

ポジトロン CT による逆耐性モデル動物でのメタンフェタミン脳内動態変化の解析

中村 仁

東北大学医学部附属病院薬剤部, 〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 1-1

**Positron Emission Tomography (PET) Study of the Alterations
in Brain Pharmacokinetics of Methamphetamine
in Methamphetamine Sensitized Animals**

Hitoshi NAKAMURA

*Department of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University Hospital, 1-1
Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8574, Japan*

(Received April 9, 2001)

I investigated the differences in brain pharmacokinetics of [¹¹C]methamphetamine ([¹¹C]MAP) in normal and MAP sensitized animals using positron emission tomography (PET). [¹¹C]MAP was synthesized by an automated on-line [¹¹C]methylation system. I newly produced MAP sensitized dog and monkey by repeated MAP treatment. The maximal level of accumulation of [¹¹C]MAP in the sensitized dog brain was 1.4 times higher than that in the control. This result suggests the changes in the pharmacokinetic profile of MAP in the brain affect the development or expression of MAP-induced behavioral sensitization. However, the overaccumulation of [¹¹C]MAP in the sensitized monkey brain was not observed due to the influence of anesthesia.

Key words—methamphetamine; PET; pharmacokinetic change; behavioral sensitization

1. はじめに

覚せい剤 methamphetamine (MAP) は、日本で最も深刻な社会的影響を及ぼしている依存性薬物である。覚せい剤はその名の通り、ヒトや動物への投与により覚醒のレベルを高め、睡眠や麻酔状態からの覚醒を促す薬剤である。しかし、覚せい剤の連用により精神分裂病に酷似した幻覚妄想状態（覚せい剤精神病）が出現し、一度覚せい剤精神病になると、長期に覚せい剤の使用を中断しても再使用により容易に精神病症状を再燃する。¹⁾ この覚せい剤精神病の研究モデルとして、動物に MAP を反復投与することによって出現する異常行動の過敏反応性（逆耐性現象）が取り上げられ、多くの神経化学的な研究が行われてきた。²⁾ その中心をなすのは神経系の変化に関するものであり、覚せい剤慢性投与動物に覚せい剤を再投与した際の dopamine (DA) 作動性神経終末からの DA の過剰放出³⁾ が最も注目される生化学的知見である。一方、覚せい剤の慢性投与に伴う行動変化の基盤を薬物動態変化に想定した

研究も報告されている²⁾ が、明確な結論は得られていない。

ポジトロン CT (Positron emission tomography: PET) は、ポジトロン（陽電子）を放出する放射性核種で標識した放射性薬剤をヒトや動物に投与し、その放射性核種が放射する放射能を体外より計測し、薬物の体内挙動に関するデータを非侵襲的に得ようとする手法である。PET を用いて覚せい剤の脳内動態及び連用に伴う動態変化を解析できれば、覚せい剤逆耐性現象発症機構解明のための大きな情報となり得ると考えられる。そこで著者は、[¹¹C]MAP の合成条件を確立するとともに、覚せい剤連用モデル動物を作製し、MAP 脳内動態変化の PET による解析を試みた。本稿ではこれまでの検討において明らかにした、逆耐性形成に伴う MAP 動態変化について述べてみたい。

2. MAP の ¹¹C 標識化

PET を用いて MAP 動態変化を解析するためには、MAP 自身のポジトロン標識化が必要になる。

PET に用いられるポジトロン核種は、 ^{11}C (半減期 20.4 分), ^{13}N (同 9.96 分), ^{15}O (同 2.07 分), ^{18}F (同 109.7 分) などのように超短半減期核種であるため、RI 製造、標識化合物の合成、生成物の分離精製、製剤化等の各プロセスを使用現場で行うことが不可欠となる。また、通常 10 GBq 以上の標識体を原料に用いて合成が開始されるため、作業者の放射能被曝も大きな問題となる。そのため、短時間で収率の良い反応を用いること、さらに標識合成の遠隔・自動化が必要となる。覚せい剤のポジトロン標識体として、すでに ^{13}N amphetamine (^{13}N AMP) が報告されている⁴⁾が、放射化学的収率 3.5%、比放射能 0.30 GBq/mmol と共に非常に低く、PET への応用は困難であった。そこで著者は、東北大学サイクロトロン RI センターで開発されたオンライン法⁵⁾を用いて ^{11}C MAP の合成を行い、PET 画像化に必要な十分量の放射能を得る合成条件を確立した。⁶⁾ すなわち、原子核反応 $^{14}\text{N} (p, \alpha) ^{11}\text{C}$ により得られる ^{11}C CO_2 を、 ^{11}C CH_3I 自動合成装置⁷⁾に導き標識原料である ^{11}C CH_3I を合成し、これを AMP と反応させ、*N*-メチル基が ^{11}C 標識された MAP を合成した (Fig. 1)。標識反応後、反応系からの標識化合物の分離精製過程に要する時間を可能な限り短縮するため、HPLC による分離精製

