

分担研究報告書

幻覚発現薬によって活性化する脳領域の同定

分担研究者：増川太輝 横浜市立大学 医学部

【研究要旨】

指定薬物の中には幻覚作用を有する薬物が多く、セロトニン神経系に作用する薬物をはじめ、NMDA 受容体拮抗薬、カンナビノイド、 κ -オピオイド受容体作動薬などがある。しかしわずかな構造変化によって指定から逃れる可能性があるため、迅速に指定薬物の指定をすることが可能な評価系とその高い妥当性が必要である。本研究では、幻覚発現薬がどのような脳領域を活性化させるのかを行動薬理的評価と照らし合わせ、その関連性を明らかにし、評価方法の妥当性を高めることを目的とした。

Ketamine はNMDA 受容体拮抗薬作用を有する幻覚発現薬である。以前の報告では、ketamine による自発運動量がホスホジエステラーゼ10阻害薬であるPF-2545920の前投与により抑制されるが、ketamine による弁別刺激効果は PF-2545920 によって影響を受けないことが示されている。幻覚発現薬と活性化脳領域の関連性を明らかにするため、ketamine 投与による神経活性化マーカーの c-Fos 発現変化を比較・検討した。結果、ketamine の投与は外側中隔核、側坐核、前頭前皮質、および背側内梨状核の神経を活性化させた。またホスホジエステラーゼ10阻害薬であるPF-2545920の前投与は、側坐核における神経の活性化を増強し、前頭前皮質および背側内梨状核における神経の活性化を抑制した。これらの結果は、ketamineは幻覚作用を含め、特有の薬理学特性を有することを示す。

A. 研究目的

近年、いわゆる危険ドラッグや指定薬物の中には、幻覚作用を有する薬物が多数含まれている。これらの薬物には、セロトニン神経系に作用するサイケデリック系薬物に加え、NMDA 受容体拮抗薬、カンナビノイド受容体作動薬、 κ オピオイド受容体作動薬など、多様な薬理作用を有するものが含まれることが知られている^{1,2)}。一方で、指定薬物の多くはわずかな化学構造の変化によって既存の規制から逃れる可能性があり、新規化合物に対して迅速かつ客観

的に評価を行うことが可能な試験系の確立が求められている。そのためには、薬物によって誘発される行動変化と脳内神経活動との関連性を明らかにし、評価指標としての妥当性を検証することが重要である³⁾。

これまで幻覚発現薬の評価には、head-twitch response や自発運動量変化、薬物弁別試験などの行動薬理学的手法が用いられてきたが⁴⁾、これらの指標がどの脳領域の神経活動と対応するのかについては十分に整理されていない。本研究では、幻覚発現薬投与によって誘導される神経

活動マーカー c-Fos の発現変化に着目し、行動薬理学的評価と脳内活性化領域との関連性を解析することを目的とした。本年度は、NMDA 受容体拮抗薬である ketamine をモデル薬物として用い、ホスホジエステラーゼ10阻害薬による薬理学的修飾を含めて検討した。

B. 研究方法

1. 実験動物

実験には、8 週齢の C57BL/6J マウス (体重 20-28 g) を用いた。

動物実験は、横浜市立大学動物実験委員会の承認を得て行った (承認番号 F-A-23-039)。

2. 免疫染色

Ketamine (10 mg/kg) または saline を腹腔内投与し、1 時間後に、イソフルラン (3%) の吸入麻酔下で、4% パラホルムアルデヒドを用いて灌流固定を行った。PDE10 阻害薬である PF-2545920 (2 mg/kg) は ketamine 投与の 15 分前に投与した。側坐核を含む 50 μ m の切片をビブラトームを用いて作成した。抗 c-Fos 抗体 (1:1000, Cell Signaling) を用いて、一次抗体反応後、Alexa Fluoro 488 goat anti-rabbit IgG plus 抗体により可視化した。また DAPI を用いて核を可視化した。蛍光シグナルは、AX 顕微鏡 (Leica) により観察した。各脳領域における c-Fos 陽性細胞数を計測し、定量化した。

3. 統計解析

全てのデータは、平均値±標準誤差により示し、Prism 10 により解析した。データは三元または二元配置分散分析 (two-way ANOVA) を行い、ポストホックテストとして、uncorrected Fisher's LSD test により比較した。

