

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間： 2007 年度 ～ 2008 年度
 課題番号：19591370
 研究課題名（和文） 依存性薬剤である MDMA と覚せい剤の中毒に対するフリーラジカルの関与とその治療法
 研究課題名（英文） Free radical production induced by amphetamine derivatives in rat hypothalamus and study on treatment of hyperthermia induced amphetamine derivatives
 研究代表者
 西嶋康一 (NISIJIMA KOICHI)
 自治医科大学・医学部・准教授
 研究者番号：30198460

研究成果の概要：

わが国では methamphetamine (METH) などのアンフェタミン類の流行が社会問題となっている。その過量投与は高熱を呈し死亡の危険があり、またその作用機序は十分に解明されていないため、本研究を実施した。その結果、METH 10 mg/kg の投与によりラットは 42℃ 以上の高熱を呈した。Risperidone の前投与、後投与群では METH による体温上昇は有意に抑制された。5-HT_{2A} 受容体拮抗薬の前投与、後投与は METH による高体温を有意に抑制したが、5-HT_{2B/2C} 受容体拮抗薬の前投与は METH による高体温を抑制しなかった。また、5-HT_{1A} 受容体拮抗薬も METH による高体温は抑制しなかった。D₁ 受容体拮抗薬は前投与、METH による高体温を有意に抑制したが、D₂ 受容体拮抗薬の前投与は METH による高体温を抑制しなかった。METH と、同じアンフェタミン類である MDMA の投与により、視床下部の glutamate 投与 300 分後から上昇した。それに対して、risperidone の前投与は glutamate の後半の上昇を有意に抑制した。ラット視床下部の一酸化窒素代謝物(NO)は METH を投与すると徐々に増加し基礎値の約 180% まで増加したが、risperidone を前投与するとその上昇は有意に抑制された。また METH は MDMA との合剤で使用されることが多く、以前我々は risperidone は MDMA による高体温を抑制したことを報告した。これらを考え合わせると risperidone は METH による体温上昇に対し臨床上有効な治療薬になると考えられる。その作用機序は、5-HT_{2A} 受容体、D₁ 受容体拮抗薬作用によるものと考えられた。また METH による NO, glutamate などのフリーラジカル上昇を抑制することも体温上昇を抑制している機構である可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19 年度	3,000,000	900,000	3,900,000
20 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：精神神経学

キーワード：メタンフェタミン、フリーラジカル、グルタミン酸、一酸化窒素

1. 研究開始当初の背景

覚せい剤(METH)は本邦において乱用性薬物の中心を占めているが、近年では欧米をはじめ世界中でその乱用が拡大しており世界的にその乱用が問題になっている薬物である。また MDMA は欧米を中心に乱用され本邦でも若者を中心に乱用が拡大している薬剤である。METH, MDMA を大量摂取すると高体温、高血圧、頻脈、不整脈、精神運動興奮等を引き起こす。高体温はさらに多臓器不全や横紋筋融解症、DIC を引き起こし中毒者は死に至ることもある。

METH, MDMA による中毒症状による高体温の原因としては脳内ドパミン(dopamine, DA)の活性亢進及びに脳内セロトニン(serotonin, 5-HT)活性亢進によるものと考えられているが、近年フリーラジカンの関与も指摘されている。METH, MDMA による高体温に対しては補液や全身冷却等の対症療法が行われるが、確立した薬物療法は存在しない。以前我々は5-HT 受容体拮抗薬であり非定型抗精神病薬である risperidone が MDMA による高体温を抑制したことから、risperidone が METH による高体温に対しても有効であると仮説を立て実験を行った。

また今回 MDMA に関する追加実験も行った

2. 研究の目的

Risperidone の主な作用としては D_2 受容体拮抗作用、5-HT_{2A} 受容体拮抗作用を有しているがその他にも様々な DA, 5-HT 受容体拮抗作用を有しており、どの受容体が METH, MDMA による高体温に関与しているのか各種受容体拮抗薬を用いて検討した。

