

マイクロダイアリシス法による中枢神経作用薬のスクリーニング
-メチレンジオキシピロバレロン強制経口投与マウス線条体内ドーパミン量の経時的変化-

不破 達, 福森 信隆, 田中 豊人, 久保 喜一, 小縣 昭夫, 上原 眞一
本多 芳子, 児玉 亨

Microdialysis Study of Drug Effects on Central Nervous System
- Changes of Dopamine Levels in Mice Striatum after Oral Administration of Methylenedioxypropylone -

Tatsu FUWA, Nobutaka FUKUMORI, Toyohito TANAKA, Yoshikazu KUBO, Akio OGATA, Shin-ichi UEHARA,
Yoshiko HONDA, Tohru KODAMA

マイクロダイアリシス法による中枢神経作用薬のスクリーニング -メチレンジオキシピロバレロン強制経口投与マウス線条体内ドーパミン量の経時的変化-

不破 達*, 福森 信隆*, 田中 豊人*, 久保 喜一*, 小縣 昭夫*, 上原 眞一**
本多 芳子***, 児玉 亨***

Microdialysis Study of Drug Effects on Central Nervous System - Changes of Dopamine Levels in Mice Striatum after Oral Administration of Methylenedioxypropylamphetamine -

Tatsu FUWA*, Nobutaka FUKUMORI*, Toyohito TANAKA*, Yoshikazu KUBO*, Akio OGATA*, Shin-ichi UEHARA**,
Yoshiko HONDA***, Tohru KODAMA***

Extracellular levels of dopamine (DA) and serotonin (5-HT) were determined in the striatum of freely-moving mice, using microdialysis and high performance liquid chromatography with electrochemical detection (HPLC-EC). Dialysates were collected at 10 minute intervals for 2.5 hours after oral administration of methylenedioxypropylamphetamine (MDPV). Sixty minutes after MDPV administration, the experimental group showed increased extracellular DA levels about 2.1 times higher than those of the control group. MDPV had a milder effect on the increase of DA levels than the amphetamine-like stimulants, methamphetamine (METH) and methylenedioxymethamphetamine (MDMA). However, MDPV showed no significant influence on 5-HT.

Keywords : マイクロダイアリシス microdialysis, メチレンジオキシピロバレロン methylenedioxypropylamphetamine, ドーパミン dopamine, 線条体 striatum

はじめに

中枢神経作用物質は、神経伝達物質の各種合成酵素や分解酵素に作用するもの、特異的トランスポーター分子に作用するもの、特異的な神経受容体に結合するものなど、薬物の作用部位は多岐にわたる。いずれにしても、中枢神経作用物質の多くは、神経シナプス間隙の特異的な神経伝達物質の増減を引き起こす。従って、薬物がどの神経伝達物質の増減を引き起こすか、さらに、その増減の程度と持続時間を明らかにすることによって、薬物の中枢神経薬理作用を知ることができる。

神経伝達物質を神経軸索終末に放出する神経を伝達物質に「作動性」を付け、例えばドーパミン(以下DAと略す)作動性神経と呼ぶ。線条体(striatum)には、ほとんどの伝達物質作動性神経の軸索終末が形成されている。例えば、黒質のDA作動性神経、縫線核のセロトニン作動性神経、大脳皮質のグルタメート作動性神経、線条体内の介在神経であるアセチルコリン作動性神経、青班核のノルアドレナリン作動性神経などの神経終末が存在している¹⁾。従って、実験動物の線条体に刺入されたマイクロダイアリシス・プローブ(以下プローブと略す)から神経伝達物質を含んだ試料を経時的に回収するマイクロダイアリシス法(微量透析法)と高速液体クロマトグラフィー(以下HPLCと略す)

とを組み合わせることによって、ほとんどの神経伝達物質の経時的動向を調べることができる。

覚醒剤として知られるメチレンジオキシメタンフェタミン(以下MDMAと略す)は、興奮作用と幻覚作用を有し、セロトニン(以下5-HTと略す)の放出を刺激する。また、MDMAの類似薬物であるメタンフェタミン(以下METHと略す)と同様に、神経細胞外DA量を増加させる⁴⁾。これらの急性作用に加え、MDMAとMETHは濫用によって、DA作動性神経および5-HT作動性神経を破壊することが知られている^{5) 6)}。メチレンジオキシピロバレロン(以下MDPVと略す)は食欲抑制作用のあるピロバレロンの3,4-メチレンジオキシの化学構造類似物であるが、メチレンジオキシフェニラルキアミン由来のMDMAと同様な効果を持つといわれている^{2) 3)}。しかし、MDPVの中枢神経作用に関する生体影響の科学的情報は、ほとんど報告されていない。