C. 研究結果

Ketamine は複数の脳領域を活性化し、脳領域特異的な PDE10 阻害薬感受性を示す

森教授の実験結果により、すでに ketamine

による運動量促進作用が PF-2545920 の前処置により抑制される一方、弁別刺激効果は抑制されないことを報告している。Ketamine 投与による脳内神経活動の変化を明らかにするため、神経活動マーカーである c-Fos の発現を解析した。Ketamine 投与は複数の脳領域において c-Fos 発現を増加させる傾向を示した。この結果は従来の報告と一致する^{5,6)}。

まず、外側中隔核 (LSN) および側坐核 (NAc) における c-Fos 発現を解析した (図 1)。LSN においては、ketamine 投与による c-Fos 発現の増加は有意ではなかった。また、PF-2545920 の単独投与による明らかな変化は認められず、PF-2545920 前投与による ketamine 誘発 c-Fos 発現の変化も認められなかった。一方、NAc においては ketamine 単独投与による c-Fos 発現の増加は明確ではなかったが、PF-2545920 を前投与した場合には ketamine による c-Fos 発現の増加が認められた。

次に、前頭前皮質 (PFC) における c-Fos 発現を解析した (図 2)。Ketamine 投与により PFC における c-Fos 発現は有意に増加した。一方、PF-2545920 前投与群では ketamine による c-Fos 発現の増加は抑制される傾向が認められた。

さらに、背側内梨状核 (DEn) における c-Fos 発現を解析した (図 3)。DEn においても ketamine 投与により c-Fos 発現の増加傾向が認められたが、PF-2545920 前投与によりその増加は抑制される傾向を示した。

以上の結果より、ketamine は複数の脳領域において神経活動を変化させること、また PDE10 は脳領域によって ketamine 誘発神経活動を異なる方向に調節する可能性が示唆された。

D. 考察

本研究では、NMDA 受容体拮抗薬である ketamine 投与により外側中隔核、側坐核、前頭前皮質および背側内梨状核において c-Fos 発現が増加することを明らかにした。これらの結果は、ketamine が複数の神経回路を介して脳内神経活動を変化させることを示唆する。一方、

これまで我々が検討してきたセロトニン 2A 受容体作動薬 DOI や κ オピオイド受容体作動薬 U50 による神経活動変化と比較すると、活性化される脳領域には共通点が存在する一方で、それぞれの薬物特有のパターンが認められる可能性がある^{4,5,6)}。例えば、側坐核は複数の幻覚発現薬に共通して活性化される領域として考えられる一方、前頭前皮質、視覚皮質や聴覚皮質などの活動変化は薬物の作用機序によって異なることが示唆される。このことは、幻覚発現薬の薬理作用が単一の神経回路ではなく、複数の神経系の相互作用によって形成されている可能性を示している。

現在、指定薬物の評価には行動薬理学的指標が主に用いられているが、薬物の種類によって行動変化の現れ方が異なるため、評価の解釈が必ずしも容易ではない。したがって、行動評価に加えて脳内神経活動の変化を客観的に評価する手法を組み合わせることが、指定薬物の迅速な評価系の確立に重要であると考えられる。本研究で得られた結果は、幻覚発現薬ごとに特徴的な脳領域の活性化パターンが存在する可能性を示しており、これらの神経活動をリアルタイムで測定することができれば、新規薬物の薬理学的特性を迅速に推定することが可能になると考えられる。今後は、薬物の作用機序ごとに重要な脳領域を抽出し、*in vivo* カルシウムイメージングなどの神経活動計測技術を用いて神経回路の活動変化を評価することにより、指定薬物の作用特性を迅速に分類できる評価系の構築を目指す必要がある。

E. 結論

幻覚発現薬は複数の脳領域を活性化させるが、その活性化パターンは薬物の薬理作用により異なる可能性が示された。行動薬理学的試験と神経活動解析を組み合わせることにより、指定薬物の作用特性をより妥当性高く評価できる可能性がある。さらに、*in vivo* カルシウムイメージングなどの神経活動計測技術は新たな評価法となる可能性がある。

