

■受領No.1301

危険ドラッグによる精神神経症状発症メカニズムの解明



代表研究者

金田勝幸

金沢大学医薬保健研究域薬学系 教授

1. 研究目的

危険ドラッグN-[[1-(5-fluoropentyl)-1H-indazol-3-yl]carbonyl]-L-valine methyl ester (5F-AMB)は合成カンナビノイドの一つであり、そのレクリエーション効果のために日本のみでなく世界中で乱用されている。5F-AMBはカンナビノイドCB1受容体に対する高い親和性を持つことが知られているが、5F-AMBにより誘発される行動異常とその発現メカニズムは不明である。そこで本研究では、CB1受容体が高発現しており、記憶・認知・意思決定などを司る脳部位である内側前頭前皮質(mPFC)に着目し、各種行動薬理試験と電気生理学的解析手法を用いて、5F-AMBによる行動異常の発現メカニズムの解明を試みた。

2. 研究概要

2.1 結果

(1) 5F-AMB側脳室内(i.c.v.)投与による行動への影響

雄性C57BL/6Jマウスへの5F-AMB i.c.v.投与により、オープンフィールド試験(OF)において中央エリア滞在時間が有意に増加した(図1)。一方、高架式十字迷路試験(EPM)では、5F-AMB投与は、オープンアーム滞在時間、進入回数、総アーム進入回数のいずれにも影響を与えなかった(図1)。以上より、5F-AMB i.c.v.投与はOFでは不安様行動を減弱させるが、EPMでは不安様行動に影響を及ぼさないことが示された。また、5F-AMB i.c.v.投与

により、クリフアポイダンス試験(CA)におけるジャンプ潜時が有意に短縮し、衝動性の亢進が認められた。さらに、新奇物体認識試験(NOR)において、物体認知記憶の獲得への5F-AMBの影響を見るために、5F-AMB i.c.v.投与を訓練試行前に行ったところ、訓練試行における両物体への総探索時間に影響を与えなかったが、保持試行における新奇物体探索時間を短縮させ、Discrimination indexを有意に低下させた(図2)。また、物体認知記憶の保持への5F-AMBの影響を見るために、5F-AMB i.c.v.投与を保持試行前に行ったところ、5F-AMBは新奇物体探索時間、Discrimination indexに影響を及ぼさなかった(図2)。以上より、5F-AMBは物体認知記憶の獲得を阻害するが、保持には影響しないことが明らかになった。

(2) 5F-AMB mPFC内投与による行動への影響

5F-AMB mPFC内投与は、OF、EPMにおける不安様行動に影響を及ぼさなかったが、CAにおいて、ジャンプ潜時を有意に短縮させ(図3)、衝動性を亢進させた。さらに、訓練試行前に5F-AMBをmPFC内投与したところ、保持試行における新奇物体探索時間が有意に短縮するとともに、Discrimination indexが有意に低下した(図4)。以上より、5F-AMB mPFC内投与は物体認知記憶の獲得を阻害することが示された。

