

平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)

違法ドラッグの薬物依存形成メカニズムと
その乱用実態把握に関する研究

課題番号：H18-医薬-一般-018

研究報告書

平成 20 年 3 月

主任研究者：船田正彦

目次

平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
(課題番号：H18-医薬-一般-018)

違法ドラッグの薬物依存形成メカニズムとその乱用実態把握に関する研究

I. 総括研究報告書		
船田正彦 (国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部)	-----	1
II. 分担研究報告書		
研究-1：覚せい剤類似化合物の薬物依存性並びに神経毒性の評価	-----	13
船田正彦 (国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部)		
研究-2：違法ドラッグの薬物弁別刺激特性：覚せい剤類似化合物の評価	-----	28
青尾直也 (国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部)		
研究-3：違法ドラッグの構造修飾と神経毒性発現の相関に関する研究	-----	36
浅沼幹人 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科脳神経制御学講座)		
研究-4：高校生における違法ドラッグを含む薬物乱用の実態に関する研究	-----	65
和田 清 (国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部)		
研究-5：民間薬物依存リハビリ施設利用者における違法ドラッグ乱用の実態把握に関する研究	-----	85
和田 清 (国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部)		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	103

違法ドラッグの薬物依存形成メカニズムとその乱用実態把握 に関する研究

主任研究者 船田正彦
(国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部 依存性薬物研究室長)

【研究要旨】 違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)として、覚せい剤と類似構造を有する物質の流通とその乱用が問題となっている。本研究では、アンフェタミンおよびメタンフェタミン(MAP)の4位が置換された4-fluoroamphetamine (4FMP) と4-methoxymethamphetamine (PMMA)の精神依存性と神経細胞毒性の発現を評価し、その発現メカニズムに関する基盤研究を行なった。また、違法ドラッグの研究および評価の際の基礎資料を提供する目的で、違法ドラッグを含む薬物乱用実態に関する疫学調査を実施した。**[研究-1：覚せい剤類似化合物の薬物依存性並びに神経毒性の評価]** 1) 4FMP と PMMA の行動解析：4FMP および PMMA による運動活性に対する影響を検討した。4FMP と PMMA により、用量依存的な運動促進作用が発現した。この効果は、ドパミン D1 受容体拮抗薬である SCH23390 の前処置によって抑制され、ドパミン D1 受容体を介して発現する作用であることが明らかになった。4FMP および PMMA の精神依存形成能は、conditioned place preference (CPP) 法により評価した。4FMP と PMMA の条件付けにより、有意な CPP の発現が確認された。4FMP および PMMA の条件付けによって報酬効果が発現したことから、精神依存形成能を有する危険性が示唆された。2) 脳内モノアミンに対する影響：4FMP および PMMA (10 mg/kg) 投与後に、側坐核を含有する limbic forebrain を分画し HPLC 法に従ってドパミン含量を測定した。4FMP および PMMA の投与により、ドパミン含量は有意に増加した。4FMP および PMMA の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、limbic forebrain におけるドパミン含量の増加が利用できると考えられる。3) モノアミン酸化酵素(MAO)活性：4FMP および PMMA 処置により、MAO 活性は抑制された。4FMP および PMMA 作用発現に MAO 阻害作用が重要な役割を果たしていると考えられる。本研究より、4FMP および PMMA は中枢興奮作用と精神依存形成能を有することが明らかになった。4FMP および PMMA の薬理作用発現には、ドパミン神経系が関与しており MAO 活性阻害作用が関与する可能性が示唆された。覚せい剤であるアンフェタミンおよびメタンフェタミンの4位が置換された薬物も、覚せい剤と同様の中枢興奮作用および精神依存性を示す危険性が明らかになった。**[研究-2：違法ドラッグの薬物弁別刺激特性：覚せい剤類似化合物の評価]** 薬物弁別実験：メタンフェタミンと生理食塩液の薬物弁別を獲得した動物において、4FMP および PMMA の般化試験を行なった。4FMP および PMMA はメタンフェタミンと般化が認められた。したがって、メタンフェタミンと類似した薬物弁別特性、すなわち自覚効果(感覚効果)を有していることが示唆された。メタンフェタミンを標準薬(訓練薬)とした薬物弁別試験は、覚せい剤類似構造を有する違法ドラッグの評価に有効である。**[研究-3：違法ドラッグの構造修飾と神経毒性発現の相関に関する研究]** 細胞毒性の評価：4FMP および PMMA 添加によるドパミン系神経あるいはセロトニン系神経に対する細胞毒性の発現について検討した。ドパミン系培養神経細胞 CATH.a 細胞とモノアミン系セロトニン含有培養神経細胞 B65 細胞に薬物を添加して、24 時間後の細胞毒性(LDH 放出量測定)、形態学的変化お

よび細胞内モノアミン含量の変化を検討した。4FMP および PMMA の単独暴露により、いずれの細胞においても 1-2 mM 以上ではじめて細胞死が惹起された(IC50: 1 mM 以上、MAP、MDMA と同程度)。また、単独では障害性のみられない濃度の 4FMP あるいは PMMA と、単独では非障害性低濃度の MDMA あるいは MAP を併用暴露すると、著明な LDH 放出量の増加ならびにアポトーシス様の形態変化を伴う細胞死が認められた。4FMP 単独添加は両細胞において、ドパミン、セロトニン含量を低下させ、PMMA 単独添加は CATH.a 細胞でのみ、ドパミン含量の低下が確認された。さらに、MDMA、MAP との併用による著明な細胞障害の発現と異なり、ドパミン、セロトニン含量の低下に対する増悪作用はみられなかった。4FMP、PMMA は、単独では障害性のない濃度であっても、非障害性の低濃度の MDMA もしくは MAP との同時併用により、ドパミン系神経細胞ならびにモノアミン系セロトニン含有神経細胞に対して強い細胞毒性を惹起した。これらの結果から、4FMP、PMMA は、MDMA もしくは MAP との同時乱用を行った場合に、強いドパミンおよびセロトニン神経毒性をもたらす危険性があると考えられる。また、細胞内モノアミン含量の変化と細胞障害の程度が相関しないことから、モノアミン酸化酵素阻害活性に代表されるモノアミン量への作用の評価だけでは、違法ドラッグなどの神経毒性を予測することは困難であると考えられる。[研究-4：高校生における違法ドラッグを含む薬物乱用の実態に関する研究] 青少年の違法ドラッグを含めた薬物乱用に関する実態把握のために、関東地方の高校生 1094 名を対象に無記名自記式による質問紙調査を実施した。各違法ドラッグの周知率は、ラッシュ (RUSH、亜硝酸エステル) (18.8%) が最も高く、HMDMA (3.7%)、DPT (2.9%)、MBDB (2.2%) などであった。これは、ラッシュ関連の事件を、メディア等が取り上げたことが影響している可能性が示唆される。また、違法薬物の乱用経験率は全体の 0.6% (男子 0.7%、女子 0.4%) であり、有機溶剤を乱用しているケースが最も多かった。青少年における違法ドラッグの認知度は低く、違法ドラッグ (あるいは指定薬物) という概念を周知させることの困難性が示唆された。学校現場では、違法ドラッグの身体的な健康被害や、法的規制のみならず、薬物乱用の先にある薬物依存や慢性中毒症状についても正しく理解させることが薬物乱用防止の上で重要だと思われる。[研究-5：民間薬物依存リハビリ施設利用者における違法ドラッグ乱用の実態把握に関する研究] 薬物依存症者における違法ドラッグの乱用経験は、一般人口よりも高い割合で存在すると想定される。そこで、民間薬物依存リハビリ施設の入寮者を対象に、自記式質問紙調査によるスクリーニング調査および面接調査により、違法ドラッグの乱用実態を量的・質的に調査した。違法ドラッグの周知率は、ラッシュが 69.9%と最も高く、HMDMA 15.2%、5-MeO-AMT 6.5%と続いた。違法ドラッグの乱用経験率は、ラッシュが 37.0%と最も高く、ケタミン 13.0%、HMDMA 6.5%、5-MeO-DIPT 4.3%と続いた。違法ドラッグとの関わりの深い 6 症例を対象に面接調査を実施した。この 6 症例はいずれも 20 歳代後半から 30 歳代前半までの比較的若い年齢層であった。違法ドラッグを主たる依存薬物とする症例は、6 症例のうち 2 症例であり、いずれの症例も使用していた違法ドラッグが麻薬指定になったことを理由に、その後、覚せい剤にシフトしていた。違法ドラッグを経由した違法薬物へ移行するケース (いわゆるゲイトウェイとしての違法ドラッグ) の増加が懸念される。違法ドラッグの法的規制に関する研究に加え、違法ドラッグに依存している当事者に対する治療やケアについての研究も進めていく必要がある。

