

令和 6 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政策研究事業)
指定薬物の指定に係る試験法の評価検証に資する研究

分 担 研 究 報 告 書

マウスを用いた伏臥位測定は stimulant の薬理学的特性を持たない幻覚剤 DOI の効果を簡便かつ定性的に反映する

分担研究者：北中純一 兵庫医科大学 薬学部

【研究要旨】

幻覚発現物質を繰り返し投与した場合、それに連動して効果が強まる異常行動を調べる目的で、幻覚発現物質 1-(4-iodo-2,5- di-methoxyphenyl)propan-2-amine 塩酸塩 (DOI) をマウスに一日一回、一週間の連続投与を実施した。DOI の連続投与は、水平方向の運動量を増加させなかった。先の課題研究年度で見出した 4 つの異常行動（前肢洗顔行動・後肢引っ掻き行動・伏臥位・首振り行動）のうち伏臥位のみ、DOI 連続投与によってその発現が有意に増強した。伏臥位の観察は、一般的な睡眠姿勢とは明らかに異なり、簡便に観察されることから、投与量に応じて強度が変化する伏臥位は、幻覚発現物質の作用強度を評価する上で有用な指標となり得る。

A. 研究目的

幻覚発現物質の単回投与では、1-(4-iodo-2,5- di-methoxyphenyl)propan-2-amine 塩酸塩 (DOI) の誘導する異常行動として、前肢洗顔行動・後肢引っ掻き行動・伏臥位・首振り行動をすでに見出している。これらの行動は、他の行動と区別しやすく、いずれも観察によって客観的に評価する上で有用と考えられる。それらのなかでも伏臥位は DOI 単回投与での用量反応性をすでに見出しており、幻覚作用の評価に有望な異常行動といえる。異常

行動が幻覚発現物質によって単一の受容体たんぱく質に結合することで発現するならば、投与する幻覚剤の用量や頻度に依存して、行動の変化、特に異常行動も増悪すると考えられる。またそのような異常を示す場合、連続投与後の休薬によって退薬症状が発現することも考えられる。

本研究では、DOI 連続投与後に休薬して、改めて DOI 単回投与のち 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬 Volinanserin を投与すると、退薬症状が認められるか否かを検討して、幻覚発現物質 DOI の生体作用を詳細に検討した。特に、DOI

を繰り返し投与したのち、DOI を改めて単回投与したときに認められる異常行動についてそのパターンや頻度・強度を観察して評価した。

B. 研究方法

ICR 系雄性マウス（日本エスエルシー株；実験時 11-12 週齢）に対して、生理食塩水に希釈した DOI の 1.0 mg/kg を一日一回、一週間にわたり皮下投与（s.c.）し（day 1～day 7）、直ちにホームケージに戻した。二日間（day 8, 9）休薬の間 Y 字迷路試験（day 8）を実施した。その後（day 10）DOI の 2.0 mg/kg を皮下投与し、その後 1.0 mg/kg volinanserine を腹腔投与して、行動観察および運動量の自動測定（Supermex センサ、室町機械製）を行った。そのために、観察用アクリルボックス（30×30×35 cm 高；床面に約 25 g 分の木くず）に入れて行動観察および Supermex センサによる水平方向総運動量の測定を行った。行動観察は、投与薬物が知らされていない熟練した複数の観察者によって行われた。DOI による特異的な行動の観察項目は、伏臥位（Prone position）のほか、簡便に観察データが取得できる毛づくろい（Grooming）、口周りの行動（Chewing）・立ち上がり（Rearing）とし、1 分刻みで記録した。

（観察のポイント）

Grooming：健康なマウスが自分の体を清潔にするために行う生理的な行動（前肢で頭、顔、耳、腹、臀部、尻尾などに触れる、自身の体をなめる、後肢で体を搔くなど、毛づくろいを含む全身に対する動作）

Chewing：口周りの行動。壁、床を舐める、床敷きを噛むなど咀嚼運動も含むが **Grooming** は含まない。

Rearing：後肢立ち 前肢を壁にかけ、後肢で立ち上がる動作及び立ち上がった姿勢。

Prone position（腹臥位）：うつぶせの体位で前肢を前に出し、腹ばいになった体勢のこと

また day 10 では mood の変化を調べるため高架式十字迷路試験および尾懸垂試験も併せて実施した。

（倫理面への配慮）兵庫医科大学動物実験委員会の承認を得た（承認課題第 24-024A）。「動物実験に関する日本薬理学会指針」ならびに「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（日本学術会議、2006 年 6 月 1 日）および兵庫医科大学動物実験規程を遵守した。動物逃避防止を徹底し実験動物に苦痛を与えないよう最大限配慮を行い、人道的エンドポイントを十分配慮のうえ安全対策を講じて、承認を受けた実験室でのみ実施した。

