

200940077A

平成 21 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)

違法ドラッグの精神依存並びに精神障害の
発症機序と乱用実態把握に関する研究

課題番号：H21-医薬-一般-031

研究報告書

平成 22 年 3 月

研究代表者：船田正彦

平成 21 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)

違法ドラッグの精神依存並びに精神障害の
発症機序と乱用実態把握に関する研究

課題番号：H21-医薬-一般-031

研究報告書

平成 22 年 3 月

研究代表者：船田正彦

目次

平成 21 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：H21-医薬-一般-031)

違法ドラッグの精神依存並びに精神障害の発症機序と 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：合成カンナビノイド誘導体の薬物依存性並びに神経毒性の評価 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)	-----	12
研究-2：違法ドラッグの薬物弁別刺激特性：カンナビノイド誘導体の評価 秋武義治 (国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部)	-----	29
研究-3：違法ドラッグによる神経・細胞毒性の発現機序に関する多角的検討 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)	-----	38
研究-4：大学生の違法ドラッグを含む薬物乱用実態に関する研究 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)	-----	56
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	92

違法ドラッグの精神依存並びに精神障害の発症機序と 乱用実態把握に関する研究

研究代表者 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や大麻の精神活性成分である Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)と薬理作用が類似した化合物の流通とその乱用が問題となっている。本研究では、合成カンナビノイド誘導体を中心に、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: 合成カンナビノイド誘導体の薬物依存性並びに神経毒性の評価]合成カンナビノイド誘導体である (-)-cis-3-[2-hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl)-phenyl]-trans-4-(3-hydroxypropyl) cyclohexanol (CP-55,940)、5-(1,1-dimethylheptyl)-2-(3-hydroxycyclohexyl)-phenol (CP-47,497)、5-(1,1-dimethyloctyl)-2-(3-hydroxy-cyclohexyl)-phenol (CP-47,497-C8) および 1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole (JWH-018)について検討した。1) 行動解析: 合成カンナビノイド誘導体による運動活性に対する影響を検討した。CP-47,497、CP-47,497-C8 投与により、運動促進作用が発現した。薬物の精神依存形成能は、conditioned place preference (CPP)法により評価した。CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 の条件付け (1 日 1 回 6 日間) により、有意な CPP の発現が確認された。CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 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。驚愕反応における prepulse inhibition(PPI)発現に対する影響を検討した。CP-55,940 により PPI 反応は抑制され、感覚フィルター機能等に障害が生じる可能性が示された。2) 脳内モノアミンに対する影響: CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 (1 mg/kg) 投与後に、側坐核を含有する limbic forebrain を分画し HPLC 法によりドパミン、セロトニンおよび代謝産物の含量を測定した。CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 の投与により、ドパミン代謝産物である DOPAC もしくは HVA の有意な増加が認められた。カンナビノイド誘導体の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、脳内のドパミン代謝産物含量の増加が利用できると考えられる。3) 細胞毒性: NG108-15 細胞を使用し、合成カンナビノイド誘導体の処置 24 時間後、ATP 遊離を指標に生存細胞数を測定したところ、濃度依存的に生存細胞数が減少した。本研究より、CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 は精神依存形成能を有することが明らかになった。また、これらの薬物は PPI 反応に障害を引き起こすことから、感覚フィルター機能等に障害を及ぼす危険性を有する。さらに、細胞に対して毒性を示す危険性も有すると考えられる。合成カンナビノイド誘導体において、薬物による中枢作用の発現用量を参考に CPP 試験を行い、培養細胞により毒性試験を行うことで、効率良く化学物質の精神依存性および毒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: カンナビノイド誘導体の評価] 薬物弁別実験: CP-55,940 と生理食塩液の薬物弁別を獲得した動物

において、麻薬である Δ^9 -THCはCP-55,940と般化が認められた。同様に、合成カンナビノイド誘導体であるCP-47,497、CP-47,497-C8およびJWH-018においても、CP-55,940と般化が認められた。したがって、CP-47,497、CP-47,497-C8およびJWH-018は、 Δ^9 -THC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。CP-55,940を標準薬（訓練薬）とした薬物弁別試験は、合成カンナビノイド誘導体の依存性評価に有効である。[研究-3：違法ドラッグによる神経・細胞毒性の発現機序に関する多角的検討] フェネチルアミン系の違法ドラッグ「2Cシリーズ」のなかでも、指定及び規制を免れた2,5-dimethoxy-4-chlorophenethylamine (2C-C)は、最近広く流通し、乱用されている。2C-Cの神経細胞毒性を多角的に明らかにする目的で、2C-Cの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 細胞への添加を行い、神経細胞毒性ならびに形態学的変化を評価した。また、活性酸素種に対する蛍光指示薬を用いて、ミトコンドリアにおける活性酸素種生成についても検討した。CATH.a 細胞および B65 細胞において、2C-C 単独添加により低濃度から用量依存的な LDH 放出量の著明な増加が認められた。この 2C-C 単独添加による細胞毒性を他の「2C シリーズ」における LDH 放出量の IC₅₀ で比較すると、CATH.a 細胞では 2CT-7、2C-C > 2CT-2、2CT-4 > 2C-1、B65 細胞では 2CT-7、2C-1 > 2CT-2 > 2C-C、2CT-4 であった。B65 細胞への 24 時間添加においては、2C-C は核の凝縮、分葉化などのアポトーシス様形態変化を伴う細胞死を惹起した。2C-C の MDMA あるいは METH との併用暴露では、2C-C の神経毒性発現に相乗効果がみられたが、CATH.a 細胞では認められなかった。さらに B65 細胞への 2C-C 添加 3 時間後の早期において、すでに細胞体の萎縮ならびに細胞質内の空胞化といった形態変化がみられた。形態変化が認められない低濃度(100 μ M)においても細胞内、とくにミトコンドリアでの活性酸素種生成の亢進が認められた。以上の結果から、2C-C は、他の「2C シリーズ」と同じように、単独で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示し、MDMA あるいは METH との同時添加はセロトニン系神経細胞に強い神経毒性をもたらすことが明らかになった。「2C シリーズ」のなかでも 2CT-7、2C-C がドパミン系神経細胞に対して極めて強い神経毒性を有していることが確認された。[研究-4：大学生の違法ドラッグを含む薬物乱用実態に関する研究] 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、大学生を対象に無記名自記式による質問紙調査を実施した。本研究では、定点大学における新入生 382 名および 4 年生 250 名を対象とし、以下の知見を得た。(1) ラッシュ（ニトライト）乱用者は大学 4 年生で 1 名報告されたのみであった。(2) ガス（ブタンガス等）乱用者は新入生・4 年生どちらにおいてもみられなかった。(3) 新入生において最も乱用されていた薬物は向精神薬 0.8% (3 名) であり、大麻 0.5% (2 名)、有機溶剤 0.3% (1 名) と続いた。(4) 4 年生において最も乱用されていた薬物は大麻 1.3% (3 名) であった。(5) 4 年生の 10.2% は、大麻の栽培方法や乱用方法が書かれた雑誌・書籍を見た経験を有していた。(6) 大麻種子から連想されることは大麻栽培 (80.6%)、違法 (46.7%)、インターネットで買う (37.0%) であった。本研究から、大学生において違法ドラッグの乱用は稀であり、向精神薬や大麻の乱用が問題となっていることが示唆された。また、大学生が雑誌・書籍・インターネットを通じて、大麻の栽培方法や大麻種子の購入といった大麻乱用を促進させるような情報を得ている実態の一端が示された。