そこで本研究は、MDPVを対象薬物として、マイクロダイアリシス法によって線条体内神経細胞外DAと5-HTの量の測定を試みた。また、行動実験と連続投与実験の成績との関連を考察し、マイクロダイアリシス法による薬物スクリーニングの有用性について検討した。

* 東京都健康安全研究センター環境保健部生体影響研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター環境保健部

*** 東京都神経科学総合研究所心理学研究部門

実験方法

1. 実験概要

マウス線条体からの脳内生体試料採取日は、プローブ埋め込み外科手術の翌日 (MDPV 2 mg/kg体重 投与) と翌々日 (MDPV 20 mg/kg体重 投与) とした。試料採取当日、手術からの回復を確認したマウスを30 cm x30 cm x40 cmのアクリル製箱に入れ、自由行動下でプローブをマイクロポンプ (エイコム社ESP-64) に接続して、透析液を毎分2 μ Lの流速で2時間流した後に試料採取を開始した。試料採取開始から30分後に蒸留水を経口投与した。蒸留水投与から1時間後にMDPVを経口投与し、MDPV投与から2時間半後まで試料採取を行った。マイクロダイアリシスによって採取された試料を用いてHPLCと電気化学検出器によってDAと5-HTの量を測定した。実験終了後、ペントバルビタール70 mg/kg腹腔内注射による深麻酔下で心臓カテーテルによって4%パラフォルムアルデヒドで灌流固定し、脳を摘出した。脳は凍結マイクロトーム (Tissue-Tek Cryo 2000) によって、厚さ20 μ mの前頭断面薄切片にした。薄切片はDAの合成酵素であるチロシン水酸化酵素 (以後THと略す) の抗体による免疫組織化学染色後、メチル緑色素によるRNA (核) 染色をおこなった。その後スライドガラスに貼り付け、カバーガラスで包埋して光学顕微鏡によってプローブの刺入痕跡を観察し、プローブが線条体に刺入されていたことを確認した。さらに、後述する行動量測定実験と連続投与実験をおこなった。

2. 動物

マイクロダイアリシス法の実験には、Crlj:CD1(ICR)系雄性マウス (日本チャールス・リバー) 生後8週齢、体重34~39g (実験開始時) の6匹を用いた。搬入後、室温25°C、湿度50%、照明時間午前6時から午後6時までの飼育環境室で固形試料CE-2 (日本クレア) を与え3日飼育し、搬入から4日目にプローブ脳内埋め込み術を行った。

行動実験および連続投与実験には、Crlj:CD1(ICR)系雄性マウス5週齢、体重30~34 g (日本チャールス・リバー)、各々3匹を用いた。

全ての実験は国立衛生研究所の動物の管理と使用のためのガイドラインに従い、東京都神経科学研究所の動物実験の倫理委員会、健康安全研究センターの動物実験委員会の審査を得て行われた。

3. 試験薬物

薬事監視課が市場入手し、健康安全研究センター医薬品研究科において純度80% (HPLC分析) のMDPVと判定されたものを試験薬とした。対照薬物としてMDMA (薬事監視課市場入手・健康安全研究センター医薬品研究科精製保管経由、純度99.8%) とMETH (大日本住友製薬Lot. 3712、純度99.9%) を使用した。

薬物は1 mgを1 mLの蒸留水で希釈し、20 mg/kg体重 投与量の水溶液として用いた。2 mg/kg体重 投与量の場合1 mg/mL溶液をさらに蒸留水で10倍に希釈した0.1 mg/mL溶液を用いた。

MDPVの2 mg/kg体重、METHの2 mg/kg体重、MDMAの20 mg/kg体重の投与量はヒトの1回の服用量の10倍量に相当する。

なお、薬物の使用は生体影響研究科の麻薬取り扱者である佐藤かな子氏の管理下で行った。

4. プローブのマウス線条体内埋め込み術

ペントバルビタール麻酔下 (腹腔内注射50 mg/kg体重) で脳定位固定台にマウス頭部を固定し、脳定位術によって、プローブ (エイコム社D-I-6-02) をマウス線条体に刺入した。プローブ先端位置は、頭蓋骨冠矢状縫合の交差点ブregma (Bregma) を基点として、尾側方向に0.7 mm、正中線より1.6 mm、脳表面より背腹側方向に深さ2.8 mmとした。刺入されたプローブは、プローブ周辺の頭蓋骨に固定したアンカー・ビス3本とともに歯科用セメントで覆い留置-固定した。

