

で、2 mM で有意に増加した(Fig. 5B)。4FMP+MDMA の同時暴露では、単独では障害性の低い MDMA (500 μ M-2 mM)は 4FMP (1, 2 mM)でみられる LDH 放出量を著明に増強した(Fig. 5B)。METH 単独暴露では、2 mM 以下では LDH 放出量は不変で、4 mM 以上で増加した(Fig. 5C)。4FMP+METH の同時暴露では、単独では障害性のみられないあるいは軽微な METH (250 μ M-2 mM)は、4FMP (1, 2 mM)でみられる LDH 放出を著明に増強した(Fig. 5C)。

また形態学的には、4FMP 単独では 1 mM までは変化が見られず、2 mM 以上から細胞死が認められた(Figs. 6 & 8)。MDMA 単独では、2 mM 以上の高濃度の暴露で細胞死がみられた。4FMP+MDMA の同時添加では、単独では障害性のみられない MDMA (100, 500 μ M)と単独では障害性の低い 4FMP (2 mM)を併用添加すると、著明な細胞死が惹起された(Fig. 6)。アポトーシスに特徴的な核の形態変化を見るために B65 細胞で Hoechst 染色(核蛍光染色)を行った(Fig. 7)。4FMP 単独添加では、1 mM までは変化が見られず、2 mM 以上から核の凝縮、分葉化といったアポトーシス様の形態変化が認められた。MDMA 単独暴露での細胞死についても、高濃度(2 mM)添加の場合に同様のアポトーシス様の核の形態変化がみられた。単独ではアポトーシス様変化のみられない MDMA (100, 500 μ M)を単独で軽度のアポトーシス様変化がみられる 4FMP (2 mM)と同時暴露すると、アポトーシス様変化がさらに増強された(Fig. 7)。

METH 単独添加での形態学的変化では、4 mM 以上の高濃度の暴露ではじめて明らかな細胞死が認められた。単独では障害性がみられない METH (500 μ M, 1 mM)と単独では障害性が軽微な 4FMP (2 mM)を併用添加すると、著明な細胞死が認められた(Fig. 8)。B65 細胞への 4FMP と METH 添加後の Hoechst 染色での核の形態学的変化についても検討した(Fig. 9)。METH 単独暴露では高濃度(4 mM)でアポトーシス様の形態変化がみられ

た。単独では障害性のみられない METH (500 μ M, 1 mM)を 4FMP (2 mM)と併用すると、著明なアポトーシス様変化が認められた(Fig. 9)。

さらに、B65 細胞内のセロトニン含量の変化についても検討した。形態学的に軽微な細胞障害がみられる 4FMP (1.5 mM)単独添加により、MDMA (500 μ M)、METH (1 mM)添加と同様のセロトニンの著明な減少がみられた(Fig. 10)。しかし、4FMP (1.5 mM)+MDMA (500 μ M)あるいは 4FMP (1.5 mM)+METH (1 mM)では、LDH 放出量が著明に増強するにもかかわらず、セロトニンの減少は増悪しておらず、むしろ軽減されていた(Fig. 10)。

3. ドパミン系培養神経細胞への PMMA 暴露と MDMA、METH 同時添加の効果

ドパミン系 CATH.a 細胞に PMMA を添加したところ、1 mM まで LDH 放出量は不変で、2 mM においてはじめて有意な増加が認められた(Fig. 11A)。CATH.a 細胞に PMMA (0, 1 or 2 mM)+MDMA (0-2 mM)、PMMA (0, 1 or 2 mM)+METH (0-4 mM)を 24 時間暴露し、LDH 放出量を測定した。PMMA+MDMA の同時暴露では、単独では障害性の低い MDMA (500 μ M-1 mM)は PMMA (1, 2 mM)でみられる LDH 放出量の増加を著明に増強した(Fig. 11B)。PMMA+METH の同時暴露においても、単独では障害性のない METH (250 μ M-1 mM)は PMMA (1, 2 mM)でみられる LDH 放出をさらに増強した(Fig. 11C)。

また形態学的には、PMMA 単独では 2 mM 以上ではじめて細胞死が認められた(Figs. 12 & 13)。PMMA+MDMA の同時添加では、単独では障害性のみられない MDMA (100, 500 μ M)と単独では障害の軽微な PMMA (2 mM)を併用添加すると、著明な細胞死が惹起された(Fig. 12)。単独では障害性がみられないあるいは軽微な METH (500 μ M, 1 mM)と単独では障害性のみられない PMMA (1 mM)を併用添加すると、著明な細胞死が認められた(Fig. 13)。

CATH.a 細胞内のモノアミンおよびその代謝産物含量の変化については、形態学的には軽微な細胞障害がみられる PMMA (1.5 mM) 単独添加により、MDMA (500 μ M)、METH (1 mM) 添加と同様のドパミン、DOPAC の著明な減少がみられた(Fig. 14)。しかし、PMMA (1.5 mM)+MDMA (500 μ M)あるいは PMMA (1.5 mM)+METH (1 mM)の同時添加では、LDH 放出量の著明な増強が認められたにもかかわらず、ドパミン、DOPAC の減少は増悪しなかった(Fig. 14)。

4. モノアミン系セロトニン含有神経細胞への PMMA 暴露と MDMA、METH 同時添加の効果

セロトニン含有 B65 細胞に PMMA を添加したところ、1 mM まで LDH 放出量は不変で、2 mM においてはじめて有意な増加が認められた(Fig. 15A)。B65 細胞に PMMA (0, 1 or 2 mM)+MDMA (0-2 mM)、PMMA (0, 1 or 2 mM)+METH (0-4 mM)を 24 時間暴露し、LDH 放出量を測定した。PMMA+MDMA の同時暴露では、単独では障害性の低い MDMA (500 μ M-2 mM)は PMMA (1, 2 mM)でみられる LDH 放出量を著明に増強した(Fig. 15B)。PMMA+METH の同時暴露では、単独では障害性のみられない METH (250 μ M-2 mM)は、PMMA (1, 2 mM)でみられる LDH 放出を著明に増強した(Fig. 15C)。

また形態学的変化については、PMMA 単独では 1 mM まで変化が見られず、2 mM 以上から細胞死が認められた(Figs. 16 & 18)。PMMA+MDMA の同時添加では、単独では障害性のみられない MDMA (500, 1 mM)と単独では障害性の低い PMMA (2 mM)を併用添加すると、著明な細胞死が惹起された(Fig. 16)。さらに、アポトーシス様の核の形態変化についても、PMMA 単独添加では、1 mM まで変化が見られず、2 mM 以上から核の凝縮、分葉化といったアポトーシス様の形態変化が認められた。単独ではアポトーシス様変化のみられない MDMA (500, 1 mM)を単

独で軽度のアポトーシス様変化がみられる PMMA (2 mM)と同時暴露すると、アポトーシス様変化がさらに増強された(Fig. 17)。

PMMA と METH の併用添加による形態学的変化については、単独では障害性がみられない METH (1, 2 mM)と単独では障害性が軽微な PMMA (2 mM)を同時暴露により、著明な細胞死が認められた(Fig. 18)。また、核染色によるアポトーシス様変化についても同様の PMMA と METH 併用による増悪効果が認められた(Fig. 19)。