覚せい剤の類似化合物である 4FMP および PMMA の行動薬理学特性を検討した。4FMP および PMMA は精神依存形成能およびメタンフェタミンと類似の弁別刺激特性を有することが明らかになった。アンフェタミンおよびメタンフェタミンの 4 位の化学構造において、この部分の構造修飾に希少差異があっても、類似した効果を発現する危険性が示唆された。一方、4FMP および PMMA は単独では MAP、MDMA と同程度の細胞毒性を示し、構造の差異に基づく毒性の増強発現は確認されなかったが、それぞれの併用により強力な毒性を発現する危険性が確認された。覚せい剤の類

似化合物において、薬物による中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験および薬物弁別試験を行うことにより、効率良く化学物質の精神依存性および自覚効果を評価できることが確認された。今後は、覚せい剤を中心とする依存性薬物の化学構造および構造修飾に着目し、多くの化合物について、その薬物依存性と毒性発現の関連性についての検討が不可欠である。物質の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、脳内のドーパミンの変動が利用できると考えられる。脳内のドーパミン含量の増加は危険因子である。また、薬物弁別試験法では、規制薬物が示す自覚効果と他の薬物の自覚効果の類似性を評価できることから、多くの類縁誘導体が存在する違法ドラッグの中枢作用の解析に有用であることが示唆された。培養細胞を利用した細胞毒性の評価は、薬物単独および規制薬物との併用実験などの様々な環境設定が可能であり、迅速かつ正確な毒性評価法として有用である。こうした一連の評価システムにより、国内で流通が確認されている違法ドラッグの精神依存性および神経毒性の検討を行い、危険化合物の迅速な発見に活用できると考えられる。将来的に乱用拡大につながる化学物質を特定し、規制薬物指定への早期の対策に有用であると考えられる。また、実態調査の結果から、違法ドラッグに関する積極的な情報発信の重要性が示された。現在、違法ドラッグに関する議論は、法的規制に関する話題が中心となっているが、今後は、違法ドラッグに依存している当事者に対する治療やケアについての議論も進めていくべきであろう。

分担研究者：船田正彦

国立精神・神経センター
精神保健研究所薬物依存研究部
依存性薬物研究室長

分担研究者：浅沼幹人

岡山大学大学院医歯薬学
総合研究科脳神経制御学講座
神経情報学 准教授

分担研究者：青尾直也

国立精神・神経センター
精神保健研究所薬物依存研究部
外来研究員、リサーチレジデント

分担研究者：和田 清

国立精神・神経センター
精神保健研究所薬物依存研究部
部長

A. 研究目的

わが国は、第三次覚せい剤乱用期にあり、種々の規制薬物の乱用の拡大は、大きな社会問題である。若年層では、麻薬として規制さ

れている 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)に代表される“クラブ・ドラッグ”の乱用が浸透しており、深刻な状況である。一方、インターネット等の通信手段の普及により、薬物等の化学物質に関する情報伝播は非常に高速化している。それに伴い、様々な化学物質の取引は容易かつ迅速になり、その入手可能性が高まっている。

近年、法的規制を受けない化学物質で、乱用を目的として売買されている違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）の氾濫は、きわめて重大な社会問題となっている。国内で流通が確認されている違法ドラッグとしては、既に麻薬として規制されている 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT)に類似したトリプタミン誘導体および覚せい剤と類似化学構造を有するフェネチルアミン誘導体等が知られている。

フェネチルアミン誘導体の中でも、アンフェタミンおよびメタンフェタミンの4位が置換された 4-fluoroamphetamine (4FMP) と 4-methoxymethamphetamine (PMMA)については、覚せい剤類似化合物として、国内における流通が確認されており、その乱用拡大が懸念される化学物質である(Fig. 1)。

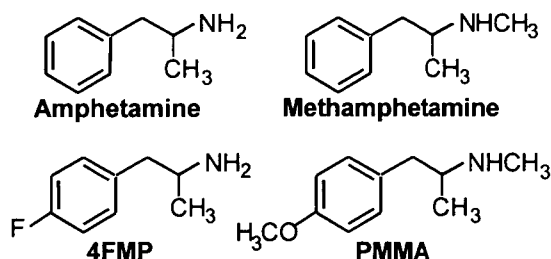


Fig. 1. Chemical structures of amphetamine, methamphetamine, 4-fluoroamphetamine (4FMP) and 4-methoxymethamphetamine (PMMA).

4FMP および PMMA は、覚せい剤と構造が類似しているため、覚せい剤と同様の精神依存形成能を有する可能性が考えられる。また、4FMP および PMMA は単独もしくは、他の違法ドラッグの混入物質の有無などにより、さらに強力な精神依存性や未知の毒性などが発現する危険性が存在する。したがって、薬物の精神依存性および神経毒性発現の有無を評価する基礎的な検討が必要である。覚せい剤および MDMA などの依存性薬物との比較を通じ、違法ドラッグの依存形成の強度と神経毒性について明確にするのは緊急課題である。

違法ドラッグには、数多くの類似構造体が存在するため、迅速に乱用危険性および毒性発現を検出する評価システムの構築がきわめて重要である。4FMP および PMMA に関する研究を通じて、薬物依存性の解析では、報酬効果を評価する conditioned place preference (CPP)法の有用性を検討する。多くの類似構造化合物の中樞作用を、効率良く比較検討するためには、自覚効果の類似性を解析できる薬物弁別実験による評価が必要である。そこで、薬物弁別試験法の有用性を検証する。細胞毒性の評価では、培養細胞を利用する解析を行う。以上の研究を通じて、4FMP および PMMA のように覚せい剤類似構造を有する違法ドラッグに関して、その乱用危険性および毒性発現を検出する評価システムの構築について検証することは非常に重要である。

一方、違法ドラッグの取締りは強化されている。厚生労働省では「未認可医薬品」、東京都では「知事指定薬」として規制されるケースもあり、乱用防止に貢献している。しかしながら、取締りの強化により、違法ドラッグの流通はアンダーグラウンド化していく傾向があり、その乱用の実態把握はきわめて重要になっている。違法ドラッグに関する乱用実態を把握することは、流通している薬物の情報が収集できるとともに、薬物乱用防止対策の立案、遂行の基礎資料として重要である。

本研究では、覚せい剤類似化合物である 4FMP および PMMA の精神依存性、自覚効果および神経細胞毒性の発現を評価し、その発現メカニズムに関する基盤研究を行なった。また、違法ドラッグの研究および評価の際の基礎資料を提供する目的で、青少年を対象に、違法ドラッグを含む薬物乱用実態に関する疫学調査を実施した。

B. 各分担研究の目的、方法、結果

[研究-1: 覚せい剤類似化合物の薬物依存性並びに神経毒性の評価]

分担研究者：船田正彦

国立精神・神経センター
精神保健研究所 薬物依存研究部
依存性薬物研究室長

覚せい剤と類似構造を有する 4FMP および PMMA の精神依存性ならびに運動活性に対する影響を比較検討した。1) 4FMP と PMMA の行動解析: 4FMP および PMMA による運動活性に対する影響を検討した。4FMP と PMMA により、用量依存的な運動促進作用が発現した。この効果は、ドパミン D1 受容体拮抗薬である SCH23390 の前処置によって有意に抑制され、ドパミン D1 受容体を介して発現する作用であることが明らかになった。4FMP および PMMA の精神依存形成能は、マウスを使用し conditioned place preference (CPP)法により評価した。4FMP と PMMA の

条件付けにより、有意な CPP の発現が確認された。4FMP および PMMA の条件付けによって報酬効果の発現が確認されたことから、精神依存形成能を有する危険性が示唆された。