5. 試料採取法

マイクロポンプ (エイコム社ESP-64) に接続されたプローブからの透析液をフラクションコレクター (ライカ社製MSF-300) を用いて、毎分2 μ Lの流速で透析し、4°Cに冷却されたポリプロピレンチューブに10分おきに、それぞれ20 μ Lの透析液を回収し、分析時まで-80 °Cに保存した。なお、透析溶液の組成は、pH 7.4, Na⁺155.0 mM, Ca²⁺1.1 mM, K⁺2.9 mM, Mg²⁺0.8 mMであった。

6. 神経伝達物質DA、5-HT量の測定・分析

10分間隔で経時的に採取された20 μ Lの各試料について、DAと5-HT量をHPLCと電気化学検出器により測定した。試料採取開始後の30分間の平均値を100%とし、蒸留水投与後の30分間、MDPV投与前の30分間、MDPV投与から2時間半後までの30分間おきの平均値の変化率を求めた。なお、検出条件を以下に列記した。

1) 検出限界: 0.5 fmol, 2) 分離カラム: エイコム社製PP-ODS, 3) 移動相: 99%0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.0) +1%メタノール, 500 mg/Lデカンスルホン酸ナトリウム (SDS) (ナカライテスク), 50 mg/L EDTA-2Na, 4) 移動相流速: 500 μ L/min, 5) 分析温度: 25°C, 6) 作用電極: グラファイト電極, 7) 参照電極: 銀・塩化銀, 8) 設定電圧: +400 mV vs. Ag/AgCl

7. 行動量測定

蒸留水、MDPV (20 mg/kg体重)、MDMA (20 mg/kg体重)、METH (2 mg/kg体重) を経口投与し、投与直後から3時間後までの行動量を測定した。小動物運動解析装置ANIMATE AT 420E (東洋産薬株式会社製) によって移動

距離，動作回数を計測した．計測値は10分間の値とした．

8. 連続投与実験

MDMA および MDPV のそれぞれ 20 mg/kg 体重投与を1日に2回行い（午前9時と午後5時），これを5日間連続して合計10回の投与をおこなった．最終投与日から2週間経過した時点で，70 mg/kg 体重ペントバルビタール腹腔内注射による深麻酔下で心臓カテーテルによって，4% パラフォルムアルデヒド（2% 飽和ピクリン酸含む）で還流固定し，脳を摘出した．摘出後同固定液で一昼夜間，後固定し，その後20%ショ糖緩衝液で浸透圧調整をした．浸透圧調整後，脳を瞬間凍結して免疫組織化学の手技操作まで-80℃にて冷凍保存した．凍結ミクロトームによって厚さ20 μmの前頭断面薄切標本を作製し，浮遊法による免疫組織化学染色を行った．線条体内のDA作動性神経軸索および終末，縫線核の5-HT作動性神経の損傷の有無を調べるために，それぞれ抗TH抗体（CHEMICON社，AB152）および抗DATトランスポータ（以下DATと略す）抗体（CHEMICON社，AB1591P）と抗5-HT抗体（CHEMICON社，MAB352）を用いた．抗TH抗体は2000倍，抗DAT抗体は500倍，抗5-HT抗体は200倍に希釈して1次抗体反応を行った．2次抗体反応は，抗TH抗体及び抗DAT抗体反応にビオチン化抗ラビット正常血清（VECTOR社，BA-1000），抗5-HT抗体反応にビオチン化抗ラット正常血清抗体（VECTOR社，BA-9400）をそれぞれ400倍の希釈液によって行った．2次抗体反応後，ABC法によって増感し，抗TH抗体陽性反応像を得るためにジアミノベンチジンによる茶色発色と抗DAT抗体および抗5-HT陽性反応像を得るためにニッケル-ジアミノベンチジンによる黒色発色を行った．その後スライドガラスに貼り付け，メチル緑色素によってRNA（核）染色後カバーガラスによって封入した．これらの標本は光学顕微鏡（オリンパス社製AH-2）にて観察するとともに，CCDカメラで映像をデジタル化して，画像収録システム（オリンパス社製DP Controller）によって保存した．