合成カンナビノイド誘導体である CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 の行動薬理学特性を検討した。これらの薬物は精神依存形成能および Δ^9 -THC と類似の弁別刺激特性を有することが明らかになった。合成カンナビノイド誘導体において、薬物による中枢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。薬物弁別試験法は、標準となる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。また、フェネチルアミン系の違法ドラッグ 2C-C および合成カンナビノイド誘導体において、細胞毒性を示すことが明らかとなった。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。本研究の総合評価システムは、違法ドラッグの精神依存性および神経毒性の迅速な評価法として有用であり、得られる科学データは規制根拠として活用できると考えられる。また、実態調査の結果から、大学生において違法ドラッグの乱用は稀であり、むしろ向精神薬や大麻の乱用の方が問題となっている可能性が考えられる。また、大学生が雑誌・書籍・インターネットを通じて、大麻の栽培方法や大麻種子の購入といった大麻乱用を促進させるような情報を得ている実態の一端が示された。

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：秋武義治

国立精神・神経センター
精神保健研究所薬物依存研究部
流動研究員

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：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

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としては、「2C シリーズ」の 2,5-dimethoxy-4-chlorophenethylamine (2C-C) および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) および 4-methoxymethamphetamine (PMMA) 等は、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。

同様に、違法ドラッグとして合成カンナビノイド誘導体は、「スパイス」という呼称で世界的にその乱用が拡大している。スパイスはカラフルな大きな瞳のロゴが印刷されたパッケージ製品として、天然ハーブ等と称してインターネットや路上販売などにより流通していることが判明している。スパイスは、なんらかの植物の乾燥品に、合成カンナビノイド誘導体を混入させるという偽装を行っているのが特徴である。

現在までに、ドイツや日本において、スパ

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

イスシリーズの成分解析が進んでおり、合成カンナビノイド誘導体としては、(-)-cis-3-[2-hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl)-phenyl]-trans-4-(3-hydroxypropyl) cyclohexanol (CP-55,940)、5-(1,1-dimethylheptyl)-2-(3-hydroxycyclohexyl)-phenol (CP-47,497)、5-(1,1-dimethyloctyl)-2-(3-hydroxy-cyclohexyl)-phenol (CP-47,497-C8) および 1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole (JWH-018)(Fig. 1) 等が検出されている。

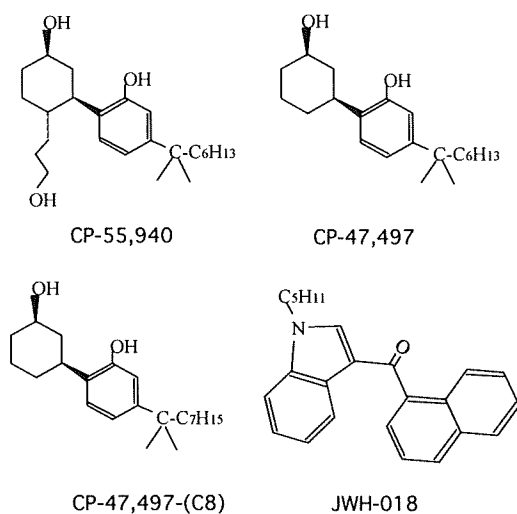


Fig. 1. Chemical structures of synthetic cannabinoids, CP-55,940, CP-47,497, CP47,497-(C8) and JWH-018.

合成カンナビノイド誘導体は、大麻と類似の薬理作用を有する可能性が極めて高い。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。大麻の精神活性成分である Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) 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。

合成カンナビノイド誘導体には、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重要である。合成カンナビノイド誘導体である CP-55,940、CP-47,497 およびその側鎖の炭素数が異なる CP-47,497-(C8)、JWH-018 について、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。また、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、違法ドラッグとして流通している合成カンナビノイド誘導体に関して、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を構築することは、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、合成カンナビノイド誘導体および覚せい剤類似化合物の精神依存性、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：合成カンナビノイド誘導体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

大麻の精神活性成分である Δ^9 -

tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)と薬理作用が類似した化合物が、違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)として流通しており、その乱用が問題となっている。本研究では、合成カンナビノイド誘導体である(-)-cis-3-[2-hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl)-phenyl]-trans-4-(3-hydroxypropyl)cyclohexanol (CP-55,940)、5-(1,1-dimethylheptyl)-2-(3-hydroxycyclohexyl)-phenol (CP-47,497)、5-(1,1-dimethyloctyl)-2-(3-hydroxycyclohexyl)-phenol (CP-47,497-C8) および 1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole (JWH-018)について、その精神依存性、運動活性並びに驚愕反応に対する影響を比較検討した。

1) 行動解析：カンナビノイド受容体作用薬による運動活性に対する影響を検討した。CP-47,497、CP-47,497-C8 投与により、運動促進作用が発現した。薬物の精神依存形成能は、conditioned place preference (CPP)法により評価した。CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 の条件付け(1日1回6日間)により、有意な CPP の発現が確認された。CP-55,940 の報酬効果は、ドパミン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。CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 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。驚愕反応における prepulse inhibition(PPI)発現に関する検討では、CP-55,940 により PPI 反応は抑制され、感覚フィルター機能等に障害が生じる可能性が示された。2) 脳内モノアミンに対する影響：CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 (1 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。CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 の投与により、ドパミン代謝産物である DOPAC もしくは HVA の有意な増加が認められた。カンナビノイド誘導体の乱用危険性を推測する生化学的マーカーと

して、脳内のドパミン代謝産物含量の増加が利用できると考えられる。3) 細胞毒性：NG108-15 細胞を使用し、合成カンナビノイド誘導体の処置 24 時間後、ATP 遊離を指標に生存細胞数を測定したところ、濃度依存的に生存細胞数が減少した。

[研究-2:違法ドラッグの薬物弁別刺激特性：カンナビノイド誘導体の評価]