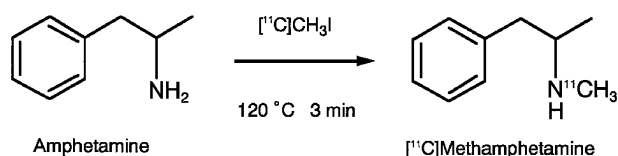


Fig. 1. Synthesis of ^{11}C Methamphetamine

を行い、生理食塩水に溶解後濾過滅菌して動物実験に供した。照射終了後 40 分で製剤化を終了し、放射化学的収率 10—25%、放射化学的純度 99% 以上、比放射能 48.1 GBq/ μmol の ^{11}C MAP が得られた。現在、PET 撮影に必要な 200 MBq 以上の ^{11}C MAP を供給することが可能である。

3. 覚せい剤逆耐性成犬による MAP 脳内動態変化の検討

3-1. 覚せい剤逆耐性成犬の作製 PET による解析を行うため、ビーグル犬での逆耐性モデルの作製を行った。逆耐性モデルは MAP 1.0 mg/kg を 1 週間、続く 1 週間 1.5 mg/kg 連続皮下投与を行い作製した。MAP を連続投与することにより、イヌは以下のような行動変化を示した。すなわち、MAP 連続投与初期には、ゲージ内をぐるぐると回り出す移所運動量 (locomotor activity) の増加が観察された。また、普段よく懐いている人間の呼びかけや好物の食物に対する反応が減弱した。さらに投与を続けることによって、急に立ち止まり上をじっと見上げる点を特徴とする常同行動 (stereotyped behavior) が出現し、それに伴い移所運動量が低下した。MAP を投与してからこれらの行動が現れるまでの時間 (time to the onset of stereotyped behavior) は、連続投与の回数が増加するに従い短縮された。これらの行動変化は断薬後 90 日を経た後も、MAP の投与によって容易に再現された。MAP 連続投与に伴うイヌの行動変化について Fig. 2 にまとめた。覚せい剤による逆耐性形成には多くの動物で報告がある²⁾が、イヌについては Marshall と Wallach が、ある期間 AMP を投与されたイヌは常同行動発

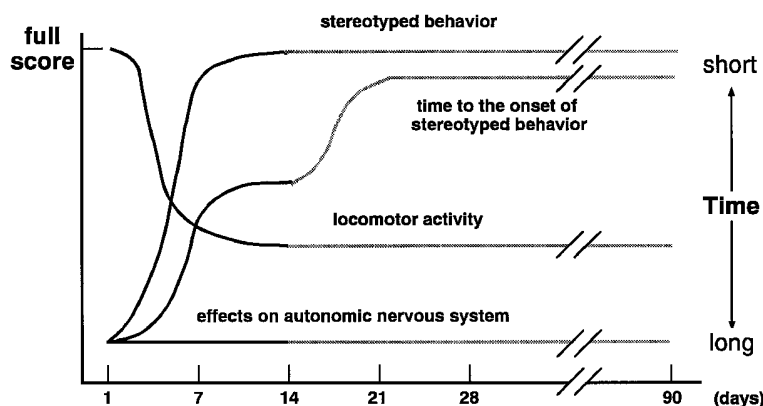


Fig. 2. The Effects of Repeated Methamphetamine Administration on the Dog Behavior

現潜時が短縮されることを報告⁸⁾しているのみである。著者は、イヌに MAP を連続投与した際の行動変化を詳細に観察し、MAP を用いてもイヌに逆耐性が形成されることを新規に示すと共に、その行動変化はラット等の小動物と大きな差異がないことを明らかにした。⁹⁾

