Washington, DC, USA, 2005. 11.).
- 5) Noda Y and Nabeshima T. An animal model of Schizophrenia: Involvement of dysfunction of NMDA receptor-signaling in mice following withdrawal from repeated administration of phencyclidine. The 3rd Takeda Science Foundation Symposium on PharmaScience (Tokyo, 2005. 12.)
- 6) Cen X, Nitta A, Ohya S, Zhao Y, Ozawa N, Mouri A, Ibi D, Wang L, Suzuki M, Saito K, Ito Y, Kawagoe T, Noda Y, Ito Y, Furukawa S and Nabeshima T. An analogue of dipeptide-like structure of FK506 increases GDNF expression through CREB activated by Hsp90/Akt signaling pathway. Japan-Canada: Joint Workshop on Brain Science (Tokyo, 2006. 1.)
- 7) Niwa M, Nitta A, Yamada Y, Nakajima A, Saito K, Seishima M, Shen L, Noda Y, Furukawa S and Nabeshima T. An inducer for GDNF and TNF- α protects methamphetamine-induced reward and sensitization. Japan-Canada: Joint Workshop on Brain Science (Tokyo, 2006.1.)
- 8) Niwa M, Nitta A, Yamada Y, Nakajima A, Saito K, Seishima M, Shen L, Noda Y, Furukawa S and Nabeshima T: An inducer for GDNF and TNF- α protects methamphetamine-induced reward and sensitization. Japan-Canada: Joint Workshop on Brain Science (Tokyo, 2006. 1.)
- 9) Noda Y, Mizoguchi H, Yan Y, Yamada K and Nabeshima T: Involvement of ERK1/2 signaling pathway in seeking behaviors induced by methamphetamine in place preference and self-administration (Symposium). RIKEN Brain Science Institute One-Day Workshop "Topics in Reward and Addiction" (Tokyo, 2006, 3.)
- 10) Nitta A, Cen X, Ohya S, Mouri A, Ibi D, Noda Y, Furukawa S and Nabeshima T: An analog of a dipeptide-like structure of FK506 increases glial cell line-derived neurotrophic factor expression through cAMP response element-binding protein activated by heat shock protein 90/Akt signaling

pathway. 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Atlanta, U.S.A., 2006, 10.)

- 11) Niwa M, Nitta A, Yamada Y, Saito K, Seishima M, Shen L, Noda Y and Nabeshima T: An inducer for GDNF and TNF- α protects methamphetamine-induced rewarding effects and sensitization. 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Atlanta, U.S.A., 2006, 10.)

「依存性薬物および未規制薬物による神経毒性と精神病の発現機序」3年間のまとめ

methamphetamine 探索行動 (“渴望”) ならびに知的機能に及ぼす MDMA の影響

分担研究者：山本経之¹

研究協力者：縄田陽子¹、平仁田尊人²

(¹長崎国際大学薬学部薬理学研究室、²九州大学大学院薬学研究院薬効解析学分野)

1. MDMA の MAP 探索行動に及ぼす作用

MAP 自己投与最終日のラットのレバー押し回数は 35.8 ± 5.2 回であった。その後 MAP を生理食塩液に置換する（消去過程）とそのレバー押しは徐々に低下し、5日目のレバー押し回数は 3.6 ± 0.7 回となった。退薬6日目に（生理食塩液自己投与下）、MAP 関連刺激（音・光）および MAP (1.0 mg/kg, i.p.) priming を与えると、有意なレバー押し回数の増加が認められ、MAP 探索行動が発現した。しかしながら、MDMA-priming 投与 (3.2-10mg/kg, i.p.) では誘発されなかった。このように、MDMA は MAP 探索行動を誘発せず、化学構造上類似点を有しても、MAP と必ずしも同様の作用態度を示すわけではない事が分かった。

2. MDMA 摂取行動ならびに MDMA 探索行動

Wistar 系雄性ラットでの MDMA 自己投与行動は、0.32 mg/0.1 ml (FR1) の用量で成立した。MDMA 摂取行動最終日（20 日目）のレバー押し回数は 9.2 ± 1.5 回、また 20 日間の MDMA 総摂取量は 32.2 ± 2.5 mg であった。その後 MDMA を生理食塩液に置換し、自己投与実験を続けた。その1日目のレバー押し回数は 37.7 ± 12.7 回と増加したが、経日的に減弱し、15 日目には 5.6 ± 0.7 回に減少した。休薬 16 日目に、薬物関連刺激呈示ならびに MDMA-priming 投与 (3.2 mg/kg, i.p.) を行うと、レバー押し回数は有意に増加した（MDMA 探索行動；生理食塩液自己投与下）。これら 2 つの刺激で誘発された MDMA 探索行動は、いずれ