分担研究者：秋武義治

国立精神・神経センター

精神保健研究所 薬物依存研究部

流動研究員

違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)として流通している通称“スパイス”には、合成カンナビノイド誘導体である CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 が混入しており、その乱用が問題となっている。本研究では、カンナビノイド受容体作用薬として、その薬理学的特性の解析が進んでいる CP-55,940 を訓練薬として薬物弁別試験の確立を試みた。薬物弁別実験を用いて、合成カンナビノイド誘導体である CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 について、それぞれの薬物弁別刺激効果を解析し、大麻の精神活性成分であり、麻薬に指定されている Δ^9 -THC の効果と比較検討した。1) CP-55,940 を用いた薬物弁別実験の確立：CP-55,940 (0.1 mg/kg) および溶媒である生理食塩液により、FR10 スケジュールによる弁別訓練を実施した。CP-55,940 により、用量依存的に弁別刺激効果が認められたことから、CP-55,940 を標準薬とした薬物弁別の訓練条件が明らかになった。2) Δ^9 -THC の般化試験：CP-55,940 弁別獲得動物を用いて、 Δ^9 -THC (0.1-3 mg/kg)の般化試験を行った。 Δ^9 -THC は CP-55,940 と般化が認められ、類似の弁別刺激効果を有することが明らかになった。3) 合成カンナビノイド誘導体の般化試験：CP-55,940 弁別獲得動物を用いて、CP-47,497 (1 mg/kg)、CP-47,497-C8 (1 mg/kg) お

よび JWH-018 (1 mg/kg) により般化試験を行った結果、すべての薬物において CP-55,940 と般化が認められた。このことから、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 は CP-55,940 と類似の弁別刺激効果を有することが明らかになった。

[研究-3：違法ドラッグによる神経・細胞毒性の発現機序に関する多角的検討]

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

フェネチルアミン系の違法ドラッグ「2C シリーズ」のなかでも、指定及び規制を免れた 2,5-dimethoxy-4-chlorophenethylamine (2C-C) は、最近広く流通し、乱用されている。2C-C の神経細胞毒性を数種の神経細胞、障害指標を用いて多角的に明らかにする目的で、2C-C の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 細胞への添加を行い、神経細胞毒性ならびに形態学的変化を評価した。また、活性酸素種に対する蛍光指示薬を用いて、ミトコンドリアにおける活性酸素種生成についても検討した。結果：CATH.a 細胞、B65 細胞のいずれの細胞においても、2C-C 単独添加により低濃度から用量依存的な LDH 放出量の著明な増加が認められた。この 2C-C 単独添加による細胞毒性を他の「2C シリーズ」2CT-7, 2CT-4, 2CT-2, 2C-I と LDH 放出量の IC50 で比較すると、CATH.a 細胞では 2CT-7 (100 μ M)、2C-C (100 μ M) > 2CT-2 (150 μ M)、2CT-4 (200 μ M) > 2C-I (250 μ M)、B65 細胞では 2CT-7 (150 μ M)、2C-I (150 μ M) > 2CT-2 (250 μ M) > 2C-C (300 μ M)、2CT-4 (300 μ M) であり、規制薬物のメタンフェタミン(METH)、MDMA やメチロンの毒性(IC50: 1-2 mM 以上) に比べはるかに高度であった。B65 細胞への 24 時間添加においては、2C-C は核の凝縮、分葉化などのアポトーシス様形態変化を伴う細胞死を比較的低濃度(100 μ M 以上)より惹

起した。2C-C の MDMA あるいは METH との併用暴露では、B65 細胞において、単独では障害性の低い濃度の MDMA (50 μ M-1 mM) および METH (250 μ M-1 mM)は、2C-C (100, 250 μ M)による LDH 放出量の増加ならびにアポトーシス様の形態変化をさらに増強させ、MDMA あるいは METH による 2C-C の神経毒性に対する相乗効果がみられたが、CATH.a 細胞では認められなかった。さらに B65 細胞への添加 3 時間後の早期の検討では、2C-C の比較的高濃度暴露では 3 時間後からすでに細胞体の萎縮ならびに細胞質内の空胞化といった形態変化がみられるが、形態変化が認められない低濃度(100 μ M)においても細胞内、とくにミトコンドリアでの活性酸素種生成の亢進が認められた。

[研究-4：大学生の違法ドラッグを含む薬物乱用実態に関する研究]

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、大学生を対象に無記名自記式による質問紙調査を実施した。本研究では、定点大学における新入生 382 名および 4 年生 250 名を対象とし、以下の知見を得た。(1) ラッシュ (ニトライト) 乱用者は大学 4 年生で 1 名報告されたのみであった。(2) ガス (ブタンガス等) 乱用者は新入生・4 年生どちらにおいてもみられなかった。(3) 新入生において最も乱用されていた薬物は向精神薬 0.8% (3 名) であり、大麻 0.5% (2 名)、有機溶剤 0.3% (1 名) と続いた。(4) 4 年生において最も乱用されていた薬物は大麻 1.3% (3 名) であった。(5) 4 年生の 10.2% は、大麻の栽培方法や乱用方法が書かれた雑誌・書籍を見た経験を有していた。(6) 大麻種子から連想されることは大麻栽培(80.6%)、違法 (46.7%)、インターネットで買う(37.0%) であった。

C. 考察

1. 合成カンナビノイド誘導体の精神依存性および細胞毒性の評価

本研究より、CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 は精神依存形成能を有することが明らかになった。これらの作用発現には、ドパミン神経系が関与する可能性が示唆された。合成カンナビノイド誘導体について、薬物による中枢興奮もしくは抑制作用の発現用量を参考に conditioned place preference (CPP) 法による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。合成カンナビノイド誘導体の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、ドパミン代謝産物含量の増加が利用できると考えられる。また、これらの薬物は PPI 反応に障害を引き起こすことから、感覚フィルター機能等に障害を及ぼす危険性を有すると考えられる。細胞毒性については、NG108-15 細胞を使用し、合成カンナビノイド誘導体の処置 24 時間後、ATP 遊離を指標に生存細胞数を測定することで、簡便かつ高感度に細胞毒性の発現を評価できることが明らかになった。本研究では、合成カンナビノイド誘導体において、薬物による中枢作用の発現用量を参考に CPP 試験を行い、培養細胞により毒性試験を行うことで、効率良く化学物質の精神依存性および毒性を評価できることが確認された。

2. 合成カンナビノイド誘導体の薬物弁別試験

本研究では、合成カンナビノイド誘導体である CP-55,940 を標準薬とした、薬物弁別確立の訓練条件が明らかになった。また、合成カンナビノイド誘導体は、 Δ^9 -THC と類似の自覚効果（薬理効果）を示すことから、乱用危険性を有することが確認された。CP-55,940 を標準薬（訓練薬）とした薬物弁別試験は、合成カンナビノイド誘導体の依存性評価に有効である。

