

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  
(H21-医薬-一般-031)

分担研究報告書

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）

研究協力者：宮崎育子（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 助教）

---

【研究要旨】

研究目的：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  $IC_{50}$  で比較すると、CATH. a 細胞では 2CT-7 (100  $\mu$ M)、2C-C (100  $\mu$ M) > 2CT-2 (150  $\mu$ M)、2CT-4 (200  $\mu$ M) > 2C-I (250  $\mu$ M)、B65 細胞では 2CT-7 (150  $\mu$ M)、2C-I (150  $\mu$ M) > 2CT-2 (250  $\mu$ M) > 2C-C (300  $\mu$ M)、2CT-4 (300  $\mu$ 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( $IC_{50}$ : 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 low 濃度(100  $\mu$ 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  $\mu$ M-1 mM) および METH (250  $\mu$ M-1 mM) は、2C-C (100, 250  $\mu$ 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  $\mu$ 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。結論：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。

---

## A. 研究目的

これまでに、違法ドラッグ(脱法ドラッグ)として乱用が社会問題となっている 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5MeO-DIPT) および植物由来の違法ドラッグ(ハルマラ)の催幻覚成分である harmaline および harmine のモノアミン(ドパミン、セロトニン)神経毒性について検討し、これらの薬剤が比較的低濃度でアポトーシス様細胞死を惹起しうること、さらに合成麻薬 MDMA および覚醒剤メタンフェタミン(METH)との同時併用により細胞毒性ならびにアポトーシスが相乗的に増強されることを明らかにした<sup>1), 2)</sup>。さらに、MDMA の構造類似体のメチロン(平成 19 年 2 月麻薬指定)が単独暴露では強い毒性は示さないものの、MDMA もしくは METH との同時乱用では強いセロトニン神経毒性をもたらすことを明らかにした<sup>3)</sup>。

また、平成 18 年度は「2C シリーズ」と称されるフェネチルアミン系の違法ドラッグ 2,5-dimethoxy-4-propylthiophenethylamine (2CT-7:平成 18 年 4 月麻薬指定)、2,5-dimethoxy-4-isopropylthiophenethylamine (2CT-4:平成 19 年 4 月指定薬物、平成 20 年 1 月より麻薬指定)、2,5-dimethoxy-4-ethylthiophenethylamine (2CT-2:平成 19 年 4 月指定薬物、平成 20 年 1 月より麻薬指定)、2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2C-1:平成 19 年 4 月指定薬物、平成 20 年 1 月より麻薬指定)が、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おいて、規制薬物の MDMA、メチロンや METH よりもはるかに強い神経毒性を示すこと、さらにセロトニン系神経細胞においては、低濃度の MDMA もしくは METH との同時併用により、2CT-7, 2CT-4, 2CT-2, 2C-1 のアポトーシス様の細胞死が相乗的に増強されることを明らかにした<sup>4)</sup>。

一昨年度は、覚醒剤アンフェタミン、METH に構造が酷似しているフェネチルアミン系違

法ドラッグである 4-fluoroamphetamine (4FMP:平成 19 年 4 月より指定薬物)、4-methoxymethamphetamine (PMMA:平成 19 年 4 月より指定薬物)が、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 METH 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することを明らかにした<sup>5)</sup>。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、さらに乱用薬物の神経毒性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示した。

昨年度は、同じく覚醒剤アンフェタミン、METH に構造が類似しているピペラジン系違法ドラッグである phenylpiperazine (PP), 1-(2-chlorophenyl)-piperazine (2CPP), 1-(4-chlorophenyl)-piperazine (4CPP), 1-(4-methoxyphenyl)-piperazine (4MPP:平成 19 年 4 月より指定薬物)が、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対して、細胞内、とくにミトコンドリアでの活性酸素種の生成を伴う神経障害および細胞死を惹起することを明らかにした。また、神経保護の面において重要であるアストロサイトに対しても同程度の細胞毒性を引き起こすことを明らかにし、これらのピペラジン系違法ドラッグが、神経細胞にとって極めて毒性の強い薬物であることを示した。さらに、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障害性を評価できる方法として、乱用薬物の神経障害性の評価に有用であることを示した<sup>6)</sup>。