C. 研究結果

水平方向の総運動量測定について、タイムコースは新奇環境への馴化パターンを示しており繰り返し投与によって興奮性は認められなかった。Day8 における休薬期間では、自発的行動交替率（および運動量）に変化はなかった（図 1）。

Day 10 における行動試験では、DOI 連続投与により高架式十字迷路試験において運動量の減少が認められた。しかし mood の変

化は繰り返し投与の影響はなく（尾懸垂試験）、単回投与として day 10 で投与した 2.0 mg/kg DOI 群と対照群との間で有意な差を認め、特に Open arm での滞在時間の延長が確認された（図 2）。

特異的な行動の観察項目について（day 10）、伏臥位のみ繰り返し投与によって有意に強い伏臥位が確認された（図 3）。そのほかの毛づくろいや口周りの行動、立ち上がりについては、DOI の連続投与はその後の DOI 作用に影響しなかった。

D. 考察

DOI の連続投与は、その後のさらなる DOI 投与後の運動量変化や mood（不安や抑うつ）に大きな影響を与えるものではなかった。しかしながら DOI 単回投与で用量依存的に認められる伏臥位については、DOI 連続投与後の、さらなる DOI 単回投与によって、より強い伏臥位発現を確認した。このことは、DOI が作用して伏臥位を引き起こすメカニズムが、DOI 誘発幻覚作用を表現するマウスの代表的行動ととらえてよいと考えることが出来る。

E. 結論

幻覚剤の動物実験による評価としては、簡便な行動観察に基づく、再現性の良い指標が強く望まれる。その観点からは、伏臥位を記録することは他の行動と明確に区別することが出来て実施しやすいと考えられる。また、投与頻度の上昇が伏臥位発現強

度の上昇を引き起こすことは、DOI が誘発する主たる作用であることを想定させ、人間での幻覚効果とその相関を想定させる。したがって、本研究結果は、マウスを用いた伏臥位測定を実施すれば、stimulant の薬理学的特性を持たない幻覚剤 DOI の効果を簡便かつ定性的に反映する行動指標となることを示唆する。

F. 参考文献

- (1) Halberstadt A.L. & Geyer M.A. Effect of hallucinogens on unconditioned behavior. *Curr Top Behav. Neurosci.* **36**, 159-199 (2018).
- (2) Canal C.E. & Morgan D. Head-twitch response in rodents induced by the hallucinogen 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine: a comprehensive history, a re-evaluation of mechanisms, and its utility as a model. *Drug Test Anal.* **4(7-8)**, 556-76 (2012)

研究発表

論文発表

- (1) Kitanaka N., Arai K., Takehara K., Hall F.S., Tomita K., Igarashi K., Sato T., Uhl G.R. & Kitanaka J. Opioid receptor antagonists reduce motivated wheel running behavior in mice. *Behav. Pharmacol.* **35(2/3)**114-121 (2024)
- (2) Kobayashi C., Kitanaka N., Nakai M., Hall F.S., Tomita K., Igarashi K., Sato T., Uhl G.R. & Kitanaka J. Protein phosphatase 2A inhibitors: A possible pharmacotherapy for

benzodiazepine dependence. *J. Pharm. Pharmacol.*, DOI: 10.1093/jpp/rgae136 (2024)

- (3) Takahashi S., Tomita K., Igarashi K., Kuwahara Y., Kitanaka J., Kitanaka N., Tanaka K., Kurimasa A., Kamikawa Y. & Sato T. Silver nanoparticles reduce ACE2 expression via changing mitochondrial function in human fibroblast-like lung cell and periodontal ligament fibroblast cells. *BioNanoScience* 15, Article no. 39 (2025)
- (4) Oka M., Yoshino R., Kitanaka N., Hall F.S., Uhl G.R. & Kitanaka J. Role of Glycogen Synthase Kinase-3 β in Dependence and Abuse Liability of Alcohol. *Alcohol Alcohol.* **59**(2) agad086 (2024).

