

Fig. 7. Results of generalization test in mice ($n=12$) trained to discriminate MDMA (3.0 mg/kg) from saline vehicle (upper panel). Mean (\pm SEM) percent drug-appropriate responding following administration of various doses 1-PP (3.0 mg/kg), 2-CPP (3.0 mg/kg), 4-CPP (3.0 mg/kg), 4-MPP (3.0 mg/kg). The animal's response rates are shown in the lower panel.

分担研究報告書

違法ドラッグの構造修飾と神経毒性発現の相関に関する研究

研究分担者：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 准教授）
研究協力者：宮崎育子（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）

【研究要旨】

研究目的：覚せい剤に構造が類似しているピペラジン系違法ドラッグである phenylpiperazine (PP), 1-(2-chlorophenyl)-piperazine (2CPP), 1-(4-chlorophenyl)-piperazine (4CPP), 1-(4-methoxyphenyl)-piperazine (4MPP)の神経毒性の有無を明らかにする目的で、これら薬剤のドパミン系培養神経細胞 CATH.a 細胞とモノアミン系セロトニン含有培養神経細胞 B65 細胞への添加を行い、神経細胞毒性ならびに形態学的変化を評価した。また、活性酸素種に対する蛍光指示薬を用いて、ミトコンドリアならびに細胞質における活性酸素種生成についても検討した。さらに、抗酸化機構として重要なアストロサイトへの作用の有無を評価するために、アストロサイト細胞株 C6 細胞へのこれら薬剤の添加実験も行った。**結果：**PP の 24 時間暴露では CATH.a 細胞ならびに B65 細胞のいずれの細胞においても 2 mM 以上ではじめて細胞死が惹起された。この単独添加による細胞毒性は規制薬物である METH, MDMA やメチロンないしはフェネチルアミン系違法ドラッグ 4FMP, PMMA の毒性 (IC₅₀: 1-2 mM 以上)とほぼ同等であった。2CPP,4CPP,4MPP の 24 時間暴露ではいずれの細胞においても 250 μM-500 μM において著明な細胞死が惹起された。細胞障害性は 4CPP (IC₅₀: 250-500 μM) > 2CPP (IC₅₀: 500 μM) > 4MPP の順に強かった。さらに暴露 3 時間後の早期においても、2CPP,4CPP 暴露では形態変化がみられ、さらに形態変化が認められない低濃度においても細胞内、とくにミトコンドリアでの活性酸素種の生成亢進が認められた。いずれの薬物もアストロサイト細胞株 C6 細胞に対して神経細胞に対する毒性と同程度の細胞毒性を発揮していた。**結論：**ピペラジン系違法ドラッグ PP, 2CPP,4CPP,4MPP 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、細胞内、とくにミトコンドリアでの活性酸素種の生成を伴う神経障害および細胞死を惹起することを明らかにした。また、神経保護の面において重要であるアストロサイトに対しても同程度の細胞毒性を引き起こすことを明らかにした。これらの結果から、PP, 2CPP,4CPP,4MPP は、神経細胞にとって極めて毒性の強い薬物と考えられる。さらに、本検討で用いた蛍光指示薬による活性酸素種生成の検出法は、迅速かつ感度良く、しかも定量的に細胞毒性を評価できる評価法であり、乱用薬物の神経障害性の評価に有用であると考えられる。

A. 研究目的

これまでに、違法ドラッグ(脱法ドラッグ)として乱用が社会問題となっている 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5MeO-

DIPT)および植物由来の違法ドラッグ(ハルマラ)の催幻覚成分である harmaline および harmine のモノアミン(ドパミン、セロトニン)神経毒性について検討し、これらの薬剤が比較的低濃度でアポトーシス様細胞死を惹

起しうること、さらに合成麻薬 MDMA および覚せい剤メタンフェタミン(METH)との同時併用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を明らかにした¹⁾。²⁾さらに、MDMA の構造類似体のメチロン(平成 19 年 2 月麻薬指定)が単独暴露では強い毒性は示さないものの、MDMA もしくは METH との同時乱用では強いセロトニン神経毒性をもたらすことを明らかにした³⁾。

また、一昨年度は「2C シリーズ」と称されるフェネチルアミン系の違法ドラッグ 2,5-dimethoxy-4-propylthiophenethylamine (2C-T-7:平成 18 年 4 月麻薬指定)、2,5-dimethoxy-4-isopropylthiophenethylamine (2C-T-4:平成 20 年 1 月麻薬指定)、2,5-dimethoxy-4-ethylthiophenethylamine (2C-T-2:平成 20 年 1 月麻薬指定)、2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2CI:平成 20 年 1 月麻薬指定)が、単独で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おいて、規制薬物の MDMA、メチロンや METH よりもはるかに強い神経毒性を示すこと、さらにセロトニン系神経細胞においては、低濃度の MDMA もしくは METH との同時併用により、2C-T-7, 2C-T-4, 2C-T-2, 2CI のアポトーシス様の細胞死が相乗的に増強されることを明らかにした⁴⁾。昨年度は、覚せい剤アンフェタミン、METH 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 4-fluoroamphetamine (4FMP:平成 19 年 4 月より指定薬物)、4-methoxymethamphetamine (PMMA:平成 19 年 4 月より指定薬物)が、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 との同時併用により、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に対して強い細胞毒性を惹起することを明らかにした⁵⁾。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、