3-2. 覚せい剤逆耐性成犬の MAP 脳内動態変化
PET 解析は静脈麻酔下に行った。すなわち、ketamine (10 mg/kg) による導入麻酔後、atropine (0.1 mg/kg) を投与し、以後 pentobarbital (最大 25 mg/kg) による維持麻酔下で検討を行った。動脈及び静脈にカニューレを挿入して血管確保後に PT931 型 PET スキャナーのベット上にイヌを固定し、吸収補正のためトランスミッションスキャンを行っ

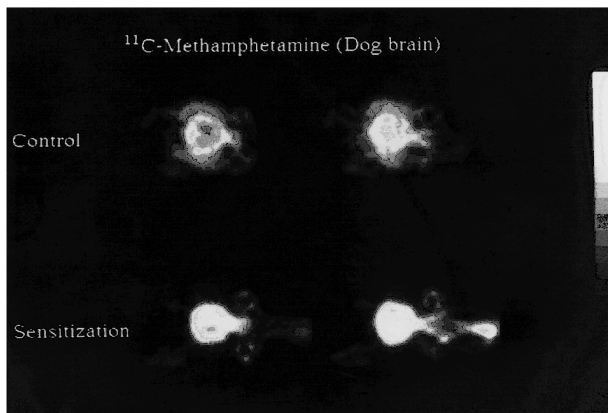


Fig. 3. PET Images of Regional Distribution of $[^{11}\text{C}]$ Methamphetamine in the Control and Sensitized Dog Brain at 10–20 min after Injection

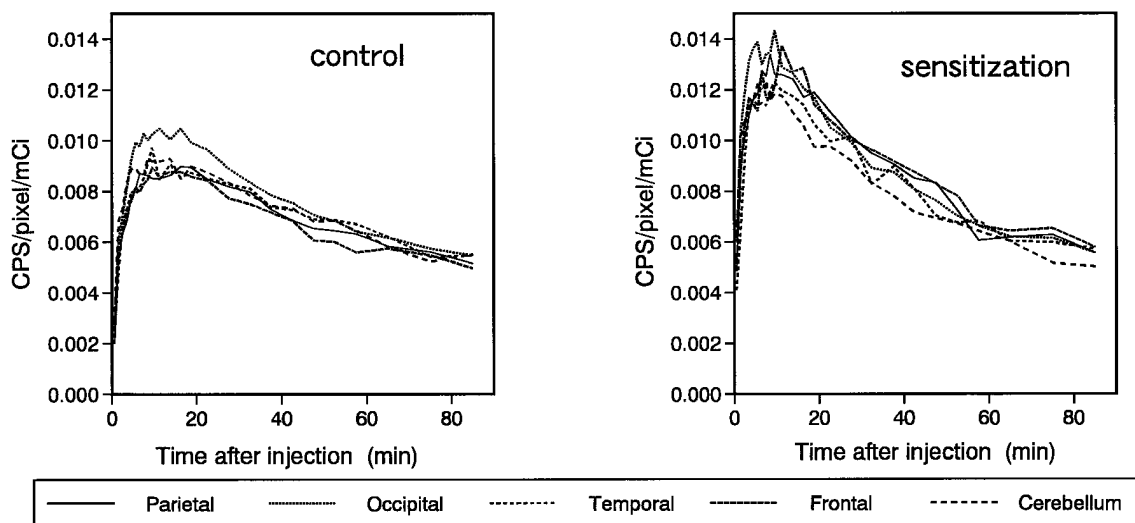


Fig. 4. Time Course of Regional Distribution of $[^{11}\text{C}]$ Methamphetamine in Dog Brain

た。そして、 $[^{11}\text{C}]$ MAP (250–418 MBq) を静脈より投与し、投与後 90 分までの全脳連続スキャンを行った。実験中は各種バイタルサインのモニターを行ったが、特に異常な所見は観察されなかった。