もカンナビノイド CB1 受容体拮抗薬 AM251 (3.2 mg/kg, i.p.) により抑制された。このように、MDMA には依存性があり、休薬時に薬物探索行動を発現する事が分かった。さらに、MDMA 探索行動は、CB1 受容体の活性化を介して誘発される事が示唆される。

3. MAP 探索行動発現における ACh 神経系の関与

MAP 関連刺激および MAP (1.0 mg/kg, i.p.) priming による MAP 探索行動は、nicotine (1.0 μ g/side) ならびに ACh 分解酵素阻害薬である donepezil (3.2 μ g/side) の前頭前皮質内への微量注入により有意に抑制された。さらに、これら 2 つの薬物による MAP 探索行動の抑制作用は、ニコチン性 ACh 受容体拮抗薬である mecamylamine (10 μ g/side) により拮抗されたが、ムスカリン性 ACh 受容体拮抗薬である scopolamine (3.2 μ g/side) では拮抗されなかった。一方、カンナビノイド CB1 受容体拮抗薬 AM251 (32 μ g/side) の前頭前皮質内への微量注入は、MAP 探索行動を有意に抑制した。この抑制作用もまた mecamylamine (10 μ g/side) により拮抗されたが、scopolamine (3.2 μ g/side) では拮抗されなかった。以上の結果より、MAP 探索行動の発現は前頭前皮質における CB1 受容体の活性化を介してのニコチン性 ACh 伝達の抑制に基因する事が示唆された。

4. MDMA の自発運動量に及ぼす作用

ICR 系マウスの自発運動量は、MAP (1.0、3.2mg/kg,i.p.) および MDMA (3.2、10mg/kg,i.p.) の単回投与により用量依存的に増加した。この MDMA 10mg/kg の自発運動量増加作用は CB1 受容体欠損 [CB1(-/-)] マウスでは減弱した。MDMA 10mg/kg 反復投与では、単回投与による自発運動量増加作用は増強されず、単回投与と同程度の自発運動量であった。一方、CB1 (-/-) マウスでは、MDMA 10mg/kg 反復投与による自発運動量増加作用は全く認められなかった。以上より、MDMA による自発運動量増加作用は一部 CB1 受容体を介して発現する事が示唆される。

5. MDMA の認知機能に及ぼす作用

MDMA (10 mg/kg, i.p.) 7 日間の反復投与後、休薬 1 および 7 日目の 2 つの新奇物体に対する CB1 (+/+) マウスのアプローチ時間は、生理食塩液投与群と比較して差が認められなかった (pre-trial)。一方、MDMA 休薬 1 および 7 日目の test-trial では、新奇物体に対するアプローチ時間は有意に減少し、認知機能障害が認められた。しかしながら、MDMA と AM251 (3.2 mg/kg, i.p.) との併用投与群には、休薬時での認知機能障害は出現しなかった。さらに、MDMA によるこの障害は、CB1 (-/-) マウスでは全く認められなかった。さらに、退薬 7 日目での AM251 の単回投与は、MDMA による認知機能障害を改善した。この認知機能障害発現時には、海馬における CB1 受容体の発現量は有意に増加していた (休薬 7 日目)。この増加は、AM251 の MDMA との併用投与により抑制される傾向が認められた。一方、前頭前皮質でも CB1 受容体発現量の増加傾向が認められたが、線状体では差がなかった。以上の結果より、MDMA 休薬時に認められる認知機能障害は、海馬の CB1 受容体の活性化を介して発現する事が示唆される。

6. おわりに

MDMA は MAP と同様に休薬時に MDMA 探索行動を起こし依存性を有する事が、ラットの薬物自己投与実験法を用いた実験により分かった。この MDMA 探索行動は CB1 受容体の活性化を介して発現する事が示唆され、この点でも MAP と類似する。一方、MDMA は MAP 探索行動を誘発せず、化学構造上類似点を有しても、MAP と異なる作用態度を示す点も明らかとなった。