さらに乱用薬物の神経毒性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示した。

違法ドラッグ(脱法ドラッグ)はその構造が規制薬物に類似しており、規制薬物に指定されても次々に別の類似構造をもつ化学物質が乱用されていることから、違法ドラッグ(脱法ドラッグ)および規制薬物の構造修飾による神経毒性変化を検討することにより、特定の構造と神経毒性の相関を明らかにし、薬物乱用の危険性および神経毒性を予測することが急務となっている。

覚せい剤アンフェタミン、METH に構造が類似しているピペラジン系違法ドラッグである phenylpiperazine (PP), 1-(2-chlorophenyl)-piperazine (2CPP), 1-(4-chlorophenyl)-piperazine (4CPP), 1-(4-methoxyphenyl)-piperazine (4MPP) は、最近広く流通し、乱用されている。4MPP は、平成 19 年 4 月より「指定薬物」に指定されたが、これらのピペラジン系違法ドラッグの神経毒性は十分に評価されていない。本年度は、ドパミン系神経あるいはセロトニン系神経への細胞毒性の有無を明らかにする目的で、これら薬剤のドパミン系培養神経細胞 CATH.a 細胞とモノアミン系セロトニン含有培養神経細胞 B65 細胞への添加を行い、神経細胞毒性ならびに形態学的変化を評価した。また、活性酸素種に対する蛍光指示薬を用いて、ミトコンドリアならびに細胞質における活性酸素種生成についても検討した。

また、近年酸化ストレスに対するアストロサイトの抗酸化機構の重要性とアストロサイトの機能障害による神経細胞死が注目されている。我々は、神経細胞におけるグルタチオン合成は、アストロサイトのシスチン取り込みおよびアストロサイトからのグルタチオン放出に依存しているという神経アストロサイト連関を報告してきた。そこで、アストロサイトへの PP, 2CPP, 4CPP, 4MPP の作用の有無を評価するために、アストロサイト細胞株 C6 細胞へのこれら薬剤の添加実験も行った。

B. 研究方法

1. モノアミン系培養神経細胞への PP, 2CPP, 4CPP, 4MPP 暴露

マウス由来ドバミン含有細胞 CATH.a 細胞(1.0×10^5 cells/cm²)およびラットモノアミン系セロトニン含有神経細胞株 B65 細胞(3.1×10^4 cells/cm²)を用いて、それぞれ継代 24、48 時間後に、PP, 2CPP, 4CPP, 4MPP (最終濃度 50 μ M~2 mM) を添加し、3、24 時間培養し、形態学的変化を観察し、細胞毒性の指標として培地中への LDH 放出量を測定した。また、添加 3 時間後のミトコンドリアならびに細胞質における活性酸素種生成を活性酸素種に対する蛍光指示薬である MitoTracker CM-H₂XRos, dihydroethidium (HEt) を用いて検出した。

2. アストロサイト細胞株 C6 細胞への PP, 2CPP, 4CPP, 4MPP 暴露

ラット由来アストログリア C6 細胞(2.8×10^4 cells/cm²)を用いて、継代 24 時間後に、PP, 2CPP, 4CPP, 4MPP (最終濃度 50 μ M~2 mM) を添加し、3、24 時間培養し、形態学的変化を観察し、細胞毒性の指標として培地中への LDH 放出量を測定した。

C. 研究結果

1. ドバミン系培養神経細胞への PP 暴露の効果

ドバミン含有培養神経細胞 CATH.a 細胞に PP を添加したところ、24 時間後では 1 mM まで細胞障害性の指標となる LDH 放出量は不変で、2 mM においてはじめて増加が認められた(IC₅₀: 2 mM 以上)(Fig. 1)。

2. セロトニン含有神経細胞への PP 暴露の効果

セロトニン含有培養神経細胞 B65 細胞に PP を 24 時間添加したところ、1 mM まで LDH 放出量は不変で、2 mM においてはじめて軽

度の増加が認められた(Fig. 2)。また形態学的には、PP では 1 mM まででは変化が見られず、2 mM 以上から細胞の軽度の萎縮を伴う形態変化が認められた(IC₅₀: 2 mM 以上)(Fig. 2)。

PP 添加 3 時間後では、500 μ M 以上で細胞体の萎縮を伴う形態変化が認められ、ミトコンドリアにおける活性酸素種生成が高まっていた(Fig. 3)。さらに、低濃度(100-500 μ M)での検討を行ったところ、細胞の形態変化はほとんど認められなかったが、ミトコンドリアの活性酸素種の生成は、250 μ M 以上で増加していた(Fig. 4)。

3. ドバミン系培養神経細胞への 2CPP 暴露の効果

CATH.a 細胞に 2CPP を添加したところ、24 時間後では 500 μ M 以上で LDH 放出量の有意な増加が認められた(IC₅₀: 500 μ M)(Fig. 5)。

4. セロトニン含有神経細胞への 2CPP 暴露の効果

B65 細胞に 2CPP を 24 時間添加したところ、500 μ M 以上で LDH 放出量の有意な増加が認められた(IC₅₀: 500 μ M)(Fig. 6)。また形態学的には、250 μ M では細胞の軽度の萎縮を伴う形態変化が認められ、500 μ M 以上では著明な形態変化が認められた(Fig. 6)。

2CPP 添加 3 時間後では、250 μ M 以上で細胞体の萎縮を伴う形態変化が認められ、ミトコンドリアならびに細胞質における活性酸素種生成も 250 μ M 以上から高まっていた(Fig. 7)。さらに、低濃度(50-250 μ M)での検討を行ったところ、細胞の形態変化は全く認められない 50-100 μ M で細胞内(とくにミトコンドリア)の活性酸素種の生成亢進が認められた(Fig. 8)。