また体温中枢である視床下部において METH による細胞外液中の DA, 5-HT 濃度変化を脳内微小透析法を用いて測定した。さらに risperidone の投与は濃度変化に影響を与えるかも検討した。

いくつかの先行研究では神経伝達物質であるグルタミン酸(glutamate)やフリーラジカルである一酸化窒素(NO)が METH による神経毒性の一翼を担っていると報告されており、我々も視床下部において METH による glutamate や NO の細胞外液中の濃度変化を脳内微小透析法を用いて行った。MDMA についても glutamate の測定を行った。

3. 研究の方法

①METH,MDMA による高体温に対する各種薬剤の有効性の検討

METH による高体温に対する有効性の検討として METH 皮下投与(10mg/kg)15 分前

に対照群として生理食塩水を、検討用薬剤として risperidone (0.5 mg/kg), ketanserin (5 mg/kg), ritanserin (3 mg/kg), WAY-00635 (1 mg/kg), haloperidol (0.5 mg/kg), sulpiride (50 mg/kg), SCH 23390 (0.5 mg/kg), SB 206553 (2.5 mg/kg), SB 242084 (3 mg/kg), L-741626 (0.5 mg/kg), R-96544 (1 mg/kg), をそれぞれ腹腔内投与し、METH 投与後 30 分毎に 240 分まで直腸温を測定した。

さらに各種薬剤の後投与での有効性を確かめるため METH, 皮下投与 30 分後に risperidone (0.25 と 0.5 mg/kg), haloperidol (0.25 と 0.5 mg/kg), SCH 23390 (0.25 と 0.5 mg/kg), ritanserin (1.5 と 3.0 mg/kg)を腹腔内投与し、METH 投与後 240 分まで 30 分毎に体温を測定した。MDMA も追加実験として同様な後投与実験も行った。

②各物質の脳内細胞外液濃度の検討

METH (10mg/kg)をラットに皮下投与し、視床下部での DA, 5-HT 濃度測定を同一のラットで、NO, glutamate の測定をそれぞれ別のラットで微小透析法を用いて METH 投与 4 時間又は 6 時間後まで 15 分又は 30 分毎に行った。MDMA についての追加実験として同様に glutamate の濃度測定を行った。さらにこれらの濃度変化に対して risperidone が影響を与えるか検討するために、METH 投与 15 分前に risperidone(0.5mg/kg)を投与し各物質の濃度測定を行った。

③ 脳内微小透析法

エイコム社製の直管型透析プローブを、Paxion&Watson(1986)のアトラスに基づいてラットの視床下部に埋め込み、24-48 時間後に実験を開始した。リンガー液でプローブを還流し、DA,5-HT, glutamate は 30 分毎に、NO は 15 分毎に透析液を回収し、直接透析液をエイコム社製の電気化学検出器付高速液体クロマトグラフィー(HPLC)に打ち込み、各種伝達物質を測定した。

④視床下部の NO の測定条件

NO を直接測定することは現在の技術では困難であるため、その代謝物である亜硝酸イオン(NO₂)、硝酸イオン(NO₃)を測定し NO の動態を検討した。測定システムは EICOM 酸化窒素分析システム ENO-20 を用いて行った。

4. 研究成果

① METH による高体温に対する risperidone の効果

METH(10mg/kg)をラットに皮下注射すると、ラットの体温は急速に上昇し投与後 60 分後には 42℃を越えその後徐々に低下する。Risperidone(0.5mg/kg)の前投与群では METH による体温上昇は METH 投与後 30 分から 150 分まで有意に体温上昇は抑制された。さらに METH 投与 30 分後に risperidone(0.5 及び 0.25mg/kg)を後投与したところ用量依存的に METH による高体温を抑制した (Fig.1)。なお図中の統計的有意差は *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001 で表した。