F. 参考文献

- 1) Nichols DE. Hallucinogens. *Pharmacol Ther.* 2004; 101:131–181.
- 2) Nichols DE. Psychedelics. *Pharmacol Rev.* 2016; 68:264–355.
- 3) Vollenweider FX, Komater M. The neurobiology of psychedelic drugs. *Nat Rev Neurosci.* 2010; 11:642–651.
- 4) Halberstadt AL, Geyer MA. Effects of the hallucinogen 2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2C-I) and superpotent N-benzyl derivatives on the head twitch response. *Neuropharmacology.* 2014; 77:200-207.
- 5) Nakao S, Miyamoto E, Masuzawa M, Kambara T, Shingu K. Ketamine-induced c-Fos expression in the mouse posterior cingulate and retrosplenial cortices is mediated not only via NMDA receptors but also via sigma receptors. *Brain Res.* 2002; 926(1-2):191-196.
- 6) Moghaddam B, Krystal JH. Capturing the angel in angel dust: twenty years of translational neuroscience studies of NMDA receptor antagonists. *Schizophr Bull.* 2012; 38(5): 942-949.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Goshima Y, Nakamura H, Koga M, Koyama J, Kimura Y, Vasisht MN, Snyder EY, Asai M, Sakai K, Masukawa D (Corresponding author). Distribution of the l-DOPA Receptor Gpr143/OA1-Gene in mice Creates a Unique Mixed Psychosis-Like Phenotype. *Neuropsychopharmacol Rep.*, 2026; 46(1):e70080. doi: 10.1002/npr2.70080.

2. 学会発表

- 1) 増川太輝、柴田智博、吉田 光一、増田 拓、程 晨、圓谷 研人、徳留 健. 脳内心房性ナトリウム利尿ペプチドシグナルは心筋梗塞後の心臓リモデリングを改善する. 第99回日本薬理学会年会 (2026年3月17日)
- 2) 増川太輝、徳留健. 迷走神経節-迷走神経背側運動核間神経回路は圧受容器反射を微調整する. 第29回心血管内分泌代謝学会 (2025年9月28日、ポスター発表賞)

I. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録、その他
特になし

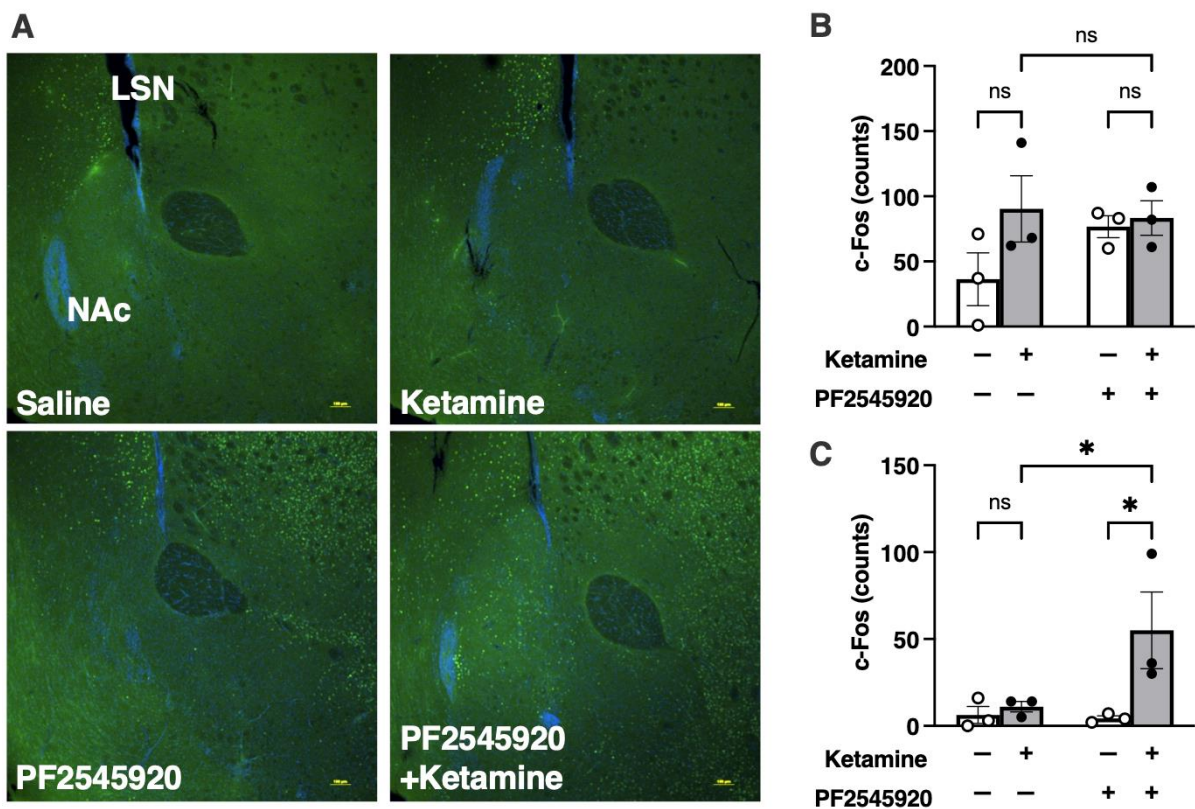


Fig. 1. Ketamine および PF-2545920 が外側中隔核および側坐核における c-Fos 発現に及ぼす影響 (A) 生理食塩水(Saline)、ketamine、PF-2545920、または PF-2545920 前投与後の ketamine 投与による外側中隔核 (LSN) および側坐核 (NAc) における c-Fos 免疫染色像の典型例。c-Fos 陽性細胞を緑色、DAPI を青色で示す。スケールバー：100 μ m。(B) 外側中隔核 (LSN) および (C) 側坐核 (NAc) における c-Fos 陽性細胞数の定量 (各群 n=3)。データは平均 \pm SEM で示す。統計解析は二元配置分散分析後の多重比較により行った。*P < 0.05、ns：有意差なし。