また、PMMA 添加による B65 細胞内のセロトニン含量の変化についても検討した。CATH.a 細胞での単独添加によるドパミンの減少と異なり、形態学的に有意な細胞障害がみられる PMMA (2 mM)添加によってもセロトニン含量には変化がみられなかった。MDMA (1 mM)、METH (2 mM)添加と同様のセロトニンの著明な減少がみられた(Fig. 20)。また、PMMA (2 mM)+METH (2 mM)の同時添加では、LDH 放出量の著明な増悪がみられるにもかかわらず、METH によるセロトニン含量の低下には影響しなかった(Fig. 20)。PMMA (2 mM)+MDMA (1 mM)のセロトニン含量は、著明な細胞死が惹起されサンプル量が少ないため、検出限界以下であった。

D. 考察

覚せい剤に構造が酷似しているフェネチルアミン系違法ドラッグである 4FMP, PMMA のドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞ならびにモノアミン系セロトニン含有神経細胞 B65 細胞への添加ならびに MDMA あるいは METH 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。

4FMP, PMMA の単独暴露によりドパミン系神経細胞ならびにモノアミン系セロトニン含有神経細胞のいずれの細胞においても 1-2 mM 以上ではじめて細胞死が惹起された(IC50: 1 mM 以上)。この単独添加による細胞毒性は規制薬物である METH, MDMA やメチ

ロン³⁾の毒性(IC₅₀: 1-2 mM以上)とほぼ同等であった。われわれは、昨年度同じフェネチルアミン系違法ドラッグの「2CT シリーズ」2CT-7, 2CT-4, 2CT-2, 2CI が、単独ではるかに低濃度(IC₅₀: 100-250 μM)で、両細胞に対して強い細胞毒性を示すことを明らかにしたが⁴⁾、4FMP, PMMA の単独暴露による障害性はそれら「2CT シリーズ」に比べ軽度であった。

しかし、ドパミン系神経細胞ならびにセロトニン含有神経細胞において、単独では障害性のみられない濃度の4FMPあるいはPMMAと、単独では障害性の低いあるいは認められない濃度のMDMA (100 μM-2 mM)あるいはMETH (250 μM-2 mM)を併用暴露すると、著明なLDH 放出量の増加ならびにアポトーシス様の形態変化を伴う細胞死が認められた。これらの結果より、4FMP, PMMA は、単独では障害性のない濃度であっても、非障害性の低濃度のMDMA もしくはMETH と同時に乱用することより、ドパミン系神経細胞ならびにモノアミン系セロトニン含有神経細胞に対して強い細胞毒性を惹起しうると考えられる。

さらに本検討では、4FMP, PMMA 添加による細胞内モノアミン含量の変化を検討し、多くのモノアミン神経作動性の違法ドラッグで認められるモノアミン酸化酵素阻害活性と神経細胞毒性との相関の有無について評価した。4FMP 単独添加は、ドパミン系神経細胞、セロトニン含有神経細胞のいずれにおいても、MDMA, METH と同様にドパミン、セロトニン含量を低下させたが、MDMA, METH との併用暴露による著明な細胞障害の発現と異なり、ドパミン、セロトニン含量の低下に対する増悪作用はみられなかった。また、PMMA 単独添加はドパミン系神経細胞ではドパミン含量を低下させるが、セロトニン含有神経細胞でのセロトニン量に影響しなかった。METH によるドパミン、セロトニン含量の低下に対する増悪作用はみられなかった。

以上のことから、細胞内モノアミン含量の変化と細胞障害の程度が相関しておらず、モノアミン酸化酵素阻害活性に代表される違法

ドラッグのモノアミン量への作用だけでは、これらの乱用薬物の神経毒性を推し量ることができないと言える。したがって、違法ドラッグの構造修飾と神経毒性の相関の評価するためには、ドパミン系およびセロトニン系培養神経細胞を用いた添加実験が必要であると考えられる。

E. 結論

フェネチルアミン系違法ドラッグの4FMP, PMMA は、単独ではドパミン系神経細胞ならびにモノアミン系セロトニン含有神経細胞に対して障害性は低いものの、非・低障害性の低濃度のMDMA もしくはMETH との同時併用により、著しい細胞毒性を惹起することを明らかにできた。これらの結果から、4FMP, PMMA は、特にMDMA もしくはMETH との同時乱用を行った場合に、強いドパミンおよび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。また、細胞内モノアミン含量の変化と細胞障害の程度が相関しないことから、モノアミン酸化酵素阻害活性に代表されるモノアミン量への作用だけでは、これらの乱用薬物の神経毒性を測ることができないことも明らかになった。したがって、違法ドラッグの構造修飾と神経毒性の相関の評価において培養神経細胞を用いた添加実験が有用であることを改めて確認できた。

F. 参考文献

- 1) 浅沼幹人, 宮崎育子: MDMA および5-MeO-DIPT の神経毒性発現に関する研究. 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). P15-24, 2004.
- 2) 浅沼幹人, 宮崎育子: 植物由来催幻覚成分の神経細胞毒性発現に関する研究. 平成

16 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）「植物由来催幻覚成分の薬物依存性および細胞毒性の評価」研究報告書（主任研究者：船田正彦）. P21-42, 2005.

- 3) 浅沼幹人, 宮崎育子: 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. 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」研究報告書（主任研究者：船田正彦）. P22-33, 2006.
- 4) 浅沼幹人, 宮崎育子: 違法ドラッグの薬物依存形成メカニズムとその乱用実態把握に関する研究. 平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）「違法ドラッグの薬物依存形成メカニズムとその乱用実態把握に関する研究」研究報告書（主任研究者：船田正彦）. P30-65, 2007.

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Asanuma, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., Diaz-Corrales, F.J., Shimizu, M., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Suppression of p53-activated gene, PAG608, attenuates methamphetamine-induced neurotoxicity. *Neurosci. Lett.*, 414: 263-267, 2007.
- ② Sogawa, C., Sogawa, N., Tagawa, J., Fujino, A., Ohyama, K., Asanuma, M., Funada, M., Kitayama, S.: 5-Methoxy-N, N-diisopropyltryptamine (Foxy), a selective and high affinity inhibitor of serotonin transporter. *Toxicol. Lett.*, 170: 75-82, 2007.
- ③ Miyazaki, I., Asanuma, M., Hozumi, H., Miyoshi, K. and Sogawa, N.: Protective effects of metallothionein against dopamine quinone-induced dopaminergic neurotoxicity. *FEBS. Lett.*, 581: 5003-5008, 2007.
- ④ Asanuma, M. and Miyazaki, I.: Common anti-inflammatory drugs are potentially therapeutic for Parkinson's disease? *Exp. Neurol.*, 206: 172-178, 2007.
- ⑤ Asanuma, M., Miyazaki, I., Diaz-Corrales, F.J., Miyoshi, K., Ogawa, N. and Murata, M.: Preventing effects of a novel anti-parkinsonian agent zonisamide on dopamine quinone formation. *Neurosci. Res.*, 60: 106-113, 2008.
- ⑥ Narimatsu, S., Yonemoto, R., Masuda, K., Katsu, T., Asanuma, M., Kamata, T., Katagi, M., Tsuchihashi, H., Kumamoto, T., Ishikawa, T., Naito, S., Yamano, S. and Hanioka, N.: Oxidation of 5-methoxy-N, N-diisopropyltryptamine in rat liver microsomes and recombinant cytochrome P450 enzymes. *Biochem. Pharmacol.*, 75: 752-760, 2008.
- ⑦ Hozumi, H., Asanuma, M., Miyazaki, I., Fukuoka, S., Kikkawa, Y., Kimoto, N., Kitamura, Y., Sendo, T., Kita, T. and Gomita, Y.: Protective effects of interferon-gamma against methamphetamine-induced neurotoxicity. *Toxicol. Lett.*, 177: 123-129, 2008.
- ⑧ Narimatsu, S., Kiryu, K., Yonemoto, R., Yoshino, M., Kobatake, M., Kazamori, D., Hagino, S., Masuda, K., Katsu, T., Asanuma, M., Kumamoto, T., Ishikawa, T., Funae, Y., Yamano, S., Hanioka, N. and Naito, S.: The roles of amino acid residues at positions 216 and 219 in the structural stability and metabolic functions of rat cytochrome P450 2D1 and 2D2. *Chem.-Biol. Interact.*, in press.
- ⑨ Shimizu, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., Eslava-Alva, M.J., Diaz-Corrales, F.J., Asanuma, M. and Ogawa, N.: Specific induction of PAG608 in cranial and spinal

motor neurons of L-DOPA-treated parkinsonian rats. *Neurosci. Res.*, in press.