学会発表

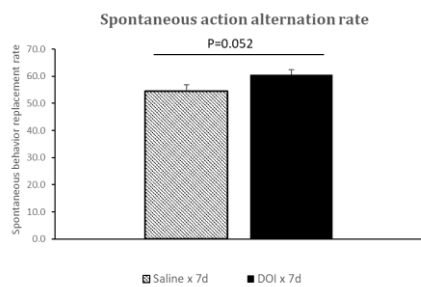
- (1) 北中純一、北中順恵、仲井聖典、濱名貴大、藤井舞、松田健太郎、津嶋祐一郎、湯瀬祥、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭. 選択的 GSK3 阻害薬による実験的モルヒネ退薬症状の緩和. 第 17 回日本緩和医療薬学会 2024. 5. 24-26 (東京)
- (2) 五十嵐健人、F. Scott Hall、北中純一、北中順恵、田中康一、富田和男、佐藤友昭. グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3 阻害薬である SB216763 はゼブラフィッシュのモルヒネ条件付け場所選好性を阻害する. 第 47 回日本神経科学大会・第 67 回日本神経化学学会大会・第 46 回日本生物学的精神医学会大会 合同大会 (NEURO2024) 2024. 7. 24-27 (福岡)
- (3) 北中純一、北中順恵、松田健太郎、濱名貴大、仲井聖典、湯瀬祥、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭. GSK3 阻害薬 LY2090314 による覚せい剤常同行動の抑制. 第 47 回日本神経科学大会・第 67 回日本神経化学学会大会・第 46 回日本生物学的精神医学会大会 合同大会 (NEURO2024) 2024. 7. 24-27 (福岡)
- (4) 北中順恵、天方詞子、森田千晶、仁木理子、濱名貴大、松田健太郎、仲井聖典、湯瀬祥、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭、北中純一. PI3K 阻害薬 Wortmannin による覚せい剤常同行動の抑制. 第 47 回日本神経科学大会・第 67 回日本神経化学学会大会・第 46 回日本生物学的精神医学会大会 合同大会 (NEURO2024) 2024. 7. 24-27 (福岡)
- (5) 北中純一、北中順恵、松田健太郎、湯瀬祥、濱名貴大、仲井聖典、上田紫暉、服巻里佳、山本ひとみ、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭. チロシンキナーゼ阻害薬イマチニブはマウスにおける覚せい剤誘発過運動を減弱する. 第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本生理学会/第 98 回日本薬理学会 合同大会 (APPW2025) 2025. 3. 17-19 (千葉)
- (6) 北中順恵、山本ひとみ、藤井舞、津嶋祐一郎、仲井聖典、上田紫暉、服巻里佳、濱名貴大、松田健太郎、湯瀬祥、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭、北中純一. GSK3 選択的阻害薬ラドビグルシブはモルヒネの鎮痛作用に影響せず、急性症状・退薬症状を抑制する. 第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本生理学会/第 98 回日本薬理学会 合同大会 (APPW2025) 2025. 3. 17-19 (千葉)

- (7) 山本ひとみ、北中順恵、仲井聖典、富田和男、濱名貴大、松田健太郎、湯瀬祥、上田紫暉、服巻里佳、五十嵐健人、佐藤友昭、北中純一． 幼若マウスに対する幻覚剤 U50, 488H の影響と大防風湯の作用について． 第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本生理学会/第 98 回日本薬理学会合同大会 (APPW2025) 2025. 3. 17-19 (千葉)
- (8) 上田紫暉、北中順恵、服巻里佳、山本ひとみ、富田和男、五十嵐健人、濱名貴大、松田健太郎、仲井聖典、湯瀬祥、佐藤友昭、北中純一． 幻覚剤 Kappa オピオイド受容体アゴニスト U50, 488H 作用の基本的行動評価指標について． 第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本生理学会/第 98 回日本薬理学会合同大会 (APPW2025) 2025. 3. 17-19 (千葉)
- (9) 服巻里佳、北中順恵、上田紫暉、山本ひとみ、濱名貴大、松田健太郎、仲井聖典、湯瀬祥、富田和男、五十嵐健人、佐藤友昭、北中純一． 幻覚剤 2,5-dimethoxy-4-Iodoamphetamine を連続投与した際に認められるマウスの行動変化． 第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本生理学会/第 98 回日本薬理学会合同大会 (APPW2025) 2025. 3. 17-19 (千葉)
- (10) 富田和男、高橋将世、五十嵐健人、桑原義和、北中純一、北中順恵、田中康一、上川善昭、栗政明弘、佐藤友昭． ヒト細胞にナノ銀処理を行うとミトコンドリア機能変化を介して ACE2 発現が減少する． 第 130 回日本解剖学会/第 102 回日本生理学会/第 98 回日本薬理学会合同大会 (APPW2025) 2025. 3. 17-19 (千葉)