結果及び考察

1. プローブのマウス脳内刺入法

刺入法には2通りの方法がある．一つは，径の太いステンレス製パイプをガイド・パイプとして脳に埋め込み留置し，その外科手術から1週間程度の回復を待って，プローブをガイド・パイプ内に挿入する方法である．この方法は術後の回復を待てる点で優れているが，小型のマウスが実験動物の場合，脳の大きさに比して太すぎるパイプが脳に刺入され，脳組織の物理的損傷程度が大きくなる．従って，ラットには使われるが，マウスの実験に採用されることが少ない．もう一つは，今回採用したプローブを脳に直接刺し入れて留置する方法である．この方法では，術後3日以

降には透析膜凝固によって試料回収が困難になる．従って，術後2日以内にマイクロダイアリシスをおこなう必要があり，刺入術後から比較的短い経過時間後に試料採取するため，採取された試料が安定しにくいことが懸念された．しかしながら，マウスはプローブ刺入・留置術の麻酔から約3時間後に覚醒し，外科手術の翌日には水と餌の摂取を認め，行動の異常は認められなかった．また，神経伝達物質測定値は薬物投与前の時点で安定しており，投与後の経時変化が検出できた．

以上のことから，マウスの実験では，プローブの直接刺入・留置による試料採取法の採用が適切な選択であったと考えられた．また，外科手術を含め4日間で実験成績が得られ，in vivo の中枢神経作用試験としては迅速な試験方法といえる．

2. 線条体内神経細胞外DA量

Fig.1はMDPV投与前後の線条体内神経細胞外DA量の経時変化を示す．それぞれ10分間の採取試料からDA量をHPLCで測定し，連続する3つの計測値すなわち30分間のDA量の平均値を求めた．グラフでは，試料採取開始から30分後までの平均値を100%とし（Fig.1, Cont），その後の30分間の平均値との百分率をDA量として示している．試料採取開始から30分後に経口投与による影響を調べるために蒸留水を経口投与したが，蒸留水投与後の30分間のDA量はほとんど変化しなかった（Fig.1, D.W.）．その後の30分間はMDPV投与前の状態を調べるために試料を採取したが，この時点でも有意な増減は認められなかった（Fig.1, Before）．MDPV投与後は，30分おきにDA量の変化を求めた．2 mg/kg 体重投与では投与後わずかに増加する傾向を示したが，有意でなかった（Fig.1, 30 min~2.5 h, open bars）．

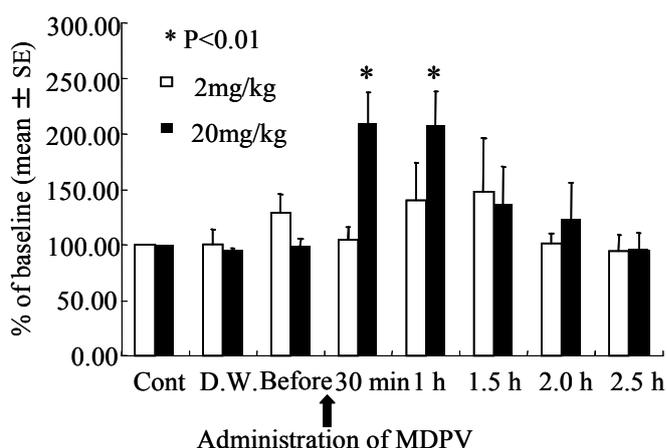


Fig. 1 Effects of MDPV on extracellular levels of DA in striatum. The values are percentages against the baseline values of control. *: Significantly different from the control value at $p < 0.01$

20 mg/kg 体重投与では，投与後の30分間と30分から1時間後に約210%とDA量増加が認められた（Fig.1, 30 min, 1 h closed bars）．この量は，投与前の量と比較して， $p < 0.01$ 水

準の有意差を示した。その後DA量は漸次減少し、2時間以降に投与前のレベルに戻った (Fig. 1, 2.5 h closed bar)。以上のように、MDPVは線条体内の神経細胞外のドーパミン量を増大させる作用を持つことが明らかとなった。