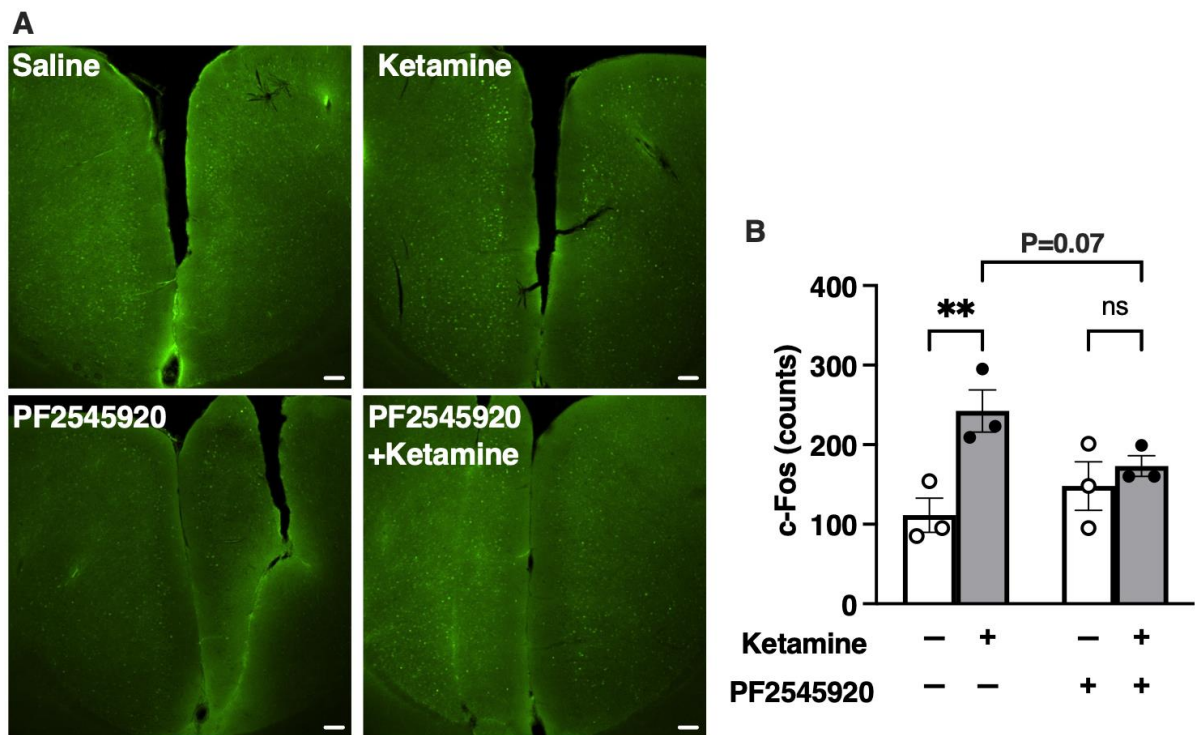


Fig. 2. Ketamine および PF-2545920 が前頭前皮質における c-Fos 発現に及ぼす影響

(A) 生理食塩水(Saline)、ketamine、PF-2545920、または PF-2545920 前投与後の ketamine 投与による前頭前皮質 (PFC) における c-Fos 免疫染色像の典型例。c-Fos 陽性細胞を緑色、DAPI を青色で示す。スケールバー：100 μ m。(B) PFC における c-Fos 陽性細胞数の定量 (各群 n=3)。データは平均 \pm SEM で示す。統計解析は二元配置分散分析後の多重比較により行った。**P < 0.01、ns：有意差なし。

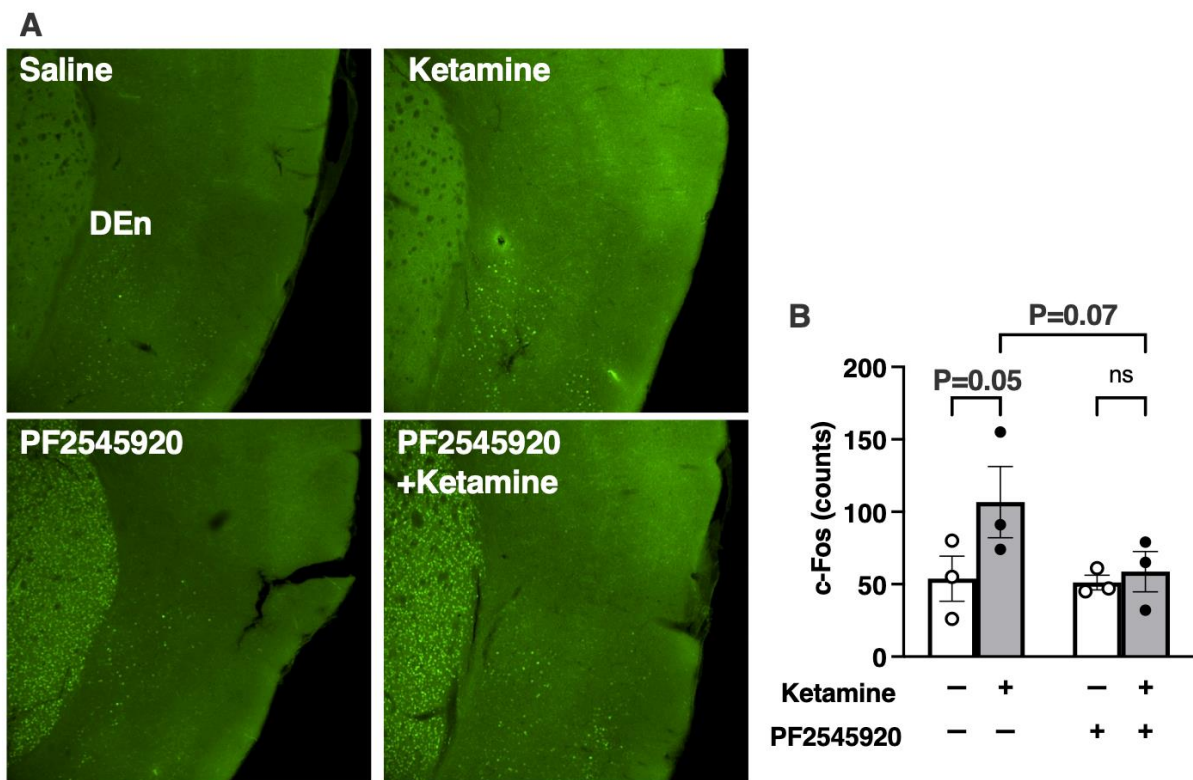


Fig. 3. Ketamine および PF-2545920 が背側内梨状核 (DEn) における c-Fos 発現に及ぼす影響 (A) 生理食塩水(Saline)、ketamine、PF-2545920、または PF-2545920 前投与後の ketamine 投与による DEn における c-Fos 免疫染色像の典型例。c-Fos 陽性細胞を緑色、DAPI を青色で示す。スケールバー：100 μ m。 (B) DEn における c-Fos 陽性細胞数の定量 (各群 n = 3)。データは平均 \pm SEM で示す。統計解析は二元配置分散分析後の多重比較により行った。ns：有意差なし。