次に、MAP 探索行動の発現は CB1 受容体の活性化を介してのニコチン性 ACh 受容体の不活性化に基因する事が示唆された。

マウスを用いた検討では MDMA の反復投与により、その休薬時に著明な認知機能障害 (novel object recognition 法) が誘発された。その障害は海馬の CB1 受容体の活性化を、少なくとも一部介して起こる事が示唆される。

以上の知見より、CB1 受容体拮抗薬が上記の障害を改善する事から、薬物依存症ならびに薬物乱用に伴う認知機能障害に対する治療薬としての可能性が示唆される。

【研究業績】

(1) 論文発表

- 1) Hiranita T., Nawata Y., Sakimura K.: The possibility of nicotinic activators as craving killers in methamphetamine dependence. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**: 8523-8527, 2006
- 2) Shuto T., Kuroiwa M., Hamamura M.: Reversal of methamphetamine-induced behavioral sensitization by repeated administration of a dopamine D₁ receptor agonist. *Neuropharmacology*, **50**: 991-997, 2006
- 3) 縄田陽子、山本経之、依存性薬物としての MDMA の臨床ならびに行動薬理学的特徴、医学のあゆみ、**217**: 1167-1170, 2006
- 4) 山本経之、縄田陽子、當原真奈美、脳内 endocannabinoid の異常性に基づくマウスの知的

機能障害、分子精神医学、2007、in press

- 5) Anggadiredja K., Yamaguchi T., Tanaka H.: Decrease in prostaglandin level is a prerequisite for the expression of cannabinoid withdrawal: A quasi abstinence approach. *Brain Res.*, **1066**: 201-205, 2005
- 6) 崎村克也, 平仁田尊人, 宮本道彦、薬物への渴望 (craving) の再燃・再発モデルとその発現機序、日薬理誌、**126**:24-29,2005
- 7) 山本経之、Kusnanndar Anggadiredja、平仁田尊人、覚醒剤 methamphetamine への渴望(craving)の再燃における脳内 cannabinoid system の関与、分子精神医学、**5**:94-96, 2005
- 8) Anggadiredja K., Sakimura, K., Hiranita T.: Naltrexone attenuates cue- but not drug-induced methamphetamine seeking: a possible mechanism for the dissociation of primary and secondary reward. *Brain Res.*, **1021** : 272-276, 2004
- 9) Anggadiredja K., Nakamichi M., Hiranita T.: Endocannabinoid system modulates relapse to methamphetamine seeking: possible mediation by the arachidonic acid cascade. *Neuropsychopharmacology*, **29** : 1470-1478, 2004
- 10) Hiranita T., Anggadiredja K., Fujisaki C.: Nicotine attenuates relapse to methamphetamine-seeking behavior (craving) in rats. *Ann NY Acad Sci.*, **1025** : 504-507, 2004
- 11) Yamamoto T., Anggadiredja K., Hiranita T.: New perspectives in the studies on endocannabinoid and cannabis: a role for the endocannabinoid-arachidonic acid pathway in drug reward and long-lasting relapse to drug taking. *J. Pharmacol. Sci.*, **96** : 382-388 , 2004
- 12) Yamaguchi T., Kubota T., Watanabe S.: Activation of brain prostanoid EP3 receptors via arachidonic acid cascade during behavioral suppression induced by delta8-tetrahydrocannabinol. *J. Neurochem.*, **88** : 148-154, 2004
- 13) 荒木久美子, 山本経之, ラットのオペラント