違法ドラッグ(脱法ドラッグ)はその構造が規制薬物に類似しており、規制薬物に指定されても次々に別の類似構造をもつ化学物質が乱用されていることから、違法ドラッグ(脱法ドラッグ)および規制薬物の構造修飾によ

る神経毒性変化をいくつかの障害指標を用いて多角的に、しかも迅速に明らかにし、薬物乱用の危険性および神経毒性を予測することが急務となっている。

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。そこで本年度は、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。

## B. 研究方法

### 1. モノアミン系培養神経細胞への 2C-C 暴露

マウス由来ドパミン含有細胞 CATH.a 細胞 ( $1.0 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup>) およびラットモノアミン系セロトニン含有神経細胞株 B65 細胞 ( $3.1 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>) を用いて、それぞれ継代 24 時間後に、2C-C (最終濃度 50~500  $\mu$ M) を添加し、3、24 時間培養し、形態学的変化を観察し、細胞毒性の指標として培地中への LDH 放出量を測定した。また、添加 3 時間後のミトコンドリアにおける活性酸素種生成を活性酸素種に対する蛍光指示薬である MitoTracker CM-H<sub>2</sub>XRos を用いて検出した。

### 2. モノアミン系培養神経細胞への 2C-C と MDMA、METH の同時添加の効果

CATH.a 細胞 ( $1.0 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup>) および B65 細胞 ( $3.1 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>) をそれぞれ 24 時間培養した。2C-C (最終濃度 50~250  $\mu$ M) を MDMA (最終濃度 50  $\mu$ M~2 mM) あるいは METH (最終濃度 250  $\mu$ M~4 mM) と同時に添加し、24

時間培養し、形態学的変化を観察し、細胞毒性を LDH 放出量の測定により評価した。また、細胞を 4% paraformaldehyde による固定の後、Hoechst33342 による核染色を行い、アポトーシス様の形態学的変化を観察した。

## C. 研究結果

### 1. ドパミン系培養神経細胞への 2C-C 暴露の効果

ドパミン含有培養神経細胞 CATH.a 細胞に 2C-C を 24 時間添加したところ、50  $\mu$ M 以上で細胞障害性の指標となる LDH 放出量の用量依存的な増加が認められた。IC<sub>50</sub> は約 100  $\mu$ M であった (Fig. 1)。また形態学的には、2C-C 単独では 50  $\mu$ M 以上から軽度の細胞死が認められ、100  $\mu$ M 以上で著明な細胞死が惹起された。

### 2. ドパミン系培養神経細胞への 2C-C 暴露と MDMA、METH 同時添加の効果

CATH.a 細胞に 2C-C (0, 50 or 100  $\mu$ M)+MDMA (0-2 mM)、2C-C (0, 50 or 100  $\mu$ M)+METH (0-4 mM) を 24 時間暴露し、LDH 放出量を測定した。MDMA 単独添加の場合、1 mM 未満では LDH 放出量は不変で、1 mM 以上で有意に増加した (Fig. 2A)。METH 単独暴露では、MDMA 単独添加の場合と同様に、1 mM 未満では LDH 放出量は不変で、1 mM 以上で有意に増加した (Fig. 2B)。しかし、2C-C+MDMA あるいは 2C-C+METH の同時暴露では、MDMA あるいは METH による 2C-C の神経毒性に対する相乗効果は認められなかった (Fig. 2)。

### 3. モノアミン系セロトニン含有神経細胞への 2C-C 暴露の効果

セロトニン含有培養神経細胞 B65 細胞に 2C-C を 24 時間添加したところ、250  $\mu$ M 以上で LDH 放出量の用量依存的な増加が認められ、IC<sub>50</sub> は約 300  $\mu$ M であった (Fig. 3)。また形態学的には、2C-C 単独では 100  $\mu$ M から障害がみられ、250  $\mu$ M 以上で著明な細