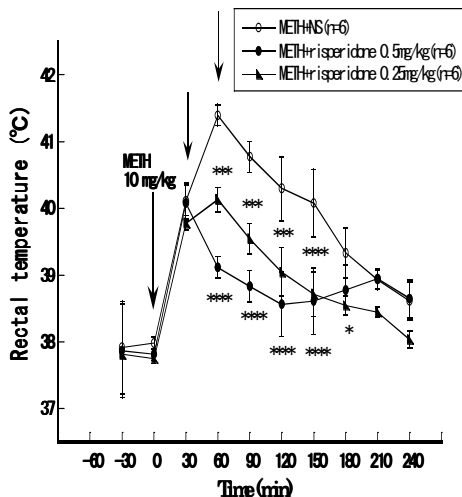


Fig.1

② METH 投与による視床下部の DA, 5-HT の濃度変化

METH(10mg/kg)をラットに皮下投与すると視床下部の DA は上昇し、投与後 120 分では基礎値の約 20 倍に増加した。それに対して Risperidone(0.5mg/kg)の前投与群は、METH による DA 上昇を投与後 90 分から 180 分まで有意に抑制した(Fig.2A)。

5-HT 濃度は DA より早く、高倍率に増加し、METH 投与後 60 分で基礎値の約 60 倍に増加した。Risperidone(0.5mg/kg)の前投与群は、METH による 5-HT 上昇を投与後 30 分、60 分で有意に抑制した(Fig.2B)。

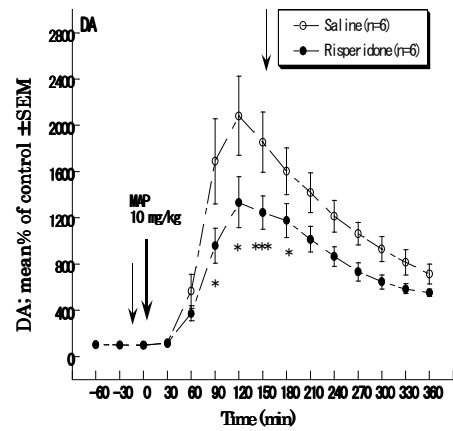


Fig.2A

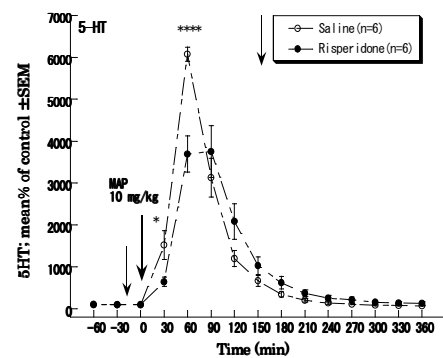


Fig.2B

③ 5-HT 各受容体拮抗薬の METH による高体温に及ぼす効果

5-HT_{2A} 受容体拮抗作用を有する ketanserin (5 mg/kg), ritanserin (3 mg/kg), R-96544 (1 mg/kg)の前投与により、METH による高体温は有意に抑制された。さらに METH 投与後 30 分後に ritanserin (3 及び 1.5 mg/kg)を後投与したところ、後投与でも有意に METH による高体温は抑制された。同様に MDMA に対する後投与でも有意に高体温は抑制された。

一方、5-HT_{2B/2C} 受容体拮抗薬である SB 206553 (2.5 mg/kg)の前投与、5-HT_{2C} 受容体拮抗薬である SB 242084 (3 mg/kg)の前投与では METH による高体温は抑制できなかった。さらには 5-HT_{1A} 受容体拮抗薬である WAY100635(1mg/kg)の前投与でも METH による高体温は抑制することはできなかった。

④DA 各受容体拮抗薬の METH による高体温に及ぼす効果

強力な D₂ 受容体拮抗作用を有し、また D₁ 受容体拮抗作用を有する定型抗精神病薬である haloperidol (0.5mg/kg) の前投与では METH による高体温は METH 投与後 30 分から 180 分までと 240 分で有意に抑制された。また選択的 D₁ 受容体拮抗薬である SCH23390(0.5mg/kg) の前投与では METH の高体温は METH 投与後 30 分、60 分、240 分で有意に抑制された。

