

市販品ハルマラの雄マウスを用いた神経系スクリーニング試験

福森 信隆, 安藤 弘, 久保 喜一, 湯澤 勝廣, 長澤 明道, 高橋 博,
矢野 範男, 不破 達, 小縣 昭夫, 上原 眞一

Screening Test to Nervous System of Male Mice Administrated Extract from Commercial Harmala

Nobutaka FUKUMORI, Hiroshi ANDO, Yoshikazu KUBO, Katsuhiko YUZAWA, Akemichi NAGASAWA,
Hiroshi TAKAHASHI, Norio YANO, Tatsu FUWA, Akio OGATA, Shinichi UEHARA

市販品ハルマラの雄マウスを用いた神経系スクリーニング試験

福森 信隆*, 安藤 弘*, 久保 喜一*, 湯澤 勝廣*, 長澤 明道*, 高橋 博*,
矢野 範男*, 不破 達*, 小縣 昭夫*, 上原 眞一**

Screening Test to Nervous System of Male Mice Administrated Extract from Commercial Harmala

Nobutaka FUKUMORI*, Hiroshi ANDO*, Yoshikazu KUBO*, Katsuhiro YUZAWA*, Akemichi NAGASAWA*,
Hiroshi TAKAHASH*, Norio YANO*, Tatsu FUWA*, Akio OGATA*, Shinichi UEHARA**

Keywords: スクリーニング試験 screening test, 神経系 nervous system, 雄マウス male mice, ハルマラ抽出液 harmala extract

はじめに

東京都では、国に先行して平成17年4月に「東京都薬物の濫用防止に関する条例」（いわゆる脱法ドラッグ条例）を制定し、麻薬や覚醒剤と類似する作用を持つ薬物を規制した。それまでは、このような作用を持つ薬物がインターネットや輸入雑貨店等で容易に購入できたために、濫用による健康被害や事件が発生し、社会問題になっていた。本条例の施行により、化学系ドラッグ（デザイナーズドラッグ）の都内での販売は皆無に等しくなり、条例の効果が実証された。しかし一方では、法律で規制されない植物系ドラッグが植物標本やハーブとして売られている。植物系ドラッグの成分には、麻薬や覚醒剤と類似したものあるいは幻覚作用を持つ成分が含まれていることが多く、これら植物系ドラッグの濫用とそれによる健康被害が懸念される。

国においては、全国的に濫用の未然防止・蔓延防止を行う目的で平成19年4月から薬事法を改正して規制を加えることになった。しかし、違法ドラッグとして規制の対象である32物質の中、植物系ドラッグはサルビアのみであることから、今後は植物系ドラッグに対する基礎資料の作成が重要となるものと考えられる。

植物系ドラッグは、主成分の他に複数の作用成分で構成されていると考えられることから、生体に及ぼす作用が複雑である。また、作用を増強させる目的でいくつかの植物を組み合わせる用いる場合がある。更に植物の産地や栽培条件、収穫時期等で含有成分に変動があるといわれている。

本研究は、植物系ドラッグの中で、市販されているハルマラを購入して対象とし、東京都薬物情報評価委員会に行動及び神経症状に及ぼす生体影響情報を提供するために我々が開発したスクリーニング試験法¹⁾の植物系ドラッグへの適用を試みた。ハルマラ市販品の抽出液を実験動物に投与した時の生体作用を確認すると共に、幻覚・興奮作用を有するトリプタミン系薬物の α -methyltryptamine (AMT) を

併用して摂取させ、ハルマラ単独での作用と比較した。

実験方法

1. 被験物質

ハルマラは、輸入雑貨店から購入した。写真1に示すように植物標本として透明な袋で密封され、検疫確認済みの表示がみられた。産地はオランダで、10gの細長い形状の種子が入っていた（写真2）。

2. 実験動物

動物は、Crj:CD1(ICR)系雄マウス（日本チャールス・リバー）を5週齢で購入し、3日間の馴化飼育を行った後、体重約25gで下痢等の異常症状の無い動物を実験に使用した。

3. 飼育条件

動物の飼育は、温度 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ 、照明時間午前6時から午後6時までのマウス飼育室でチップ床敷きのプラスチックケージに1匹飼いとすした。飼料は固形のCE-2（日本クレア）を、水は給水瓶から、それぞれ自由に摂取させた。症状の観察時には、ポリエチレンでコーティングされた白色ろ紙をケージに床敷きとして使用し、給水を中止して行った。