5. ドバミン系培養神経細胞への 4CPP 暴露の効果

CATH.a 細胞に 4CPP を添加したところ、

24 時間後では 500 μM 以上で LDH 放出量の有意な増加が認められた (IC_{50} : 250-500 μM) (Fig. 9)。

6. セロトニン含有神経細胞への 4CPP 暴露の効果

B65 細胞に 4CPP を 24 時間添加したところ、250 μM 以上で LDH 放出量の有意な増加が認められた (IC_{50} : 250-500 μM) (Fig. 10)。また形態学的には、250 μM 以上では著明な細胞死が認められた (Fig. 10)。

4CPP 添加 3 時間後では、250 μM では細胞の軽度の萎縮を伴う形態変化が認められ、500 μM 以上では著明な細胞死が認められた (Fig. 11)。さらに、ミトコンドリアならびに細胞質における活性酸素種生成は 250、500 μM で高まっていた (Fig. 11)。さらに、低濃度 (50-250 μM) での検討では、細胞の形態変化が全く認められない 50、100 μM で細胞内 (とくにミトコンドリア) の活性酸素種の生成亢進が認められた (Fig. 12)。

7. ドパミン系培養神経細胞への 4MPP 暴露の効果

CATH.a 細胞に 4MPP を添加したところ、24 時間後では 500 μM 以上で形態的な細胞萎縮がみられた (Fig. 13)。4MPP が LDH アッセイ系に影響したため測定できなかった。

8. セロトニン含有神経細胞への 4MPP 暴露の効果

B65 細胞に 4MPP を 24 時間添加したところ、形態学的には 500 μM 以上で著明な細胞死が認められた (Fig. 14)。

4MPP 添加 3 時間後では、500 μM 以上で軽度の萎縮を伴う形態変化が認められた (Fig. 15)。細胞内とくにミトコンドリアにおける活性酸素種生成は 500 μM 以上で高まっていた (Fig. 15)。さらに、低濃度 (100-500 μM) での検討では、細胞の形態変化が全く認められない 100、250 μM でミトコンドリアならびに細胞質における活性酸素種の生成亢進が

認められた (Fig. 16)。

9. アストロサイト細胞株 C6 細胞への PP, 2CPP, 4CPP, 4MPP 暴露の効果

アストロサイト細胞株 C6 細胞に PP を添加したところ、3 時間後では 2 mM で細胞質内に空胞化が認められたが、24 時間後の時点では形態変化は認められなくなっていた (Fig. 17)。また、24 時間後の LDH 放出量にも変化はなかった (Fig. 17)。

C6 細胞に 2CPP を添加したところ、3 時間後では 1 mM で軽度の細胞質内空胞化が認められ、2 mM では細胞死が惹起されていた。さらに、24 時間後では 500 μM で細胞数の減少、1 mM 以上で著明な細胞死がみられた (Fig. 18)。また、24 時間後の LDH 放出量は 1 mM 以上で著明に増加していた (Fig. 18)。

C6 細胞に 4CPP を添加したところ、3 時間後では 500 μM 以上で細胞死がみられた。24 時間後では 250 μM で細胞数の減少、500 μM 以上で著明な細胞死がみられた (Fig. 19)。また、24 時間後の LDH 放出量は 500 μM 以上で著明に増加していた (Fig. 19)。

C6 細胞に 4MPP を添加したところ、3 時間後では 1 mM 以上で細胞質内空胞化が認められ、24 時間後では著明な細胞死がみられた (Fig. 20)。

D. 考察

覚せい剤に構造が類似しているピペラジン系違法ドラッグである PP, 2CPP, 4CPP, 4MPP 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。さらに、暴露早期における形態学的変化と細胞内における活性酸素種生成についても検討した。

PP 暴露ではドパミン系神経細胞ならびにセロトニン含有神経細胞のいずれの細胞においても 24 時間後では 2 mM 以上ではじめて

細胞死が惹起された(IC₅₀: 2 mM 以上)。この細胞毒性は規制薬物である METH, MDMA やメチロン³⁾ないしは昨年度検討したフェネチルアミン系違法ドラッグ 4FMP, PMMA⁵⁾の毒性(IC₅₀: 1-2 mM 以上)とほぼ同等であった。

これに対して、2CPP,4CPP,4MPP の 24 時間暴露ではいずれの細胞においても 250 μM-500 μM において著明な細胞死が惹起された。細胞障害性は 4CPP (IC₅₀: 250-500 μM) > 2CPP (IC₅₀: 500 μM) > 4MPP の順に強かった。

さらに本検討では、24 時間暴露後の細胞毒性に加えて、3 時間後という暴露早期の形態学的変化と細胞内における活性酸素種生成についても検討した。その結果、2CPP,4CPP 暴露では 3 時間後においても形態変化がみられ、さらに形態変化が認められない低濃度においても細胞内、とくにミトコンドリアでの活性酸素種生成の亢進が認められた。

これまでわれわれは、細胞障害性の評価を LDH 放出量および形態学的変化により行ってきたが、LDH 放出量は定量性においては勝るものの、形態変化よりも感度が悪く、さらに決して簡便とは言えない。また、形態学的変化の観察は、簡便かつ感度良く細胞障害性を捉えることが出来るが定量性に欠ける。それに対して、本検討で用いた蛍光指示薬による活性酸素種生成の検出法は、迅速かつ感度良く細胞障害性を評価できる。しかも、定量も可能な評価法である (Table 1)。