行動を用いての知的機能の検索法, 日薬理誌, **124** : 3-9, 2004

(2) 学会発表

- 1) Hiranita T., Sakimura K., Nawata Y.: Hippocampal nicotinic activators are possible craving killers in methamphetamine dependence. CINP Asia Pacific Regional Meeting, (Pattaya, Thailand, March, 2006) —優秀ポスター賞受賞
- 2) 平仁田尊人、縄田陽子、北市清幸、覚醒剤メタンフェタミン探索行動 (“渴望”) —カンナビノイド CB1 受容体及び a4b2 型ニコチン性 ACh 受容体の相互関与、第 27 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム (和歌山、9 月、2006 年)
- 3) 北市清幸、中山寛尚、縄田陽子、メタンフェタミンおよびモノアミンの脳内挙動における有機カチオントランスポーター、organic cation transporter-3 の関与、第 12 回日本行動薬理研究会 (石川、9 月、2006 年)
- 4) 山本経之、教育講演：精神薬理学の領域における動物モデル—その妥当性と問題点、三学会 (第 28 回日本生物学的精神医学会、第 36 回日本神経精神薬理学会および第 49 回日本神経化学学会大会) 合同年会 (名古屋、9 月、2006 年)
- 5) Hiranita T., Nawata Y., Kitaichi K.: Suppression of methamphetamine-seeking behavior by a cannabinoid CB1 receptor antagonist via the activation of nicotinic transmission in the prelimbic cortex., 三学会 (第 28 回日本生物学的精神医学会、第 36 回日本神経精神薬理学会および第 49 回日本神経化学学会大会) 合同年会 (名古屋、9 月、2006 年)
- 6) Nawata, Y., Hiranita, T., Kitaichi, K., Cognitive impairment induced by MDMA (Ecstasy) involves cannabinoid CB1 receptors, 三学会 (第 28 回日本生物学的精神医学会、第 36 回日本神経精神薬理学会および第 49 回日本神経化学学会大会) 合同年会 (名古屋、9 月、2006 年) —優秀演題賞受賞

- 7) 平仁田尊人、山本経之、覚醒剤メタンフェタミン探索行動はニコチンにより抑制される、薬物及びニコチン精神薬理シンポジウム(東京、9月、2006年)
- 8) 山本経之、縄田陽子、當原真奈美、脳内endocannabinoidの異常性にに基づくマウスの知的機能障害、第8回感情・認知・行動(ABC)研究会(東京、10月、2006年)
- 9) 北市清幸、中山寛尚、山本経之、脳における有機カチオントランスポーターOCT3発現抑制時の行動薬理学的特性および神経化学的变化、第59回日本薬理学会西南部会。(那覇、11月、2006年)
- 10) 平仁田尊人、縄田陽子、北市清幸、覚醒剤メタンフェタミン探索行動の発現における副腎皮質刺激ホルモン放出因子(CRF)の関与、第59回日本薬理学会西南部会(那覇、11月、2006年)
- 11) 北市清幸、中山寛尚、縄田陽子、SLCトランスポーターOCT3の発現調節と神経行動薬理学的変化、第1回トランスポーター研究会(東京、12月、2006年) —優秀ポスター賞受賞—
- 12) 平仁田尊人、縄田陽子、北市清幸、覚醒剤メタンフェタミン探索行動の再燃における副腎皮質刺激ホルモン放出因子(CRF)の役割、第80回日本薬理学会年会(名古屋、3月、2007年)
- 13) 縄田陽子、平仁田尊人、山本経之、合成麻薬MDMA ($\pm$ 3,4-methylenedioxymethamphetamine; “Ecstasy”)により誘発される認知機能障害におけるカンナビノイドCB1受容体の関与、第15回神経行動薬理若手研究者の集い(千葉、3月、2006年)
- 14) 崎村克也、平仁田尊人、山本経之、メタンフェタミンに対する“渴望”の再燃における大脳辺縁系の役割、第15回神経行動薬理若手研究者の集い(千葉、2006年、3月)
- 15) 縄田陽子、平仁田尊人、井上和秀、合成麻薬MDMA探索行動(“渴望”)の発現における内因性カンナビノイドシステムの関与、第79回日本薬理学会年会(横浜、3月、2006年)
- 16) 崎村克也、平仁田尊人、井上和秀、覚せい剤メタンフェタミンに対する渴望の発現における内因性カンナビノイドシステム/グルタミン酸神経系相互作用、第79回日本薬理学会年会(横浜、3月、2006年)
- 17) Yamamoto T., Hiranita T., Anggadiredja K.: Nicotinic agonists inhibit reinstatement of methamphetamine-seeking behavior in rats. ACNP 44th Annual Meeting, (Waikoloa, Hawaii, December, 2005)
- 18) 平仁田尊人、崎村克也、縄田陽子、覚醒剤methamphetamineへの“渴望”は扁桃体内ニコチン性ACh受容体の活性化により抑制される、第58回日本薬理学会西南部会(長崎、11月、2005年)
- 19) 当原真奈美、井上和秀、山本経之、認知機能障害における内因性カンナビノイド/アラキドン酸カスケードの関与、第58回日本薬理学会西南部会(長崎、11月、2005年)
- 20) 平仁田尊人、崎村克也、縄田陽子、海馬内ニコチン性ACh受容体の活性化は覚醒剤methamphetamineへの“渴望”を抑制する、第35回日本神経精神薬理学会(大阪、7月、2005年)
- 21) 縄田陽子、平仁田尊人、山本経之、薬物探索行動の再燃および認知機能に及ぼす合成麻薬MDMAの作用—内因性カンナビノイドの側面から、第35回日本神経精神薬理学会(大阪、7月、2005年)
- 22) 窪田剛志、平仁田尊人、山口拓、モルヒネ探索行動の再燃および身体依存形成におけるアラキドン酸カスケードの関与、第35回日本神経精神薬理学会(大阪、7月、2005年)
- 23) 山本経之、大麻・覚醒剤のラット知的機能に及ぼす影響、第8回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会(名古屋、3月、2005年)
- 24) 平仁田尊人、宮本道彦、崎村克也、ラット縁