3. 神経細胞毒性発現に関する研究

本研究において、フェネチルアミン系の違法ドラッグ 2C-C は、他の「2C シリーズ」と同じように、単独で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示し、MDMA あるいは METH との同時添加はセロトニン系神経細胞に強い神経毒性をもたらすことを明らかにできた。本検討の結果とこれまでの検討結果をあわせると、フェネチルアミン系違法ドラッグの「2C シリーズ」は、単独で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示し、MDMA あるいは METH との同時乱用はとくにセロトニン系神経細胞に強い神経毒性をもたらす危険性があると考えられる。さらに、「2C シリーズ」のなかでも 2CT-7, 2C-C がドパミン系神経細胞に対して極めて強い神経毒性を有していることが明らかになった。本研究で用いた蛍光指示薬による活性酸素種生成の検出法は、迅速かつ感度良く、しかも定量的に細胞毒性を解析できる評価法であり、乱用薬物の神経障害性の評価に有用であると考えられる。

4. 大学生における違法ドラッグに関する

実態調査

先行研究を踏まえ、比較的認知度が高い違法ドラッグとして、ガス系のラッシュ（ニトライト）およびガス（ブタンガス等）を取り上げ、覚せい剤など従来から問題となっている薬物と合わせて乱用実態を調べたものの、ラッシュ乱用者が大学 4 年生で 1 名報告されたのみであり、ガス（ブタンガス等）乱用者は新入生・4 年生どちらにおいてもみられなかった。その一方で、向精神薬および大麻の乱用が報告された。大麻乱用に関する意識や実態については、対象者の多くは大麻についての危険性を認識しており、乱用に対しては否定的な態度を示していたことは、高校までの薬物乱用防止教育の効果として評価できると考えられる。しかし、その一方では約 1 割

の学生が大麻の栽培方法や乱用方法が書かれた乱用を肯定するような雑誌・書籍を目にしている点には注意が必要である。また、近年インターネットなどで入手した大麻種子による不正栽培が問題となっているが、対象者の4割近くが大麻種子から連想されるものとして「インターネットでの購入」と回答している点も注意を要する。

以上の知見より、大学生において違法ドラッグの乱用は稀であり、むしろ向精神薬や大麻の乱用の方が問題となっている可能性が考えられる。また、大学生が雑誌・書籍・インターネットを通じて、大麻の栽培方法や大麻種子の購入といった大麻乱用を促進させるような情報を得ている実態の一端が示された。

D. 結論

合成カンナビノイド誘導体である CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 の行動薬理学特性を検討した。これらの薬物は、精神依存形成能と麻薬である Δ^9 -THC と類似の自覚効果を有することが明らかになった。これらの合成カンナビノイド誘導体については、大麻と同様に乱用される可能性が高いと考えられる。

薬物弁別試験法では、評価対象の薬物が示す自覚効果と規制薬物が示す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合成カンナビノイド誘導体の中枢作用の解析に有用であることが示唆された。また、合成カンナビノイド誘導体の毒性の評価については、培養細胞を利用した検討は、迅速かつ高感度の毒性評価法として有効であることが判明した。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、その有用性は高いと考えられる。

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。大学生において違法ドラッグの乱用は稀であり、むしろ向精神薬や大麻の乱用の方が問題となっている可能性が考えられる。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、大麻等の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。

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)である合成カンナビノイド誘導体と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、鈴木 勉：安全性薬理試験マニュアル. 第5節 依存性試験 138-149, 2009.
- 2) 船田正彦：薬物依存性の評価法：基礎と応用. 実践行動薬理学. 113-122, 2010.
- 3) Tsuji, T., Asanuma, M., Miyazaki, I., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Reduction of nuclear peroxisome proliferator-activated receptor γ expression in methamphetamine-induced neurotoxicity and neuroprotective effects of ibuprofen. *Neurochem. Res.*, 34: 764-774, 2009.
- 2) Kitagawa, K., Kitamura, Y., Miyazaki, T.,

- Miyaoka, J., Kawasaki, H., Asanuma, M., Sendo, T. and Gomita, Y.: Effects of pramipexole on the duration of immobility during the forced swim test in normal and ACTH-treated rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 380: 59-66, 2009.
- 3) Tanaka, K., Yagi, T., Shimakoshi, R., Azuma, K., Nanba, T., Ogo, H., Tamura, A. and Asanuma, M.: Effects of galantamine on L-NAME-induced behavioral impairment in Y-maze task in mice. *Neurosci. Lett.*, 462: 235-238, 2009.
- 4) Miyoshi, K., Kasahara, K., Miyazaki, I., Shimizu, S., Taniguchi, M., Matsuzaki, S., Tohyama, M. and Asanuma, M.: Pericentrin, a centrosomal protein related to microcephalic primordial dwarfism, is required for olfactory cilia assembly in mice. *FASEB J.*, 23: 3289-3297, 2009. (published online May 26, 2009)
- 5) Miyoshi, K., Kasahara, K., Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Lithium treatment elongates primary cilia in the mouse brain and in cultured cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 388: 757-762, 2009. (published online August 21, 2009)
- 6) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Approaches to prevent dopamine quinone-induced neurotoxicity. *Neurochem. Res.*, 34: 698-706, 2009.
- 7) Kita, T., Miyazaki, I., Asanuma, M., Takeshima, M. and Wagner, G.C.: Dopamine-induced behavioral changes and oxidative stress in methamphetamine-induced neurotoxicity. *Int. Rev. Neurobiol.*, 88: 43-64, 2009.
- 8) Asanuma, M., Miyazaki, I., Diaz-Corrales, F.J., Kimoto, N., Kikkawa, Y., Takeshima, M., Miyoshi, K. and Murata, M.: Neuroprotective effects of zonisamide target astrocyte. *Ann. Neurol.*, in press.
- 9) Morimoto, N., Nagai, M., Miyazaki, K., Ohta, Y., Kurata, T., Takehisa, Y., Ikeda, Y., Matsuura, T., Asanuma, M. and Abe, K.: Induction of parkinsonism-related proteins in the spinal motor neurons of transgenic mouse carrying a mutant SOD1 gene. *J. Neurosci. Res.*, in press.
- 10) 嶋根卓也、和田清、三島健一、藤原道弘: 危険飲酒行動と薬物乱用リスクグループとの関連について-大学新入生を対象とした調査より-. *日本アルコール・薬物医学会雑誌*.44(6):649-658.2009.
- 11) 嶋根卓也: 定時制高校に在籍する思春期のこころ、思春期のこころと性「故意に自分の健康を害する」症候群 (編集 松本俊彦)、現在のエスプリ、ぎょうせい、509,39-52,2009.
- 12) 嶋根卓也: 思春期における飲酒・薬物乱用の実態と予防について、小児科医のための思春期医学・医療.小児科,50(11),1923-1929,2009.
2. 学会発表
- 1) Funada M., Aoo N., Akitake Y., Wada K.: Involvement of dopamine system on psychostimulant-like properties of p-fluoroamphetamine in mice. College on problems of drug dependence (CPDD) 71th Annual scientific meeting, Reno, U.S.A. June 20-25 (2009).
- 2) 船田正彦, 青尾直也, 秋武義治, 和田清: 大麻成分慢性処置によるメタンフェタミン報酬効果に及ぼす影響. 第44回日本アルコール薬物・医学会総会. 横浜. 9月9日. 2009.
- 3) 木本直孝, 福岡早紀, 吉川友理, Diaz-Corrales, Francisco J., 宮崎育子, 浅沼幹人: ロテノン暴露後早期のアストロサイトの反応. 第82回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.16.
- 2) 江本清香, 北村佳久, 宮崎育子, 北川航