胞死が惹起された (Fig. 3A, 6 & 8)。

2C-C 添加 3 時間後の暴露早期では、250  $\mu\text{M}$  以上で細胞体の萎縮ならびに細胞質内の空胞化を伴う形態変化が認められた。さらに、低濃度 (100  $\mu\text{M}$ ) での検討を行ったところ、細胞の形態変化はほとんど認められなかったが、ミトコンドリアにおける活性酸素種生成 (MitoTracker CM-H<sub>2</sub>XRos) が 100  $\mu\text{M}$  以上から高まっていた (Fig. 4)。

#### 4. モノアミン系セロトニン含有神経細胞への 2C-C 暴露と MDMA、METH 同時添加の効果

B65 細胞に 2C-C (0, 100 or 250  $\mu\text{M}$ ) + MDMA (0-2 mM)、2C-C (0, 100 or 250  $\mu\text{M}$ ) + METH (0-4 mM) を 24 時間暴露し、LDH 放出量を測定した。MDMA 単独添加の場合、1 mM 以下では LDH 放出量は不変で、2 mM で有意に増加した (Fig. 5A)。2C-C + MDMA の同時暴露では、単独では障害性の低い MDMA (50  $\mu\text{M}$ -1 mM) は 2C-C (100, 250  $\mu\text{M}$ ) でみられる LDH 放出量の増加 (細胞障害) を著明に増強した (Fig. 5A)。METH 単独暴露では、MDMA 単独添加の場合と同様に、1 mM 以下では LDH 放出量は不変で、2 mM 以上で増加した (Fig. 5B)。2C-C + METH の同時暴露では、単独では障害性のない METH (250  $\mu\text{M}$ -1 mM) は 2C-C (100, 250  $\mu\text{M}$ ) でみられる LDH 放出をさらに増強した (Fig. 5B)。

また形態学的検討では、MDMA 単独の 1 mM 以上の高濃度の暴露で細胞死がみられた。2C-C + MDMA の同時添加では、単独では障害性のみられない MDMA (100, 500  $\mu\text{M}$ ) を 2C-C (100, 250  $\mu\text{M}$ ) と併用すると、2C-C 単独でみられる細胞障害がさらに増強された (Fig. 6)。アポトーシスに特徴的な核の形態変化を見るために B65 細胞で Hoechst 染色 (核蛍光染色) を行った (Fig. 7)。2C-C 単独添加では、100  $\mu\text{M}$  以上から核の凝縮、分葉化といったアポトーシス様の形態変化が認められた。MDMA 単独暴露での細胞死についても、高濃度 (1 mM) 添加の場合の一部で同様のアポトーシス様の核の形態変化がみられ

た。単独ではアポトーシス様変化のみられない MDMA (100, 500  $\mu\text{M}$ ) を 2C-C (100, 250  $\mu\text{M}$ ) と同時暴露すると、2C-C 単独でみられるアポトーシス様変化がさらに増強された (Fig. 7)。

METH 単独添加での形態学的変化では、1 mM より細胞死が見えはじめ、2 mM 以上の高濃度の暴露ではじめて明らかな細胞死が認められた (Fig. 8)。単独では障害性の軽微なあるいはみられない METH (500  $\mu\text{M}$ , 1 mM) を 2C-C (100, 250  $\mu\text{M}$ ) と併用すると、2C-C 単独でみられる細胞障害がさらに増強された (Fig. 8)。B65 細胞への 2C-C と METH 添加後の Hoechst 染色での核の形態学的変化についても検討した (Fig. 9)。METH 単独暴露では高濃度 (2 mM) で一部に核の凝縮などのアポトーシス様の形態変化がみられた。単独では障害性のみられない METH (500  $\mu\text{M}$ , 1 mM) を 2C-C (100, 250  $\mu\text{M}$ ) と併用すると、2C-C 単独でみられるアポトーシス様変化が増強された (Fig. 9)。