さらに haloperidol (0.5 及び 0.25mg/kg) の後投与でも METH の高体温は用量依存的に抑制された。同様に SCH23390(0.5 及び 0.25mg/kg) の後投与でも METH の高体温は有意に抑制された。同様の後投与で MDMA の高体温は抑制された。

しかし選択的 D₂ 受容体拮抗薬である L-741626(0.5mg/kg) と sulpride(50mg/kg) の前投与ではいずれも METH による高体温は抑制されなかった。

⑤METH 投与による視床下部の NO の濃度変化

前述したように NO そのものの測定は困難なため、NO の代謝物である NO₂⁻、NO₃⁻ の測定を行った。NO₂⁻ は METH(10mg/kg) を皮下投与するとすぐに上昇し投与後 30 分で基礎値の約 130% まで上昇し、その後徐々に低下していった。Risperidone(0.5mg/kg) を前投与すると NO₂⁻ の上昇は抑制される傾向はあるが統計上は有意差を認めなかった。NO₃⁻ は METH を投与すると徐々に増加し基礎値の約 200% まで増加した。Risperidone を前投与するとその上昇は METH 投与後 75 分から 240 分まで有意に抑制された。NOx (NO₂⁻+NO₃⁻) は METH を投与すると基礎値の約 180% まで増加したが risperidone の前投与で METH 投与後 65 分から 240 分まで有意に抑制された(Fig.3)。

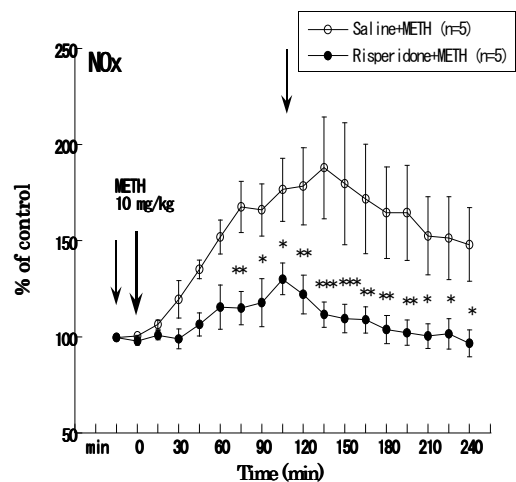


Fig3

⑥METH 投与による視床下部の glutamate の濃度変化

METH(10mg/kg) を皮下投与すると glutamate はすぐに軽度上昇するが、METH 投与 300 分後から目立って上昇した。Risperidone(0.5mg/kg) を前投与すると glutamate の後半の上昇(300 分、330 分、360 分)は有意に抑制された(Fig.4)。