- 平, 長町智子, 土居真穂, 石丸由衣, 浅沼幹人, 千堂年昭: ACTH 反復投与ラットにおける中枢ドパミントランスポーター発現に関する検討. 第 82 回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.16.
- 3) 池上大悟, 成田 年, 朝戸めぐみ, 鶴川百合, 新倉慶一, 成田道子, 浅沼幹人, 喜多大三, 葛巻直子, 鈴木 勉: 薬物依存の研究 (第 436 報): Methamphetamine ならびに methylphenidate 誘発神経毒性発現機序の相違. 第 82 回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.17.
- 4) 福岡早紀, 穂積宏彰, 木本直孝, 吉川友理, 辻 武史, 宮崎育子, 北村佳久, 千堂年昭, 喜多大三, 浅沼幹人: メタンフェタミン神経毒性における PRAR- γ の関与とインターフェロン- γ の保護効果. 第 82 回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.17.
- 5) 石田 茂, 師橋一徳, 生田祐一, 淵頭一朗, 河崎陽一, 浅沼幹人, 荒木博陽, 千堂年昭, 北村佳久, 川崎博巳: Morphine 単回投与ラットにおける naloxone 誘発条件付け場所嫌悪行動に対するドパミン神経系の関与. 第 82 回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.17.
- 6) 染矢 恵, 竹島美香, 村田麻衣子, 宮崎育子, 浅沼幹人, 喜多大三: L-テアニンの培養ドパミン神経系への作用. 第 82 回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.18.
- 7) 村田麻衣子, 竹島美香, 染矢 恵, 宮崎育子, 浅沼幹人, 喜多大三: ドコヘキサエン酸の培養ドパミン神経系への作用. 第 82 回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.18.
- 8) 浅沼幹人, 宮崎育子: パーキンソン病モデルのアストロサイトでのキノン消去分子の誘導を介した抗酸化機構. 第 50 回日本神経学会総会, 仙台, 2009.5.20.
- 9) Asanuma, M., Miyazaki, I.: A novel anti-parkinsonian agent zonisamide has astrocyte-proliferating effect and neuroprotective effect against 6-OHDA-induced dopaminergic neurodegeneration. 13th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Paris, 2009. 6. 8.
- 10) Miyazaki, I., Asanuma, M.: L-DOPA treatment-specific induction of metallothionein in reactive astrocytes in the striatum of parkinsonian model and its neuroprotective effects against dopaminergic neurotoxicity. 13th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Paris, 2009. 6. 10.
- 11) 宮崎育子, 吉川友理, 竹島 美香, 三好 耕, 浅沼幹人: アストロサイトにおけるメタロチオネイン発現誘導によるドパミン神経保護. 第 52 回日本神経化学学会大会, 伊香保, 2009.6.22-24.
- 12) 浅沼幹人, 宮崎育子, 福岡早紀, 穂積宏彰, 辻武史, 北村佳久, 千堂年昭, 喜多大三: メタンフェタミン神経毒性に対するインターフェロン γ および PPAR γ アゴニストの保護効果. 第 52 回日本神経化学学会大会, 伊香保, 2009.6.22-24.
- 13) Asanuma, M., Miyazaki, I., Kikkawa, Y., Takeshima, M., Miyoshi, K., Kita, T.: Reduction of PPAR- γ in methamphetamine-induced neurotoxicity and protective effects of interferon- γ . 22th Biennial Meeting of the International Society for Neurochemistry (ISN)/the Asian-Pacific Society for Neurochemistry (APSN) Joint Meeting, Busan, Korea, 2009.8.24.
- 14) Miyazaki, I., Kikkawa, Y., Takeshima, M., Miyoshi, K., Asanuma, M.: Neuroprotective properties of astrocytes through induction of quinone-quenching molecules in parkinsonian model. 22th Biennial Meeting of the International Society for Neurochemistry (ISN)/the Asian-Pacific Society for Neurochemistry (APSN) Joint

- Meeting, Busan, Korea, 2009.8.25.
- 15) 三好 耕、笠原恭輔、宮崎育子、浅沼幹人：129 系由来の Disc1 欠損変異を持つマウスの解析. 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.9.16.
 - 16) 宮崎育子, 吉川友理, 竹島美香, 三好 耕, 喜多大三, 浅沼幹人：メタンフェタミン神経毒性におけるアストロサイトでのメタロチオネイン発現誘導. 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.9.18.
 - 17) 三好 耕、笠原恭輔、宮崎育子、浅沼幹人：129 系由来の Disc1 欠損変異を持つマウスの解析. 第 32 回日本神経科学大会, 名古屋, 2009.9.16.
 - 18) 宮崎育子, 浅沼幹人：酸化ストレスに対するアストロサイトでのメタロチオネイン発現はドパミン神経保護的に作用する. 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 2009, 東京, 2009.10.16.
 - 19) 笠原恭輔, 三好 耕, 宮崎育子, 浅沼幹人：マウス脳の神経細胞 1 次繊毛に対するメタンフェタミンの作用. 第 19 回日本臨床精神神経薬理学会・第 39 回日本神経精神薬理学会 合同年会, 京都, 2009.11.13.
 - 20) Miyoshi, K., Kasahara, K., Miyazaki, I., Asanuma, M.: Effects of psychotropic drugs and pericentrin mutation on neuronal primary cilia. 第 19 回日本臨床精神神経薬理学会・第 39 回日本神経精神薬理学会 合同年会, The 1st Meeting of Asian College of Neuropsychopharmacology, 京都, 2009.11.14.
 - 21) Doi, M., Miyazaki, I., Shinomiya, K., Asanuma, M., Kitamura, Y.: Effects of imipramine and lithium on the suppression of cell proliferation and neurogenesis of dentate gyrus of hippocampus in ACTH-treated rats. 第 19 回日本臨床精神神経薬理学会・第 39 回日本神経精神薬理学会 合同年会, The 1st Meeting of Asian College of Neuropsychopharmacology, 京都, 2009.11.14.
 - 22) 竹島美香, 宮崎育子, 村田麻衣子, 吉川友理, 浦添夏帆, 喜多大三, 浅沼幹人：ドパミンキノン誘発神経障害に対するバйкаレインの保護効果. 第 19 回日本臨床精神神経薬理学会・第 39 回日本神経精神薬理学会 合同年会, 京都, 2009.11.14.
 - 23) 浦添夏帆, 村田麻衣子, 竹島美香, 吉川友理, 宮崎育子, 浅沼幹人, 喜多大三：培養ドパミン細胞系におけるフィチン酸の効果. 第 19 回日本臨床精神神経薬理学会・第 39 回日本神経精神薬理学会 合同年会, 京都, 2009.11.14.
 - 24) 八木貴彦, 松永康臣, 江角 悟, 四宮一昭, 千堂年昭, 浅沼幹人, 北村佳久：精神疾患改善薬スクリーニングモデル動物を用いたローヤルゼリーの薬効評価. 第 19 回日本臨床精神神経薬理学会・第 39 回日本神経精神薬理学会 合同年会, 京都, 2009.11.14.
 - 25) 嶋根卓也：大麻種子の取り扱いに関する研究-薬物依存リハビリテーション施設における調査より-, 第 68 回日本公衆衛生学会総会, 奈良, 2009.10.21-23.
 - 26) 嶋根卓也, 和田清：民間リハビリテーション施設の薬物依存者における違法ドラッグの乱用状況について. 第 44 回日本アルコール・薬物医学会総会, 横浜, 2009.9.7-9.
 - 27) 和田清, 尾崎茂, 嶋根卓也：大麻乱用の諸問題 薬物乱用・依存の今日的状況 有機溶剤、覚せい剤から脱法ドラッグ、リタリン、大麻等、使用しても捕まらない薬物へのシフト. 第 44 回日本アルコール・薬物医学会総会, 横浜, 2009.9.7-9.
- G. 知的財産権の出願・登録状況
- 特許取得、実用新案登録、その他
特になし