#### D. 考察

フェニールアルキルアミン骨格を有するフェネチルアミン系違法ドラッグの「2C シリーズ」2C-C のドパミン系神経細胞 CATH. a 細胞ならびにモノアミン系セロトニン含有神経細胞 B65 細胞への添加を行い、細胞毒性ならびに形態学的変化について検討した。さらに、暴露早期における形態学的変化と細胞内における活性酸素種生成についても検討した。

ドパミン系神経細胞 CATH. a 細胞において、規制薬物である METH, MDMA やメチロン<sup>3)</sup>やフェネチルアミン系違法ドラッグ 4FMP, PMMA<sup>5)</sup>、ピペラジン系違法ドラッグ PP<sup>6)</sup>が、高濃度 (IC<sub>50</sub>: 1 mM 以上) の暴露により細胞毒性ならびに細胞死を惹起するのに対して、2C-C ははるかに低濃度 (IC<sub>50</sub>: 100  $\mu\text{M}$ ) で細胞毒性ならびに細胞死を惹起しうることを明らかにした。このドパミン系神経細胞 CATH. a 細胞への単独添加による細胞毒性を他の「2C シ

リーズ」<sup>4)</sup>と LDH 放出量の IC<sub>50</sub> で比較すると、2CT-7 (100 μM)、2C-C (100 μM) > 2CT-2 (150 μM)、2CT-4 (200 μM) > 2C-I (250 μM) であった。ドパミン系神経に対して、「2C シリーズ」は、規制薬物の MDMA、メチロンや METH よりもはるかに強い毒性を発揮するが、なかでも 2CT-7、2C-C が極めて強い神経毒性を有することが明らかになった。

さらに、2C-C の MDMA あるいは METH との CATH. a 細胞への併用暴露では、単独では障害性の低い濃度の MDMA および METH による 2C-C の神経毒性に対する相乗効果は認められなかった。これは、CATH. a 細胞での 2CT-7 による細胞障害に対して MDMA あるいは METH との併用暴露で相乗効果がみられなかったこと、2CT-4、2CT-2、2C-I による細胞障害に対する MDMA あるいは METH 併用の増強効果が軽度であったことに類似している。

一方、モノアミン系セロトニン含有培養神経細胞 B65 細胞への添加実験では、規制薬物である METH、MDMA やメチロン<sup>3)</sup>やフェネチルアミン系違法ドラッグ 4FMP、PMMA<sup>5)</sup>、ピペラジン系違法ドラッグ PP<sup>6)</sup>が、高濃度 (IC<sub>50</sub>: 1 mM 以上) の暴露により細胞毒性ならびに細胞死を惹起するのに対して、2C-C はより低濃度 (IC<sub>50</sub>: 300 μM) で細胞毒性ならびに細胞死を惹起した。このモノアミン系セロトニン含有培養神経細胞 B65 細胞への 2C-C 単独添加による細胞毒性を他の「2C シリーズ」<sup>4)</sup>と LDH 放出量の IC<sub>50</sub> で比較すると、2CT-7 (150 μM)、2C-I (150 μM) > 2CT-2 (250 μM) > 2C-C (300 μM)、2CT-4 (300 μM) であり、昨年度検討したピペラジン系違法ドラッグ 2CPP、4CPP、4MPP<sup>6)</sup>の毒性 (IC<sub>50</sub>: 250-500 μM) とほぼ同等であり、前述のドパミン系神経細胞 CATH. a 細胞への毒性よりは軽度なものの、MDMA やメチロンの B65 細胞への毒性 (IC<sub>50</sub>: 2 mM 以上)<sup>3)</sup>に比べ高度であった。また、核染色などの形態学的観察から、他の「2C シリーズ」2CT-7、2CT-4、2CT-2、2C-I<sup>4)</sup>と同様に 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 μM 以上) より惹起することがわかった。これに対して、MDMA および METH 単独添加では、高濃度 (1 mM 以上) 暴露によりはじめてアポトーシス様形態変化を伴う細胞死が惹起された。これらより、「2C シリーズ」2CT-7、2CT-4、2CT-2、2C-I、2C-C は、ドパミン系神経細胞への毒性に比べると軽度ではあるが、モノアミン系セロトニン含有神経に対しても、規制薬物 MDMA、メチロンや METH よりも強い細胞毒性を発揮するといえる。