(3) 知的財産権の出願・登録情報

特になし

A



B

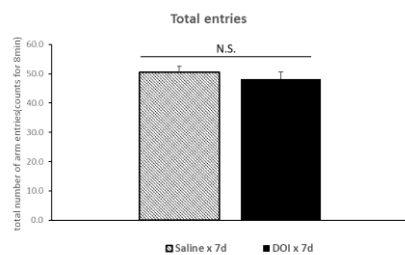
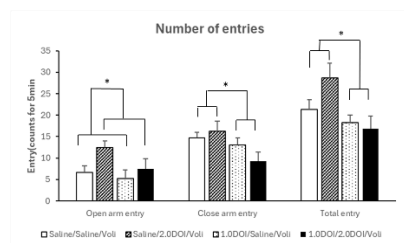


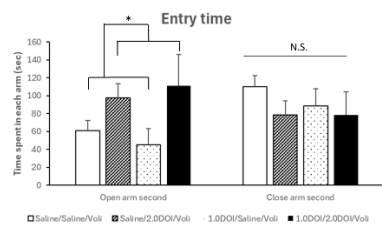
Fig. 1. Y 字迷路試験結果 (day 8)

A: 自発的行動交替率 B: 総運動量

A



B



C

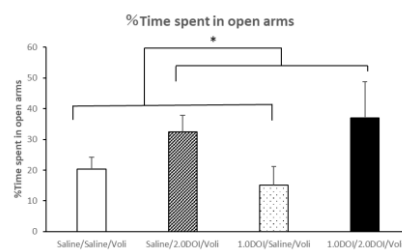
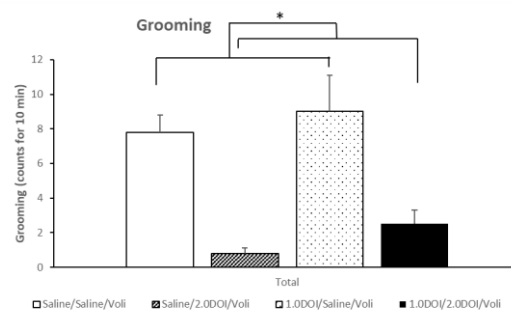


Fig. 2. 高架式十字迷路試験結果 (day 10)

A: アームへの侵入回数 B: 各アームへ侵入した累積時間 C: オープンアームでの滞在時間 (%)

A



B

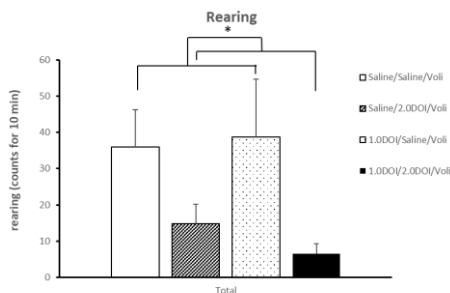


Fig. 3. 特異的行動の強度 (day 10)