4. 試験及び観察方法

ハルマラは、ヒトの1回の使用量を約5gとして、粉末で服用あるいは煎じて飲用されていた。今回の実験では、マウスに強制的投与を行うため、蒸留水で種子を煎じた抽出液を動物に与えた。投与濃度は、ヒトの体重を50kgとすると、0.1g/kg体重を1回のヒト使用量と換算して、はじめに約100倍の高用量の抽出液を作り、蒸留水で希釈して10倍の中用量及び1倍の低用量を設定した。また、ハ

* 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

結果及び考察

1. 行動及び神経症状観察

ハルマラ抽出液の主要症状は写真3に示し、観察項目での用量と時間経過の詳細は表1に行動を、表2に中枢神経症状を、表3に自律神経症状を、それぞれ平均評価値としてまとめた。特に評価値の絶対値が1以上の強い作用を持つ項目は、赤枠で表した。

ハルマラの行動観察は、対照群と比較して低用量群で差がみられなかった。中用量群では触反応で軽度の増加傾向を示したが著しい反応ではなかった。痛反応では、1時間後から強い反応を認めた。高用量群で消極性及び洗顔運動、立ち上がり動作の抑制が観察された。これは、中枢神経症状である自発運動や歩行の抑制と相関しているものと示唆された。反対にエサ箱にしがみつく反復動作や痛反応は、亢進していた。また1時間後から前肢を上げ、ピアノを弾く様な行動をする反復動作や首を伸ばして上下運動を行う常同行動が頻繁に認められた。これらの動作は、マウスにおける脳内セロトニンの増量と関連があることが知られている。

ハルマラの中枢神経症状では、行動と同様に低用量群での変動がみられなかった。中用量群では、払いのけ反射の増加が認められたが他の項目の作用は顕著でなかった。高用量群では、自発運動の抑制に付随して後肢外転による腹ばい歩行や不安定に傾いた異常姿勢が30分後の早期からみられ、2時間後まで継続していた。船田は、ハルマラに含有するハルミンに用量依存的な運動抑制作用があり、脳の線条体や海馬でセロトニンの著しい増加がみられることを確認している³⁾。また、中用量群ではみられなかった挙尾反応がみられ、特異的な神経症状として、痙攣と異なる全身性の持続的なふるえが投与直後から顕著に観察された。このふるえは、外的刺激で増強され、2時間以上続いていた。モノアミン酸化酵素 (MAO) 阻害物質であるハルミンやハルマリンを含有するハルマラは、セロトニンの再取り込みを抑制するために神経節間隙でセロトニンの増加が起り、いわゆる「セロトニン症候群」を呈するため、幻覚作用と共に本態性振せんを誘発する⁴⁾。マウスにクロロフェニルアラニンを投与して、小脳オリブ核のセロトニン合成を阻害すると、ハルマリンが誘発する振せんを弱める⁵⁾。また、セロトニンの前駆物質であるトリプトファンやセロトニン量を増やすといわれているカフェインをラットに投与すると、ハルマリンによる振せんが増強され、長時間持続する⁶⁾。更に、セロトニンの再取り込みを阻害する抗うつ剤であるイミプラミンは、ラットに与えると、ハルマリンによる振せんを用量依存的に増強させる⁷⁾。これらのことから、本研究で観察されたハルマラの神経症状であるふるえは、脳内セロトニン量の増加に起因するものと示唆された。

ハルマラの自律神経症状は、低用量並びに中用量群で対照群と差がなかった。高用量群では、眼瞼の開裂や心拍数の増加、立毛がみられた。皮膚が早期に赤色を呈する傾向



写真1. 市販のハルマラ種子の包装品



写真2. ハルマラ種子の拡大

ルマラの10倍抽出液(中用量)にAMTの1.2 mg/kg体重(ヒト使用量の10倍量)を併用投与して、相互作用について検索した。

各群の動物は、1群5匹を用いて被験物質を経口ゾンデで3日間の連続強制投与を行い、投与期間中の行動及び神経症状を観察すると共に、最終投与から24時間後に解剖した。同様な方法で蒸留水を与えたものを対照群とした。

毎日体重を測定すると共に摂餌量を調べた。行動及び神経症状の観察は、Irwinの方法²⁾を基に我々が開発し、作用の発現形態あるいは作用強度を客観化した評価表により行った¹⁾。観察項目は、行動に対して攻撃性、反復動作、洗顔、外界反応等9項目、中枢神経症状に対して自発運動、異常姿勢、異常歩行、挙尾、耳介反射、痙攣等13項目、自律神経症状に対して眼球突出、瞳孔、便、よだれ、心拍数、立毛等13項目を数値化してドラッグの作用を比較した(表1-3)。平均した評価値の絶対値が1以上を示す時、作用が強いと判定した。