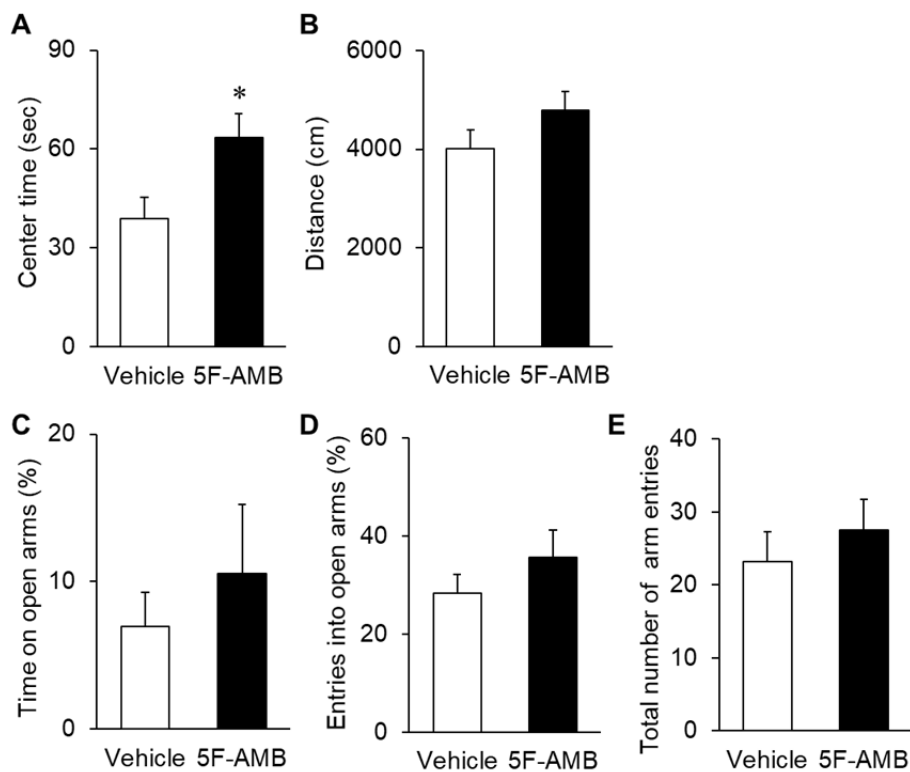


図 1. 5F-AMB i.c.v.投与による不安様行動への影響

- A. OFでの中央エリア滞在時間
- B. OFでの運動量
- C. EPMでのオープンアームの滞在時間の割合
- D. EPMでのオープンアームの進入回数の割合
- E. EPMでの総アーム進入回数

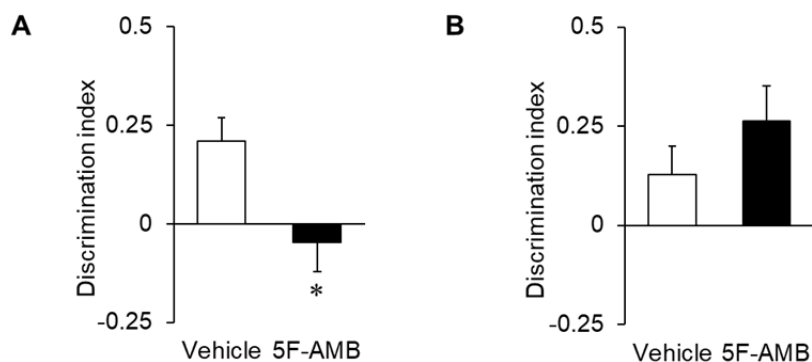


図 2. 5F-AMB i.c.v.投与による新奇物体探索時間への影響

- A. 訓練試行15分前投与によるNORでの保持試行時のDiscrimination index
- B. 保持試行15分前投与によるNORでの保持試行時のDiscrimination Index