同様に METH(10mg/kg) を皮下投与すると glutamate も有意に上昇した。

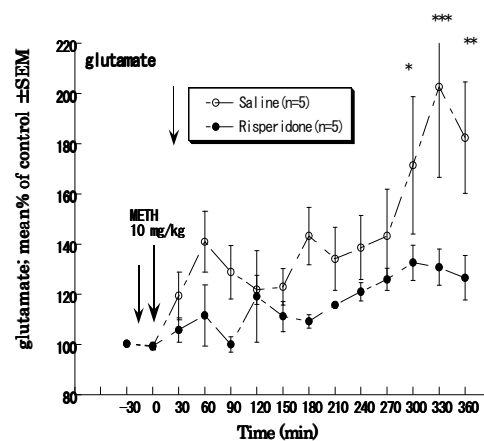


Fig.4

考察

①METH による体温上昇と 5-HT 受容体の関与

risperidone の前投与は METH による高体温を有意に抑制した。またさらに臨床使用を念頭において risperidone の後投与を行ったが、後投与でも METH による高体温を抑制した。Risperidone は 5-HT_{2A} 受容体拮抗作用だけでなく 5-HT_{1A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C} 受容体等に対しても拮抗作用を有しておりどの受容体拮抗作用が METH による高体温を抑制するのか各受容体拮抗薬を用いて検討した。5-HT_{2A} 受容体拮抗である ritanserin, ketanserin, R-96556 の前投与では METH による高体温を抑制した。さらに ritanserin の後投与でも METH の高体温は抑制された。しかしながら 5-HT_{2B} /2C 受容体拮抗薬である SB 206553, 5-HT_{2B} 受容体拮抗薬 SB 242084, 5-HT_{1A} 拮抗薬 WAY100635 の前投与では METH による高体温を抑制しなかった。これらの結果から risperidone による METH による高体温抑制は、risperidone の強力な 5-HT_{2A} 受容体拮抗作用によるものと考えられた。これらの結果は 5-HT 過剰放出による高体温は 5-HT_{2A} 受容体が関係していると我々が報告した結果(Nisijima et al, 2001; Shioda et al,2008)に合致するものであった。

②METH による体温上昇と DA 受容体の関与

DA₁, DA₂ 受容体拮抗作用を有する haloperidol と DA₁ 受容体拮抗薬である SCH23390 の前投与、後投与は METH による高体温を抑制した。しかしながら DA₂ 受容体拮抗薬である L-741626 や sulpride の前投与は METH による高体温を抑制することができなかった。METH による高体温は DA₁ 受容体拮抗薬で抑制されるが DA₂ 受容体拮抗薬では抑制されないことより、METH の高体温には DA₁ 受容体が主に関与していると推定される。METH による高体温は DA₁ 受容体が DA₂ 受容体より重要な役目を果たしているとの結果は Broening らの報告 (Broening et al 2005) と同様であり、risperidone は既に述べたように haloperidol ほどではないが DA₁ 受容体拮抗作用を有しており、risperidone の METH による高体温を抑制する機序の一つとして、過剰に放出される DA による D₁ 受容体活性を拮抗することで高体温を抑制すると考えられた。

③METH の視床下部細胞外液の DA, 5-HT 濃度に与える影響

一般に METH は脳内 DA 濃度を上昇させ、その結果高体温をはじめ各種の症状を引き起こしていると考えられてきた。実際に今回の METH10mg/kg の投与で視床下部の DA 濃度は基礎値の約 20 倍に達した。また近年では METH の各種症状は DA 濃度上昇だけでなく様々な脳内伝達物質の過剰放出も関与していることが明らかになっており、特に 5-HT が注目されている。今回の実験でも METH10mg/kg 投与で視床下部の 5-HT 濃度は基礎値の約 60 倍まで上昇し、その上昇率は DA の上昇率を上回っていた。体温中枢である視床下部での DA, 5-HT 濃度上昇は METH による体温上昇と関係していると考えられた。Risperidone の前投与、後投与共に METH による高体温を抑制し、前投与は視床下部での DA, 5-HT 濃度上昇を抑制した。DA, 5-HT 濃度上昇が高体温を引き起こす機序の一翼を担っていると考えられ、risperidone の DA, 5-HT 上昇抑制効果が METH による高体温を抑制する一因と推測される。Risperidone の DA, 5-HT 上昇抑制効果の機序としては、5-HT_{2A} 受容体拮抗薬である SR46349B が amphetamine による DA 上昇を線条体、側坐核で抑制したこと (Porrás et al, 2002)、同じく 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬 ritanserin が METH による前頭葉での 5-HT 上昇を抑制したこと (Ago et al.,2007) などから risperidone の有する 5-HT_{2A} 受容体拮抗作用によるものと考えられる。

④ METH の視床下部細胞外液の NO 濃度に与える影響

NO は近年伝達物質としての働きだけでなく、フリーラジカルとして神経毒性も有することが判明している。METH による細胞毒性においても NO が関係しているとの報告 (Sheg et al,1996; Itzhak et al,2000; Abekawa et al, 2001)がある。NO そのものの半減期は数秒とかなり短く直接 NO を測定できないが、NO の代謝物である NO₂⁻, NO₃⁻ を測定することで NO 動態を測定することが可能となった。そこで我々は脳内視床下部で NO の測定を行った。METH を投与すると NO₂⁻, NO₃⁻ は上昇し、METH は NO を上昇させることが確認された。また risperidone は METH による NO₂⁻ の上昇は有意に抑制できなかったものの NO₃⁻ 及び NO_x の上昇を有意に抑制した。NO_x の上昇が抑制されたことより、NO の上昇は抑制されたと考えられる。