分担研究報告書

合成カンナビノイド誘導体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：秋武義治（国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部）
：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】

大麻の精神活性成分である Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)と薬理作用が類似した化合物が、違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)として流通しており、その乱用が問題となっている。本研究では、合成カンナビノイド誘導体である(-)-cis-3-[2-hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl)-phenyl]-trans-4-(3-hydroxypropyl) cyclohexanol (CP-55,940)、5-(1,1-dimethylheptyl)-2-(3-hydroxy-cyclohexyl)-phenol (CP-47,497)、5-(1,1-dimethyloctyl)-2-(3-hydroxy-cyclohexyl)-phenol (CP-47,497-C8) および 1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole (JWH-018)について、その精神依存性、運動活性並びに驚愕反応に対する影響を比較検討した。1) 行動解析：カンナビノイド受容体作用薬による運動活性に対する影響を検討した。CP-47,497、CP-47,497-C8 投与により、運動促進作用が発現した。薬物の精神依存形成能は、conditioned place preference (CPP)法により評価した。CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 の条件付け(1日1回6日間)により、有意な CPP の発現が確認された。CP-55,940 の報酬効果は、ドパミン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。CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 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。驚愕反応における prepulse inhibition(PPI)発現に対する影響を検討した。CP-55,940 により PPI 反応は抑制され、感覚フィルター機能等に障害が生じる可能性が示された。2) 脳内モノアミンに対する影響：CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 (1 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。CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 の投与により、ドパミン代謝産物である DOPAC もしくは HVA の有意な増加が認められた。カンナビノイド誘導体の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、脳内のドパミン代謝産物含量の増加が利用できると考えられる。3) 細胞毒性：NG108-15 細胞を使用し、CP-55,940 処置 24 時間後、ATP 遊離を指標に生存細胞数を測定したところ、濃度依存的に生存細胞数が減少した。本研究より、CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 は精神依存形成能を有することが明らかになった。また、これらの薬物は PPI 反応に障害を引き起こすことから、感覚フィルター機能等に障害を及ぼす危険性を有する。さらに、細胞に対して毒性を示す危険性も有すると考えられる。合成カンナビノイド誘導体において、薬物による中枢興奮作用の発現用量を参考に CPP 試験を行い、培養細胞により毒性試験を行うことで、効率良く化学物質の精神依存性および毒性を評価できることが確認された。

A. 研究目的

2000年以降、我が国では、乱用される薬物の種類が増加しており、「乱用薬物の多様化」が進行している。特に、法規制を受けている麻薬や覚せい剤と類似構造を有する化学物質が、法規制がされていない薬物「違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）」と称して販売され、その乱用が増加している¹⁻³⁾。既存の乱用薬物に加えて、こうした化学物質の乱用による重篤な健康被害が発生し、大きな社会問題となっている。

この違法ドラッグとして合成カンナビノイドは、「スパイス」という呼称で世界的にその乱用が拡大している⁴⁾。我が国においても、スパイスはカラフルな大きな瞳のロゴが印刷されたパッケージ製品として、天然ハーブ等と称してインターネットや路上販売などにより流通していることが判明している。違法ドラッグとして、スパイスには「スパイスゴールド、スパイスダイヤモンド」、その他には「ユカタンファイヤー」「スモーク」など幾つかのバリエーションが存在しているが、なんらかの植物の乾燥品に合成カンナビノイド誘導体を混入させるという偽装を行っているのが特徴である。

現在までに、ドイツにおいて、スパイスシリーズの成分解析が進んでおり、実際に検出されている合成カンナビノイド誘導体としては 5-(1,1-dimethylheptyl)-2-(3-hydroxy-cyclohexyl)-phenol (CP-47,497) およびその側鎖の炭素数が異なる 5-(1,1-dimethyloctyl)-2-(3-hydroxy-cyclohexyl)-phenol (CP-47,497-C8)、1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole (JWH-018) などが検出されている⁴⁾。さらに、複数の合成カンナビノイド誘導体が混入している製品も発見されており、実際の含有成分については多くのバリエーションが存在するようである。

我が国においては、合成カンナビノイド誘導体として (-)-cis-3-[2-hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl)-phenyl]-trans-4-(3-hydroxy-

propyl) cyclohexanol (CP-55,940)、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 について、その流通が確認されている⁴⁾。これらの薬物について、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、CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 は Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) と構造が異なる nonclassical cannabinoid 誘導体として、依存性の発現と構造の相関性を探る上でも、評価標準品となり得る違法ドラッグである。

これらの合成カンナビノイド誘導体に着目して、精神依存性および細胞毒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。

本研究では、流通が確認されている合成カンナビノイド誘導体の精神依存性ならびに運動活性に対する影響を解析した。また、驚愕反応における prepulse inhibition (PPI) 発現に対する影響を検討し、感覚フィルター機能の調整についても解析した。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は、合成カンナビノイド誘導体処置による脳内モノアミンの変動に関する解析を行った。