また、本検討では神経保護機構として重要な役割を果たすアストロサイトに着目し、PP, 2CPP,4CPP,4MPP のアストロサイトに対する細胞毒性についても評価した。いずれの薬物も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対する毒性と同程度の細胞毒性をアストロサイト細胞株 C6 細胞に対して発揮していた。以上のことより、ピペラジン系違法ドラッグ PP, 2CPP,4CPP,4MPP は、神経細胞に直接作用し、神経毒性を惹起するだけでなく、神経保護の面において重要であるアストロサイトに対しても細胞毒性を引き起こすことから、神経細胞にとって極めて毒性

の強い薬物と考えられる。

E. 結論

ピペラジン系違法ドラッグ PP, 2CPP,4CPP,4MPP は、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対して、細胞内、とくにミトコンドリアでの活性酸素種の生成を伴う神経障害および細胞死を惹起することを明らかにした。また、神経保護の面において重要であるアストロサイトに対しても同程度の細胞毒性を引き起こすことを明らかにした。これらの結果から、PP, 2CPP,4CPP,4MPP は、神経細胞にとって極めて毒性の強い薬物と考えられる。さらに、本検討で用いた蛍光指示薬による活性酸素種生成の検出法は、迅速かつ感度良く、しかも定量的に細胞障害性を評価できる評価法であり、乱用薬物の神経障害性の評価に有用であることを示した。

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.
- 5) 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 19 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). P36-64, 2008.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.*, 172: 11-21, 2008.
- 5) 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.*, 60: 355-363, 2008.
- 6) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Dopaminergic neuron-specific oxidative stress caused by dopamine itself. *Acta Med. Okayama*, 62: 141-150, 2008.
- 7) Asanuma, M. and Miyazaki, I.: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental parkinsonian models and Parkinson's disease. *Curr. Pharm. Design*, 14: 1428-1434, 2008.
- 8) Diaz-Corrales, F.J., Asanuma, M., Miyazaki,

- I., Miyoshi, K., Hattori, N., and Ogawa, N.: Dopamine induces supernumerary centrosomes and subsequent cell death through Cdk2 up-regulation in dopaminergic neuronal cells. *Neurotox. Res.*, 14: 295-305, 2008.
- 9) Tsuji, T., Asanuma, M., Miyazaki, I., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Reduction of nuclear peroxisome proliferator-activated receptor α expression in methamphetamine-induced neurotoxicity and neuroprotective effects of ibuprofen. *Neurochem. Res.*, in press.
- 10) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Approaches to prevent dopamine quinone-induced neurotoxicity. *Neurochem. Res.*, in press.
- ## 2. 学会等発表
- 1) 田中健一, 八木崇夫, 吉田和代, 定金浩嗣, 浅沼幹人: クリファボイダンステストを用いた不安関連行動の評価に関する研究. 第 81 回日本薬理学会年会, 横浜, 2008, 3, 17.
- 2) 竹島美香, 田中弓子, 染矢 恵, 村田麻衣子, 宮崎育子, 浅沼幹人, 喜多大三: フラボン配糖体バイカリンの培養ドパミン神経系への作用. 第 81 回日本薬理学会年会, 横浜, 2008, 3, 18.
- 3) 穂積宏彰, 浅沼幹人, 宮崎育子, 福岡早紀, 吉川友理, 木本直孝, 北村佳久, 千堂年昭, 喜多大三, 五味田 裕: メタンフェタミン急性神経毒性に対する IFN- γ の保護効果. 第 81 回日本薬理学会年会, 横浜, 2008, 3, 18.
- 4) 長町智子, 宮崎育子, 江本清香, 土居真穂, 川崎博巳, 浅沼幹人, 北村佳久, 千堂年昭, 五味田 裕: ラット海馬神経細胞及びアストロサイトの形態学的変化に対する ACTH 反復投与の影響. 第 81 回日本薬理学会年会, 横浜, 2008, 3, 18.
- 5) 浅沼幹人: グルタミン: 新しいパーキンソン病治療戦略. ランチョンセミナー18, 第 49 回日本神経学会総会, 横浜, 2008, 5, 16.
- 6) 浅沼幹人: 脳における酸化ストレス評価の落とし穴. シンポジウム 2 「酸化ストレス評価の現状と問題点」, 第 61 回日本酸化ストレス学会学術集会, 京都, 2008, 6, 19.
- 7) 三好 耕, 笠原恭輔, 宮崎育子, 浅沼幹人: Pericentrin 変異マウスを用いた神経細胞繊毛の機能解析. 第 31 回日本神経科学大会, 東京, 2008, 7, 10.
- 8) 浅沼幹人, 福岡早紀, 穂積宏彰, 宮崎育子, 北村佳久, 千堂年昭, 喜多大三: メタンフェタミン神経毒性に対するインターフェロン γ の保護効果における PPAR γ の関与. 第 51 回日本神経化学学会大会, 富山, 2008, 9, 12.
- 9) 宮崎育子, 吉川友理, 木本直孝, 三好 耕, 浅沼幹人: L-DOPA 投与に特異的な活性化アストロサイトにおけるメタロチオネインの発現誘導. 第 51 回日本神経化学学会大会, 富山, 2008, 9, 13.
- 10) 三好 耕, 笠原恭輔, 宮崎育子, 浅沼幹人: 神経細胞 1 次繊毛の精神疾患への関与. 第 51 回日本神経化学学会大会, 富山, 2008, 9, 13.
- 11) 三好 耕, 笠原恭輔, 宮崎育子, 浅沼

幹人：神経細胞1次繊毛は情動や摂食に関与する。第2回アジア・太平洋生物学的精神医学会，第30回日本生物学的精神医学会，富山，2008，9，13。

Society for Neuroscience, Washington D.C.,
2008, 11.16.