Figure 3 に $[^{11}\text{C}]$ MAP 投与 10–20 分後における正常及び逆耐性成犬脳 2 断面の積算画像を示す。この再構成画像上に 5 ヶ所の関心領域 (region of interest: ROI) を設定し、 $[^{11}\text{C}]$ MAP 集積量の経時変化を算出した (Fig. 4)。 $[^{11}\text{C}]$ MAP は素早く脳内に取り込まれ、投与 10–15 分後に最大の集積を示し、その後経時的に消失した。また、頭頂葉 (parietal)、前頭葉 (frontal)、後頭葉 (occipital)、側頭葉 (temporal)、小脳 (cerebellum) の各部位間における大きな集積差は認められなかった。正常時と逆耐性形成時の結果を比較すると、逆耐性時には正常時より単位投与量当たりの最大集積量が約 40% 増大していた。⁹⁾

この動態変化の一因として、逆耐性形成に伴い MAP 代謝能に変化が生じている可能性が考えられたため、代謝分析を行った。すなわち、PET の連続スキャンと同時に経時的な動脈採血を行い、HPLC を用い血漿中の $[^{11}\text{C}]$ MAP の代謝産物と未変化体の割合を測定した。その結果、 $[^{11}\text{C}]$ MAP 投与 50 分後において約 20% が血漿中未変化体として検出されたが、正常時と逆耐性時では MAP 代謝能に変化はなかった (Fig. 5)。

逆耐性形成に伴う脳内の生理変化として、すでに MAP 再投与時の線条体シナプス間隙における遊離

DA 量増加が明らかにされており,³⁾ この結果は神経終末への MAP 自身の到達性の変化が DA 過剰遊離を介して逆耐性形成に強く関与している可能性を示すものである。

次に、イヌにおいて明らかにした MAP 脳内動態変化をさらに詳細に解析する目的で、サルを用いた検討を行った。

4. 覚せい剤逆耐性サルによる MAP 脳内動態変化の検討

4-1. 覚せい剤逆耐性サルの作製 アカゲザルに MAP 1.0 mg/kg を 1 日 1 回 10 週間筋肉内投与することによって Fig. 6 に示すような行動変化を観察した。すなわち、MAP 連続投与前に生理食塩液のみを投与した際には、顕著な運動量 (motor activity) の増加が観察されたが、常同的な行動 (stereotyped behavior) や外界からの刺激に対する反応性 (reactivity by stimulants irritability) は認め

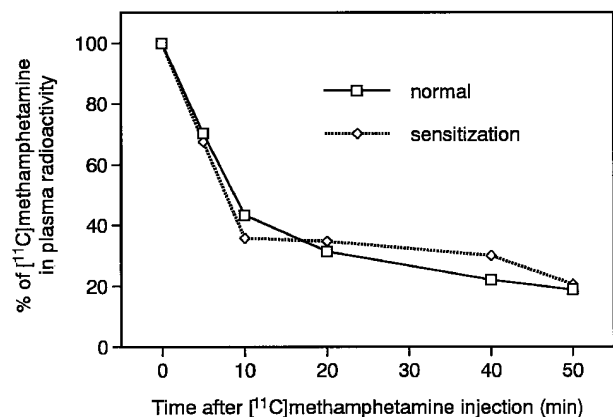


Fig. 5. Metabolic Analysis of [11C]Methamphetamine in Plasma

られなかった。MAP 連続投与に伴い運動量は次第に減少し、連続投与 5 週目ごろから行動範囲が固定 (fixation) されるようになった。また、連続投与初期には体を規則的に揺する常同的な行動が出現したが、運動量の減少に伴い消失した。外界からの刺激に対する反応性は連続投与に伴い増大し、非常に攻撃的な態度を示すようになったが、連続投与 5 週目を境に減少する傾向にあった。一方、後方を振り返り何かを探すような行動 (searching behavior) が連続投与開始数日後より出現し、連続投与 3 週目に最大となった。その後は目のみで探索する行動へと質的な変化が認められた。

以上のように、サルは多岐にわたる行動変化を示したが、その解析から逆耐性が形成されていると判断した。

4-2. 覚せい剤逆耐性サルの MAP 脳内動態変化の解析 逆耐性形成前後のサルでの [11C]MAP 脳内動態変化を Fig. 7 に示した。逆耐性形成後の脳内動態は、MAP 連続投与後断薬 7 日目のものである。逆耐性形成前後の脳内動態を比較すると、逆耐性形成後の [11C]MAP 脳内取り込みが逆耐性形成前に比較して若干低下していた。一方、脳内動態データを基に線条体と前頭葉への取り込みの小脳比 (Fig. 8) を算出したところ、両部位とも投与直後は小脳に比較して取り込みは低かったが、経時的に小脳比が高くなり投与 60 分後においては小脳以上の取り込みを示した。また、この小脳比を逆耐性形成前後で比較すると、部位差が認められ、線条体では形成後の値が若干高く、前頭葉では低い結果が得られた。