前方皮質内ニコチン性 ACh 受容体の活性化による覚醒剤メタンフェタミン探索行動の抑制、第 78 回日本薬理学会年会（横浜、3 月、2005 年）

25) 平仁田尊人、崎村克也、Kusnandar Anggadiredja、覚醒剤 methamphetamine 探索行動（“渴望”）における側坐核中核部内ニコチン性 ACh 受容体の役割、第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会（名古屋、3 月、2005 年）

26) 窪田剛志、平仁田尊人、山口拓、モルヒネ探索行動の再燃および身体依存形成におけるアラキドン酸カスケードの関与、第 14 回神経行動薬理若手研究者の集い（横浜、3 月、2005 年）

27) 崎村克也、平仁田尊人、Kusnandar Anggadiredja、扁桃体、側坐核カンナビノイドシステム—覚せい剤メタンフェタミン探索行動の発現における役割、第 78 回日本薬理学会年会（横浜、3 月、2005 年）

28) 藤崎千恵、山村悠介、平仁田尊人、覚醒剤メタンフェタミン探索行動に対する新規化合物（-）BPAP の作用、第 57 回日本薬理学会西南部会（福岡、11 月、2004 年）

29) 山本経之、K. Anggadiredja、平仁田尊人、覚醒剤 methamphetamine への渴望(craving)の再燃における脳内 cannabinoid system の関与、第 6 回感情・認知・行動(ABC)研究会（大阪、11 月、2004 年）

30) 山本経之、平仁田尊人、崎村克也、薬物への渴望(craving)を如何にして捉えるか—その行動薬理学的戦略を探る—、薬理学サマーセミナー2004「ストレス、不安、依存—行動実験のあり方と戦略」（神奈川、8 月、2004 年）

31) 崎村克也、平仁田尊人、宮本道彦、メタンフェタミン摂取行動及び探索行動発現における扁桃体基底外側核／内因性カンナビノイドの関与、第 10 回日本行動薬理研究会（宮城、8 月、2004 年）

32) 崎村克也、K. Anggadiredja、平仁田尊人、メ

タンフェタミン探索行動の再燃における扁桃体基底外側核の役割—内因性カンナビノイドとの関連性、第 34 回日本神経精神薬理学会年会（東京、7 月、2004 年）

33) Yamamoto T., Anggadiredja K., Hiranita T., Endocannabinoid system modulates relapse to methamphetamine seeking: possible mediation by the arachidonic acid cascade, International symposium for opioid and pain-related peptide in Sendai (Sendai, Japan, July, 2004)

34) 首藤隆秀、黒岩真帆美、濱村みつ子、メタンフェタミン逆耐性現象に対するドーパミン受容体アゴニスト反復投与の効果、第 6 回ブレインサイエンス研究会（福岡、5 月、2004 年）

35) 山本経之、K. Anggadiredja、平仁田尊人、シンポジウム—脳内大麻の研究動向と新展開—“薬物依存／脳内報酬系に関わる脳内カンナビノイドシステム”（オーガナイザー&シンポジスト）、第 77 回日本薬理学会年会（大阪、3 月、2004 年）

(3) 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

1) 特 願 2004-33996 「薬物依存症治療薬 [(-)-BPAP]」;(2004 年 11 月 25 日)