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：合成カンナビノイド誘導体として、(-)-cis-3-[2-hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl)-phenyl]-trans-4-(3-hydroxypropyl) cyclohexanol (CP-55,940, Cayman Chem.)、5-(1,1-dimethylheptyl)-2-(3-hydroxy-cyclohexyl)-phenol (CP-47,497, Cayman Chem.)、5-(1,1-dimethyloctyl)-2-(3-hydroxy-cyclohexyl)-phenol (CP-47,497-C8、国立医薬品食品研究所:花尻瑠理先生、合田幸広先生より譲渡) および 1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole (JWH-018, Cayman Chem.) を使用した(構造式 Fig. 1)。

1. 合成カンナビノイド誘導体による運動活

性への影響

CP-47,497、CP-47,497-C8、JWH-018 および CP-55,940 (1 mg/kg, i.p.) 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 60 分間にわたって運動量を測定した。対照群は溶媒である 0.4% (DMSO+Tocrisolve 100) 含有生理食塩液を投与した。

2. 合成カンナビノイド誘導体の精神依存性評価

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、CP-47,497 (0.25 mg/kg, i.p.)、CP-47,497-C8 (0.25 mg/kg, i.p.)、JWH-018 (0.5 mg/kg, i.p.) および CP-55,940 (0.1 mg/kg, i.p.) を 1 日おきに投与し、30 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 0.4% (DMSO+Tocrisolve 100) 含有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)。また、CP-55,940 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 受容体拮抗薬 raclopride 前処置の効果を検討した。

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. 合成カンナビノイド誘導体の PPI 反応に

対する影響

音刺激による prepulse inhibition(PPI)反応に対する CP-47,497、CP-47,497-C8、JWH-018 および CP-55,940 投与の効果を検討した。対照群は溶媒である 0.4% (DMSO+Tocrisolve 100) 含有生理食塩液を投与した。PPI の測定は SR-Lab 社の驚愕反応測定装置 (San Diego Instruments) を使用した。バックグラウンドノイズを 65dB として、prepulse の設定は 69、73、77dB の刺激とした。

驚愕強度と PPI 反応は、120dB の音刺激に対する効果を検討した。PPI(%)=100X[1-(prepulse-120dB pulse 驚愕強度 /120dB pulse 驚愕強度)]にて算出した。

4. 合成カンナビノイド誘導体の脳内モノアミンに対する影響

CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 (1 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。対照群は溶媒である 0.4% (DMSO+Tocrisolve 100) 含有生理食塩液を投与した。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。

5. 合成カンナビノイド誘導体による細胞毒性

マウス由来 N18TG2 神経芽細胞とラット由来 C6-BU-1 グリア細胞のハイブリッド細胞株である NG108-15 細胞 (1×10^5 cells/cm²) を使用し、継代 24 時間後に、CP-55,940 (最終濃度 0.1-100 μ M) を添加し、24 時間後の影響を検討した。対照群は溶媒である 0.1% (DMSO+Tocrisolve 100) を処置した。生存細胞数は、CellTiter-Glo cell viability assay

(Promega, Inc.) により測定した。また、50%細胞毒性濃度 (CC₅₀) を算出した。

C. 研究結果

1. 合成カンナビノイド誘導体による運動活性への影響

CP-47,497 (1 mg/kg, i.p.)および CP-47,497-C8 (1 mg/kg, i.p.) によって、有意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. 2)。一方、CP-55,940 (1 mg/kg, i.p.)および JWH-018 (1 mg/kg, i.p.) では、有意差は認められなかったが、運動量は減少する傾向が確認された。

CP-47,497 (1 mg/kg, i.p.)および CP-47,497-C8 (1 mg/kg, i.p.) 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 受容体拮抗薬 raclopride の前処置により有意に抑制された。

2. 合成カンナビノイド誘導体の精神依存性評価

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。CP-47,497 (0.25 mg/kg, i.p.)、CP-47,497-C8 (0.5 mg/kg, i.p.)、JWH-018 (0.5 mg/kg, i.p.) および CP-55,940 (0.1 mg/kg, i.p.) の条件付けによって有意な CPP の発現、すなわち報酬効果の発現が認められた (Fig. 3A)。CPP 発現の強度は、CP-55,940 > CP-47,497=CP-47,497-C8 = JWH-018 であった。

CP-55,940 (0.05 mg/kg, i.p.)によって誘発される報酬効果はドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 およびドパミン D2 受容体拮抗薬 raclopride の前処置により有意に抑制された (Fig. 3B)。

3. 合成カンナビノイド誘導体の PPI 反応に対する影響

音刺激による prepulse inhibition (PPI)反応に対する CP-47,497 (1 mg/kg, i.p.)、CP-47,497-C8 (1 mg/kg, i.p.)、JWH-018 (1 mg/kg,

i.p.)および CP-55,940 (0.5 mg/kg, i.p.) 投与の効果を検討した。溶媒を投与した対照群では、120dB の音刺激による驚愕反応において、PPI が確認された。CP-55,940 によって、PPI 反応は有意に減少しており、PPI の障害が発現した (Fig. 4A)。一方、CP-47,497 および CP-47,497-C8 においては、PPI 反応の減少傾向および JWH-018 では PPI 反応の増強傾向が認められた。CP-47,497、CP-47,497-C8、JWH-018 および CP-55,940 によって、120dB の音刺激による驚愕反応に有意な影響は認められなかった (Fig. 4B)。

4. 合成カンナビノイド誘導体の脳内モノアミンに対する影響

CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 (1 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 : CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 投与により、ドパミン代謝産物である DOPAC および HVA 含量は有意な増加が認められた (Fig. 5A)。また、CP-47,497 により、セロトニン代謝産物である 5-HIAA は有意に増加していた。ドパミン含量およびセロトニン含量は有意な影響が認められなかった。

B) Midbrain : CP-47,497 および CP-47,497-C8 投与では、ドパミン含量およびセロトニン含量およびその代謝産物含量に有意な影響は認められなかった。一方、JWH-018 により HVA 含量のみ、有意な増加が認められた (Fig. 5B)。

5. 合成カンナビノイド誘導体による細胞毒性

NG108-15 細胞を使用し、CP-55,940 を添加し、24 時間後の影響を検討した。CP-55,940 の濃度依存的に、生存細胞由来 ATP 遊離が減少しており、生存細胞の減少が認められた (Fig. 6)。50%細胞毒性濃度 (CC₅₀) は、55.71 (46.4 – 66.2) μM であった。また、100 μM の

高濃度では、細胞体の萎縮が生じ、細胞死が確認された (Fig.7)。同様に、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 を添加し、24 時間後の影響を検討した。CP-47,497、CP-47,497-C8 の濃度依存的に、生存細胞由来 ATP 遊離が減少しており、生存細胞の減少が認められた (Fig. 8)。

