

令和元年5月24日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09215

研究課題名(和文) 25B-NBOMeによるセロトニン症状発症にかかわる機序と環境温度の関係

研究課題名(英文) The relation of ambient temperature and Serotonin syndrome by 25B-NBOMe

研究代表者

中村 磨美 (Nakamura, Mami)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70753763

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：5-HT_{2A}受容体に特異的に作用する25B-NBOMeを用い、環境温度に応じたラットの体温変化を測定した。その結果、25B-NBOMeは高温環境下でのみ高体温を引き起こし、早期相には末梢血管収縮が、後期相には褐色脂肪組織(BAT)での熱産生と末梢中セロトニン濃度低下が起こっていることが示された。血液脳関門を通過しないセロトニンや5-HT_{2A}受容体阻害薬を末梢投与する実験や、中枢のノルアドレナリン神経やセロトニン神経を選択的に破壊する実験の結果から、高温環境下での薬剤性高体温には中枢神経支配から独立した機構が存在し、それには末梢セロトニンが関わっていることが示され、論文に纏め発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

環境温度に依存した体温調節メカニズムの解明は、薬剤性高体温のみならず、高体温を起こす様々な疾患の病態解明や治療に不可欠である。その中で、これまで研究されてきた中枢性の体温調節機構ではなく、末梢に独立した体温調節機構が存在し末梢セロトニンが関与すると示唆されたことは、今後の生理学研究に新しい視点を加えるものとする。

研究成果の概要(英文)：We investigated changes in body temperature of rats after administration of 25B-NBOMe, a selective agonist of 5-HT_{2A} receptor, under general or high ambient temperature. Administration of 25B-NBOMe induced hyperthermia only at a high ambient temperature. Peripheral vasoconstriction was observed in the early phase, and thermogenesis in brown adipose tissue (BAT) and decrease of plasma serotonin levels were observed in the late phase of hyperthermia. Peripheral administration of serotonin or 5-HT_{2A} blocker which do not pass the blood-brain-barrier, and selective destruction of central noradrenaline or serotonin neurons indicated a thermoregulation pathway independent from central neural pathways. These results suggest that peripheral serotonin plays an important role in thermoregulation.

研究分野：法医学

キーワード：末梢セロトニン 環境温度 薬剤性高体温 5-HT_{2A}受容体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国では 2011 年頃より危険ドラッグによる中毒患者が急増、薬物使用下での事故や薬物そのものの作用により死者も相次いだ。

危険ドラッグのうち、興奮系作用をもつ薬物の代表が、合成カチノン系やフェネチルアミン系に属する化合物である。これらは、精神的興奮のみならず、高体温、頻脈、急性腎障害や横紋筋融解症といった身体的障害を起こすことがわかっている。その作用機序として、セロトニン受容体への直接作用やセロトニン再取り込の阻害といった、セロトニン神経伝達系への関与が考えられる。しかし、危険ドラッグの多様性のため、より生命にハイリスクとなる使用条件などは症例の集積からでも分析が難しい。

当教室では、2-(4-bromo-2,5-dimethoxyphenyl)-N-(2-methoxybenzyl)ethanamine (以下 25B-NBOMe) という成分の含まれた危険ドラッグで重篤なセロトニン症候群を起こしたという報告 (A case of fatal intoxication due to the new designer drug 25B-NBOMe. K Yoshida et al. Forensic Toxicol. 2015; 33(2): 396-401) を受け、その生理的作用の解明を目的とし、25B-NBOMe を使用した動物実験を行ってきた。その中で、同じ薬物量の使用でも、環境温度によって反応が異なる可能性に気が付いた。

これまで、環境温度と薬剤性高体温の関係については、5-HT アゴニストを使用した実験で、22℃ で用量依存性に高体温が誘発され、12℃ では用量依存性に低体温が誘発されたという報告がある (Krishnamoorthy et al. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2010; 107: 830-41)。また、環境温度別に MDMA を投与した実験では、環境温度が 26℃ より高いほど高体温が誘発され、24℃ より低いほど低体温が誘発されたという (Malberg et al. J Neurosci. 1998; 18(13):5086-94)。

NBOMe 類は MDMA 類似の構造を持つフェネチルアミンであり、セロトニン 5-HT_{2A} および 5-HT_{2C} 受容体に高い親和性でもって作用し、興奮・幻覚作用をもたらす。なかでも 25B-NBOMe は世界で広く普及し、死亡例も多く報告されている (Papoutsis et al. Forensic Toxicol 2015; 33:1-11)。

当教室では、これまで、ラットに 25B-NBOMe を投与して行動およびバイタル変化を観察する実験を行ってきた。より症状の出やすい条件を探る中で、環境温度による症状の差に気が付いた。前述の 5-HT アゴニストや MDMA による環境温度依存性体温変化の報告を受け、25B-NBOMe でも環境温度に依存した体温変化が引き起こされれば、その薬物の特徴から、環境温度依存性の体温変化のメカニズムに 5-HT_{2A} 受容体がどのように関与しているかを解明できると考えた。