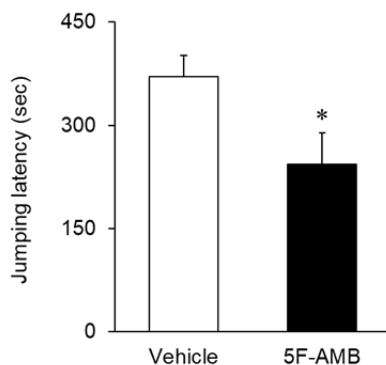


図 3. 5F-AMB mPFC 内投与における CA での Jumping latency

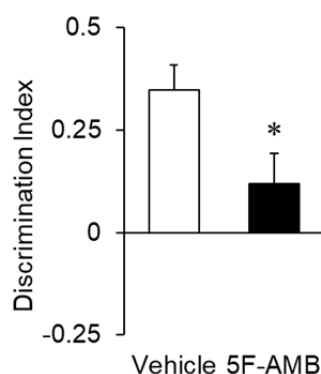


図 4. 5F-AMB mPFC 内投与による新奇物体探索時間への影響

訓練試行15分前投与によるNORでの保持試行時のDiscrimination index

(3) 5F-AMBによるmPFC V層錐体ニューロンへの興奮性および抑制性神経伝達への影響

5F-AMBがmPFC V層錐体ニューロンにおける興奮性神経伝達に影響を与えるか否かをスライス標本でのホールセルパッチクランプ記録法により検討した。5F-AMBの適用により自発性興奮性シナプス後電流 (sEPSC)の頻度は有意に減少したが、振幅は影響を受けなかったこと(図5)、また、CB1受容体アンタゴニストであるAM251存在下では5F-AMBによるsEPSC頻度の減少は認められなかったことから(図6)、5F-AMBはCB1受容体を介して興奮性入力を減弱させることがわかった。さらに、5F-AMBの適用は微小EPSC (mEPSC)の頻度を有意に減少させたことから、5F-AMBの減弱作用はプレシナプスに作用してグルタミン酸の遊離を減弱させることによることが明らかとなった。

次に、5F-AMBが抑制性神経伝達に影響を与え

るか否かを検討したところ、5F-AMBは興奮性神経伝達と同様に抑制性神経伝達(IPSC)もプレシナプスに局在するCB1受容体の活性化を介して減弱させることを見いだした(図7、8)。

(4) 5F-AMBはmPFC V層錐体ニューロンにおける興奮と抑制のバランスを変化させる

5F-AMBによるEPSCとIPSCの両者の減弱作用の機能を明らかにする目的で、5F-AMBの両者に対する減弱作用の程度を比較検討したところ、5F-AMBは刺激誘発性EPSC (eEPSC)をeIPSCよりも強く抑制することが分かった(図9)。すなわち、5F-AMBは抑制性入力よりも興奮性入力をより大きく減弱させた。以上より、5F-AMBはmPFC V層錐体ニューロンへの興奮性および抑制性入力のバランスを変化させ、V層錐体ニューロン活動を抑制することが示唆された。

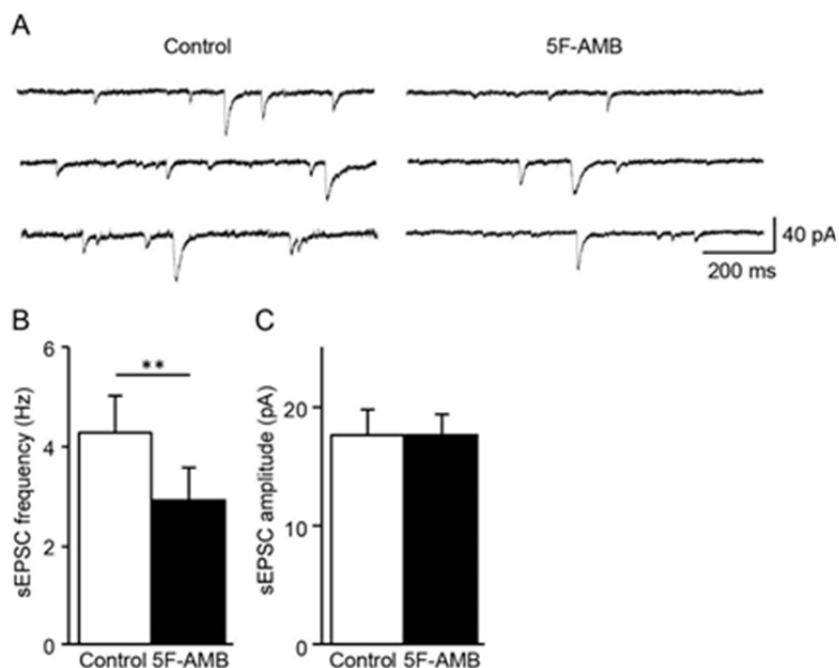


図 5. 5F-AMB による mPFC V 層錐体ニューロンにおける興奮性入力の変化

- A. 5F-AMB適用前後の自発性興奮性シナプス後電流 (sEPSC)の代表的トレース
- B. 5F-AMB適用前後のsEPSCの頻度
- C. 5F-AMB適用前後のsEPSCの振幅