- 12) 笠原恭輔，三好 耕，宮崎育子，浅沼幹人：マウス脳の神経細胞1次繊毛に対する向精神薬の作用。第2回アジア・太平洋生物学的精神医学会，第30回日本生物学的精神医学会，富山，2008，9，13。

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

- 13) 浅沼幹人：ドパミン神経保護に関するトランスレーショナルリサーチ。神経化学の若手研究者育成セミナー9。「神経伝達機構の基礎研究と病態研究それぞれの魅力」，第51回日本神経化学学会大会，富山，2008，9，12-13。
- 14) 宮崎育子，吉川友理，木本直孝，三好 耕，浅沼幹人：グリアでのメタロチオネイン発現誘導によるドパミン神経保護効果。第18回日本臨床精神神経薬理学会・第38回日本神経精神薬理学会合同大会，品川，2008，10，1。
- 15) 染矢 恵，村田麻衣子，竹島美香，宮崎育子，浅沼幹人，喜多大三：テアニンの培養モノアミン神経およびグリア細胞系への作用。第18回日本臨床精神神経薬理学会・第38回日本神経精神薬理学会合同大会，品川，2008，10，2。
- 16) Kitamura, Y., Kitagawa, K., Miyazaki, T., Nagamachi, T., Doi, M., Miyazaki, I., Asanuma, M., Sendo, T., Kawasaki, H., Gomita, Y.: Development of animal model of treatment-resistant-depression in rats - Effects of antidepressants on the duration of immobility of ACTH-treated rats in the forced swim test-. 38th Annual Meeting of

CATH.a cells

LDH release (% of positive control)

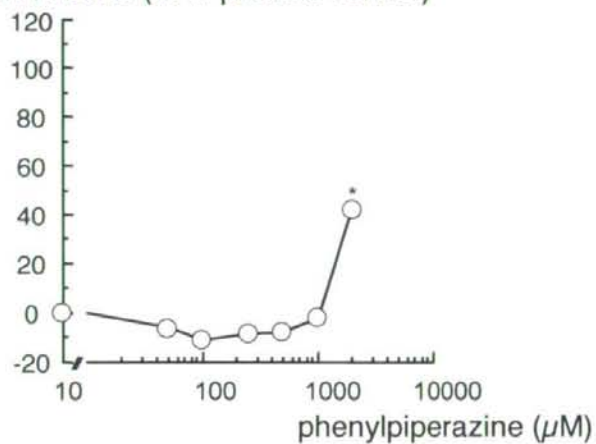


Fig. 1. Changes in released LDH from CATH.a cells after exposure to phenylpiperazine (PP) for 24 hours. Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. * $p < 0.001$ vs. control group without PP.

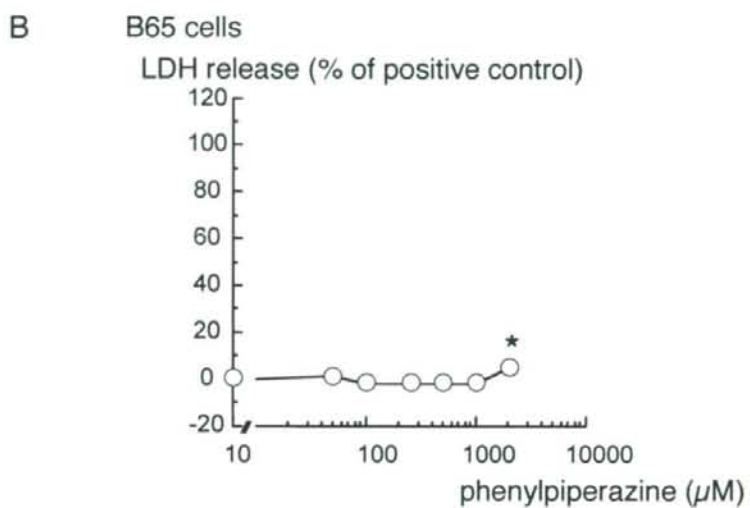
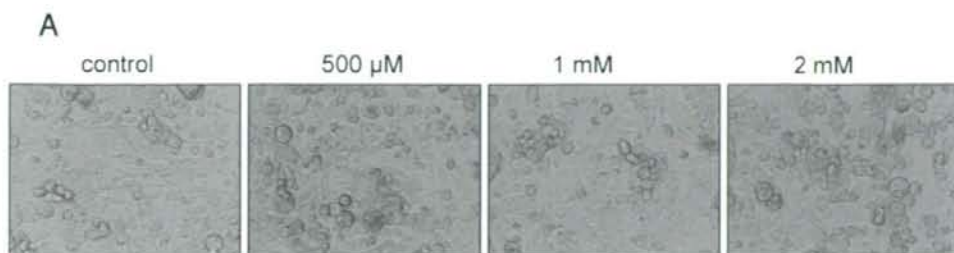


Fig. 2. Photographs of B65 cells treated with phenylpiperazine (PP) for 24 hours (A). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to PP for 24 hours (B). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. * $p < 0.001$ vs. control group without PP.