DA₁受容体刺激薬である SKF81297 が NO の合成を促進するが、この NO 合成促進は DA₁受容体拮抗薬である SCH23390 で阻害される (Sammut et al,2006; Chen et al,2003)。これらのことから risperidone の DA₁受容体拮抗作用が METH による NO 上昇を抑制したと推測される。

⑤METH の視床下部細胞外液の glutamate 濃度に与える影響

Glutamate の神経毒性は広く知られており、METH 投与における glutamate 上昇も数多く報告されている (Ohomori et al,1996, Stephans et al,1994)。今回実験でも METH を投与すると視床下部での glutamate の濃度は特に METH 投与後 300 分後から上昇した。この上昇は risperidone で有意に抑制された。METH による glutamate 上昇が haloperidol で抑制され (Stephans et al 1994)、DA₁受容体拮抗薬である SCH23390 でも抑制された (Ito et al,2006)等の報告があり、これらから考えると risperidone の METH による glutamate 上昇抑制効果は DA₁受容体拮抗作用によるものと考えられた。

⑥まとめ

METH の高体温に対する確立された薬物治療は今のところ存在しない。METH は脳内 DA、5-HT 濃度の上昇を介して高体温を発症させると考えられ、今回の実験でも DA₁受容体拮抗薬、5-HT_{2A}受容体拮抗薬が METH による高体温を抑制した。この実験結果から既に臨床で使用されており、METH による精神症状や依存に対して有効性が報告されている (Misra et al, 1997; Iyo et al 1999; Meredith et al, 2007)、DA₁、5-HT_{2A}受容体拮抗作用を有している risperidone は有効な治療薬になると考えられる。

さらに METH により神経毒性を有する NO, glutamate が上昇することが知られているが、今回の実験で risperidone は NO, glutamate 両者共に上昇を抑制した。この点からも risperidone は METH の神経毒性に対する有効な薬剤である示唆される。

また METH と MDMA は合剤として使用されることが多く、以前我々が MDMA による高体温を risperidone が抑制することを報告 (Shioda et al.2008)しており、これらを考え合わせると臨床上有効な薬剤と考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Shioda K, Nisijima K, Yoshino T, Kuboshima K, Iwamura T, Yui K, Kato S. :Risperidone attenuates and reverses hyperthermia induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in rats. *Neurotoxicology*, 2008; 29: 1030-1036. (査読有)
- ② Nisijima K, Shioda K, Iwamura T. : Neuroleptic malignant syndrome and serotonin syndrome. *Progress in Brain Res*, 2007; 41: 81-104. (査読有)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 塩田勝利、西嶋康一、吉野達規、加藤敏: MDMA による高体温に対して risperidone と低環境温の併用は相乗的に高体温を抑制する. 38回日本神経精神薬理学会、2008年10月1日、東京.
- ② 塩田勝利、西嶋康一、吉野達規、久保島恭子、加藤 敏. Risperidone attenuates MAP-induced hyperthermia in rats. 第37回日本神経精神薬理学会、2007年7月13日、札幌.
- ③ 吉野達規、西嶋康一、塩田勝利、加藤 敏. Effect of the co-administration of aripiprazole and fluoxetine on serotonin metabolism. 第37回日本神経精神薬理学会、2007年7月13日、札幌.
- ④ 久保島恭子、西嶋康一、塩田勝利、岩村樹憲、加藤 敏. Memantine attenuates and reverses MDMA-induced hyperthermia. 第37回日本神経精神薬理学会、2007年7月12日、札幌.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西嶋康一 (NISIJIMA KOICHI)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 30198460

(2) 研究分担者

高野健二 (KENJI TAKANO)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号: 10197112

(3) 平井伸英 (NOBUHIDE HIRAI)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号: 9033369