- ⑩ Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Dopaminergic neuron-specific oxidative stress caused by dopamine itself. *Acta Med. Okayama*, in press.
- ⑪ Asanuma, M. and Miyazaki, I.: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental parkinsonian models and Parkinson's disease. *Curr. Pharm. Design*, in press.

2. 学会等発表

- ① 浅沼幹人, 宮崎育子, 穂積宏彰, 十川紀夫: パーキンソン病モデル線条体での L-DOPA 誘発キノン体生成とシステイン基含有分子. 第 48 回日本神経学会総会, 名古屋, 2007, 5, 17.
- ② 浅沼幹人, 宮崎育子: p53 関連因子 PAG608 の L-DOPA 投与パーキンソン病モデルの運動ニューロンでの特異的発現. 第 34 回日本脳科学会, 出雲, 2007, 6, 8.
- ③ 宮崎育子, 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神経障害に対するメタロチオネインの作用. 第 34 回日本脳科学会, 出雲, 2007, 6, 8.
- ④ 宮崎育子, 穂積宏彰, 三好 耕, 浅沼幹人: ドパミンキノン神経毒性におけるグリアでのグルタチオン合成関連分子の変化. 第 29 回日本生物学的精神医学会・第 37 回日本神経精神薬理学会, 札幌, 2007, 7, 12.
- ⑤ 穂積宏彰, 宮崎育子, 喜多大三, 北村佳久, 千堂年昭, 五味田裕, 浅沼幹人: メタンフェタミン神経毒性に関与する炎症・免疫関連分子の網羅的検索. 第 29 回日本生物学的精神医学会・第 37 回日本神経精神薬理学会, 札幌, 2007, 7, 12.
- ⑥ 竹島美香, 田中弓子, 宮崎育子, 浅沼幹人, 喜多大三: ビスフェノール A の培養モノアミン神経系への作用. 第 29 回日本生物学的精神医学会・第 37 回日本神経精神薬理学会, 札幌, 2007, 7, 12.
- ⑦ 三好 耕, 宮崎育子, 浅沼幹人: 神経細胞 1 次繊毛の生物学的意義の検討. 第 29 回日本生物学的精神医学会・第 37 回日本神経精神薬理学会, 札幌, 2007, 7, 12.
- ⑧ 三好 耕, 宮崎育子, 浅沼幹人: Pericentrin 変異マウスを用いた神経細胞 1 次繊毛の機能解析. *Neuro 2007* (第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 合同学会), 横浜, 2007, 9, 10.
- ⑨ 宮崎育子, 穂積宏彰, 三好 耕, 浅沼幹人: ドパミンキノン神経毒性におけるグルタチオン合成関連分子のグリアでの変化. *Neuro 2007* (第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 合同学会), 横浜, 2007, 9, 12.
- ⑩ 浅沼幹人, 宮崎育子, 三好 耕, 穂積宏彰, 十川紀夫: ドパミンキノン誘発神経障害に対するメタロチオネインの保護効果. *Neuro 2007* (第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 合同学会), 横浜, 2007, 9, 12.
- ⑪ 浅沼幹人, 宮崎育子, 三好 耕, 穂積宏彰, 十川紀夫: システイン基含有分子としてのメタロチオネインのドパミンキノン誘発神経障害に対する保護効果. メタロチオネインおよびメタルバイオサイエンス研究会 2007, 徳島, 2007, 9, 28-29.
- ⑫ Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Glutathione-increasing mechanism of a novel anti-parkinsonian agent zonisamide in the basal ganglia. 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, 2007, 11.4.
- ⑬ Asanuma, M. and Miyazaki, I.: Protective effects of a novel anti-parkinsonian agent zonisamide on dopamine quinone-related

neurotoxicity. 37th Annual Meeting of
Society for Neuroscience, San Diego, 2007,
11.4.

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

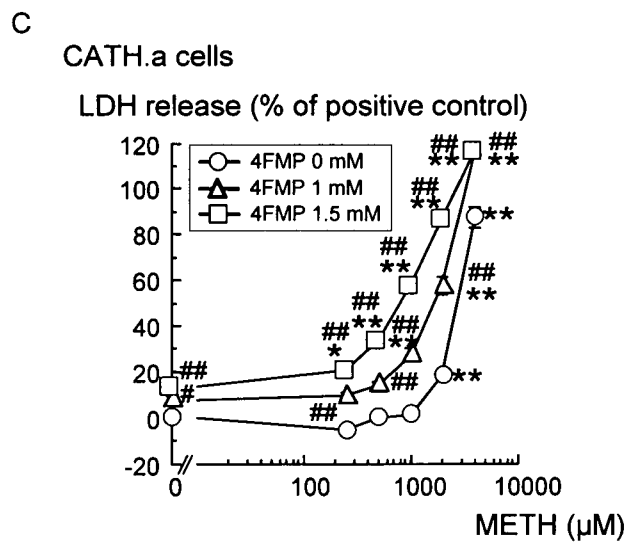
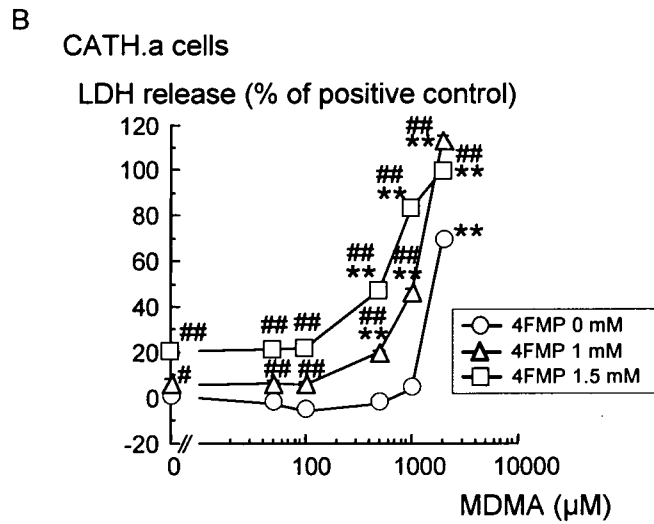
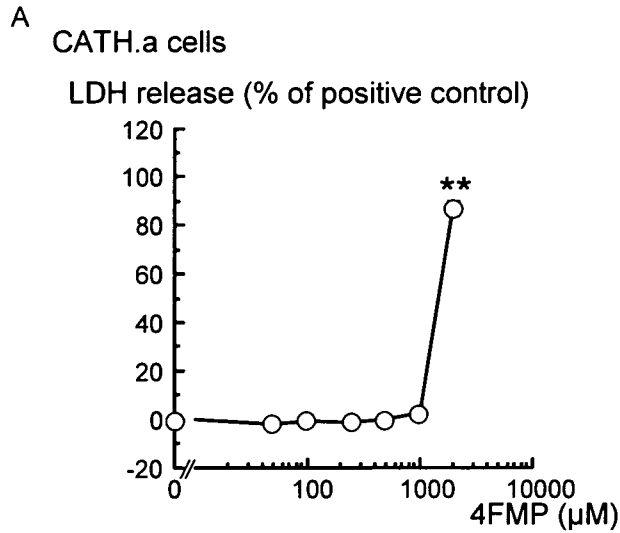


Fig. 1. Changes in released LDH from dopaminergic CATH.a cells after exposure to 4FMP (A), 4FMP+MDMA (B) or 4FMP+METH (C) for 24 hours. Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ vs. each control group without MDMA or METH. # $p < 0.05$, ## $p < 0.001$ vs. MDMA/METH-dose-matched control group without 4FMP.