解剖時には、エーテル麻酔を行い、剖検で組織の肉眼的異常の有無を確認した。臓器重量は、脳、肝臓、肺、腎臓、心臓、脾臓、副腎、精巣の絶対重量の測定を行い、また体重比当たりの相対重量を求めた。



蒸留水投与1時間後（対照動物）

- ・うずくまり姿勢
- ・閉眼



中用量抽出液投与1時間後

- ・うずくまり姿勢



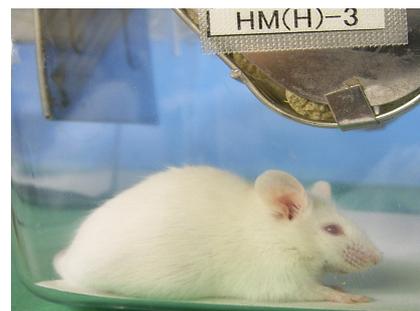
中用量抽出液AMT併用投与1時間後

- ・首振り運動
- ・眼瞼開裂



中用量抽出液AMT併用投与2時間後

- ・立ち上がり常同行動
- ・眼瞼開裂



高用量抽出液投与1時間後

- ・自発運動抑制
- ・腹ばい姿勢



高用量抽出液投与2時間後

- ・立ち上がり常同行動
- ・眼瞼開裂

写真3. ハルマラ及びAMT併用投与で観察されたマウスの主要症状

にあり、体温の低下が軽度で観察された。また、尿や便の排泄が減少していた。

今回の実験では、植物系ドラッグとして市販されているハルマラの抽出液を使用したため、含有している幻覚成分であるハルミン及びハルマリンの量が不明である。船田の調査によると、都内で購入したハルマラは、ハルミンとハルマリンを、それぞれ 30~40 mg/g, 60~65 mg/g 含んでいる³⁾。今後は、収穫場所や時期による主要成分の含有量の相違を考慮して、あらかじめ成分量を調べる必要がある。同時に、含有している個々の成分と作用形態や作用強度を比較することが重要であると考えられる。しかし、ハルマラ抽出液の低用量あるいは中用量群で行動や神経症状が明確で無いのに対して、高用量群で作用が確認されたことは、今回の市販品においても一定量の幻覚成分を含有していることが明らかである。

ハルマラの行動及び神経症状の観察から、低用量群は変化がみられず、中用量群で痛反応や払いのけ反射の亢進、高用量群で自発運動の抑制、異常歩行・姿勢、痛反応や払いのけ反射の亢進、眼瞼の開裂、ピアノ動作・首振り運動の増加、ふるえの持続等の症状を示したことから考察すると、抑制作用を持つ植物系ドラッグであると推測される。

ハルマラの中用量に AMT を併用投与すると、ハルマラ単独より強い変化を認めた。行動では、エサ箱へのしがみつきの動作や首振り運動が早期からみられ、ハルマラ高

用量群より強く作用する傾向が認められた。更に触反応及び痛反応も 30 分後から強い反応を示した。一方立ち上がり動作は、中枢神経症状の自発運動の項目と同様に 30 分後では抑制傾向を認めるが、1 時間後以降、亢進状態へと変わっていった。耳介反射や角膜反射、払いのけ反射は、ハルマラの中用量群に比べ、強く現れていた。高用量群でみられたふるえに対しては、AMT による影響を認めなかった。自律神経症状では、眼瞼の開裂が長時間にわたり持続していた。以上のことから、AMT との併用投与は、ハルマラの単独作用に対して影響したというより、むしろ AMT の知覚過敏や興奮作用が強く現れている可能性が考えられる。すなわち、今回同時に行った試験ではないが、同じ週齢のマウスに AMT の 1.2 mg/kg を単独で投与した評価値(東京都薬物情報評価委員会に提出済み)と比較すると、作用がみられた項目で AMT 単独の作用が増強されていた。このことは、トリプタミン系の薬物であり、強力な幻覚・興奮作用を持つ AMT の作用が、MAO 阻害物質であるハルマラとの併用により増強されたことに基づくものと思われる。これは、シャーマンやインディオが、植物由来で AMT に作用が似ている dimethyltryptamine (DMT) とハルマラを同時に服用して幻覚等の神経への作用効果を増大させるアヤワスカという方法⁸⁾に類似している。したがって、MAO 阻害物質と抗うつ薬や風邪薬等の医薬品あるいは神経伝達物質に影響を与えるチラミンを含