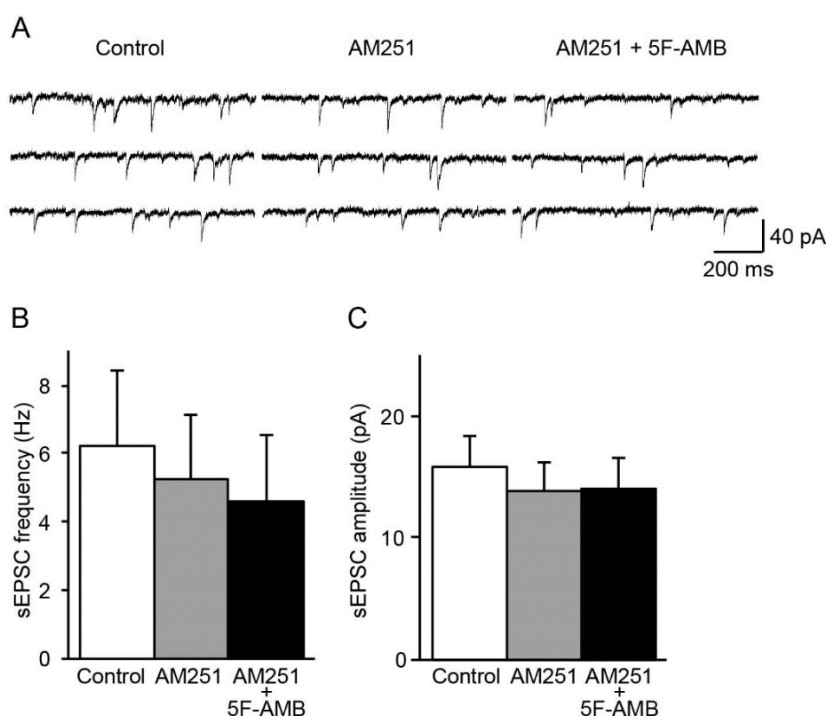


図 6. 5F-AMB による興奮性入力変化に対する CB1 受容体の関与

- A. ピクروتキシン(Control), AM251, および, 5F-AMB適用時の自発性興奮性シナプス後電流 (sEPSC)の代表的トレース
- B. ピクروتキシン(Control), AM251, および, 5F-AMB適用時のsEPSCの頻度
- C. ピクروتキシン(Control), AM251, および, 5F-AMB適用時のsEPSCの振幅

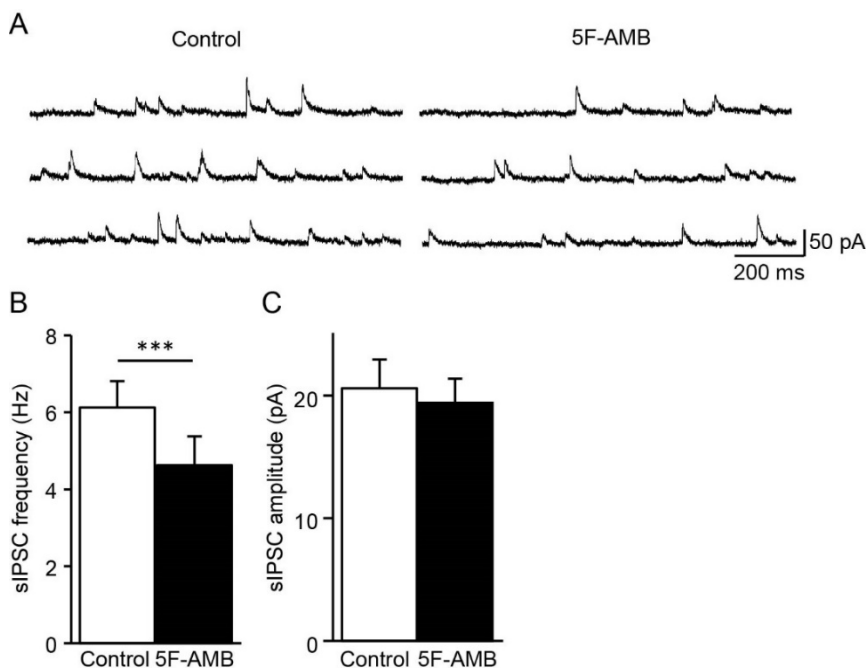


図 7. 5F-AMB による mPFC V 層錐体ニューロンにおける抑制性入力の変化

- A. 5F-AMB適用前後の自発性抑制性シナプス後電流 (sIPSC)の代表的トレース
- B. 5F-AMB適用前後のsIPSCの頻度
- C. 5F-AMB適用前後のsIPSCの振幅