線条体内神経細胞外ドーパミン量は、類似薬物によっても増加する。Goughら⁴⁾はマイクロダイアリシスによって、MDMA (20 mg/kg体重) の皮下投与で線条体内神経細胞外DA量が約1時間後に投与前の1000%近くに増加し、3時間経過した時点でも200%以上のレベルを維持することと、METH (2.5 mg/kg体重) の皮下投与で700%近くに増加し、投与前のDA量に戻るまでに3時間程度を必要とすることを報告している。我々も、METH (30 mg/kg体重) の皮下投与で線条体内神経細胞外DA量が投与前の約1200%に増加し、投与から3時間経過した後にも投与前の量に戻らないという成績を得ている⁷⁾。

一方、我々はMDMAの類似薬物であるパラメトキシメタンフェタミン (以下PMMAと略す) を経口投与 (20 mg/kg体重) すると、DA量の増加は投与後1時間後に投与前の約170%程度にとどまる成績を得ている (投稿中)。なお、PMMAは昨年、都知事指定薬に指定され、今年になって厚生労働大臣の指定薬とされた。

以上の成績から投与方法や薬物の純度の違いもあり、短絡的に比較できないが、MDPVの神経細胞外DA量増加を引き起こす中枢神経薬理作用はMETH, MDMAより弱く、PMMAよりもやや強いものと考えられる。

3. 線条体内神経細胞外 5-HT 量

MDMAは5-HTの放出を促進することが知られている。Goughら⁴⁾は20 mg/kg体重のMDMA皮下注によって、線条体内神経細胞外5-HT量が投与40分後に投与前の600%程度に増加し、投与後2時間半以降に投与前の量に戻ると報告している。このことからすれば、MDPVも線条体内神経細胞外の5-HT量を増加させる作用があると予想されたが、予想に反して、5-HT量の有意な増加を認めるには至らなかった。

我々は以前にPMMA (20 mg/kg体重) 経口投与実験で、線条体内神経細胞外の5-HT量が投与前の約3200%という著明な増加を検出した (投稿中)。このPMMA投与実験は本研究と同時期に、同じ手法を用いて行っているため、MDPV投与で5-HT量の有意な変化が検出できなかったのは手技的な不備によるものではないと考えられる。

以上のように、MDPVは、MDMAに化学構造が類似し、その作用も同様とされるが、5-HTの放出が刺激されなかった。このことは化学構造類似薬物でも、その中枢神経作用が異なることを示した実験結果といえる。

4. 行動量とDA量

Fig. 2 は、蒸留水 (D.W.)、MDPV (20 mg/kg体重)、MDMA (20 mg/kg体重)、METH (2 mg/kg体重) の経口投与後のマウスの移動距離 (Fig. 2A) と行動回数 (Fig. 2B)

の変化推移を示している。行動量は蒸留水または薬物を投与した直後から測定した。

蒸留水投与マウス (Δ) は、行動解析装置内に入れられた直後に移動距離、行動回数ともに一時的に大きな値を示した。この行動量の変化は、経口投与手技によるマウスの興奮状態と解析装置に入れられたという異所性探索行動を反映した結果と考えられる。しかしながら、この状態は長くは続かず、その後の増加は認められず、時間経過とともに右下がりの曲線を描き減少した。

MDPV (\bullet)、MDMA (\blacktriangle) 及びMETH (\circ) 投与による行動量の変化推移は、蒸留水投与の対照群マウス (Δ) のものと明らかに異なるパターンを示した。