サルを用いた解析では、先にイヌでの検討により

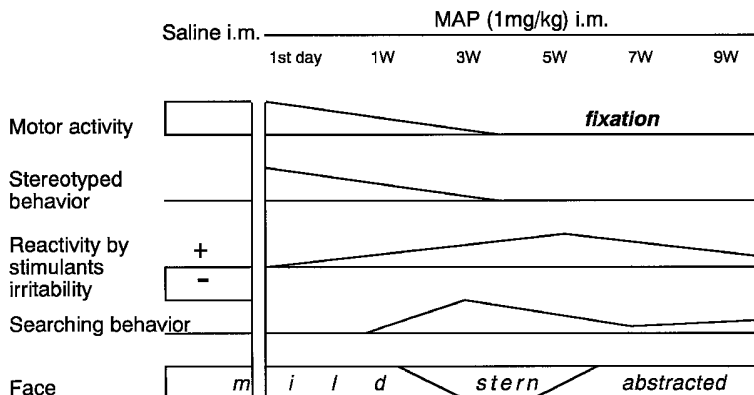


Fig. 6. Behavioral Changes Induced by Methamphetamine in Monkey

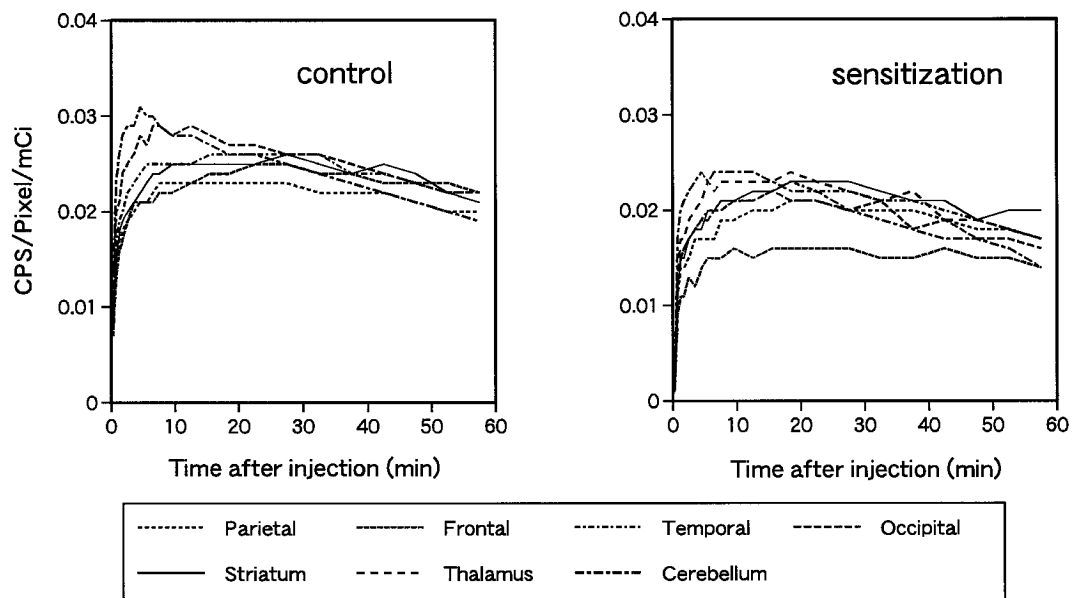


Fig. 7. Time Course of Regional Distribution of $[^{11}\text{C}]$ Methamphetamine in Monkey Brain