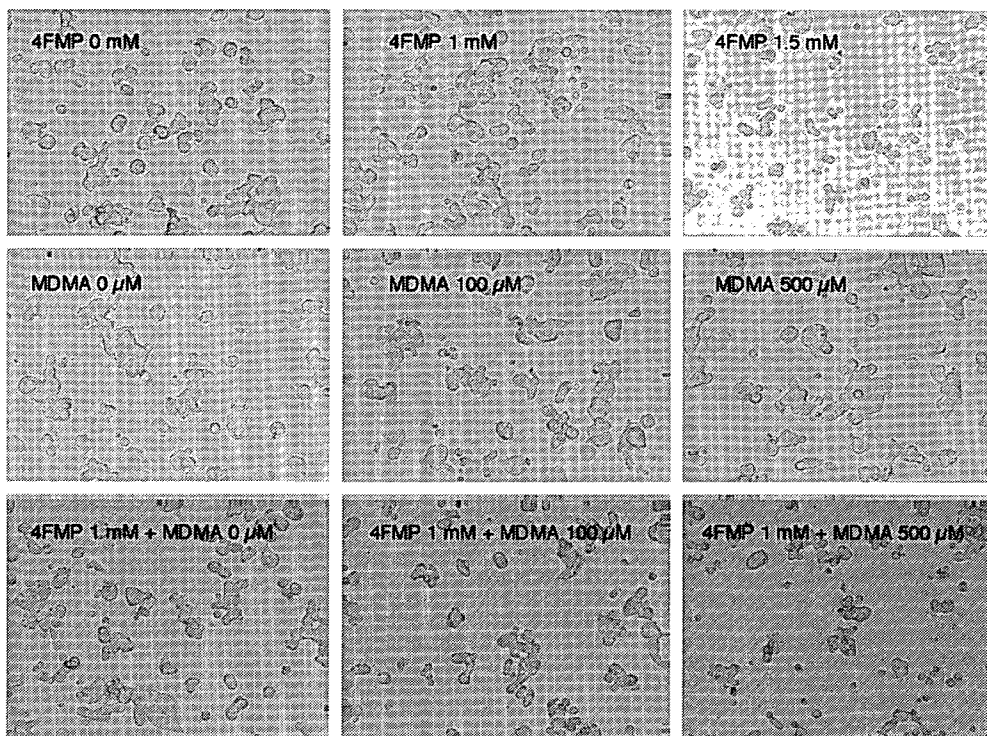


Fig. 2. Photographs of CATH.a cells treated with 4FMP and/or MDMA (final concentration: 0, 100 μ M, 500 μ M) for 24 hours.

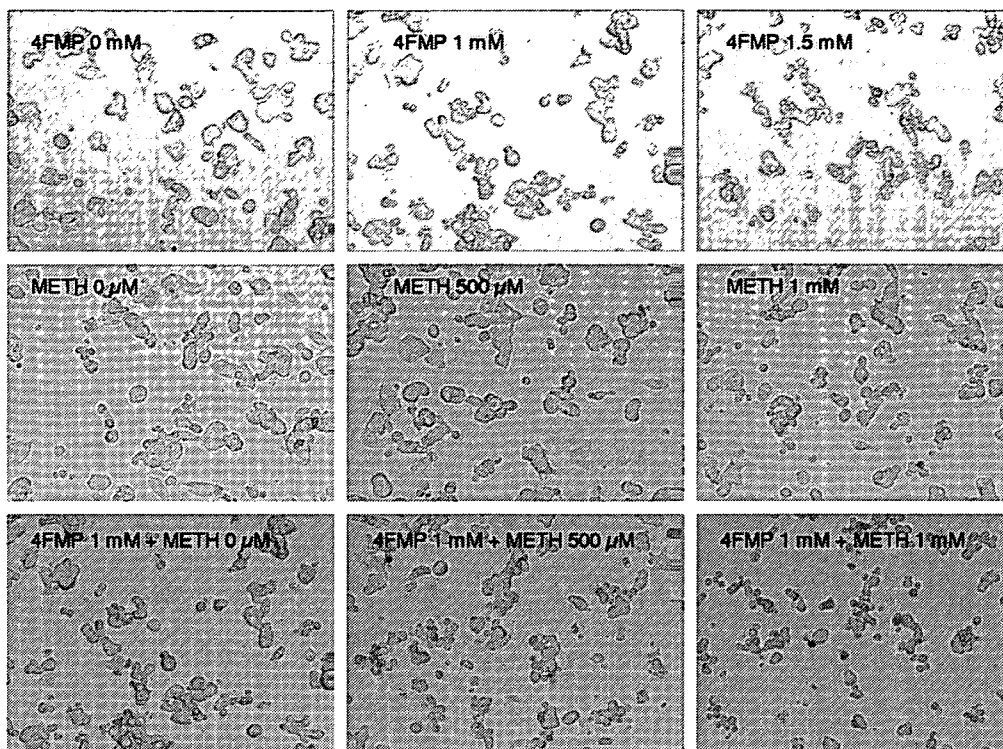


Fig. 3. Photographs of CATH.a cells treated with 4FMP and/or METH (final concentration: 0, 500 μM, 1 mM) for 24 hours.