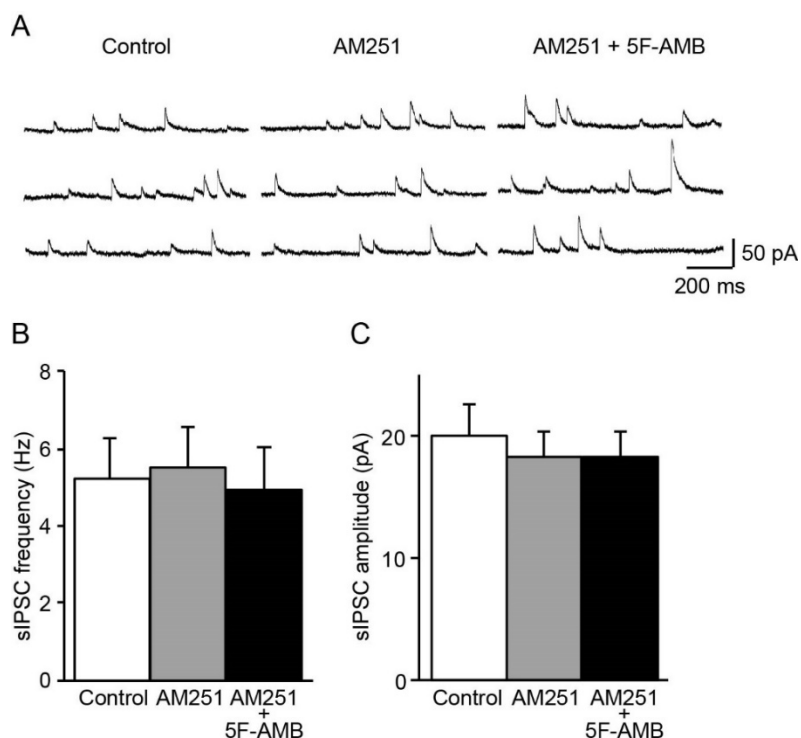


図 8. 5F-AMB による抑制性入力変化に対する CB1 受容体の関与

- A. キヌレン酸 (Control), AM251, および, 5F-AMB適用時の自発性抑制性シナプス後電流 (sIPSC)の代表的トレース
- B. キヌレン酸 (Control), AM251, および, 5F-AMB適用時のsIPSCの頻度
- C. キヌレン酸 (Control), AM251, および, 5F-AMB適用時のsIPSCの振幅