A: 毛づくろい B: 伏臥位

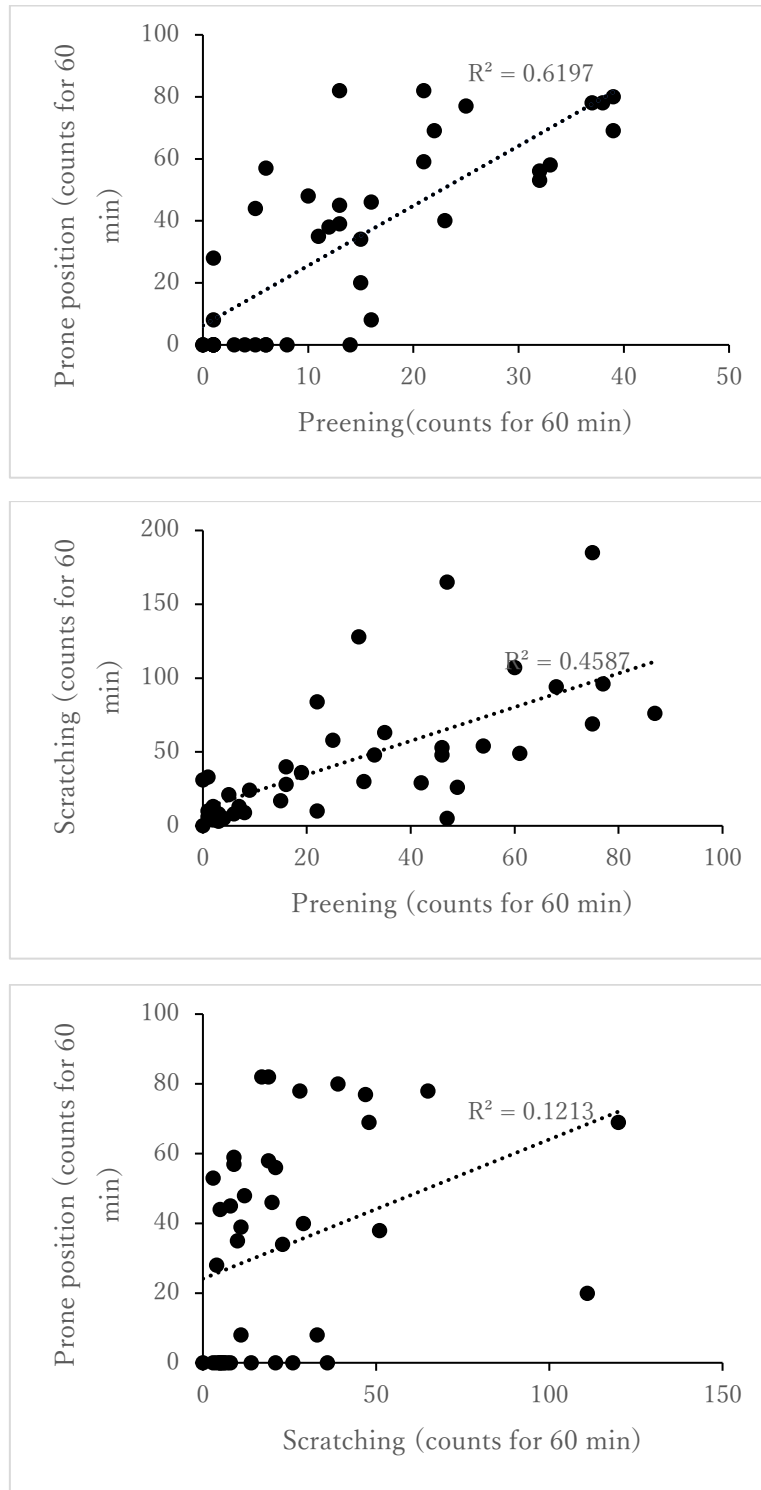


Fig. 4. DOI 誘発異常行動間の相関関係

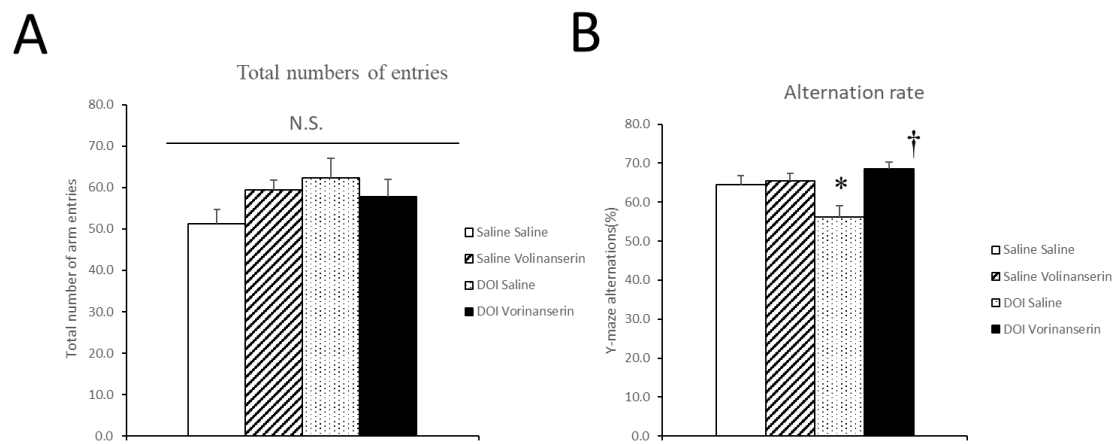


Fig. 5. DOI 誘発短期空間記憶障害