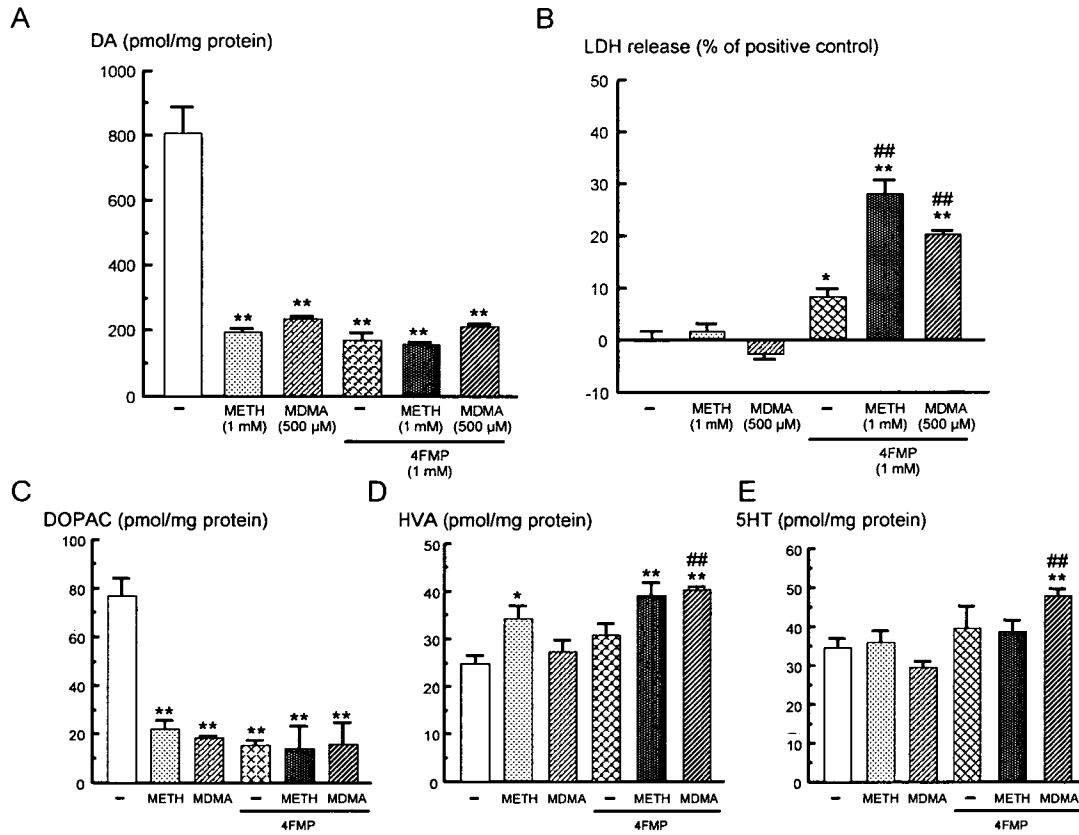
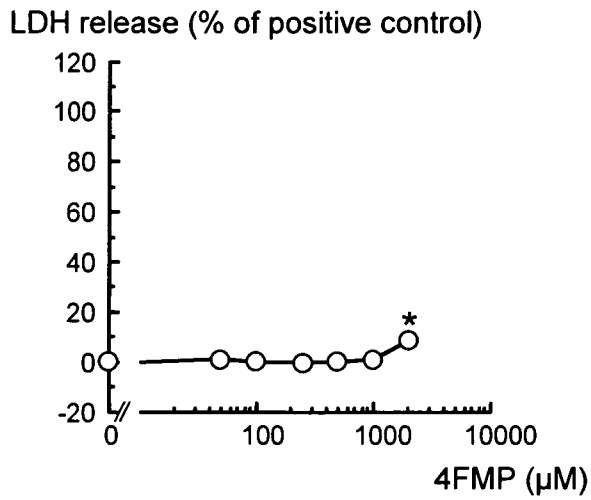
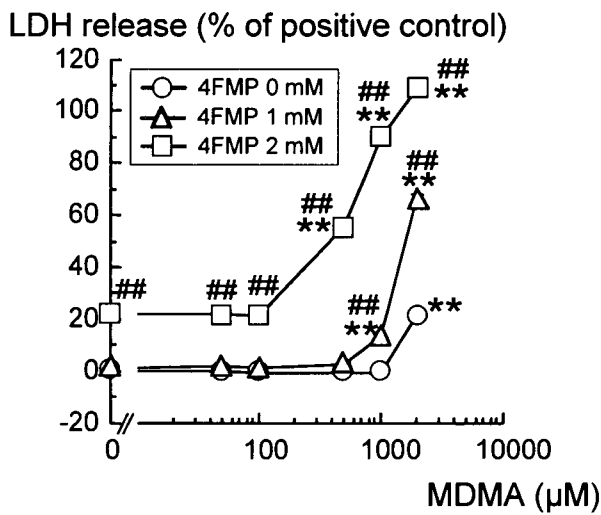


Fig. 4. Changes in the levels of DA (A), DOPAC (C), HVA (D) and 5HT (E) (pmol/mg protein) and cytotoxicity (B) in dopaminergic CATH.a cells after exposure to 4FMP, 4FMP+MDMA or 4FMP+METH for 24 hours. Each value mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. control group. ## $p < 0.01$ vs. MDMA/METH-dose-matched control group without 4FMP.

A B65 cells



B B65 cells



C B65 cells

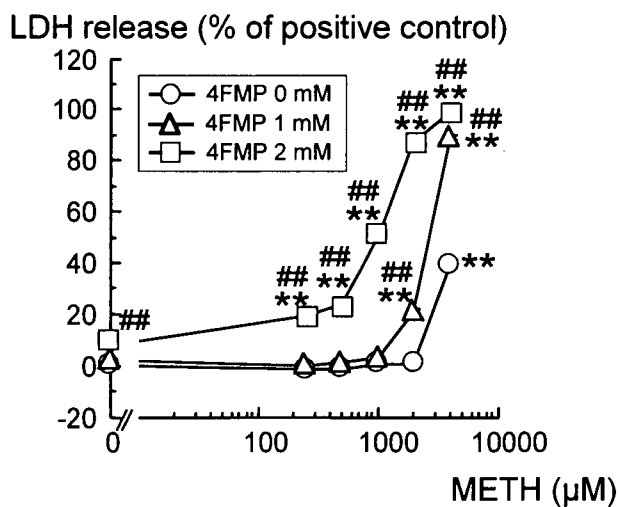


Fig. 5. Changes in released LDH from dopaminergic B65 cells after exposure to 4FMP (A), 4FMP+MDMA (B) or 4FMP+METH (C) for 24 hours. Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ vs. each control group without MDMA or METH. ## $p < 0.001$ vs. MDMA/METH-dose-matched control group without 4FMP.

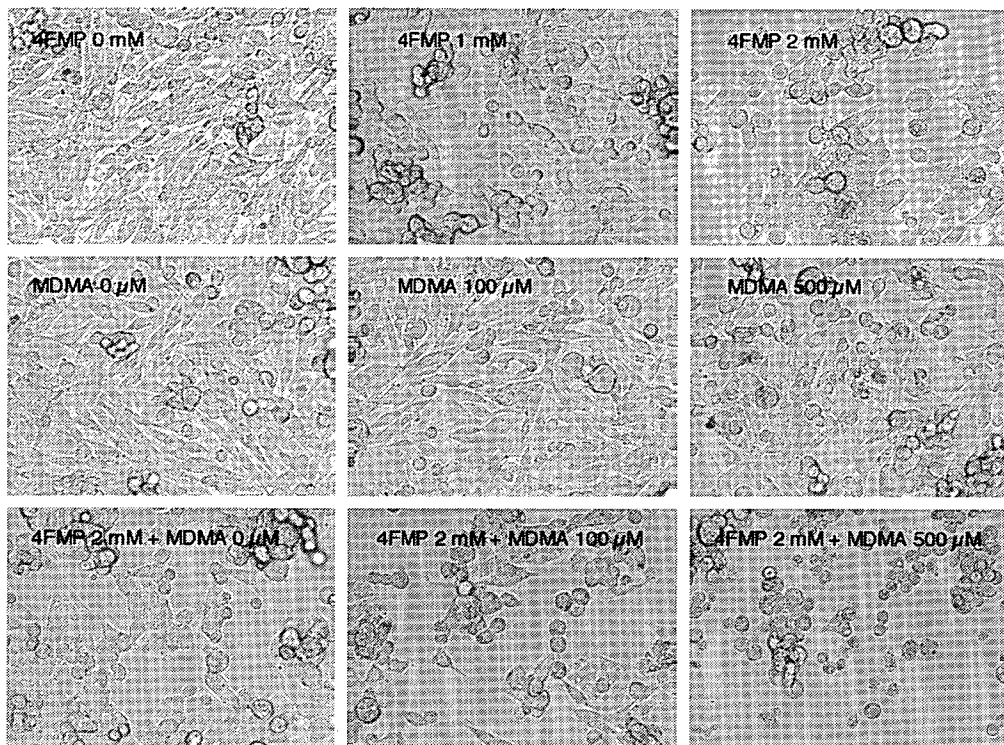


Fig. 6. Photographs of B65 cells treated with 4FMP and/or MDMA (final concentration: 0, 100 μ M, 500 μ M) for 24 hours.