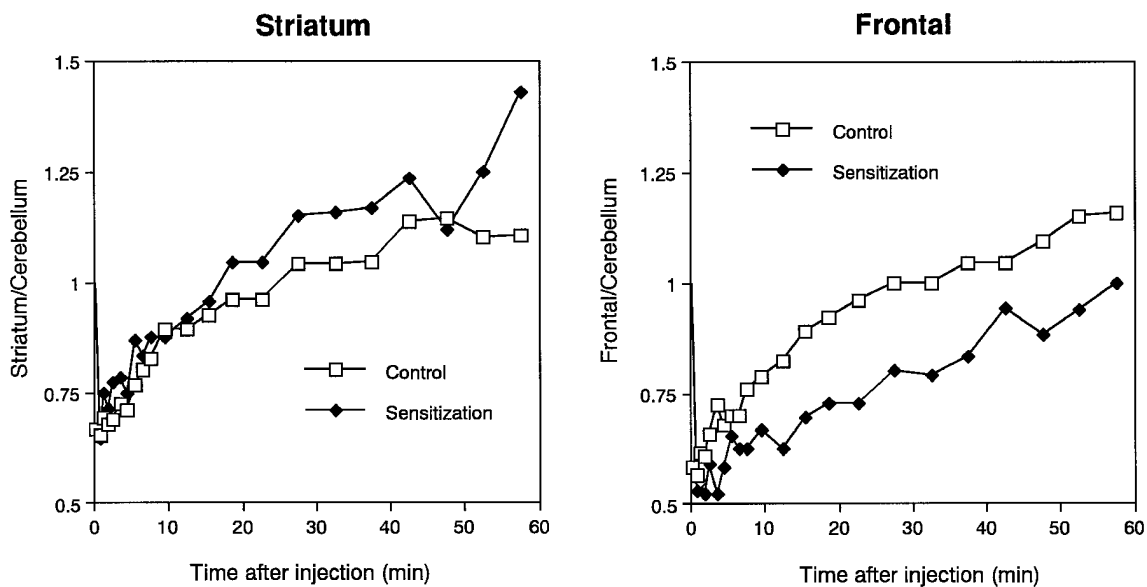


Fig. 8. Striatum/Cerebellum and Frontal/Cerebellum Uptake Ratios after i.v. Injection of $[^{11}\text{C}]$ Methamphetamine in Control and Sensitized Monkey Brain

明らかにした、逆耐性形成に伴う $[^{11}\text{C}]$ MAP 脳内集積性の増大の結果を裏付けることはできなかった。しかし、線条体/小脳比、前頭葉/小脳比は逆耐性形成による変化に部位差が認められ、逆耐性形成に伴う脳内変化を PET による画像解析で明らかにできる可能性が示された。

4-3. MAP 脳内動態変化に及ぼす麻酔の影響
サルを用いた解析ではイヌの知見を裏付けることは

できなかった。この原因の1つとして麻酔法の違いが考えられた。これまでイヌでは pentobarbital による静脈麻酔下で検討を行ってきたが、サルの場合にはより麻酔管理のしやすい halothane による吸入麻酔下で検討を行った。この麻酔法の違いが $[^{11}\text{C}]$ MAP の動態に影響を及ぼしている可能性が考えられる。そこで、新たに2匹の健常ザルを用いて pentobarbital による静脈麻酔下と、halothane によ