さらに、2C-C の MDMA あるいは METH との B65 細胞への併用暴露では、単独では障害性の低い濃度の MDMA および METH は 2C-C による細胞障害 (LDH の放出量) ならびにアポトーシス様の細胞死を相乗的に増強することが判明した。この結果は、他の「2C シリーズ」2CT-7、2CT-4、2CT-2、2C-I の B65 細胞毒性に対する非障害性の低濃度の MDMA あるいは METH による増強効果<sup>4)</sup>と同様であった。

これらの結果から、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。

さらに本検討では、24 時間暴露後の細胞毒性に加えて、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 3 時間後という暴露早期の形態学的変化と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。その結果、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。昨年度のピペラジン系違法ドラッグ 2CPP、4CPP、4MPP の B65 細胞への添加 3 時間後においても、形態変化が認められない低濃度暴露での細胞内、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<sup>6)</sup>。したがって、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、しかも定量的に早期からの細胞障害性を評価できる方法であるといえる。

## E. 結論

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」2CT-7, 2CT-4, 2CT-2, 2C-I, 2C-C は共通して、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、特に 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を明らかにできた。

## F. 参考文献

- 1) 浅沼幹人, 宮崎育子: MDMA および 5-MeO-DIPT の神経毒性発現に関する研究. 平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金 (厚生労働科学特別研究事業) 「MDMA 及び脱法ドラッグの神経毒性ならびに精神依存発現メカニズムの解明」研究報告書 (主任研究者: 船田正彦). P15-24, 2004.
- 2) 浅沼幹人, 宮崎育子: 植物由来催幻覚成分の神経細胞毒性発現に関する研究. 平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金 (厚生労働科学特別研究事業) 「植物由来催幻覚成分の薬物依存性および細胞毒性の評価」研究報告書 (主任研究者: 船田正彦). P21-42, 2005.
- 3) 浅沼幹人, 宮崎育子: 脱法ドラッグ (違法ドラッグ) の構造修飾に基づく神経毒性発現の研究. 平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金 (厚生労働科学特別研究事業) 「脱法ドラッグの構造修飾特性とその依存性および神経毒性発現の関連性」研究報告書 (主任研究者: 船田正彦). P22-33, 2006.
- 4) 浅沼幹人, 宮崎育子: 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. 平成 18 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」研究報告書 (主任研究者: 船田正彦). P30-65, 2007.
- 5) 浅沼幹人, 宮崎育子: 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. 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」研究報告書 (主任研究者: 船田正彦). P36-64, 2008.
- 6) 浅沼幹人, 宮崎育子: 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. 平成 20 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」研究報告書 (主任研究者: 船田正彦). P81-108, 2009.

## G. 研究発表

1. 論文発表
- 1) Tsuji, T., Asanuma, M., Miyazaki, I., Miyoshi, K. and Ogawa, N.: Reduction of nuclear peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  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.*, in press.
2. 学会等発表
- 1) 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- $\gamma$  の関与とインターフェロン- $\gamma$  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, 瀧頭一朗, 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 $\gamma$ および PPAR $\gamma$  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- $\gamma$  in methamphetamine-induced neurotoxicity and protective effects of interferon- $\gamma$ . 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,

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

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  
イカレインの保護効果. 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.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