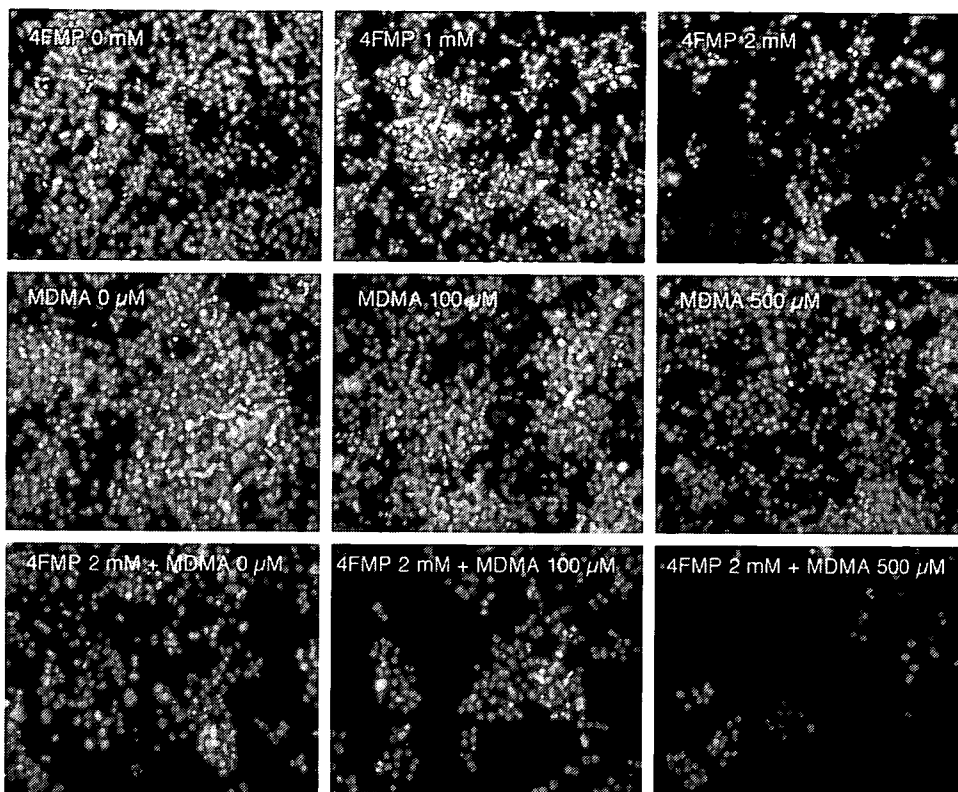


Fig. 7. Nuclear staining of B65 cells treated with 4FMP and/or MDMA (final concentration: 0, 100 μ M, 500 μ M) for 24 hours. Nuclei were visualized by incubation with Hoechst33342 dye.

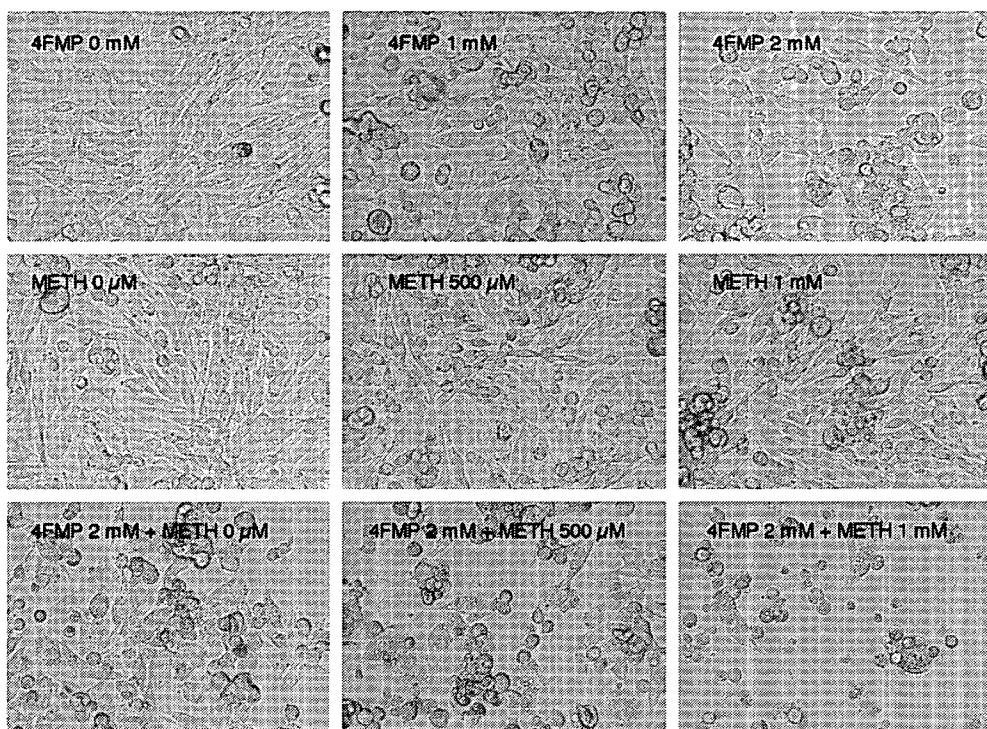


Fig. 8. Photographs of B65 cells treated with 4FMP and/or METH (final concentration: 0, 500 μM, 1 mM) for 24 hours.

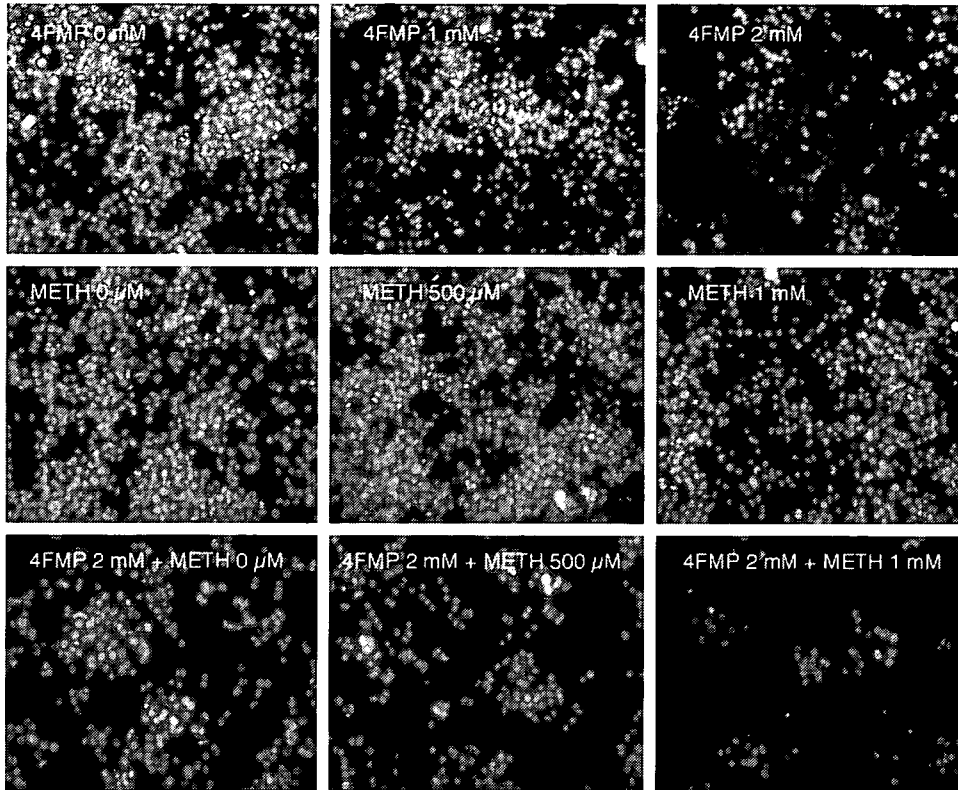


Fig. 9. Nuclear staining of B65 cells treated with 4FMP and/or METH (final concentration: 0, 500 μ M, 1 mM) for 24 hours. Nuclei were visualized by incubation with Hoechst33342 dye.