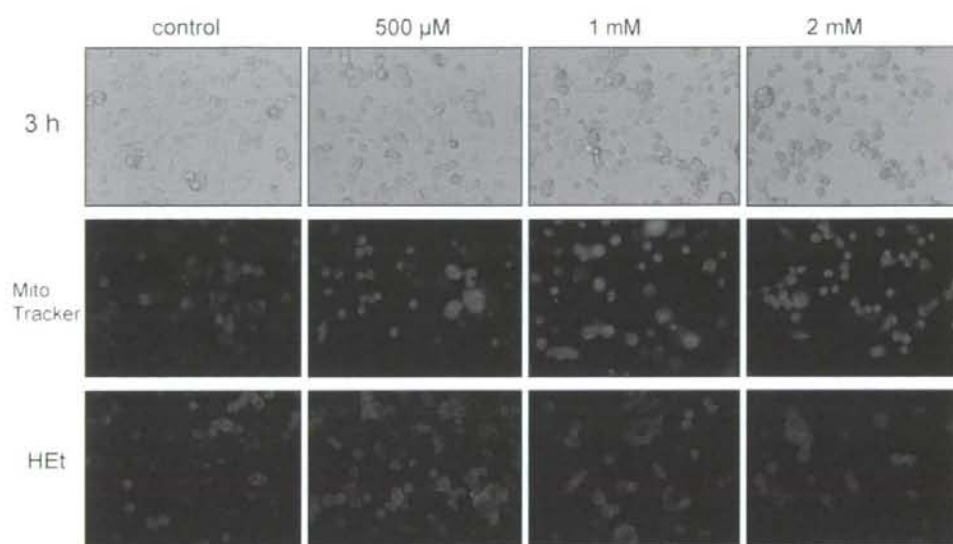


Fig. 3. Photographs and ROS formation in B65 cells exposed to phenylpiperazine (PP) (final concentration: 0, 500 μ M, 1 mM, 2 mM) for 3 hours. Mitochondrial ROS formation was detected by MitoTracker (CM-H₂XRos). Intracellular O₂⁻ formation was detected by HEt.

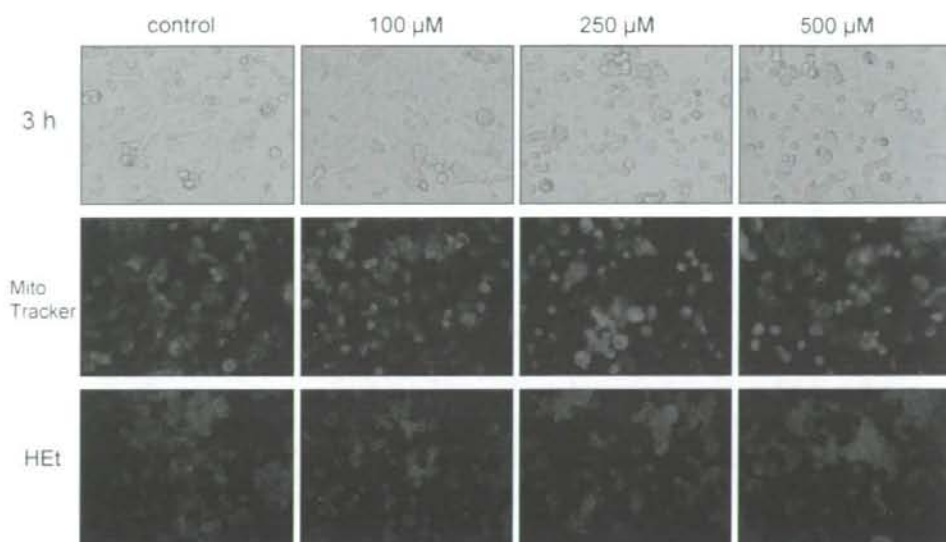


Fig. 4. Photographs and ROS formation in B65 cells exposed to phenylpiperazine (PP) (final concentration: 0, 100 μM , 250 μM , 500 μM) for 3 hours. Mitochondrial ROS formation was detected by MitoTracker (CM-H₂XRos). Intracellular O₂⁻ formation was detected by HEt.

CATH.a cells

LDH release (% of positive control)

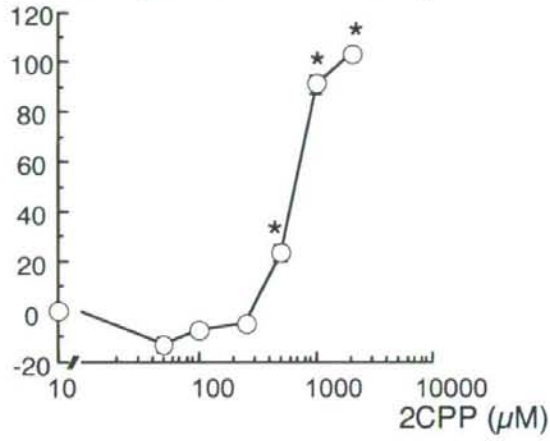
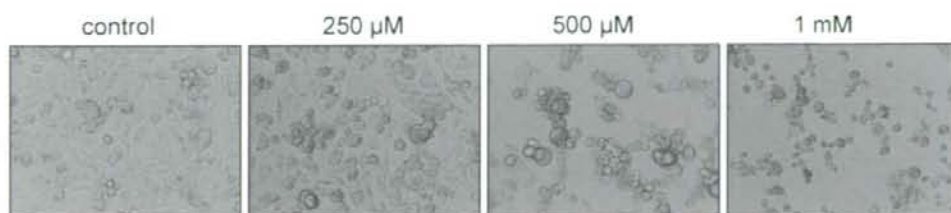


Fig. 5. Changes in released LDH from CATH.a cells after exposure to 2CPP for 24 hours. Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. * $p < 0.001$ vs. control group without 2CPP.