「依存性薬物および未規制薬物による神経毒性と精神病の発現機序」3年間のまとめ

MDMA のセロトニン放出および神経毒性発現の分子機序の解明

分担研究者：金子周司

研究協力者：中川貴之、山内陽介、鈴木祐一、樋口 萌

(京都大学大学院薬学研究科生体機能解析学分野)

本研究では、3,4-メチレンジオキシメタンフェタミン (MDMA, “ecstasy”)、メタンフェタミン (METH) あるいは 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT, “FOXY”) などの規制薬物によるセロトニン放出および神経毒性発現のメカニズムを分子レベルで明らかにすることを目的とし、セロトニン神経を含む中脳冠状切片培養系、および中脳皮質辺縁ドパミン神経を再構築させた脳切片共培養系を用いた検討を行うとともに、*Xenopus* 卵母細胞発現系を用いて、主に MDMA のセロトニントランスポーター (SERT) に対する影響を検討し、研究期間内に以下の知見を得た。

1) 縫線核セロトニン神経含有中脳切片培養系を用いた検討

生後 2-3 日齢のラット脳から、縫線核を含むレベルで厚さ 350 μm の中脳冠状切片を作製し、多孔質膜上で 12-14 日間培養した。この培養中脳切片に対して、抗トリプトファンヒドロキシラーゼ (TPH) 抗体および抗チロシンヒドロキシラーゼ (TH) 抗体を用いて免疫染色を行ったところ、縫線核及びその周辺部に多数の TPH 陽性のセロトニン神経が、また黒質付近に TH 陽性ドパミン神経が観察された。この培養中脳切片に対して、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) $[^3\text{H}]$ シタロプラムによる結合実験を行ったところ、特異的な結合が認められた。さらに、選択的セロトニン神経毒 5,7-dihydroxytryptamine (200 μM) を 48 時間処置したところ、細胞内セロトニンおよび

5-HIAA 含有量の顕著な減少、および $[^3\text{H}]$ シタロプラム結合量の減少が見られ、これらの作用はシタロプラムの併用により減弱された。さらに、高濃度 K^+ 刺激およびシタロプラムの処置により、培養上清中に遊離されるセロトニン量の顕著な増加が認められた。これらの結果から、本培養中脳切片中には、機能的な SERT が発現しており、さらに、セロトニン遊離およびセロトニン神経毒性を評価することが可能であることが示された。

そこで、本培養中脳切片に、MDMA あるいは METH (それぞれ 0.1-1000 μM) を 30 分間処置し、細胞外に遊離されるセロトニン量を測定したところ、どちらも濃度依存的なセロトニン遊離促進作用が認められた。一方、5-MeO-DIPT の処置によっては、そのような作用は認められなかった。

次に、MDMA、METH あるいは 5-MeO-DIPT (それぞれ 0.1-1000 μM) を 48 時間培地中に処置し、細胞内セロトニン、5-HIAA 量、および $[^3\text{H}]$ シタロプラム結合量から、セロトニン神経毒性を評価した。その結果、高濃度 (1000 μM) の METH 処置によって、弱いながらもセロトニン神経毒性が惹起されたが、MDMA 処置によっては、有意なセロトニン神経毒性は認められなかった。一方、5-MeO-DIPT の処置により、100 μM の濃度から顕著なセロトニン神経毒性が濃度依存的に見られた。このことから、5-MeO-DIPT は、MDMA や METH とは異なり、セロトニン遊離作用は示さないものの、顕著なセロトニン神経毒性を示すことが明らかとなった。