2) 脳内モノアミンに対する影響：4FMP および PMMA (10 mg/kg) 投与後に、側坐核を含有する limbic forebrain を分画し HPLC 法に従ってドパミン、セロトニンおよび代謝産物の含量を測定した。4FMP および PMMA の投与により、limbic forebrain においてドパミン含量は有意に増加し、ドパミン代謝産物は低下した。一方、PMMA においてのみセロトニン含量の増加が認められた。4FMP および PMMA の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、ドパミン含量の増加が利用できると考えられる。

3) モノアミン酸化酵素 (MAO) 活性：4FMP および PMMA 処置により、MAO 活性は抑制された。4FMP および PMMA 作用発現に MAO 阻害作用が重要な役割を果たしていると考えられる。さらに、抑制強度は PMMA > 4FMP であり、PMMA によるセロトニン含量の増加に一部、MAO 阻害作用が関与している可能性がある。本研究より、4FMP および PMMA は中枢興奮作用と精神依存形成能を有することが明らかになった。4FMP および PMMA の中枢興奮作用の発現には、ドパミン神経系が関与しており MAO 活性阻害作用が関与する可能性が示唆された。覚せい剤であるアンフェタミンおよびメタンフェタミンの 4 位が置換された薬物も、覚せい剤と同様の作用を示す危険性が確認された。覚せい剤の類似化合物において、薬物による中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験を行うことにより、効率良く化学物質の精神依存性を評価できることが確認された。

[研究-2：違法ドラッグの薬物弁別刺激特性：覚せい剤類似化合物の評価]

分担研究者：青尾直也

国立精神・神経センター
精神保健研究所 薬物依存研究部
外来研究員、リサーチレジデント

規制薬物と違法ドラッグの自覚効果の類似性を評価する目的で、薬物弁別実験法の確立を試みた。覚せい剤であるメタンフェタミン (MAP) と、その化学構造が類似した 4FMP および PMMA の自覚効果 (薬理効果) の類似性を評価した。

1) MAP を用いた薬物弁別実験の確立：MAP (1.0 mg/kg) の FR10 スケジュールによる訓練で用量依存的に弁別刺激効果が認められたことから、MAP を標準薬とした薬物弁別実験を行う際の訓練条件が明らかになった。

2) MAP 訓練動物における 4FMP、PMMA の般化試験：MAP (1.0 mg/kg) および溶媒である生理食塩液で薬物弁別訓練を行った動物を用いて、4FMP、PMMA の般化試験を行った結果、4FMP は般化が認められた。一方、PMMA は MAP に最大 50% 程度の般化が認められた。このことから、4FMP は MAP と類似した自覚効果 (薬理効果) を有することが明らかになった。一方、PMMA は部分的に類似した自覚効果 (薬理効果) を有していると考えられる。本研究では、覚せい剤である MAP を標準薬とした薬物弁別実験を行う際の訓練条件が明らかになった。さらに、違法ドラッグである 4FMP は MAP と類似した自覚効果 (薬理効果)、PMMA は部分的に類似した自覚効果 (薬理効果) を有していることを明らかにした。MAP を標準薬 (訓練薬) とした薬物弁別試験は、MAP 類似構造を有する違法ドラッグ (いわゆる脱法ドラッグ) の評価に有効である。

[研究-3：違法ドラッグの構造修飾と神経毒性発現の相関に関する研究]

分担研究者：浅沼幹人

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
脳神経制御学講座神経情報学 准教授

覚せい剤と類似構造を有する 4FMP および PMMA のドパミン系神経あるいはセロトニン系神経への細胞毒性ならびに MDMA あるいはメタンフェタミン (MAP) との併用による

細胞毒性の評価を行った。ドパミン系培養神経細胞 CATH.a 細胞とモノアミン系セロトニン含有培養神経細胞 B65 細胞を使用し、4FMP および PMMA の添加ならびに MDMA あるいは MAP との同時添加を行い、24 時間後の細胞毒性 (LDH 放出量測定)、形態学的変化を検討した。また、4FMP、PMMA 添加による細胞内モノアミン含量の変化を検討し、多くのモノアミン神経作動性の違法ドラッグで認められるモノアミン酸化酵素阻害活性と神経細胞毒性との相関の有無についても評価した。

1) 単独による細胞毒性：4FMP、PMMA の単独暴露により CATH.a 細胞、B65 細胞のいずれの細胞においても 1-2 mM 以上ではじめて細胞死が惹起された(IC₅₀: 1 mM 以上)。この単独による毒性は規制薬物の MAP、MDMA やメチロンの毒性(IC₅₀: 1-2 mM 以上)とほぼ同等であったが、他のフェネチルアミン系違法ドラッグである「2CT シリーズ」に比べ軽度であった。2) 併用作用：CATH.a 細胞、B65 細胞において、単独では障害性のみられない濃度の 4FMP あるいは PMMA と、単独では障害性の低いあるいは認められない濃度の MDMA (100 μM-2 mM)あるいは MAP (250 μM-2 mM)を併用暴露すると、著明な LDH 放出量の増加ならびにアポトーシス様の形態変化を伴う細胞死が認められた。4FMP 単独添加は両細胞において MDMA、MAP と同様にドパミン、セロトニン含量を低下させ、PMMA 単独添加は CATH.a 細胞ではドパミン含量を低下させたが、B65 細胞のセロトニン量に影響しなかった。さらに、MDMA、MAP との併用暴露による著明な細胞障害の発現と異なり、ドパミン、セロトニン含量の低下に対する増悪作用はみられなかった。

[研究-4: 高校生における違法ドラッグを含む薬物乱用の実態に関する研究]

分担研究者：和田清

国立精神・神経センター

精神保健研究所 薬物依存研究部長

青少年の違法ドラッグを含めた薬物乱用に関する実態把握のために、関東地方の高等学校 (全日制) 2 校における高校生 1094 名を対象に無記名自記式による質問紙調査を実施した。いずれかの違法ドラッグ (一部、麻薬指定となった薬物も含む) を聞いたことがあるのは全体の 21.6%で、78.4%の生徒は全ての違法ドラッグを知らなかった。各違法ドラッグの周知率は、ラッシュ (RUSH、亜硝酸エステル) (18.8%) が最も高く、ケタミン (3.8%)、HMDMA (3.7%)、DPT (2.9%)、メチロン (2.4%)、MBDB (2.2%)、BDB (1.8%)、MMDA-2 (1.5%)、AMT (1.4%)、DIPT (1.4%)、4MPP (1.0%) と続いた。聞いたことがある違法ドラッグの数は、1 種類という回答が 64.3%と最も多く、2 種類 (13.5%)、3 種類 (11.7%)、4 種類 (2.9%) と続き、知っているもラッシュのみというケースが多かった。今回の対象者にはラッシュ乱用経験者はおらず、誘われた経験は 2.3%、身近な乱用者は 1.4%にみられた。また、違法薬物の乱用経験率は全体の 0.6% (男子 0.7%、女子 0.4%) であり、有機溶剤を乱用しているケースが最も多かった。

[研究-5: 民間薬物依存リハビリ施設利用者における違法ドラッグ乱用の実態把握に関する研究]

分担研究者：和田清

国立精神・神経センター

精神保健研究所 薬物依存研究部長

違法ドラッグ (いわゆる脱法ドラッグ) の乱用実態は不明な点が多いが、薬物依存症者における違法ドラッグの乱用経験は、一般人口よりも高い割合で存在すると想定される。そこで、民間薬物依存リハビリ施設の入寮者を対象に、自記式質問紙調査によるスクリーニング調査および面接調査により、違法ドラッグの乱用実態を量的・質的に調査した。リハビリ施設 2 ヶ所における 46 名を対象として、

質問紙調査を実施した。違法ドラッグの周知率は、ラッシュが 69.9%と最も高く、ケタミン 54.3%、HMDMA 15.2%、メチロン 8.7%、5-MeO-AMT 6.5%と続いた。違法ドラッグの乱用経験率は、ラッシュが 37.0%と最も高く、ケタミン 13.0%、HMDMA 6.5%、5-MeO-DIPT 4.3%と続いた。また、違法ドラッグとの関わりの深い 6 症例を対象にインタビューを実施した。この 6 症例はいずれも 20 歳代後半から 30 歳代前半までの比較的若い年齢層であった。違法ドラッグを主たる依存薬物とする症例は、6 症例のうち 2 症例であり、いずれの症例も使用していた違法ドラッグが麻薬指定になったことを理由に、その後、覚せい剤にシフトしていた。