2. 研究の目的

5-HT_{2A} 受容体に強力に作用することが知られている 25B-NBOMe を用い、高温環境下で高体温が誘発されやすいかどうか、そのメカニズムを解明することを目的とした。それを通して、5-HT_{2A} 受容体の体温調節機構への関与、末梢の 5-HT_{2A} 受容体の体温調節と中枢神経の関連を探った。

3. 研究の方法

8 週齢の SD ラットを使用して実験を行った。実験の 4 日以上前に、温度測定ロガーを深部体温測定のためには腹腔内に、褐色脂肪組織 (BAT) の温度測定のためには肩甲骨間領域の皮下に、それぞれ植え込む手術を行った。

温度を 23℃ または 29℃ に維持した実験室内で、ラットに 25B-NBOMe を腹腔内投与し、その深部体温、BAT 温度、尾表面温度の変化を観察した。

25B-NBOMe 投与後 1 時間後に体温変化の違いが認められたため、薬剤投与 1 時間後のラットを安楽死させ、採血を行い、血漿中のセロトニン濃度を測定した。

観察された体温変化が、中枢の体温調節経路から独立性した機構であるかを調べるため、ラットに血液脳関門を通過しないセロトニンまたはサルボグレラート (5-HT_{2A} 受容体阻害薬) を腹腔投与した後に、同様の環境温度別 25B-NBOMe 投与実験を行った。さらに、実験の 5 日以上前にラットの両側側脳室に、中枢のノルアドレナリン神経を選択的に破壊する 6-OHDA、または中枢のセロトニン神経を選択的に破壊する 5,7-OHDA を投与し、同様の環境温度別 25B-NBOMe 投与実験を行った。

4. 研究成果

(1) 25B-NBOMe は、高温環境下でのみラットに高体温を引き起こす

25B-NBOMe を投与したラットは、23℃ 環境下では体温変化を示さなかったが、29℃ 環境下では高体温を引き起こした。(Fig.1)

(2) 25B-NBOMe は 5-HT_{2A} 受容体を介して末梢血管拡張による放熱を抑制することで、高温環境下で高体温を引き起こす

高温環境下においたラットでは、末梢からの熱放散のため尾静脈の温度上昇が観察されるが、25B-NBOMe を投与したラットでは投与 30 分後に尾静脈の一時的な温度低下が観察され、末梢血管収縮が示唆された。この反応は、サルボグレラートを末梢投与した後に 25B-NBOMe を投与したラットでは抑制されたことから、末梢血管の 5-HT_{2A} 受容体が特異的に刺激されて起こった血管収縮であり、それにより高温環境下での放熱が阻害されて深部体温上昇が引き起

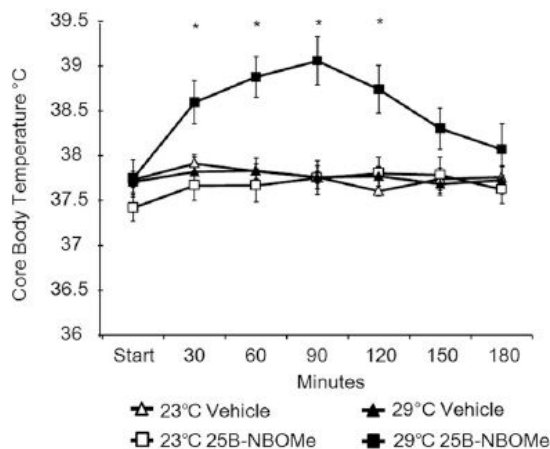


Fig. 1. Core body temperatures of rats following the administration of 0.25 mg/kg of 25B-NBOMe or vehicle at 23°C or 29°C ambient temperature. Values = means, error bar = S.E.; one-way ANOVA, followed by Tukey's multiple comparison test, * $P < 0.05$, 29°C vehicle vs. 29°C 25B-NBOMe; $n = 6$ for 23°C vehicle and 23°C 25B-NBOMe, $n = 5$ for 29°C vehicle and 29°C 25B-NBOMe.