表1. ハルマラ及びAMT併用投与の行動観察における平均評価値

群	時間	観 察 項 目									
		攻撃性	消極性	反復動作	洗顔運動	発声	外界反応	触反応	痛反応	立ち上がり	
対 照	0.5h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
低 用 量	0.5h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中 用 量	0.5h	0	0	0	0	0	+0.2	+0.4	+0.4	0	0
	1	0	0	+0.2	0	0	0	+0.4	+1.0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	+0.4	+1.0	0	0
中 用 量 +AMT	0.5h	0	0	+2.0	-1.6	0	+0.2	+1.2	+1.4	-0.6	0
	1	0	0	+2.0	-0.6	0	0	+1.4	+1.8	+0.6	0
	2	0	0	+2.0	-0.4	0	0	+1.6	+2.2	+1.0	0
高 用 量	0.5h	0	-2.0	+1.6	-2.0	0	-0.6	-0.6	+0.2	-1.4	0
	1	0	-0.8	+1.2	-1.0	0	0	+0.2	+1.2	-0.8	0
	2	0	-0.4	+2.0	-1.0	0	0	-0.4	+1.0	-1.0	0

表2. ハルマラ及びAMT併用投与の中樞神経症状観察における平均評価値

群	時間	観 察 項 目												
		自発運動	異常歩行	異常姿勢	筋緊張度	挙尾反応	正向反射	耳介反射	角膜反射	払いのけ	ふるえ	痙 攣	懸垂力	指間離開
対 照	0.5h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
低 用 量	0.5h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中 用 量	0.5h	0	0	0	0	0	+0.2	0	+0.2	0	0	+0.2	0	0
	1	0	0	0	0	0	+0.4	+0.2	+1.0	0	0	+0.4	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	+1.0	0	0	0	0	0
中 用 量 +AMT	0.5h	-1.4	-0.4	0	0	0	+1.4	+1.2	+1.6	+0.4	0	0	0	0
	1	+0.8	-0.2	-0.2	+0.2	0	+1.4	+1.2	+1.8	0	0	+0.2	-0.2	0
	2	+1.4	0	0	0	0	+1.4	+1.4	+2.0	0	0	+0.2	0	0
高 用 量	0.5h	-1.8	-2.0	-2.0	-1.0	+1.4	-0.4	-0.4	-0.4	+0.8	+2.6	0	0	-0.6
	1	-0.8	-1.0	-1.8	-1.0	+0.2	-0.6	-0.4	-0.4	+1.2	+2.0	0	+0.8	-0.2
	2	-0.4	-1.0	-0.6	-0.6	+0.2	-0.4	-0.4	-0.2	+1.0	+1.6	0	+0.6	0

表3. ハルマラ及びAMT併用投与の自律神経症状観察における平均評価値

群	時間	観 察 項 目												
		眼球突出	瞳孔	眼瞼開裂	流 涙	排 尿	便 (軟硬)	便 (回数)	よだれ	呼吸数	心拍数	立 毛	体 温	皮膚の色
対 照	0.5h	0	-0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	+0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
低 用 量	0.5h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中 用 量	0.5h	0	+0.4	0	0	0	-0.2	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	+0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	-0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中 用 量 +AMT	0.5h	0	+0.6	+2.0	0	0	-0.2	-0.2	0	0	+0.4	0	0	0
	1	0	+0.6	+2.6	0	0	-0.2	+0.2	0	0	+0.4	0	0	0
	2	0	+0.8	+2.4	0	0	-0.2	+0.4	0	0	0	+0.2	0	+0.4
高 用 量	0.5h	+0.4	0	+1.0	0	-1.0	0	-0.8	0	0	+0.8	+0.6	-0.4	+0.4
	1	0	-0.4	+0.8	0	-1.0	0	-1.4	0	0	+0.4	+0.6	-0.8	0
	2	0	-0.8	+1.8	0	-1.0	0	-1.4	0	0	+1.2	+1.6	-0.6	+0.2