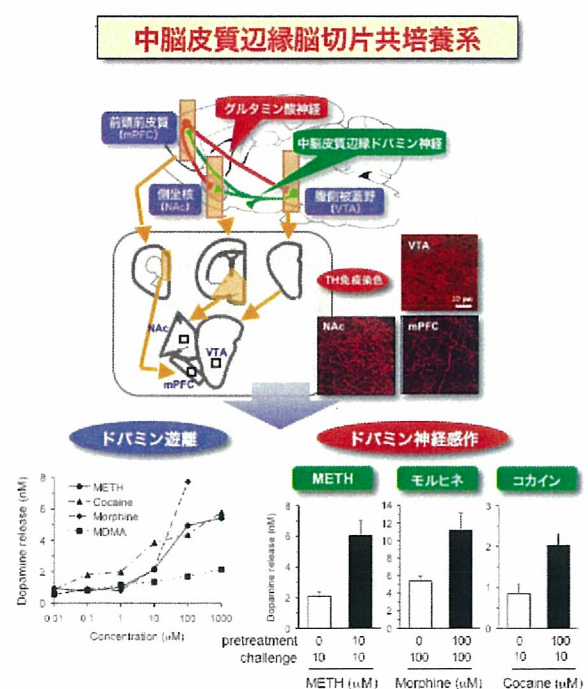
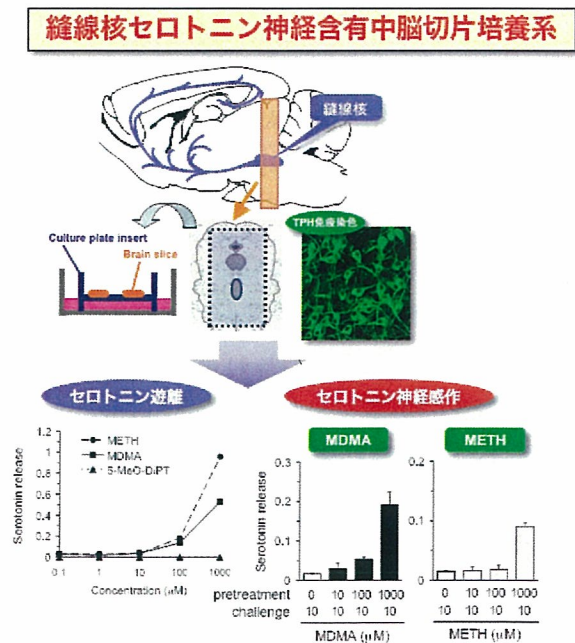
次に、MDMA あるいは METH (それぞれ 1-1000 μM) を 6 日間連続処置し、1 日間の培養 (休業) 後、それぞれ 10 μM の MDMA あるいは METH で 30 分間 challenge し、細胞外に遊離されるセロトニン量を測定した。その結果、セロトニン遊離作用が濃度依存的に増強された。近年、METH やコカインによる行動感作にセロトニン神経系が関与することが報告されているが、本研究結果は、これまで着目されてきた中脳皮質辺縁ドパミン神経系だけでなく、MDMA および METH などの規制薬物の長期処置により、セロトニン神経系も機能亢進される、すなわちセロトニン神経感作が生じることを示すものであると考えられる。

2) 中脳皮質辺縁脳切片共培養系を用いた検討

METH などの行動感作のメカニズムとして、中脳腹側被蓋野 (VTA) から側坐核 (NAc) あるいは内側前頭前皮質 (mPFC) へ投射する中脳皮質辺縁ドパミン神経の過剰促進 (ドパミン神経感作) が重要な役割を果たしており、さらに、このドパミン神経感作には、mPFC から NAc および VTA に投射するグルタミン酸神経による調節が関与していることが知られている。そこで本研究

では、この中脳皮質辺縁ドパミン神経-グルタミン酸神経系を in vitro で再構築するため、VTA、NAc および mPFC を含む 3 枚の切片をそれぞれ隣接させて共培養した。本中脳皮質辺縁脳切片共培養系において、TH 陽性のドパミン神経が VTA から NAc および mPFC に投射している様子が確認できた。また、METH、コカイン、モルヒネあるいは MDMA (それぞれ 0.1-1000 μM) を 30 分間処置することにより、濃度依存的にドパミン遊離が促進されたが、MDMA の作用は他の規制薬物と比較して弱いものであった。さらに、比較的低濃度の METH (10 μM) を 6 日間反復処置すると、METH によるドパミン遊離作用が有意に増強された。このドパミン遊離増強現象は、ドパミン D_1 および D_2 受容体拮抗薬、あるいは NMDA 受容体拮抗薬の同時処置により阻害された。さらに、mPFC を含まない 2 枚の VTA/NAc 共培養切片では認められなかった。これらの結果から、また、このドパミン遊離増強現象は、METH の他、モルヒネおよびコカインの反復処置によっても認められた。