C. 考察

1. 4FMP および PMMA の精神依存性評価

覚せい剤類似化合物の精神依存性を評価するシステム構築を試みた。行動解析から 4FMP および PMMA は強力な中枢興奮作用を示し、この作用はドパミン D1 受容体を介して発現することが明らかになった。4FMP および PMMA の精神依存形成能を、マウスを使用し CPP 法により評価した。条件付けで報酬効果の発現が確認され、精神依存形成能を有することが確認された。薬物による中枢興奮作用と精神依存形成能の相関性に着目すると、中枢興奮作用が発現する用量付近から低用量側で報酬効果が発現することが示唆された。したがって、中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験を行うことにより、効率良く化学物質の精神依存性を評価できると考えられる。また、薬物弁別試験法では、覚せい剤である MAP と 4FMP および PMMA の弁別刺激特性が類似していることが明らかになった。したがって、類似した自覚効果（中枢作用）を有する可能性が示唆された。薬物弁別試験法では、規制薬物が示す自覚効果と他の薬物の自覚効果の類似性を評価できることから、多くの類縁誘導体が存在する違法ドラッグの

中枢作用の解析に有用であることが明らかになった。

物質の乱用危険度を推測するために、脳内の生化学的マーカー同定を試みた。側坐核を含有する limbic forebrain を標的部位として、脳内モノアミンに対する影響を検討した。4FMP および PMMA の投与で、limbic forebrain においてドパミン含量の著明な増加が確認された。化学物質投与による脳内ドパミン含量の増加は、中枢作用を反映しており、その化学物質の乱用危険性を予測するための生化学的マーカーの一つとして有用であることが示唆された。脳組織内のモノアミン量の測定は簡便かつ高感度であり、違法ドラッグ（脱法ドラッグ）の特性を判断する生化学的マーカーとして有用である。

2. 神経細胞毒性発現に関する研究

4FMP、PMMA の単独暴露によりドパミン系神経細胞ならびにモノアミン系セロトニン含有神経細胞のいずれの細胞においても 1-2 mM 以上ではじめて細胞死が惹起された (IC₅₀: 1 mM 以上)。この単独添加による細胞毒性は規制薬物である MAP、MDMA やメチロンの毒性 (IC₅₀: 1-2 mM 以上) とほぼ同等であった。同じフェネチルアミン系違法ドラッグの「2CT シリーズ」2CT-7、2CT-4、2CT-2、2CI の単独添加では、低濃度 (IC₅₀: 100-250 μM) で、両細胞に対して強い細胞毒性を示すことから、4FMP、PMMA の単独暴露による障害性は「2CT シリーズ」に比べ軽度であることが明らかになった。一方、ドパミン系神経細胞ならびにセロトニン含有神経細胞において、単独では障害性のみられない濃度の 4FMP あるいは PMMA と、単独では障害性の低いあるいは認められない濃度の MDMA (100 μM-2 mM) あるいは MAP (250 μM-2 mM) を併用暴露すると、著明な LDH 放出量の増加ならびにアポトーシス様の形態変化を伴う細胞死が認められた。これらの結果より、4FMP、PMMA は、単独では障害性のない濃度であっても、非障害性の低濃度の MDMA

もしくは MAP と同時に乱用することより、ドパミン系神経細胞ならびにモノアミン系セロトニン含有神経細胞に対して強い細胞毒性を惹起しうると考えられる。さらに本検討では、4FMP、PMMA 添加による細胞内モノアミン含量の変化を検討し、多くのモノアミン神経作動性の違法ドラッグで認められるモノアミン酸化酵素阻害活性と神経細胞毒性との相関の有無について評価した。4FMP 単独添加は、ドパミン系神経細胞、セロトニン含有神経細胞のいずれにおいても、MDMA、MAP と同様にドパミン、セロトニン含量を低下させたが、MDMA、MAP との併用暴露による著明な細胞障害の発現と異なり、ドパミン、セロトニン含量の低下に対する増悪作用はみられなかった。また、PMMA 単独添加はドパミン系神経細胞でのみ、ドパミン含量を低下させた。MAP によるドパミン、セロトニン含量の低下に対する増悪作用はみられなかった。

これらの結果から、4FMP、PMMA は、特に MDMA もしくは MAP との同時乱用を行った場合に、強いドパミンおよびセロトニン神経毒性をもたらす危険性があると考えられる。また、細胞内モノアミン含量の変化と細胞障害の程度が相関しないことから、モノアミン酸化酵素阻害活性に代表されるモノアミン量への作用だけでは、これらの乱用薬物の神経毒性を測ることができないことも明らかになった。したがって、違法ドラッグの構造修飾と神経毒性の相関の評価において培養神経細胞を用いた添加実験が有用であることを改めて確認できた。

3. 青少年における違法ドラッグに関する

実態調査

青少年の薬物乱用の実態を把握するために、無記名自記式による質問紙調査を実施した。違法ドラッグの周知状況は、8 割近くの生徒は違法ドラッグの名前を全く知らず、知っている生徒でもラッシュのみを知っているという回答が目立った。これは、2006 年にラッシュ関連事件を、メディア等が取り上げたこと

が影響している可能性が示唆される。今回の対象者には、ラッシュの乱用経験者はみられなかったが、初年度に実施した定時制高校調査では、3.2%がラッシュの乱用経験があり、違法ドラッグの乱用状況には、少なからず地域格差や学校間格差があると示唆される。また、今回の調査では違法薬物の乱用経験率は全体の 0.6% (男子 0.7%、女子 0.4%) であり、有機溶剤を乱用しているケースが最も多かった。これまでの全国規模の調査では、中高生の薬物乱用の生涯経験率 (何らかの薬物) は 1~2% という報告であった。我々が実施した昨年度の定点調査では、一部の定時制高校で、これまで以上に高い乱用経験率 (8.6%) が確認されている。本研究では、中高生の全国平均よりも低い結果となった。今回の対象校は、保健指導や健康教育に力を入れており、薬物乱用防止教室も講師や内容を変えながら、効果的な指導を工夫している高校である。このような現場レベルでの指導の効果が、低い薬物乱用経験率に反映されているのではないかと示唆される。総合すると、高校生における違法ドラッグの周知状況は、決して良好とは言えず、違法ドラッグという概念の周知の困難性が示唆される。違法ドラッグ (ないしは指定薬物) という新しい概念・規制システムについて、青少年を対象とする薬物乱用防止教育の中で、どのような取り扱いをすべきかを議論する必要があると思われる。

4. 民間薬物依存リハビリ施設における違法

ドラッグに関する実態調査

民間薬物依存リハビリ施設の入寮者を対象として、質問紙調査を実施した。違法ドラッグの周知率および乱用経験率ともに、ラッシュの割合が最も高く、ケタミン、HMDMA と続いた。また、違法ドラッグとの関わりの深い 6 症例を対象にインタビューを実施した。この 6 症例はいずれも 20 歳代後半から 30 歳代前半までの比較的若い年齢層であることが大きな特徴である。違法ドラッグを主たる依存薬物とする症例は、6 症例のうち 2 症例で

あり、いずれの症例も使用していた違法ドラッグが麻薬指定になったことを理由に、その後、覚せい剤にシフトしていた。割合では少ないものの、違法ドラッグ症例がリハビリ施設においてもみられるようになったことは、入寮者の使用薬物が徐々に複雑化していることを示唆している。さらに、違法ドラッグによる薬物依存症となり、親に連れられて警察に出頭したものの、使用自体は取り締まりの対象となっていないことを理由に家に戻されたケースがみられた。こうした介入のチャンスを見逃さないためには、規制のあり方のみならず、依存症者に対する治療・ケアのあり方についても議論を深めるべきである。

D. 結論

覚せい剤類似化合物である 4FMP および PMMA の行動薬理学特性を検討した。4FMP および PMMA は精神依存形成能と覚せい剤と類似した自覚効果を有することが明らかになった。アンフェタミンおよびメタンフェタミンの 4 位の化学構造において、この部分の構造修飾に希少差異があっても、覚せい剤と類似した効果を発現する危険性が示唆された。4FMP および PMMA は覚せい剤と同様、規制薬物として指定する必要がある。