表4. ハルマラ及びAMT併用投与の体重・摂餌量並びに主要臓器重量

群	最終体重 (g)	体重増加率 (%)	摂餌量/日 (g)	肝臓 (g)	心臓 (mg)	脾臓 (mg)	肺 (mg)	腎臓(右) (mg)	脳 (mg)
対 照	28.6±1.4 ^{a)}	102.7±2.2	3.5±0.3	2.0±0.2 ^{b)} 6.8±0.5 ^{c)}	133.0± 9.6 465.5±25.4	109.3± 18.9 381.4± 53.9	175.8± 6.6 616.7±37.8	243.2± 35.1 850.6±113.2	481.4± 5.9 1688.5± 81.2
中用量	28.2±1.5	101.9±4.2	3.4±0.3	2.0±0.2 7.0±0.4	139.3± 5.2 494.2±31.1	119.4± 37.0 418.9±109.6	169.4± 9.0 599.9± 8.0	238.7± 20.1 846.4± 75.0	474.2± 11.7 1683.1± 96.3
中用量 +AMT	27.8±0.6	100.6±2.6	3.4±0.1	1.8±0.1 6.4±0.3	136.0± 5.2 489.8±26.0	87.8± 14.1 316.5± 54.9	165.6± 9.6 596.7± 41.4	240.4± 17.3 866.1± 74.1	481.3± 7.8 1733.3± 57.7
高用量	27.2±0.9	98.5±2.2 [*]	3.0±0.5 [*]	1.7±0.1 6.3±0.4	138.2± 9.2 508.8±27.0	109.7± 17.3 402.9± 56.2	169.6± 27.2 623.9± 95.4	233.6± 25.6 859.4± 81.2	472.7± 24.0 1739.5± 46.6

a) Mean ± SD

b) 絶対重量

c) 相対重量 (体重100g当たり)

* P < 0.05

むチーズや燻製魚、ハム、サラミ等の食品との併用摂取に当たっては、注意することが重要であると考え。

2. 体重及び摂餌量

投与3日後の中用量群からの体重及び摂餌量を表4に示した。対照群と比べ体重では、中用量群で差を認めず、高用量群で若干の低下を示したが、有意な差ではなかった。体重増加率と摂餌量では、高用量群のみで低下を認めた。このことは、脳内セロトニンの増加による摂食の抑制が関与していると考えられるが⁴⁾、短期間の試験では明らかでなかった。

3. 臓器重量

表4に主要な臓器重量の絶対あるいは相対値を示した。記載していない副腎、精巣を含め、いずれの臓器重量においても群間に有意な差はみられなかった。また解剖時の肉眼所見においても、異常な変化は認められなかった。

ま と め

東京都薬物濫用防止条例 (いわゆる脱法ドラッグ条例) の制定により、化学系違法ドラッグの販売は、ほぼみられなくなった。しかし、法律で規制されない植物系ドラッグが植物標本やハーブとして売られている。植物系ドラッグは、麻薬や覚醒剤と類似した成分が含有していることが多く、健康被害について社会問題となっている。本研究においては、市販のハルマラを対象として、我々の開発した神経系の作用を検索するためのスクリーニング試験法の植物

系ドラッグへの適用を試みた。その結果、知覚過敏や眼瞼の開裂、自発運動の抑制等の症状がみられ、またハルマラに起因する持続した全身性のふるえが観察された。トリプタミン系薬物との併用で、ふるえの増強はみられなかったが、ハルマラがAMTの幻覚・興奮作用を強めていると考察された。以上の結果より、この試験法は、植物系ドラッグの行動や神経症状の作用を調べるために有用であると判明した。

文 献

- 1) 福森信隆, 田中豊人, 安藤 弘, 他: 日本薬学会第125年会講演要旨集 CD版, 2005.
- 2) Irwin, S.: *Psychopharmacologia*, **13**, 222-257, 1968.
- 3) 船田正彦: 平成16年度厚生労働科学研究費補助金総括研究報告書, 「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」, 1-6, 2004.
- 4) セロトニンの作用, 田中千賀子, 加藤隆一編, NEW薬理学, 128-133, 2003, 南江堂, 東京.
- 5) Mehta, H., Saravanan, K.S. and Mohanakumar, K.P.: *Behav. Brain Res.*, **145**, 31-36, 2003.
- 6) Al-Deeb, S., Al-Moutaery, K., Arshaduddin, M., *et al.*: *Neurosci. Lett.*, **325**, 216-218, 2002.
- 7) Arshaduddin, M., Kadasah, S., Al-Dees, S., *et al.*: *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **81**, 9-14, 2002.
- 8) 有栖脱兎: 図解合法ドラッグ体験マニュアル, 113-122, 1999, 同文書院, 東京.