A



B

B65 cells

LDH release (% of positive control)

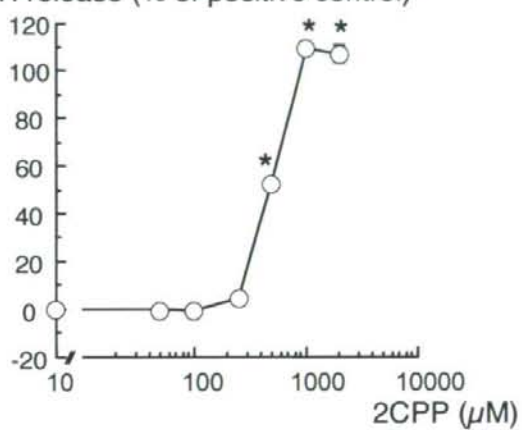


Fig. 6. Photographs of B65 cells treated with 2CPP for 24 hours (A). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to 2CPP for 24 hours (B). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. * $p < 0.001$ vs. control group without 2CPP.

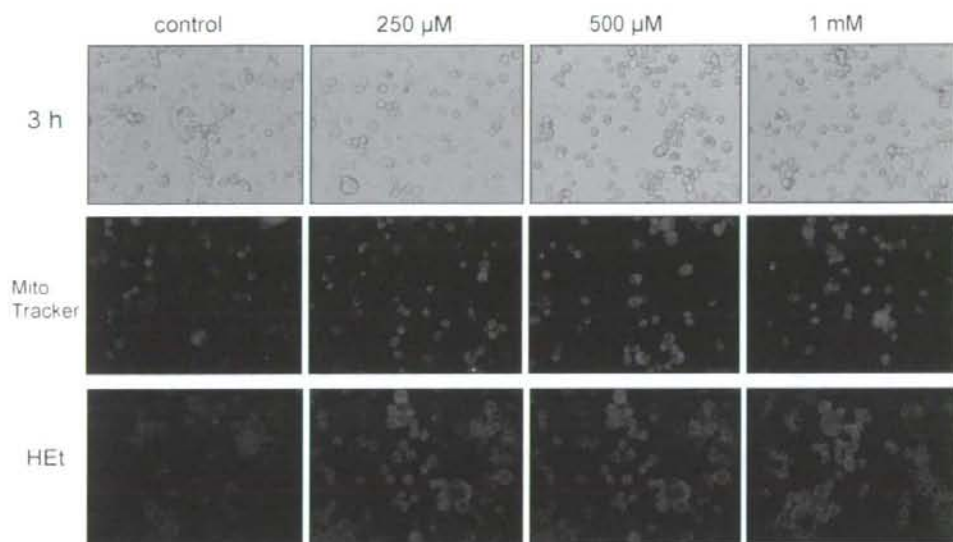


Fig. 7. Photographs and ROS formation in B65 cells exposed to 2CPP (final concentration: 0, 250 μ M, 500 μ M, 1 mM) for 3 hours. Mitochondrial ROS formation was detected by MitoTracker (CM-H₂XRos). Intracellular O₂⁻ formation was detected by HEt.

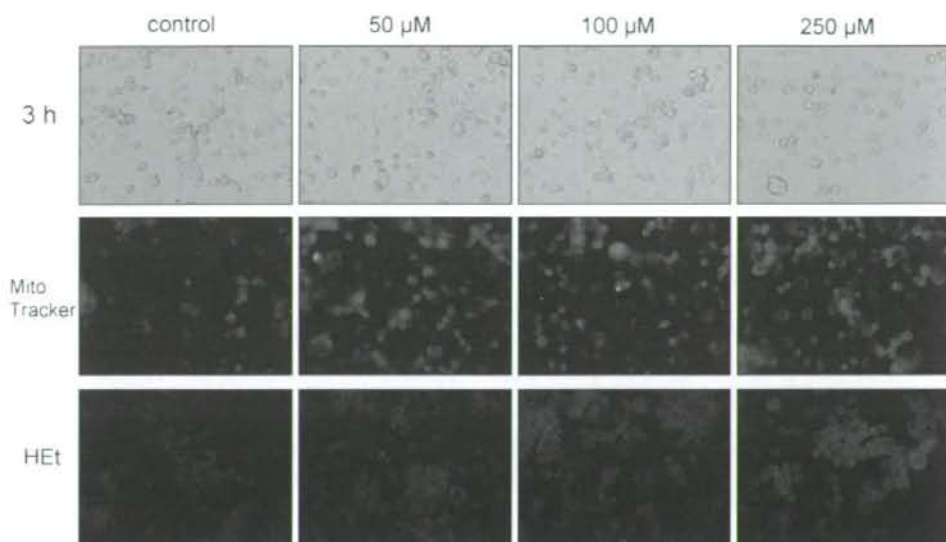


Fig. 8. Photographs and ROS formation in B65 cells exposed to 2CPP (final concentration: 0, 50 μM , 100 μM , 250 μM) for 3 hours. Mitochondrial ROS formation was detected by MitoTracker (CM-H₂XRos). Intracellular O₂⁻ formation was detected by HEt.