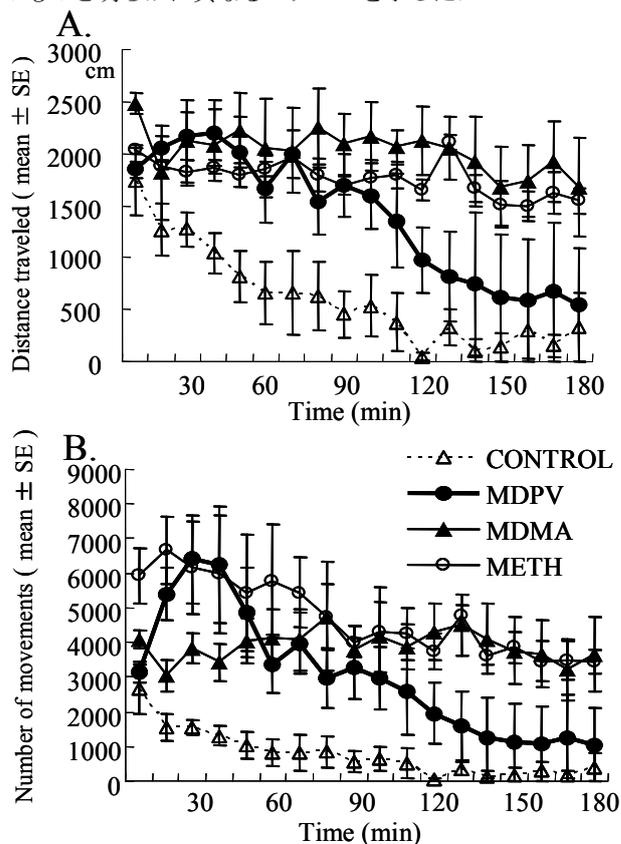


Fig. 2 Progressive changes of motor activity following the administrations of D.W. (CONTROL), METH, MDMA and MDPV. A: Distance traveled, B: Number of movements

MDPV投与による測定開始直後の行動量は、移動距離、行動回数とも蒸留水投与と同様に高い値を示した。しかしながら、その後は、蒸留水投与マウスとは異なり、投与から30-40分経過した時点まで測定開始直後よりも却って増加し続けた。その後、投与から1時間後にほぼ測定開始時の値に戻り、以降漸次減少した。すなわち、MDPVの場合は、投与から1時間までの間で、蒸留水の場合と異なり、行動量の増加が顕著に認められた。なお、1時間以降も蒸留水投与マウスと比較して高い値を示していた。

一方、MDMAおよびMETH投与の場合は、測定開始直後に移動距離、行動回数とも蒸留水投与マウスと同様に高い値

を示したが、その後の時間経過に伴う行動量の変化推移が蒸留水投与マウスとは異なり、測定開始の値をほぼ維持し続け、3時間経過した時点でも有意な減少を認めなかった。これらの結果は、METHおよびMDMAが投与後比較的長い時間行動量を増加させる興奮作用を有することを示す成績といえる。

以上の成績から、MDPVは行動量を増加させる興奮作用を持ち、MDMAならびにMETHと比較し、その作用時間が短い薬物と考えられた。

線条体内神経細胞外のDA量と運動量とは相関関係がある¹⁾。今回のDA量と行動量測定の実験結果からもDA作動性神経系が行動量増加に深い関わりを持っていることが確認された。前述のように、MDPVによる行動量の増加が顕著に認められる投与から1時間までの間の線条体内神経細胞外DA量は200%以上に増加していた。一方、MDMA及びMETH投与マウスの行動量は、投与直後から3時間後まで高い値を維持していた。この時のDA量は、Goughら⁴⁾の報告によれば、MDMA (20 mg/kg体重)ならびにMETH (2.5 mg/kg体重)皮下投与から1時間経過した時点で投与前の1000%ならびに700%と著明な増加を示し、その後は漸次減少するが、3時間後でも400%ならびに200%以上の値を示す。

以上のことから、線条体内神経細胞外DA量が200%以上に増加すると行動量増加を表出させる、言い換えれば、200%のDA量増加が行動量増加の閾値と推測された。

我々は同様の示唆をPMMA (20 mg/kg体重)経口投与実験からも得ている(投稿中)。すなわち、PMMA投与による線条体内の神経細胞外DA量は投与から30分から1時間半後の間で、投与前の約170%程度の増加にとどまり、一方、行動量の増加は観察されなかった。

今回の実験ではノルアドレナリン量は測定しなかったが、行動量増加はノルアドレナリンの神経細胞外濃度上昇によっても起こる¹⁾。また、MDMAはノルアドレナリンの放出を刺激する^{1) 3) 4)}。従って、MDMAに類似するMDPVも、DA作動性神経の興奮作用に加えて、線条体内神経細胞外のノルアドレナリン量の増加を引き起し、このノルアドレナリン作動性神経の興奮作用が行動量増加の一因となっている可能性がある。このことは、今回の実験結果の移動距離および行動回数がMDPV投与から1時間以降でも蒸留水投与マウスと比べ高い値を示していたことから推察された。

5. 連続投与実験

MDMA, METH は DA 作動性神経および 5-HT 作動性神経を損傷する^{5) 6)}。また、METH を長期にわたり濫用した人の線条体内 DA 作動性神経終末が減少することが知られている⁸⁾。これら神経の損傷には酸化ストレス (oxidative stress)、興奮毒性 (excitotoxicity)、ミトコンドリア機能障害 (mitochondrial dysfunction) が関与している⁶⁾。