薬物弁別試験法では、規制薬物が示す自覚効果と他の薬物の自覚効果の類似性を評価できることから、多くの類縁誘導体が存在する違法ドラッグの中核作用の解析に有用であることが示唆された。培養細胞を利用した細胞毒性の評価は、薬物単独および規制薬物との併用実験などの様々な環境設定が可能であり、迅速かつ正確な毒性評価法として有用である。

こうした動物実験と培養細胞を利用する一連の薬物評価システムにより、違法ドラッグの精神依存性および神経毒性の検討を迅速に行うことが可能である。将来的に乱用拡大につながる化学物質を特定し、規制薬物指定への早期の対策に有用であると考えられる。規制薬物の構造修飾による薬物依存性および神

経毒性発現の差異を検討することにより、特定の構造毒性相関を明らかにし、薬物乱用の危険性および神経毒性を予測することが可能になると考えられる。

実態調査の結果から、青少年における違法ドラッグの認知度は低く、違法ドラッグという概念の周知の難しさが明らかになった。違法ドラッグの身体的な健康被害や、法的規制のみならず、薬物乱用の先にある薬物依存や慢性中毒症状についても正しく理解させることが薬物乱用防止の上で重要だと思われる。一方、違法ドラッグを主たる依存薬物とする症例は、20 歳代後半から 30 歳代前半までの比較的若い年齢層であり、使用していた違法ドラッグが麻薬指定されると、覚せい剤の使用にシフトしていた。違法ドラッグを経由した違法薬物へ移行するケース（いわゆるゲイトウェイとしての違法ドラッグ）の増加が懸念される。違法ドラッグ症例がリハビリ施設においても確認されたことは、入寮者の使用薬物が徐々に複雑化していることを示唆している。違法ドラッグの規制のあり方のみならず、依存症者に対する治療・ケアのあり方についても議論を深めるべきである。

E. 健康危険情報

本研究は、規制薬物と違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)である覚せい剤類似化合物の精神依存性および細胞毒性に関する研究であり、結果はすべて、健康危険情報に該当する。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 船田正彦, 青尾直也, 和田清: 有機溶剤による精神依存形成メカニズム. 日本神経精神薬理学雑誌. 28: 7-10, 2008.
- 2) 船田正彦: 違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ). 日薬理誌. 130: 433-435, 2007.

- 3) 船田正彦, 青尾直也: 薬物依存性の評価法-条件付け場所嗜好性試験を中心に-. 日薬理誌. 130: 128-133, 2007.
- 4) Asanuma, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., Diaz-Corrales, F.J., Shimizu, M., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Suppression of p53-activated gene, PAG608, attenuates methamphetamine-induced neurotoxicity. *Neurosci. Lett.*, 414: 263-267, 2007.
- 5) Sogawa, C., Sogawa, N., Tagawa, J., Fujino, A., Ohyama, K., Asanuma, M., Funada, M., Kitayama, S.: 5-Methoxy-N, N-diisopropyltryptamine (Foxy), a selective and high affinity inhibitor of serotonin transporter. *Toxicol. Lett.*, 170: 75-82, 2007.
- 6) Miyazaki, I., Asanuma, M., Hozumi, H., Miyoshi, K. and Sogawa, N.: Protective effects of metallothionein against dopamine quinone-induced dopaminergic neurotoxicity. *FEBS. Lett.*, 581: 5003-5008, 2007.
- 7) Asanuma, M. and Miyazaki, I.: Common anti-inflammatory drugs are potentially therapeutic for Parkinson's disease? *Exp. Neurol.*, 206: 172-178, 2007.
- 8) Asanuma, M., Miyazaki, I., Diaz-Corrales, F.J., Miyoshi, K., Ogawa, N. and Murata, M.: Preventing effects of a novel anti-parkinsonian agent zonisamide on dopamine quinone formation. *Neurosci. Res.*, 60: 106-113, 2008.
- 9) Narimatsu, S., Yonemoto, R., Masuda, K., Katsu, T., Asanuma, M., Kamata, T., Katagi, M., Tsuchihashi, H., Kumamoto, T., Ishikawa, T., Naito, S., Yamano, S. and Hanioka, N.: Oxidation of 5-methoxy-N, N-diisopropyltryptamine in rat liver microsomes and recombinant cytochrome P450 enzymes. *Biochem. Pharmacol.*, 75: 752-760, 2008.
- 10) Hozumi, H., Asanuma, M., Miyazaki, I., Fukuoka, S., Kikkawa, Y., Kimoto, N., Kitamura, Y., Sendo, T., Kita, T. and Gomita, Y.: Protective effects of interferon-gamma against methamphetamine-induced neurotoxicity. *Toxicol. Lett.*, 177: 123-129, 2008.
- 11) Narimatsu, S., Kiryu, K., Yonemoto, R., Yoshino, M., Kobatake, M., Kazamori, D., Hagino, S., Masuda, K., Katsu, T., Asanuma, M., Kumamoto, T., Ishikawa, T., Funae, Y., Yamano, S., Hanioka, N. and Naito, S.: The roles of amino acid residues at positions 216 and 219 in the structural stability and metabolic functions of rat cytochrome P450 2D1 and 2D2. *Chem.-Biol. Interact.*, in press.
- 12) Shimizu, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., Eslava-Alva, M.J., Diaz-Corrales, F.J., Asanuma, M. and Ogawa, N.: Specific induction of PAG608 in cranial and spinal motor neurons of L-DOPA-treated parkinsonian rats. *Neurosci. Res.*, in press.
- 13) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Dopaminergic neuron-specific oxidative stress caused by dopamine itself. *Acta Med. Okayama*, in press.
- 14) Asanuma, M. and Miyazaki, I.: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental parkinsonian models and Parkinson's disease. *Curr. Pharm. Design*, in press.

- ン基含有分子. 第 48 回日本神経学会総会, 名古屋, 2007, 5, 17.
- 15) 嶋根卓也, 和田清.: 定時制高校生における飲酒・喫煙・薬物乱用の実態について 日本アルコール・薬物医学会雑誌 42(3) 152-164, 2007.
 - 16) 嶋根卓也, 森田展彰: 思春期における健康問題: 薬物乱用. 小児内 39(9) 1371-1374, 2007.
2. 学会発表
- 1) 船田正彦, 青尾直也, 浅沼幹人, 宮崎育子, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広, 和田清: 違法ドラッグ (いわゆる脱法ドラッグ) の精神依存性および神経毒性: フェネチルアミン誘導体の評価. 第 42 回日本アルコール薬物・医学会総会, 大津, 2007, 9, 28.
 - 2) 船田正彦: 有機溶剤による精神依存形成メカニズムの解明-治療薬の可能性について-. 第 37 回日本神経精神薬理学会, 札幌, 2007, 7, 11-13.
 - 3) 青尾直也, 和田清, 船田正彦: フェネチルアミン誘導体の弁別刺激特性. 第 37 回日本神経精神薬理学会, 札幌, 2007, 7, 11-13.
 - 4) 船田正彦: 違法ドラッグの精神依存性及び神経毒性の評価. 第 50 回日本薬学会関東支部会, 東京, 2007, 10, 6.
 - 5) Funada M., Aoo N., Wada K.: Influence of repeated inhalation of toluene on methamphetamine-induced behavioral changes in mice. College on problems of drug dependence (CPDD) 69th Annual scientific meeting, Quebec City, Canada, 2007, 6, 16-21.
 - 6) 浅沼幹人, 宮崎育子, 穂積宏彰, 十川紀夫: パーキンソン病モデル線条体での L-DOPA 誘発キノン体生成とシステイン基含有分子. 第 48 回日本神経学会総会, 名古屋, 2007, 5, 17.
 - 7) 浅沼幹人, 宮崎育子: p53 関連因子 PAG608 の L-DOPA 投与パーキンソン病モデルの運動ニューロンでの特異的発現. 第 34 回日本脳科学会, 出雲, 2007, 6, 8.
 - 8) 宮崎育子, 浅沼幹人: ドパミン神経特異的酸化ストレスとしてのドパミンキノン神経障害に対するメタロチオネインの作用. 第 34 回日本脳科学会, 出雲, 2007, 6, 8.
 - 9) 宮崎育子, 穂積宏彰, 三好 耕, 浅沼幹人: ドパミンキノン神経毒性におけるグリアでのグルタチオン合成関連分子の変化. 第 29 回日本生物学的精神医学会・第 37 回日本神経精神薬理学会, 札幌, 2007, 7, 12.
 - 10) 穂積宏彰, 宮崎育子, 喜多大三, 北村佳久, 千堂年昭, 五味田裕, 浅沼幹人: メタンフェタミン神経毒性に関与する炎症・免疫関連分子の網羅的検索. 第 29 回日本生物学的精神医学会・第 37 回日本神経精神薬理学会, 札幌, 2007, 7, 12.
 - 11) 竹島美香, 田中弓子, 宮崎育子, 浅沼幹人, 喜多大三: ビスフェノール A の培養モノアミン神経系への作用. 第 29 回日本生物学的精神医学会・第 37 回日本神経精神薬理学会, 札幌, 2007, 7, 12.
 - 12) 三好 耕, 宮崎育子, 浅沼幹人: 神経細胞 1 次繊毛の生物学的意義の検討. 第 29 回日本生物学的精神医学会・第 37 回日本神経精神薬理学会, 札幌, 2007, 7, 12.