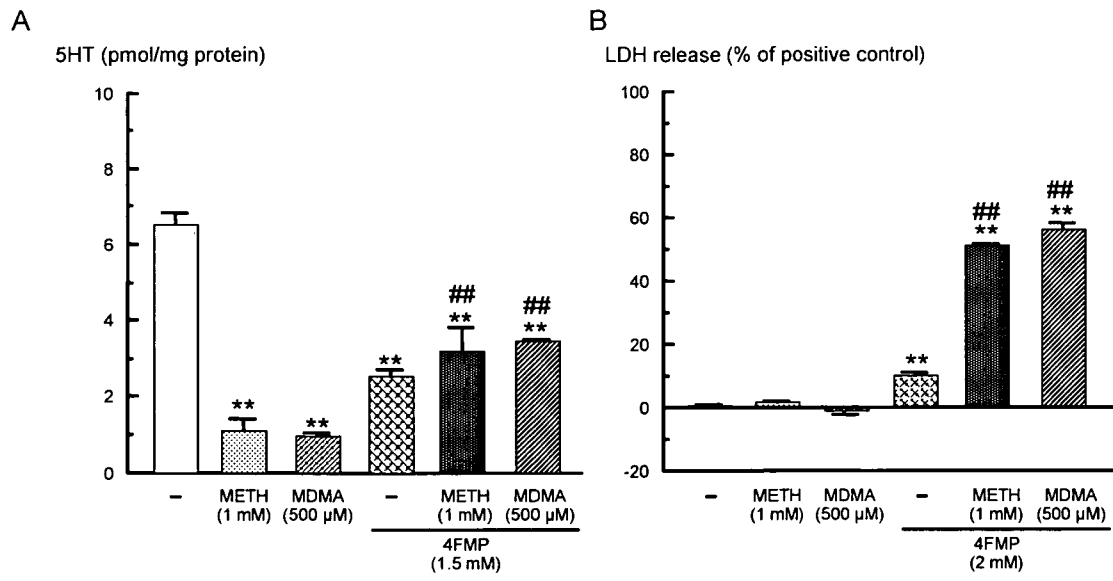
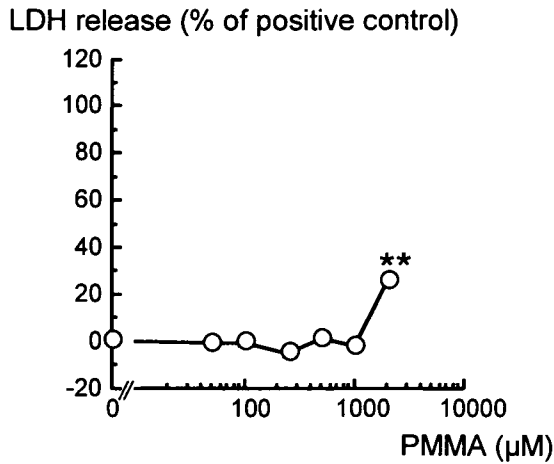
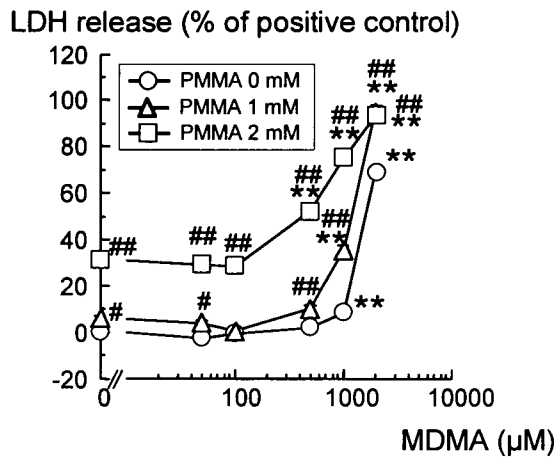


Fig. 10. Changes in the levels of 5HT (pmol/mg protein) (A) and cytotoxicity (B) in dopaminergic B65 cells after exposure to 4FMP, 4FMP+MDMA or 4FMP+METH for 24 hours. Each value mean \pm SEM. ** p <0.01 vs. control group. ## p <0.01 vs. MDMA/METH-dose-matched control group without 4FMP.

A CATH.a cells



B CATH.a cells



C CATH.a cells

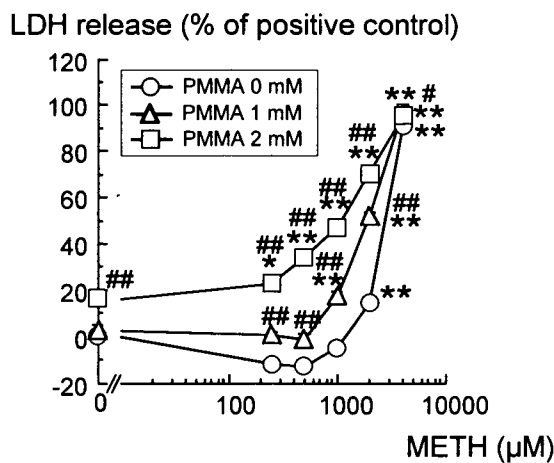


Fig. 11. Changes in released LDH from dopaminergic CATH.a cells after exposure to PMMA (A), PMMA+MDMA (B) or PMMA+METH (C) for 24 hours. Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ vs. each control group without MDMA or METH. # $p < 0.05$, ## $p < 0.001$ vs. MDMA/METH-dose-matched control group without PMMA.