これらの結果は、中脳皮質辺縁脳切片共培養系



を用いることにより、規制薬物反復処置によるドーパミン遊離増強現象、すなわちドーパミン神経感作を *in vitro* で再現したものであり、*in vitro* 薬物依存モデルの構築に初めて成功したと言える。また、このドーパミン神経感作には、mPFC 由来グルタミン酸神経の存在が必須であることを明らかにしたものである。

3) *Xenopus* 卵母細胞発現系を用いた検討

ラット SERT あるいはラットドーパミントランスポーター (DAT) を発現させた *Xenopus* 卵母細胞において、灌流液中にそれぞれの基質であるセロトニン (5-HT) あるいはドーパミン (DA) (それぞれ 0.3-100 μM) を加えたとき、それぞれ濃度依存かつ持続的な内向き電流応答が観察された (K_m 値はそれぞれ $2.1 \pm 0.4 \mu\text{M}$ および $1.9 \pm 0.3 \mu\text{M}$)。この基質流入に伴う内向き電流応答 (基質輸送電流) は、それぞれの阻害薬である paroxetine および GBR12909 (それぞれ 1 μM) 存在下で阻害された。また、細胞外の Na^+ を NMDG $^+$ に置換した条件においては、この電流応答は消失したことから、これらトランスポーターの Na^+ 依存性が確認できた。SERT 発現卵母細胞では、5-HT 以外に DA によっても基質輸送電流が生じたが、ノルエピネフリン (NE) によっては、応答はほとんど認められず (5-HT > DA >> NE)、また DAT 発現細胞においては、DA > NE > 5-HT の順に基質輸送電流が認められた。これらのことから、SERT および DAT の基質選択性はそれほど高くないと考えられる。この SERT あるいは DAT 発現卵母細胞に、MDMA (0.3-100 μM) を適用すると、共に基質輸送電流が認められ、SERT に対しては $4.8 \pm 1.4 \mu\text{M}$ 、DAT に対しては $4.9 \pm 2.1 \mu\text{M}$ の K_m 値であったが、DAT に対する MDMA 輸送電流の最大振幅は DA の約 40% 程度であった。また、これらの応答はそれぞれの阻害薬あるいは Na^+ 不含条件下では消失した。これらの結果から、MDMA は、SERT および DAT

両方によって基質として輸送されうるが、より SERT に選択的であり、DAT による輸送は少ないと考えられる。また、SERT 発現卵母細胞に対して、 $[^3\text{H}]5\text{-HT}$ を用いた取り込み実験を行った結果、MDMA は $[^3\text{H}]5\text{-HT}$ の SERT を介した取り込みを濃度依存的に抑制した。これは基質として MDMA が 5-HT と競合して取り込まれた結果であると考えられる。一方、5-MeO-DIPT (10 μM) の適用によって、DAT に対しては電流応答に何ら変化は認められなかったが、SERT に対しては、外向きの電流応答が観察された。このような外向き電流応答は、SSRI を適用した場合にも認められることから、基質や MDMA とは異なり、5-MeO-DIPT の取り込み阻害作用による SERT の自発活動の抑制に起因しているのではないかと考えられる。実際、5-MeO-DIPT は、 $[^3\text{H}]5\text{-HT}$ の SERT を介した取り込みを濃度依存的に抑制することを確認している。

SERT を介して生じる幾つかの電流応答は、細胞外 pH によって影響を受けること、また、MDMA は脳エネルギー代謝や体温調節の障害から、乳酸濃度を上昇させ、脳内 pH を下げる可能性があることが示唆されている。そこで、酸性条件下における、SERT を介した MDMA による電流応答への影響について検討した。その結果、細胞外溶液の pH を酸性 (pH 7.4 $\rightarrow$ pH 6.4) にすることで、MDMA 輸送電流の感受性は有意に増強されたが、5-HT、DA による応答に変化は見られなかった。一方、過分極パルスに伴う Na^+ 駆動力の増加による Na^+ 漏れ電流 (transient current) は、5-HT、DA および MDMA により濃度依存的に抑制されたが、この抑制作用は pH の変化によっても影響を受けなかった。これらの結果から、酸性条件下においては、MDMA の SERT に対する結合能は変化しないが、5-HT、DA とは異なり、SERT を介した MDMA の輸送能が増強されたと考えられた。

次に、 $[^3\text{H}]5\text{-HT}$ を取り込ませた SERT 発現卵母