- 13) 三好 耕, 宮崎育子, 浅沼幹人: Pericentrin 変異マウスを用いた神経細胞 1 次繊毛の機能解析. Neuro 2007 (第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 合同学会), 横浜, 2007, 9, 10. neurotoxicity. 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, 2007, 11.4.
- 14) 宮崎育子, 穂積宏彰, 三好 耕, 浅沼幹人: ドパミンキノン神経毒性におけるグルタチオン合成関連分子のグリアでの変化. Neuro 2007 (第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 合同学会), 横浜, 2007, 9, 12.
- 15) 浅沼幹人, 宮崎育子, 三好 耕, 穂積宏彰, 十川紀夫: ドパミンキノン誘発神経障害に対するメタロチオネインの保護効果. Neuro 2007 (第 30 回日本神経科学大会・第 50 回日本神経化学学会大会・第 17 回日本神経回路学会大会 合同学会), 横浜, 2007, 9, 12.
- 16) 浅沼幹人, 宮崎育子, 三好 耕, 穂積宏彰, 十川紀夫: システイン基含有分子としてのメタロチオネインのドパミンキノン誘発神経障害に対する保護効果. メタロチオネインおよびメタルバイオサイエンス研究会 2007, 徳島, 2007, 9, 28-29.
- 17) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Glutathione-increasing mechanism of a novel anti-parkinsonian agent zonisamide in the basal ganglia. 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, 2007, 11.4.
- 18) Asanuma, M. and Miyazaki, I.: Protective effects of a novel anti-parkinsonian agent zonisamide on dopamine quinone-related
- 19) 嶋根卓也, 和田清: 定時制高校生における薬物乱用の実態に関する研究. 第 26 回日本社会精神医学会, 横浜, 2007.3.22-23.
- 20) 嶋根卓也, 和田清: 定時制高校生における薬物乱用と問題行動との関連. 第 27 回日本社会精神医学会, 福岡, 2008.2.28-29 (優秀発表賞を受賞).

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得
特になし
実用新案登録
特になし
その他
特になし

分担研究報告書

覚せい剤類似化合物の薬物依存性並びに神経毒性の評価

分担研究者：船田正彦（国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部）

研究協力者：青尾直也（国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部）

【研究要旨】

違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)として、覚せい剤と類似構造を有する物質の流通とその乱用が問題となっている。本研究では、アンフェタミンおよびメタンフェタミンの4位が置換された4-fluoroamphetamine (4FMP) と4-methoxymethamphetamine (PMMA)の精神依存性ならびに運動活性に対する影響を比較検討した。1) 4FMP と PMMA の行動解析：4FMP および PMMA による運動活性に対する影響を検討した。4FMP と PMMA により、用量依存的な運動促進作用が発現した。この効果は、ドパミン D1 受容体拮抗薬である SCH23390 の前処置によって有意に抑制され、ドパミン D1 受容体を介して発現する作用であることが明らかになった。4FMP および PMMA の精神依存形成能は、マウスを使用し conditioned place preference (CPP)法により評価した。4FMP と PMMA の条件付け(1日1回6日間、3:溶媒、3:薬物)により、有意な CPP の発現が確認された。4FMP および PMMA の条件付けによって報酬効果の発現が確認されたことから、精神依存形成能を有する危険性が示唆された。2) 脳内モノアミンに対する影響：4FMP および PMMA (10 mg/kg) 投与後に、側坐核を含有する limbic forebrain を分画し HPLC 法に従ってドパミン、セロトニンおよび代謝産物の含量を測定した。4FMP および PMMA の投与により、limbic forebrain においてドパミン含量は有意に増加し、ドパミン代謝産物は低下した。一方、PMMA においてのみセロトニン含量の増加が認められた。4FMP および PMMA の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、ドパミン含量の増加が利用できると考えられる。3) モノアミン酸化酵素(MAO)活性：4FMP および PMMA 処置により、MAO 活性は抑制された。4FMP および PMMA 作用発現に MAO 阻害作用が重要な役割を果たしていると考えられる。さらに、抑制強度は PMMA > 4FMP であり、PMMA によるセロトニン含量の増加に一部、MAO 阻害作用が関与している可能性がある。本研究より、4FMP および PMMA は中枢興奮作用と精神依存形成能を有することが明らかになった。4FMP および PMMA の中枢興奮作用の発現には、ドパミン神経系が関与しており MAO 活性阻害作用が関与する可能性が示唆された。覚せい剤であるアンフェタミンおよびメタンフェタミンの4位が置換された薬物も、覚せい剤と同様の作用を示す危険性が確認された。覚せい剤の類似化合物において、薬物による中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験を行うことにより、効率良く化学物質の精神依存性を評価できることが確認された。

A. 研究目的

薬物乱用は若年層を中心に浸透しているの

が現状であり、麻薬として規制されている
3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)
の乱用などは、依然大きな社会問題である。

特に、MDMA は錠剤型で流通しており、経口摂取で十分な効果が発現するため、従来の静注による乱用に比べてその拡大は深刻である。同様に、覚せい剤においても静注以外の摂取法により乱用されており、深刻な状況である。

一方、インターネット等の通信手段の普及により、薬物等の化学物質に関する情報伝播は非常に高速化している。それに伴い、様々な化学物質の取引は容易かつ迅速になっている。近年、乱用を目的として売買されている法的規制を受けない違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）の氾濫は重大な社会問題となっている。国内で流通が確認されている違法ドラッグとしては、既に麻薬指定されている 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT)¹⁾ に類似したトリプタミン誘導体および 2C フェミリーと称される 2,5-dimethoxy-4-(*n*)-propylthiophenethylamine (2C-T-7)、2,5-dimethoxy-4-(*i*)-propylthiophenethylamine (2C-T-4)、2,5-demethoxy-4-ethylthiophenethylamine (2C-T-2)、2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2C-I) などの覚せい剤類似骨格を有するフェネチルアミン誘導体²⁾が知られている。

フェネチルアミン誘導体うち、アンフェタミンおよびメタンフェタミン類似化合物が存在している。特に、アンフェタミンもしくはメタンフェタミンと類似の基本構造を有し、一置換基のみの構造差異を有する 4-fluoroamphetamine (4FMP)³⁾ および 4-methoxymethamphetamine (PMMA)⁴⁾ (Fig. 1) については、流通が確認されており、その中枢神経作用および薬物依存性について、迅速な評価が必要である。また、4FMP と PMMA はそれぞれ、アンフェタミンおよびメタンフェタミンの 4 位が置換されており、覚せい剤類似化合物の作用および依存性の発現と構造の相関性を探る上でも、標準品となり得る違法ドラッグである。

氾濫が確認されている違法ドラッグの中でも、覚せい剤と類似構造を有する化学物質に関してはその危険性が予測され、これらの薬

物に着目して、精神依存性を評価するシステム構築に関する基礎検討が必要である。4FMP と PMMA のように、数多くの類縁体が存在する覚せい剤類似化合物の精神依存性と、中枢神経作用について明確にするのは緊急課題である。