D. 考察

合成カンナビノイド誘導体は、「スパイス」という呼称で世界的に流通が確認されており、我が国においても乱用拡大が懸念される違法ドラッグである⁴⁾。合成カンナビノイド誘導体として、 Δ^9 -THC の化学構造を含む ABC-tricyclic cannabinoid 誘導体を classical cannabinoid 誘導体、この構造を部分的に含む AC-bicyclic cannabinoid 誘導体である CP-47,497 や CP-55,940 および aminoalkylindole 誘導体である JWH-018 などは nonclassical cannabinoid 誘導体として大きく 2 つのグループに分類されている (Fig. 1.)⁶⁾。

本研究では、違法ドラッグとして流通が確認されている合成カンナビノイド誘導体である CP-47,497、CP-47,497-C8、JWH-018 および CP-55,940 の行動薬理学特性を解析した。CP-47,497 および CP-47,497-C8 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、CP-47,497=CP-47,497-C8 であった。CP-47,497 の C-3 のアルキル側鎖の炭素数およびシクロヘキシル環のアルキル側鎖の炭素数によって、鎮痛効果やカンナビノイド受容体への結合能が変化することが明確になっている⁷⁾。本研究において、CP-47,497 および CP-47,497-C8 の運動促進作用の比較から、C-3 のアルキル側鎖の炭素数が 1 つ増えても中枢興奮作用の発現においてはほとんど差がないことが判明した。また、CP-47,497 および CP-47,497-C8 の運動促進作用はドパミン D1 および D2 受容体拮抗薬で抑制された。これらの結果から、CP-47,497 および CP-47,497-C8 の中枢興奮作

用の発現において、ドパミン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。一方、CP-55,940 は運動抑制傾向が認められたことから、CP-47,497 のシクロヘキサン環の側鎖の構造が変化することにより、運動促進作用から運動抑制作用へ効果発現に著明な影響を与えることが明らかになった。

マウス conditioned place preference (CPP) 法により、CP-47,497、CP-47,497-C8、JWH-018 および CP-55,940 の精神依存形成能を評価した。CP-47,497、CP-47,497-C8、JWH-018 および CP-55,940 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、CP-47,497、CP-47,497-C8、JWH-018 および CP-55,940 は、精神依存形成能を有する可能性が示唆された。また、CP-55,940 よって誘発される報酬効果はドパミン D1 および D2 受容体拮抗薬の前処置により抑制された。したがって、合成カンナビノイド誘導体の精神依存形成において、ドパミン神経系が重要な役割を果たしていることが明らかになった。

一方、条件付けの用量を比較したところ、報酬発現の強度は、CP-55,940 > CP-47,497 = CP-47,497-C8 であった。受容体結合実験から、カンナビノイド受容体への受容体親和力は CP-55,940 > CP-47,497 であることが報告されている⁷⁾。したがって、報酬効果の発現においては、CP-47,497 のシクロヘキサン環の側鎖の構造が重要であり、報酬効果の発現とカンナビノイド受容体への受容体親和力との相関性があると考えられる。

覚せい剤類似化合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^{8,9)}。本研究において、合成カンナビノイド誘導体である CP-47,497 および CP-47,497-C8 は運動促進作用が発現し、低用量側で報酬効果の発現が認められた。一方、JWH-018 および CP-55,940 については、運動抑制傾向が認められ、低用量側で報酬効果の発現が認められた。したがって、合成カンナビノイド誘導体の精神依存

性を評価する場合は、中枢興奮作用および中枢抑制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。

次に、合成カンナビノイド誘導体による精神毒性の評価の一環として、prepulse inhibition(PPI) 反応について検討した。PPI 反応とは、音や光などの突然の強い感覚刺激(pulse)によって引き起こされる驚愕反応が、その直前に弱い感覚刺激(prepulse)が加わることで、驚愕反応の発現が抑制される現象である¹⁰⁾。これは、先行する弱い感覚刺激により、感覚の入力ゲート「感覚運動ゲイティング sensorimotor gating」が調整され、強い感覚刺激の入力を和らげると考えられている。感覚フィルター機構の評価系として重要である。興味深いことに、統合失調症患者において、PPI 反応が低下していることが報告されており、統合失調症の情報処理障害の指標として注目されている¹¹⁾。合成カンナビノイド誘導体の PPI 反応に対する影響を検討したところ、CP-55,940 によって、PPI 反応は有意に減少しており、PPI の障害が発現した。CP-55,940 は、感覚フィルター機能等に障害を及ぼす危険性を有することが示された。一方、CP-47,497 および CP-47,497-C8 においても、PPI 反応の減少傾向が認められたことから、AC-bicyclic cannabinoid 誘導体は PPI 反応に障害を及ぼす危険性が高い可能性がある。一方、aminoalkylindole 誘導体である JWH-018 は、PPI 反応に対して増強傾向を示したことから、合成カンナビノイド誘導体の種類により、効果に差が生じる可能性がある。薬物のカンナビノイド受容体への親和力との相関性が考えられる^{7,12)}。

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パミン神経系の関与が示唆されている^{13,14)}。そこで、中脳辺縁系ド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。CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 投与により、limbic forebrain において、ドパミン代謝産物である DOPAC および HVA 含量の増加が確認された。CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 処置によるドパミン代謝産物の増加は、中枢興奮作用もしくは精神依存形成に関与していると考えられる。一方、ドパミン神経の細胞体が存在する midbrain においては、JWH-018 投与により HVA 含量の増加が認められたが、他の薬物では有意な効果は認められなかった。

したがって、合成カンナビノイド誘導体による脳内(limbic forebrain)のドパミン代謝産物含量の増加は、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。

本研究では、カンナビノイド受容体の発現が確認されている NG108-15 細胞¹⁵⁾を使用して、合成カンナビノイド誘導体添加による細胞毒性の発現について検討した。その結果、CP-55,940、CP-47,497 および CP-47,497-C8 の添加 24 時間後に、細胞毒性の発現が確認された。合成カンナビノイド誘導体は、細胞毒性を示すことが確認された。一方、JWH-018 は、細胞毒性が観察されなかった。これはカンナビノイド CB1/CB2 受容体への選択性および親和力の差異などが関与する可能性が考えられる^{7,12)}。この点は、詳細な検討が必要であると考えられる。

現在までに、CP-47,497、CP-47,497-C8 および JWH-018 は、スパイスより検出されており、スパイスの乱用により、薬物依存に陥ることや精神障害等の健康被害も発生することが報告されており¹⁶⁾、その危険性が明らかになっている。本研究結果は、こうした臨床報告と一致しており、合成カンナビノイド誘導体の乱用の危険性が明らかになった。

本研究では、合成カンナビノイド誘導体のうち、AC-bicyclic cannabinoid 誘導体である CP-47,497、CP-47,497-C8 および CP-55,940、