本研究においては、MDPV 連続投与による DA 作動性神経と 5-HT 作動性神経に及ぼす神経毒性を免疫組織化学的手法によって調べた。

Fig. 3 に蒸留水連続投与、MDMA 連続投与、MDPV 連続投与マウスの免疫組織化学染色像の典型例を示す。Fig. 3A は、線条体 (striatum) 部の DA 作動性神経の軸索と終末の抗 TH 抗体免疫組織化学陽性像 (茶色) を示している。TH は、DA の前駆物質であるチロシンから DA を合成する際の補酵素である。そのため、抗 TH 抗体の陽性細胞は、DA

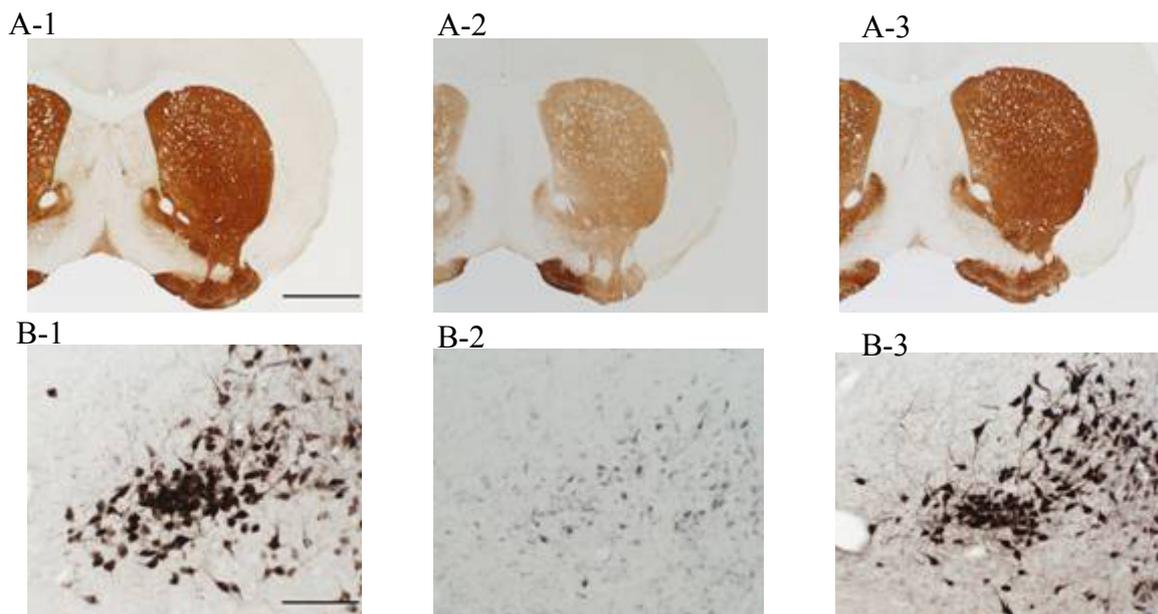


Fig. 3 Typical example of immunohistochemically reacted section of mice on the chronic treatment of distilled water (D.W.) (A&B-1), MDMA (A&B-2) and MDPV (A&B-3). Microphotographs show in A: TH (brown) immunoreactivity in mice striatum and in B: 5-HT (black) immunoreactivity in mice Raphe nucleus. Scale bar: 1mm (A-1), 100 μ m (B-1)

作動性神経として識別できる。A-1 は蒸留水を連続投与したマウス、A-2 は MDMA を連続投与したマウス、A-3 は MDPV を連続投与したマウスの光学顕微鏡による免疫組織化学染色像である。MDMA の連続投与 (A-2) では染色濃度の減少が認められたが、MDPV 投与では染色濃度の減少は認められなかった (A-3) 。なお、DAT は DA 作動性神経の軸索と神経終末に局在するので、抗 DAT 抗体による免疫組織化学陽性像は DA 作動性神経の軸索と終末を標識する。図には示さなかったが、抗 DAT 抗体による免疫組織化学陽性染色像の所見は抗 TH 抗体陽性像のものと同様であった。

Fig. 3B は、縫線核 (raphe nucleus) の神経細胞群の抗 5-HT 抗体による免疫組織化学陽性像 (黒色) の例を示している。B-1 は蒸留水、B-2 は MDMA、B-3 は MDPV を連続投与したマウスの例である。MDMA 投与では、5-HT 作動性神経細胞の萎縮および細胞数の減少が観察された (B-2) 。これに対して、MDPV 投与では縫線核 5-HT 作動性神経の萎縮及び細胞数の減少を観察しなかった (B-3) 。