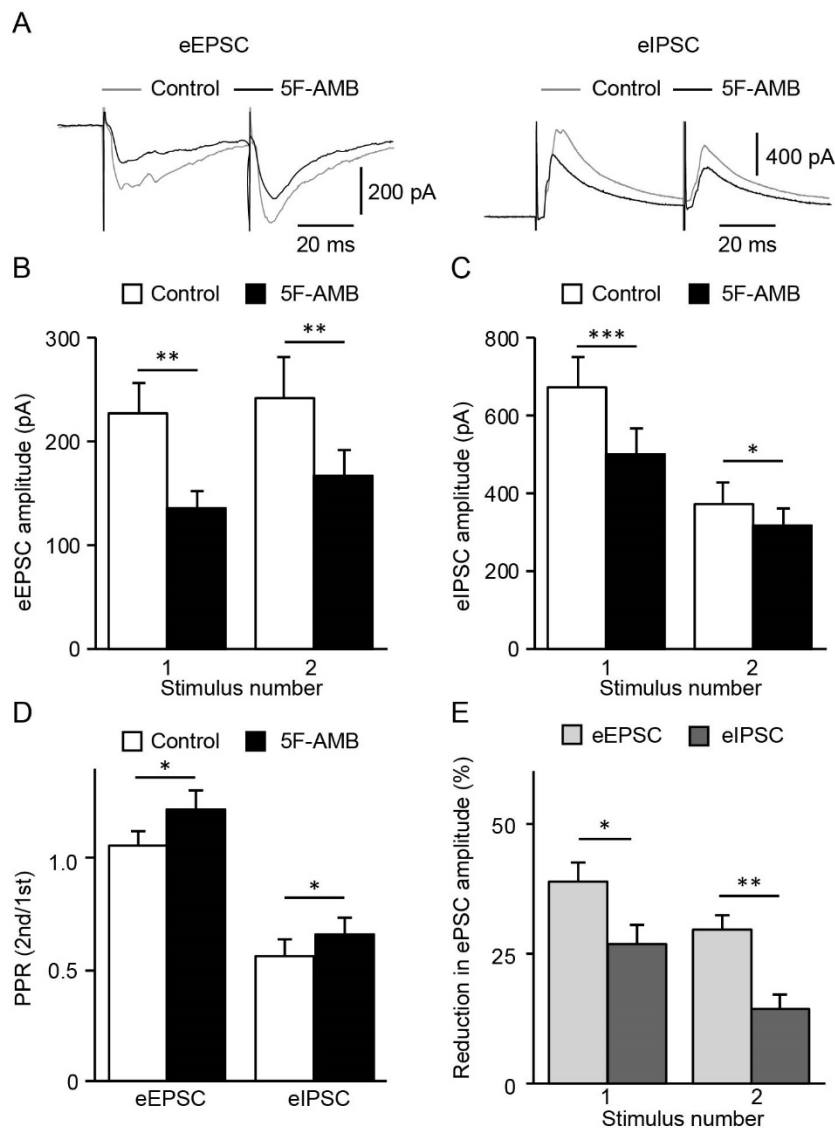


図 9. 5F-AMB による mPFC V 層錐体ニューロンにおける興奮性および抑制性神経伝達のバランスの変化

- A. 5F-AMB適用前後の刺激誘発性興奮性シナプス後電流 (eEPSC)および抑制性シナプス後電流 (eIPSC)の代表的トレース
- B. 5F-AMB適用前後のeEPSCの振幅
- C. 5F-AMB適用前後のeIPSCの振幅
- D. 5F-AMB適用前後のeEPSCおよびeIPSCのpaired-pulse ratio (PPR)
- E. 5F-AMBによる eEPSCおよびeIPSCの減弱割合

2.2 結論

本研究より、5F-AMBにより惹起される認知記憶の獲得阻害、および、衝動性亢進はmPFCに作用することで発現することが示唆された。さらに、これらの作用は5F-AMBがmPFC錐体ニューロン

における興奮と抑制のバランスを変化させ、錐体ニューロンの活動を抑制することにより誘導される可能性が示された。

3. 発表

- (1) 堂本将輝、和田進太郎、出山諭司、金子周司、
金田勝幸
内側前頭前野における危険ドラッグ5F-AMB
の作用
第130回日本薬理学会近畿部会 (京都、2016)
- (2) 伊藤志穂、出山諭司、金子周司、金田勝幸
危険ドラッグ5F-AMBがマウスの行動に及ぼ
す影響
生体機能と創薬シンポジウム2017 (京都、
2017)
- (3) 堂本将輝、和田進太郎、伊藤志穂、出山諭司、
檜井栄一、金子周司、金田勝幸
危険ドラッグ5F-AMBの内側前頭前皮質V層錐
体細胞に対する作用
第39回生体膜と薬物の相互シンポジウム (金
沢、2017)
- (4) 伊藤志穂、出山諭司、堂本将輝、矢口立真、
Tong Zhang、檜井栄一、金子周司、金田勝幸
危険ドラッグ5F-AMBによるマウスの認知行
動機能障害の解析
日本薬学会第138年会 (金沢、2018)
- (5) Domoto M, Sasase H, Wada S, Ito S, Deyama
S, Hinoi E, Kaneko S, Kaneda K. The synthetic
cannabinoid 5F-AMB changes the balance
between excitation and inhibition of layer V
pyramidal neurons in the mouse medial
prefrontal cortex. *Psychopharmacology*,
235(8):2367-2376. (2018)