CATH.a cells

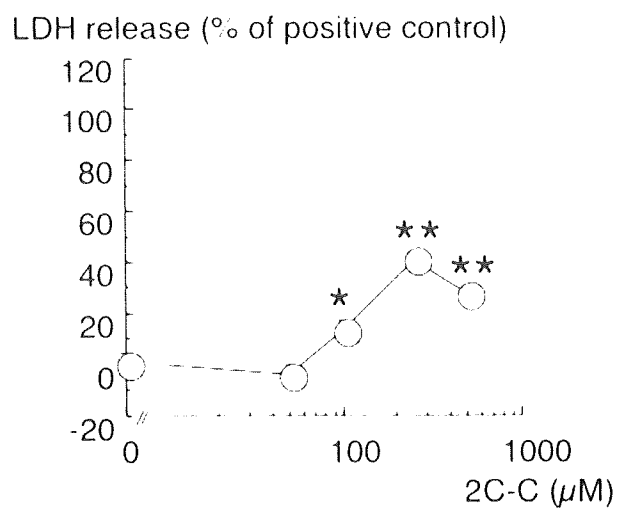


Fig. 1. Changes in released LDH from dopaminergic CATH.a cells after exposure to 2C-C for 24 hours. Each value mean  $\pm$  SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. \* $p < 0.001$  vs. control group without 2C-C.

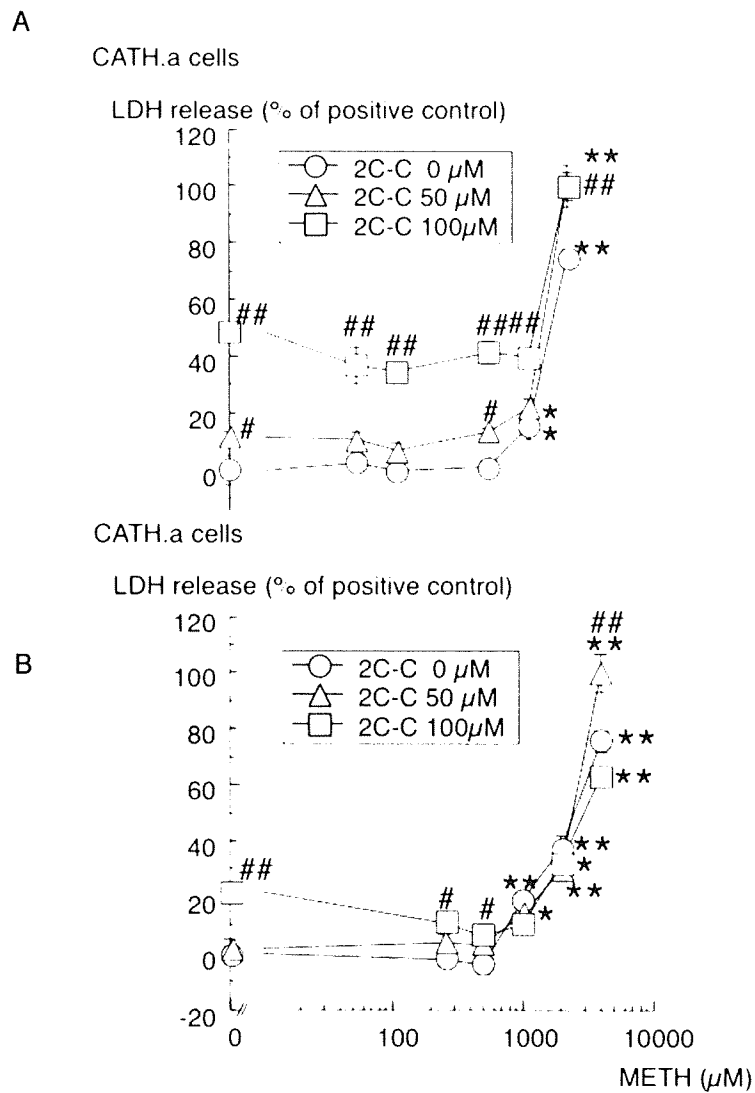
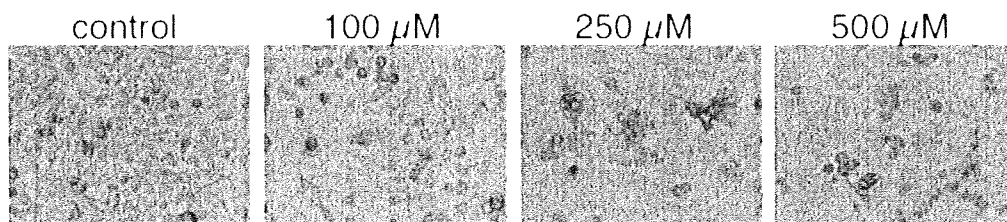