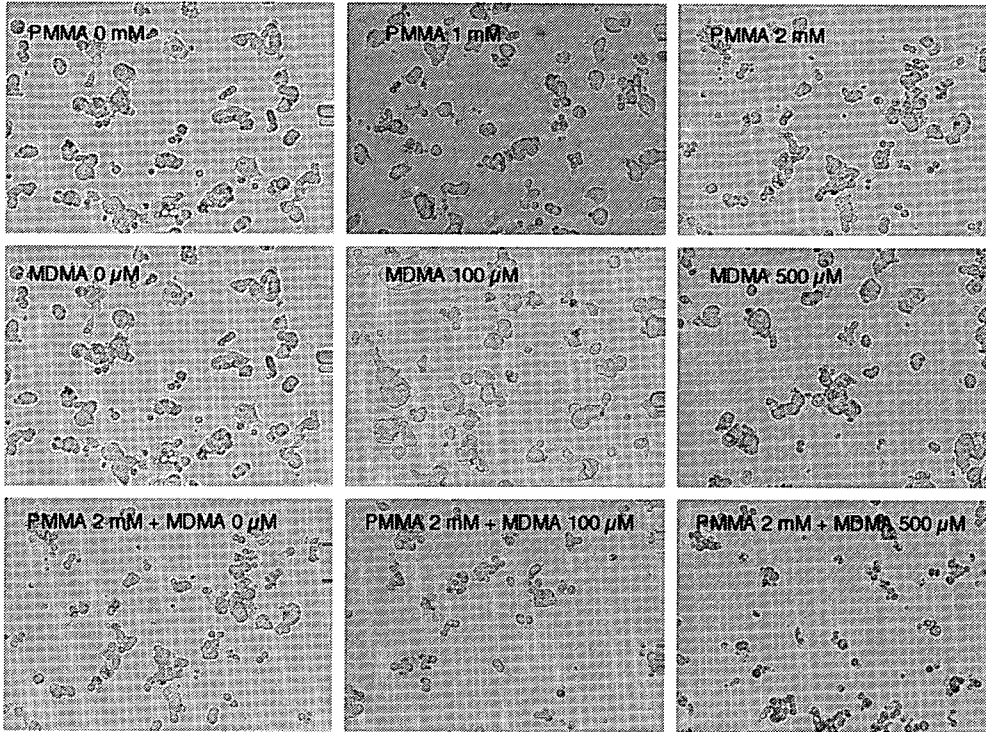


Fig. 12. Photographs of CATH.a cells treated with PMMA and/or MDMA (final concentration: 0, 100 μ M, 500 μ M) for 24 hours.

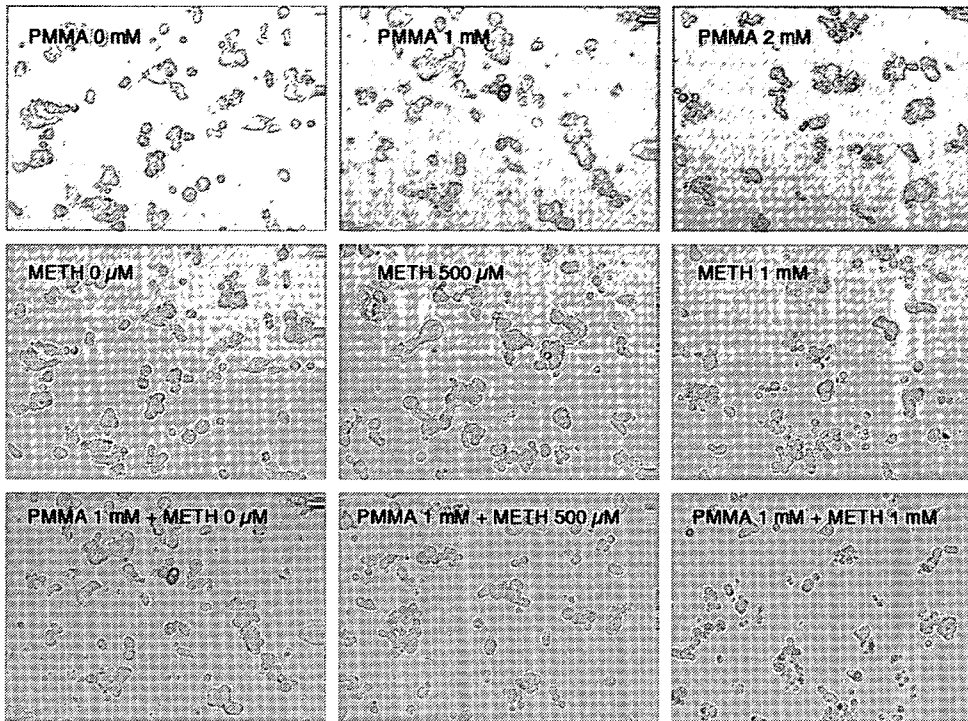


Fig. 13. Photographs of CATH.a cells treated with PMMA and/or METH (final concentration: 0, 500 μ M, 1 mM) for 24 hours.

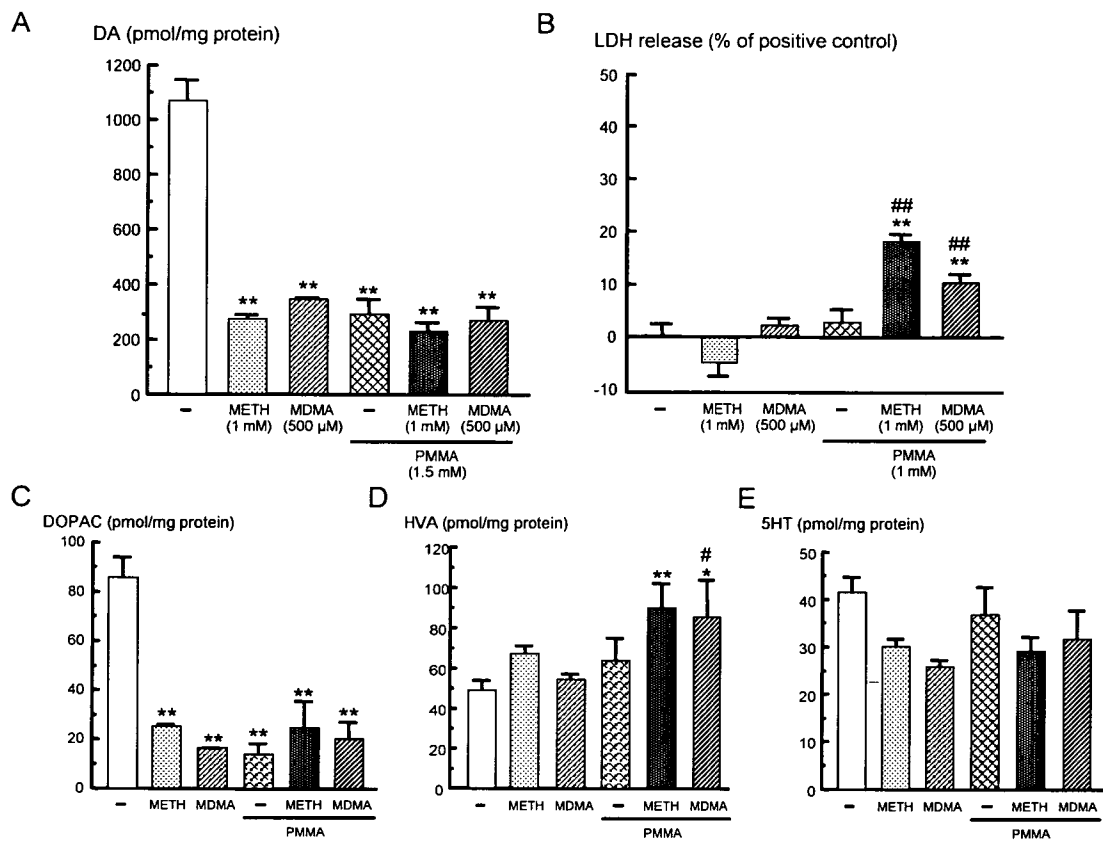


Fig. 14. Changes in the levels of DA (A), DOPAC (C), HVA (D) and 5HT (E) (pmol/mg protein) and cytotoxicity (B) in dopaminergic CATH.a cells after exposure to PMMA, PMMA+MDMA or PMMA+METH for 24 hours. Each value mean \pm SEM. * p <0.05, ** p <0.01 vs. control group. # p <0.05, ## p <0.01 vs. MDMA/METH-dose-matched control group without PMMA.