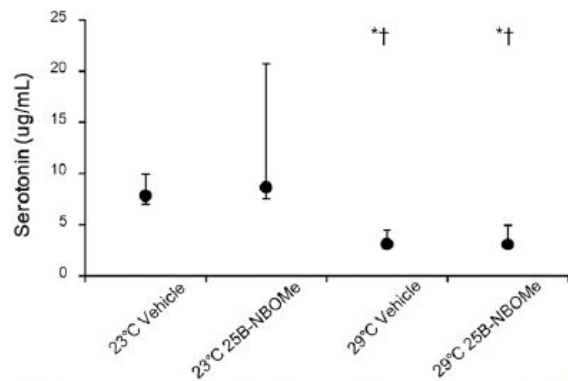


Fig. 5. Serum serotonin levels 1 hour postadministration of 0.25 mg/kg of 25B-NBOMe or vehicle at 23°C or 29°C ambient temperature. Dots = median, error bar = 75% confidence interval; Kruskal-Wallis rank sum test, followed by Steel Dwass test, * $P < 0.05$ for 23°C vehicle and † $P < 0.05$ for 23°C 25B-NBOMe, respectively. $n = 4$ for 23°C vehicle, $n = 5$ for 23°C 25B-NBOMe, $n = 7$ for 29°C vehicle, and $n = 6$ for 29°C 25B-NBOMe.

(Fig. 1, 5; Nakamura et al. J Pharmacol. Experiment. Ther. (2018)367: 356-362.より抜粋)

こされたと考えられた。

(3)25B-NBOMe は高温環境下で BAT 熱産生を引き起こす

(2)の末梢血管収縮は一時的な反応であったが、高体温はその後長く持続した。25B-NBOMe 投与 60 分後以降より BAT 温度が上昇しており、熱産生が行われていることが示唆された。

(4)高温環境下では、血漿中セロトニン濃度が低下する

29 下においたラットは、25B-NBOMe あるいはコントロールの生食のいずれを投与した群でも、1 時間後の血漿中セロトニン濃度が、23 下のラットに比べ減少していた (Fig.5)。セロトニンを末梢投与で補充したところ、高体温の持続時間を短縮したことから、血漿セロトニン濃度の低下は BAT 熱産生に関与すると考えられた。

(5)中枢のセロトニン/ノルアドレナリン神経の破壊は、25B-NBOMe の環境温度依存性高体温を抑制しない

中枢のセロトニン神経を選択的に破壊する 5,7-DHT、または中枢のノルアドレナリン神経を選択的に破壊する 6-OHDA を側脳室に投与したラットでも、29 環境下において 25B-NBOMe を投与すると高体温を引き起こした。中枢のセロトニン神経やノルアドレナリン神経は、環境温度に対する体温調節中枢を構成すると知られているが、この実験の結果から、高温環境下で 25B-NBOMe が高体温を引き起こすメカニズムは、中枢神経経路とは別であることが示された。

上記の結果より、高温環境下で 25B-NBOMe により高体温が引き起こされるメカニズムには、投与後早期には末梢血管収縮により放熱が抑制される 投与後後期には BAT で熱産生が行われる という二段階の機序があることがわかった。さらに、には末梢血中のセロトニン濃度低下が関わっていること、そしてそれは中枢の体温調節機構とは独立した反応であることが示唆された。末梢のセロトニンに注目した今回の成果は、世界において初のものであり、今後高体温のメカニズム研究や治療研究に新たな方向性を提示するものとする。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

Shintani-Ishida Kaori, Saka Kanju, Nakamura Mami, Yoshida Ken-ichi, Ikegaya Hiroshi. Experimental Study on the Postmortem Redistribution of the Substituted Phenethylamine, 25BNBOMe. Journal of Forensic Sciences. (2017)63: 588-591. (査読有)
DOI: 10.1111/1556-4029.13583

Mami Nakamura, Kaori Shintani-Ishida, Hiroshi Ikegaya. 5-HT_{2A} Receptor Agonist-Induced Hyperthermia Is Induced via Vasoconstriction by Peripheral 5-HT_{2A} Receptors and Brown Adipose Tissue Thermogenesis by Peripheral Serotonin Loss at a High Ambient Temperatures. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. (2018)367: 356-362. (査読有)
DOI: 10.1124/jpet.118.250217

[学会発表](計 3 件)

中村磨美、新谷香、東條美紗、井戸田望、池谷博「25B-NBOMe により刺激された 5-HT_{2A}

受容体は環境温度依存性に高体温を引き起こす」第 100 回日本法医学全国学術集会(2016 年 6 月)

新谷香、坂幹樹、吉田謙一、池谷博「フェネチルアミン系化合物 25B-NBOMe の死後再分布に関する実験的検討」日本法中毒学会第 35 年会(2016 年 7 月)

中村磨美、新谷香、東條美紗、市岡宏顕、坪井創、高相真鈴、池谷博「高温環境下における薬剤性高体温への末梢セロトニンの関与」第 101 回日本法医学全国学術集会(2017 年 6 月)
6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：新谷(石田) 香

ローマ字氏名：Kaori Shintani-Ishida

所属研究機関名：京都府立医科大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：准教授

研究者番号(8桁)：50345047

(2)研究協力者

研究協力者氏名：東條 美紗

ローマ字氏名：Misa Tojo

研究協力者氏名：池谷 博

ローマ字氏名：Hiroshi Ikegaya

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。