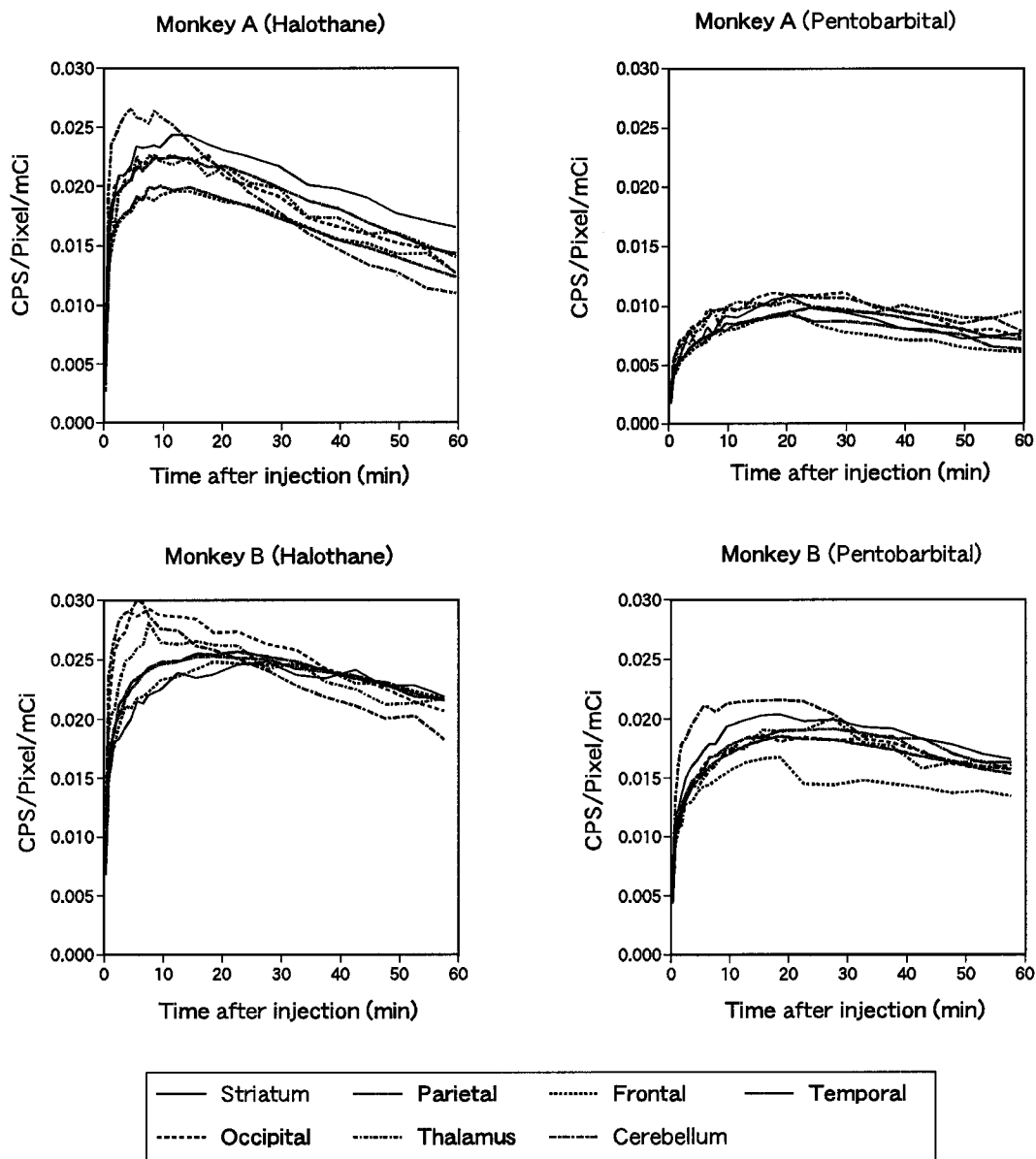


Fig. 9. The Influence of General Anesthesia on Brain Distribution and Kinetics of $[^{11}\text{C}]$ Methamphetamine in Monkey

る吸入麻酔下での $[^{11}\text{C}]$ MAPの動態の違いを検討した。

Figure 9に静脈麻酔時と吸入麻酔時の投与60分後までの $[^{11}\text{C}]$ MAP脳内動態変化を示した。両サルとも静脈麻酔時の脳への集積が吸入麻酔時よりも低下していた。この原因として麻酔薬が脳血流量に影響を及ぼしている可能性が考えられる。一般に、脳血流量はすべての吸入麻酔薬で吸入濃度に依存して増加し、ketamineを除くすべての静脈麻酔薬で減少すると言われている。実際、経頭蓋ドップラー法による測定で、1 MAC (minimum anesthetic concentration: 最小麻酔濃度) のhalothane麻酔によ

りヒト脳血流量速度が平均23%増加することが報告されている。¹⁰⁾ また、ラットを用いた検討により、40 mg/kgのpentobarbital麻酔により、脳血流量が50%減少するとの報告がある。¹¹⁾ したがって、今回示された麻酔の違いによる $[^{11}\text{C}]$ MAPの脳内動態の差は脳血流量変化による差である可能性が大きい。また、A・B両サル間での動態の差の違いは個体差による可能性もあるが、麻酔深度の差によるものと考えている。特に静脈麻酔においては、吸入麻酔に比較し各回の麻酔深度を一定に保つことは困難であり、麻酔深度の差が脳血流量の差となり $[^{11}\text{C}]$ MAPの動態に大きく影響を及ぼしたのと考えられる。