CATH.a cells

LDH release (% of positive control)

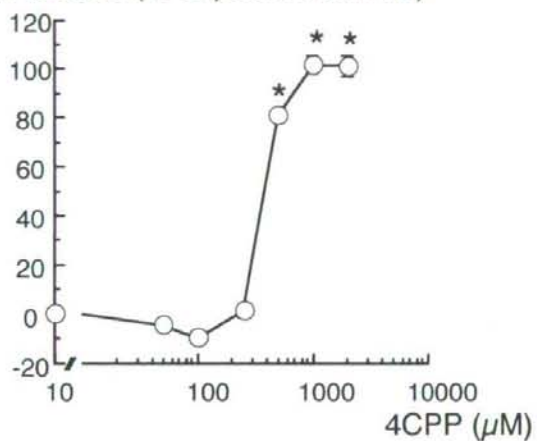


Fig. 9. Changes in released LDH from CATH.a cells after exposure to 4CPP for 24 hours. Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. * $p < 0.001$ vs. control group without 4CPP.

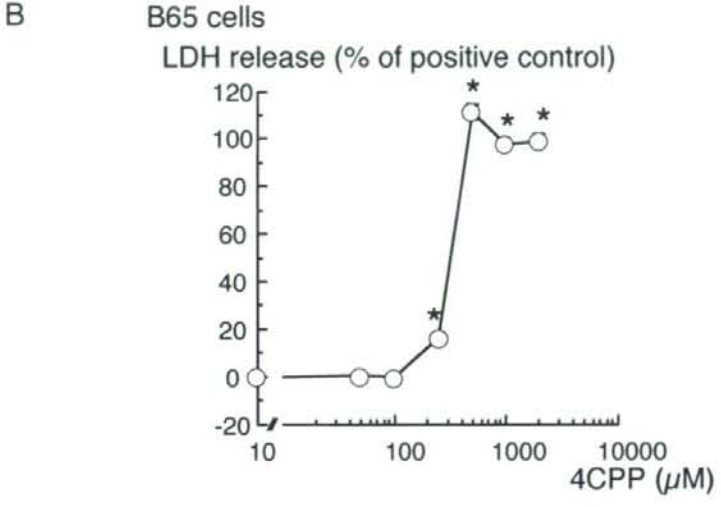
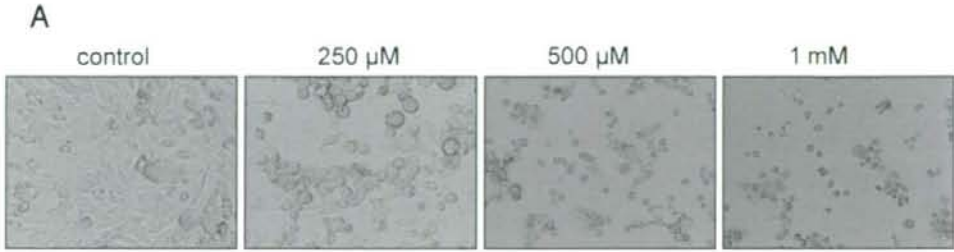


Fig. 10. Photographs of B65 cells treated with 4CPP for 24 hours (A). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to 4CPP for 24 hours (B). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. * p <0.001 vs. control group without 4CPP.

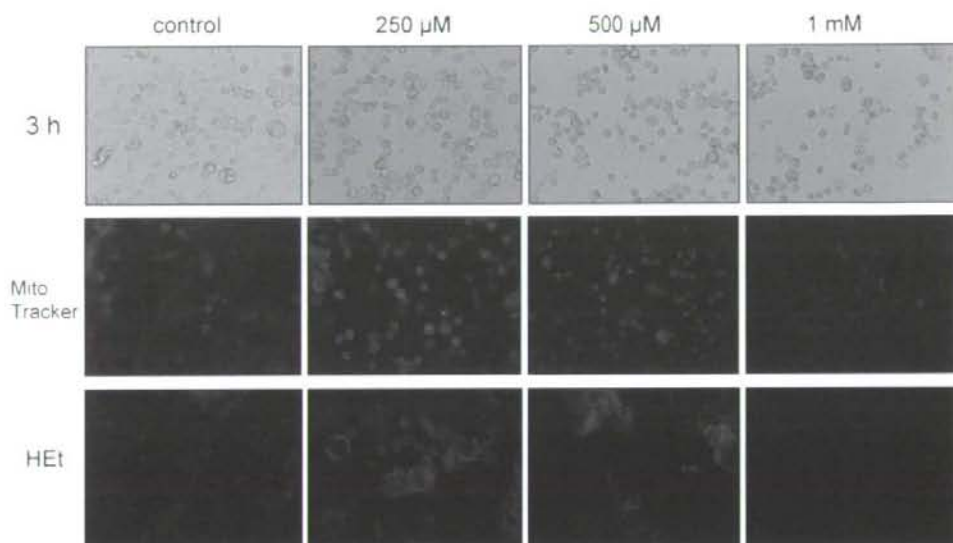


Fig. 11. Photographs and ROS formation in B65 cells exposed to 4CPP (final concentration: 0, 250 μ M, 500 μ M, 1 mM) for 3 hours. Mitochondrial ROS formation was detected by MitoTracker (CM-H₂XRos). Intracellular O₂⁻ formation was detected by HEt.