本研究では、流通が確認されているアンフェタミンおよびメタンフェタミン類似化合物である 4FMP と PMMA の精神依存性ならびに運動活性に対する影響を解析し、メタンフェタミンの作用との比較検討を行った。また、薬物乱用危険性を予測し得る生化学的マーカー検索の一環として、4FMP と PMMA による脳内モノアミンの変動に関する解析を行った。

本研究では、違法ドラッグとして流通しているアンフェタミンおよびメタンフェタミン類似化合物である 4FMP と PMMA の、行動薬理的解析と生化学的マーカーの同定により、化学構造の差異に基づいた乱用危険度を推測する評価系の構築を目指す。本研究で得られる覚せい剤類似誘導体の評価データを精査し、規制薬物とすべき化学物質を同定する。本評価システムにより、違法ドラッグの危険性を迅速に評価し、規制薬物とすべき化学物質の同定に役立つと考えられる。

B. 研究方法

使用動物：すべての行動薬理実験には、ICR 系雄性マウス (Jcl, 20 - 25g, 日本クレア) を使用した。

使用薬物：規制薬物としては methamphetamine (MAP)、違法ドラッグとしては 4-fluoroamphetamine (4FMP) と 4-methoxymethamphetamine (PMMA) を使用した(構造式 Fig. 1、国立医薬品食品研究所 合田先生および花尻先生より譲渡)。

1. 4FMP、PMMA による運動活性への影響

4FMP および PMMA により誘発される運動活性を、自発運動量測定装置 (ACTIMO-100, バイオリサーチセンター社) を用いて測定し

た。5 時間の環境適応後、薬物投与から 120 分間にわたって運動量を測定した。また、4FMP および PMMA により誘発される行動変化に対するドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 およびドパミン D2/3 受容体拮抗薬 sulpiride 前処置の効果を検討した。

2. 4FMP、PMMA の精神依存性評価

精神依存形成の評価には、conditioned place preference (CPP) 法を用いた。白黒 2 区画の CPP 装置 (ENS-CPP, Neuroscience 社) を用いて、4FMP もしくは PMMA を 1 日おきに投与し、40 分間装置内に閉じ込め、6 日間にわたって条件付けを行った。対照群は溶媒である生理食塩液を投与し、薬物および溶媒投与の組み合わせはカウンターバランスの実験デザインとした (Table 1)。

Table 1. 薬物条件付けスケジュール

DAY	1	2	3	4	5	6	7
白 or 黒	◎	○	◎	○	◎	○	T
白 or 黒	○	◎	○	◎	○	◎	T

◎：薬物、○：溶媒、T：テスト（薬物、溶媒ともに処置せず）

テストセッションは、7 日目に薬物および溶媒ともに投与せず、15 分間の白区画および黒区画の滞在時間を測定した。

3. 4FMP、PMMA による脳内モノアミンに対する影響

4FMP および PMMA (10 mg/kg, i.p.) 投与 30 分後にマウス全脳を摘出し、中脳辺縁ドパミン神経系の主要投射先である側坐核を含む limbic forebrain および細胞体を含有する midbrain を分画⁵⁾した。高速液体クロマトグラフ (HPLC-ECD) 法に従い、内標準物質としてイソプレテレノールを使用し、ドパミン、セロトニンおよび関連代謝産物の測定を行った。ドパミン代謝産物としては、3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC)、homovanilic acid (HVA)、セロトニンの代謝産

物としては 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) を測定した。代謝回転は、DA ratio = (DOPAC+HVA)/DA、5HT ratio = 5HIAA/5HT として算出した。

4. 4FMP、PMMA によるモノアミン酸化酵素活性への影響

MAP(40, 120 μM)、4FMP(40, 120 μM) および PMMA(40, 120 μM) 処置によるモノアミン酸化酵素(MAO)活性への影響を検討した。基質としては p-tyramine(1mM) を使用し、Amplex-Red 試薬により産生される蛍光物質の発現強度を測定した。

5. MAP、4FMP、PMMA による神経毒性

MAP(15 mg/kg)、4FMP(15 mg/kg)、PMMA (15 mg/kg) を 3 時間間隔で 3 回連続投与した。投与から 3 日後に、striatum を分画した。HPLC-ECD 法に従い、ドパミンおよびセロトニンの組織内含量の測定を行った。

C. 研究結果

1. 4FMP、PMMA による運動活性への影響

4FMP(5-10 mg/kg, i.p.) によって、用量依存的な運動促進作用が発現し、中枢興奮作用を有することが示された (Fig. 2A)。4FMP の 7.5、10 mg/kg において、有意な運動促進作用が確認された。4FMP の 7.5 mg/kg によって誘発される運動促進作用はドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 およびドパミン D2/3 受容体拮抗薬 sulpiride の前処置により有意に抑制された (Fig. 2B)。

同様に、PMMA(10-30 mg/kg, i.p.) によって、用量依存的な運動促進作用が発現し、中枢興奮作用を有することが示された (Fig. 3A)。PMMA の 30 mg/kg において、有意な運動促進作用が確認された。PMMA の 30 mg/kg によって誘発される運動促進作用はドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 の前処置により抑制され、一方、ドパミン D2/3 受容体拮抗薬 sulpiride 前処置では有意な影響が認められ

なかった (Fig. 3B)。

2. 4FMP、PMMA の精神依存性評価

マウスを使用し conditioned place preference (CPP) 法による精神依存性の評価を行った。4FMP および PMMA の条件付けによって CPP の発現、すなわち報酬効果の発現が認められた (Fig. 4)。4FMP は 1 mg/kg および PMMA では 5 mg/kg の用量において有意な CPP の発現が確認された。

3. 4FMP、PMMA による脳内モノアミンに対する影響

4FMP および PMMA (10 mg/kg, i.p.) 投与 30 分後に、limbic forebrain および midbrain を分画し HPLC-ECD 法に従って、モノアミン関連物質の含量を測定した (Fig. 5A,B)。

A) Limbic forebrain: 4FMP および PMMA 投与後、limbic forebrain においてドパミン含量は有意な増加を示した (Fig. 5A)。また、代謝産物である DOPAC および HVA 含量は有意な低下が認められた。ドパミン代謝回転 (DA ratio) は有意に低下していた。一方、PMMA においてのみ、セロトニン含量の有意な増加が確認された。また、4FMP および PMMA により、代謝産物である 5-HIAA は有意に減少していた。セロトニン代謝回転 (5HT ratio) は有意に低下していた。

B) Midbrain: 4FMP および PMMA 投与後、midbrain においてドパミン含量は有意な影響が認められなかった (Fig. 5B)。PMMA では、代謝産物である DOPAC、HVA 含量ともに有意な低下が認められた。PMMA においてのみ、ドパミン代謝回転 (DA ratio) の有意な低下が確認された。一方、PMMA においてのみ、セロトニン含量は増加を示した。また、4FMP および PMMA により、代謝産物である 5-HIAA は有意に減少していた。セロトニン代謝回転 (5HT ratio) は有意に低下していた。

4. 4FMP、PMMA によるモノアミン酸化酵素活性への影響

MAP、4FMP および PMMA の処置によるモノアミン酸化酵素 (MAO) 活性への影響を検討した (Fig. 6)。薬物の添加濃度が 40 μ M では、PMMA のみ、MAO 活性の抑制作用を示した。また、薬物の添加濃度が 120 μ M では、MAP、4FMP および PMMA により、MAO 活性は有意に抑制された。MAO 活性の抑制強度は、PMMA > MAP = 4FMP であった。

5. MAP、4FMP、PMMA による神経毒性

MAP (15 mg/kg)、4FMP (15 mg/kg)、PMMA (15 mg/kg) を 3 回連続投与 3 日後に、striatum におけるドパミンおよびセロトニンの組織内含量の測定を行った (Fig. 7)。MAP 投与群では、ドパミンおよびセロトニン含量の有意な減少が確認された。したがって、ドパミンおよびセロトニン神経において障害が発生している可能性が示唆された。一方、4FMP および PMMA 投与群では、有意な変化は認められなかった。