逆耐性形成後で、 $[^{11}\text{C}]\text{MAP}$ の脳内取り込みが正常時に比較して若干低下していたのも、麻酔深度の影響による可能性がある。動物実験において麻酔は必要不可欠なものであり、PETによる薬物動態解析では麻酔法を十分に評価する必要がある。

5. まとめ

著者は、これまでMAP逆耐性形成時のMAP自身の脳内動態変化に着目してきた。そして、逆耐性モデル成犬を使ったPET画像解析により、逆耐性形成時にはMAP自身の脳内取り込みが増大することを明らかにした。一方、逆耐性形成前後での $[^{11}\text{C}]\text{MAP}$ のサル脳内動態を比較検討したところ、イヌでの検討結果とは異なり脳内動態に有意な差は認められなかった。しかし脳内各部位/小脳比等、解析法によっては逆耐性形成に伴う脳内変化をPETによりうまく描出できる可能性が示された。

覚せい剤精神病を引き起こす脳内の生化学的基盤をPETで捉えようとする試みはこれまでほとんど行われていない。Iyoらは、覚せい剤精神病既往者を対象とし線条体 D_2 受容体及び前頭葉 S_2 セロトニン受容体をPETにより定量解析したが、健常対照群との間に有意な差は認められなかったと報告している。¹²⁾今回PET画像解析により明らかにした $[^{11}\text{C}]\text{MAP}$ 脳内動態変化は、覚せい剤乱用による脳障害の新たなPET診断法の可能性を示すものである。

謝辞 本研究に際し、終始御指導御鞭撻を賜りました東北大学医学部附属病院薬剤部水柿道直教授に深く感謝いたします。また、有益な御助言を賜りました、東北大学サイクロトロンRIセンター核薬学研究部井戸達雄教授、同サイクロトロン核医学研究部伊藤正敏教授、現東北福祉大学大学院精神医学佐藤光源教授に心より感謝いたします。本研究を遂行するにあたり御協力いただきました、東北大学サ

イクロトロンRIセンター核薬学講座、同核医学講座、同医学部精神医学講座、並びに同医学部附属病院薬剤部の皆様に感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Sato M., Chen C. C., Akiyama K., Otsuki S., *Biol. Psychiat.*, **18**, 429-440 (1983).
- 2) Robinson T. E., Becker J. B., *Brain Res. Rev.*, **11**, 157-198 (1986).
- 3) Kazahaya Y., Akimoto K., Otsuki S., *Biol. Psychiatry*, **25**, 903-912 (1989).
- 4) Finn R. D., Christman D. R., Wolf A. P., *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **18**, 909-913 (1981).
- 5) Iwata R., Pascali C., Yuasa M., Yanai K., Takahashi T., Ido T., *Appl. Radiat. Isot.*, **43**, 1083-1088 (1992).
- 6) Mizugaki M., Nakamura H., Hishinuma T., Tomioka Y., Yanai K., Iwata R., Ido T., *CYRIC Annual Report*, **1993**, 93-95 (1994).
- 7) Iwata R., Ido T., Saji H., Suzuki K., Yoshikawa K., Tamate K., Kashida Y., *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, **30**, 194-196 (1979).
- 8) Marshall B., Wallach M. B., Gershon S., *Psychopharmacol. Bull.*, **7**, 30-31 (1971).
- 9) Mizugaki M., Nakamura H., Hishinuma T., Tomioka Y., Ishiwata S., Suzuki H., Ido T., Iwata R., Funaki Y., Itoh M., Fujiwara T., Yanai K., Sato M., Numachi Y., Yoshida S., *Nucl. Med. Biol.*, **22**, 803-807 (1995).
- 10) Matsumoto T., Nishii T., Arai T., Kamei T., Watanabe S., Ichiken A., *J. Clin. Anesth. (Jpn)*, **19**, 1134-1136 (1995).
- 11) Giedde A., Rasmussen M., *J. Neurochem.*, **35**, 1382-1387 (1980).
- 12) Iyo M., Nishio M., Itoh T., Fukuda H., Suzuki K., Yamasaki T., Fukui S., Tateno Y., *Psychiat. Res.*, **50**, 217-231 (1993).