以上の結果から、MDPV 連続投与では、DA 作動性神経ならびに 5-HT 作動性神経に何らかの損傷を与えないものと考えられた。MDPV による DA の放出量が MDMA の約 5 分の 1、METH の約 3 分の 1 と少ないことから、MDPV は、DA 作動性神経に損傷を及ぼすほどの効力を持たなかったのかもしれない。一方、MDPV による 5-HT 量の増減が認められなかったことから、MDPV は 5-HT 作動性神経に作用せず、毒性も示さないと考えられた。

本実験はヒトの 1 回の服用量の 100 倍量を連続 5 日、1 日 2 回投与するものであった。しかしながら、ヒトの MDPV 濫用では、比較的短時間で連続的に服用される例がインターネットで紹介されている (約 1 時間おきに 7 回)⁹⁾。このことから、MDPV の神経毒性を調べるに当たっては、今回よりも頻回に投与する必要があるかもしれない。また、前述のように、ノルアドレナリンに関する実験は行っていない。従って、今回の実験結果からだけで MDPV が中枢神経細胞を変性させるような神経毒性をもたないと判断することは、早計であり、さらなる検査を必要とする。

ま と め

MDPV は、類似薬物の MDMA と METH と同様に、DA 作動性神経への興奮作用を有する薬物であると判明した。DA 作動性神経への作用時間は MDMA、METH よりも短く、その作用程度も弱いものと考えられた。また、この種の中枢神経作用薬物は、線条体内神経細胞外の DA 量が投与前の 200%以上に増加すると行動量の増加を引き起こす可能性が示唆された。

一方、MDPV は、5-HT 作動性神経への作用を示さなかったという点で、化学構造式の類似する MDMA とは異な

っていた。

また、MDPV による DA ならびに 5-HT 作動性神経の損傷は観察されなかった。しかしながら、ノルアドレナリン作動性神経、投与の量および頻度など、神経毒性の有無については、更に検討する必要があるかもしれない。

以上のように、マイクロダイアリスによる実験は、試験物質がどの神経伝達物質作動性神経に、どの程度、どのぐらいの時間、作用するかを明らかにでき、その成績からある程度、薬物による行動変化や神経損傷の背景を知ることができる。また、実験結果は短期間で得られ、迅速な薬物スクリーニング法と言える。

国は薬事法改正によって、違法ドラッグの取り締まり規制を強化した (第二条第十四項関係) 。しかしながら、それらによる中枢神経作用にかかわる生体影響の科学的情報は、依然として乏しいのが現状である。最近では、麻薬・覚醒剤の密輸入の増加のみならず、中枢神経作用物質が含まれる製品がダイエット食品として出回り、健康被害も多く報告されている。そのため、健康被害の科学的情報提供は、益々必要とされている。このような背景から、本研究は薬物等の中枢神経作用の科学的情報を迅速に得るために計画されたものである。

文 献

- 1) Carlson, N.R.: *Physiology of Behavior*, 8th ed., chap. 4, 2004, Pearson Education, Inc.
- 2) MDPV-Wikipedia, the free encyclopedia
<http://en.wikipedia.org/wiki/MDPV> (2007 年 8 月 30 日現在、なお、本 URL は変更または抹消の可能性がある)
- 3) Meltzer, P.C., Bultler, D., Deschamps, J.R. and Madras, B.K.: *J. Med. Chem.*, **49**, 1420-1432, 2006.
- 4) Gough, B., Imam, S.Z., Blough, B., et al.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **965**, 410-420, 2002.
- 5) Brown, P. and Molliver, M. E.: *J. Neurosci.*, **20**, 1952, 2000.
- 6) Quinton, M.S., and Yamamoto, B.K.: *The AAPS J.*, **8**, 337-347, 2006.
- 7) Imai, Y., Inoue, H., Kataoka, Y., Takahashi, R., et al.: *Neurosci. Res.*, in press, 2007.
- 8) McCan, U.D., Wong, D.F., Yokoi, F., et al.: *J. Neurosci.*, **18**, 8417-8422, 1998.
- 9) Erowid Experience Vaults Report
<http://www.erowid.org/experiences/exp.php?ID=47047> (2007 年 8 月 30 日現在、なお、本 URL は変更または抹消の可能性がある)