D. 考察

違法ドラッグとして流通が確認されている覚せい剤 (アンフェタミンおよびメタンフェタミン) 類似化合物である 4FMP および PMMA の行動薬理学特性を解析した。4FMP および PMMA の投与により、運動促進作用が発現し、中枢興奮作用を有することが明らかになった。この効果は、4FMP >> PMMA であった。また、4FMP および PMMA の運動促進作用はドパミン D1 受容体拮抗薬で抑制された。これらの結果から、4FMP および PMMA の中枢興奮作用の発現において、ドパミン D1 受容体が重要な役割を果たしていることが明らかになった。4FMP の運動促進作用に関しては、ドパミン D2/3 受容体拮抗薬により、約 50% 程度の有意な抑制が確認されたことから、ドパミン D2/3 受容体の関与も確認された。

次に、4FMP および PMMA の精神依存形成能を、マウス conditioned place preference (CPP) 法により評価した。4FMP および PMMA の条

件付けにより、有意な報酬効果の発現が確認された。したがって、4FMP および PMMA とともに精神依存形成能を有する可能性が示唆された。4FMP は PMMA と比較して、低用量の条件付けにより、報酬効果が発現したことから強力な精神依存形成能を有する危険性が示された。

薬物による中枢興奮作用と精神依存形成能の相関性から、中枢興奮作用が発現する用量付近から低用量側で報酬効果が発現することが判明している^{6,7)}。本研究において 4FMP および PMMA の運動活性および報酬効果の検討より、覚せい剤類似化合物においても、中枢興奮作用が発現する用量より、低用量側で報酬効果の発現が認められた。覚せい剤類似化合物の精神依存性を評価する場合も、中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験を行うことにより、報酬効果を効率良く解析できると考えられる。

物質の乱用危険度を推測する実験バッテリー構築の一環として、脳内の生化学的マーカー同定を試みた。現在までに、依存性薬物による精神依存形成および中枢興奮作用の発現には中脳辺縁系ドーパミン神経系の関与が示唆されている^{8,9)}。そこで、中脳辺縁系ドーパミン神経系の主要投射先である側坐核を含有する limbic forebrain および細胞体を含有する midbrain を標的部位として、脳内モノアミンに対する影響を検討した。4FMP および PMMA 投与により、limbic forebrain において DA 含量の著明な増加が確認された。一方、細胞体である midbrain においては、4FMP および PMMA 投与により DA 含量に有意な影響は認められなかった。4FMP および PMMA 投与による limbic forebrain におけるドーパミン含量の増加が、中枢興奮作用および精神依存形成に関与していると考えられる。

したがって、化学物質投与による脳内 (limbic forebrain) のドーパミン含量の増加は、その化学物質の乱用危険性を予測するための生化学的マーカーの一つとして有用であることが示唆された (Table 2)。

Table 2. HPLC まとめ

DA	4FMP	PMMA
Limbic forebrain	◎	◎
Midbrain	—	—

5HT	4FMP	PMMA
Limbic forebrain	—	◎
Midbrain	—	◎

◎:増加、—:変化なし。

一方、4FMP および PMMA とともに limbic forebrain において DA 含量が増加しているにも関わらず、運動促進作用および報酬効果の発現強度は、4FMP>PMMA であった。4FMP および PMMA 投与によるセロトニン関連物質の変動を比較してみると、PMMA のみセロトニン含量の著明な増加が確認された。4FMP と PMMA の運動促進作用および報酬効果の発現強度に差が生じたのは、セロトニン神経系に対する作用の差異に基づくものと考えられる。すなわち、limbic forebrain において DA 含量が増加している場合、limbic forebrain および midbrain においてセロトニン含量が増加している場合、運動促進作用および報酬効果の発現が抑制される可能性が示唆された。脳内のドーパミン神経系の機能を、セロトニン神経系機能が抑制的に調節される可能性がある^{10,11)}。したがって、薬物によるドーパミン神経系およびセロトニン神経系の調節バランスが、中枢興奮作用および精神依存形成に重要な役割を果たしていると考えられる。

本研究において、4FMP および PMMA のモノアミン酸化酵素(MAO)活性に対する影響を検討したところ、MAO 活性抑制作用を有することが確認された。したがって、4FMP および PMMA による脳内ドーパミン、セロトニンおよび代謝産物含量の変動には、MAO 抑制作用が関与すると考えられる。脳内モノアミンの定量の結果から、PMMA においてのみセロトニン含量の著明な増加が発現し、MAO 抑制強度は PMMA>4FMP であることから、PMMA の MAO 抑制作用がセロトニン含

量の増加に関与していると推察された。

本研究において、覚せい剤類似化合物の神経毒性の発現について検討した。メタンフェタミンの短時間頻回投与により、ドパミンおよびセロトニン含量が有意に低下しており、ドパミン神経およびセロトニン神経に毒性が発現している可能性が示唆された。一方、4FMPおよびPMMAではドパミンおよびセロトニン含量の有意な低下は認められず、今回の評価条件では、神経毒性は確認されなかった。アンフェタミンおよびメタンフェタミンの4位の化学構造が、ハロゲン化もしくはメトキシ基で置換されると、神経毒性が発現し難い特性を示すことが明らかになった。

アンフェタミンの4位の化学構造がF基に置換された4FMPにおいては、アンフェタミンと同様に、強力な中枢興奮作用および報酬効果の発現が認められた。この部分がハロゲン化された化合物においても、アンフェタミンと同様に、精神依存形成能を有する危険性があると考えられる。また、4FMPは比較的選択的にドパミン神経系を制御する特性を有することも明らかになった。

メタンフェタミンの4位の化学構造がメトキシ基に置換されたPMMAでは、メタンフェタミン同様、中枢興奮作用および報酬効果の発現が認められ、精神依存形成能を有する危険性があると考えられる。一方、PMMAの作用発現の強度は、メタンフェタミンおよび4FMPの1/5~1/10程度であった。PMMAは、ドパミン神経系のみならずセロトニン神経系も制御する可能性がある。ドパミン神経系の活性化に加えて、セロトニン神経系の活性化が引き起こされると、中枢興奮作用および精神依存の形成が抑制的に制御されるものと考えられる。また、興味深いことに、メタンフェタミンの4位の化学構造がメトキシ基に置換された化合物では、ドパミン神経系に加え、セロトニン神経系も調節する作用を示すと考えられる。この効果には一部、MAO阻害作用が関与していると推察された。

アンフェタミンおよびメタンフェタミンの

4位の化学構造は、モノアミン神経系調節作用の発現に重要な役割を果たす可能性が示唆された。4FMPとPMMAはそれぞれ、アンフェタミンおよびメタンフェタミンの4位が置換されており、覚せい剤類似化合物の作用および依存性の発現と構造の相関性を探る上でも、標準品となり得る違法ドラッグである。構造特性に関しては、他の覚せい剤類似誘導体の解析も加え、更なる検討が必要である。

違法ドラッグのうち、覚せい剤類似化合物の4位にハロゲン化およびメトキシ基置換などの稀少構造の差異が存在しても、覚せい剤と類似した作用を示すことが明らかになった。こうした構造を有する薬物は、精神依存形成能を有する可能性があるため、その乱用の拡大には特に注意を要すると考えられる。

E. 結論

覚せい剤類似化合物である4FMPおよびPMMAの行動薬理学特性を検討した。4FMPおよびPMMAは強力な中枢興奮作用および精神依存形成能を有することが明らかになった。また、4FMPおよびPMMAの中枢興奮作用の発現には、ドパミンD1受容体が関与していることが示された。薬物による中枢興奮作用と精神依存形成能の相関性から、中枢興奮作用の発現用量を参考にCPP試験を行うことにより、効率良く化学物質の精神依存性を評価できると考えられる。脳組織内のモノアミンおよび関連代謝産物量の測定は簡便かつ高感度であり、違法ドラッグ（脱法ドラッグ）の特性を判断する生化学的マーカーとして有用である。物質の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、脳内のドパミンおよびその代謝産物の変動が利用できると考えられる。脳内のドパミン含量の増加は危険因子である。

こうした一連の評価システムにより、国内で流通が確認されている違法ドラッグの精神依存性および神経毒性の検討を行い、危険化合物の迅速な発見に活用できると考えられる。