Fig. 2. Changes in released LDH from CATH.a cells after exposure to 2C-C+MDMA (A) or 2C-C+METH (B) for 24 hours. Each value mean  $\pm$  SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$  vs. each control group without MDMA or METH. ## $p < 0.001$  vs. MDMA/METH-dose-matched control group without 2C-C.

A



B

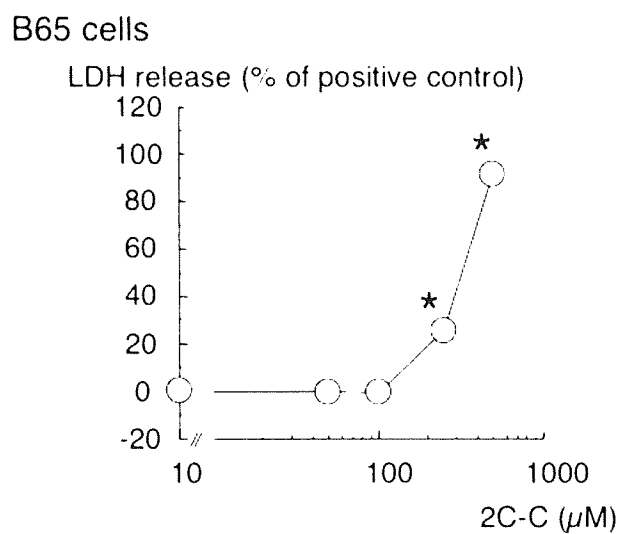


Fig. 3. Photographs of serotonergic B65 cells treated with 2C-C for 24 hours (A). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to 2C-C for 24 hours (B). Each value mean  $\pm$  SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. \* $p < 0.001$  vs. control group without 2C-C.

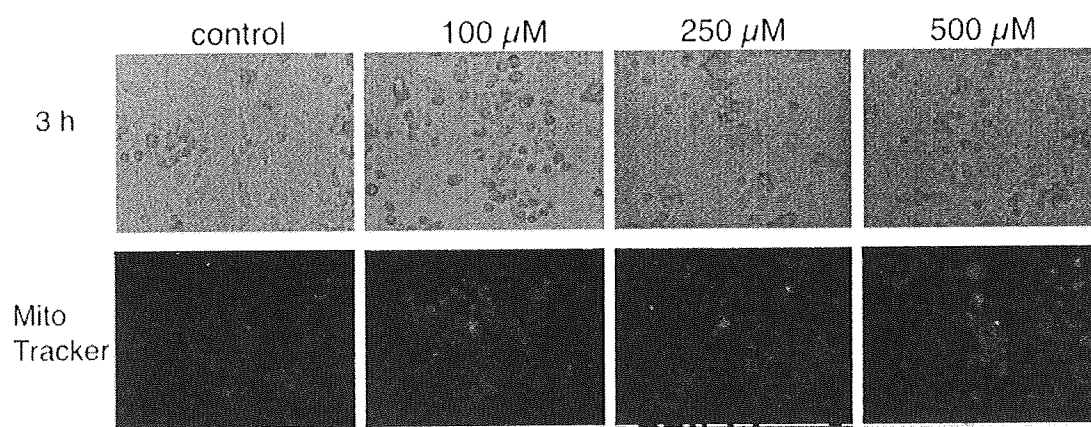


Fig. 4. Photographs and ROS formation in B65 cells exposed to 2C-C (final concentration: 0, 100  $\mu$ M, 250  $\mu$ M, 500  $\mu$ M) for 3 hours. Mitochondrial ROS formation was detected by MitoTracker (CM-H<sub>2</sub>XRos).

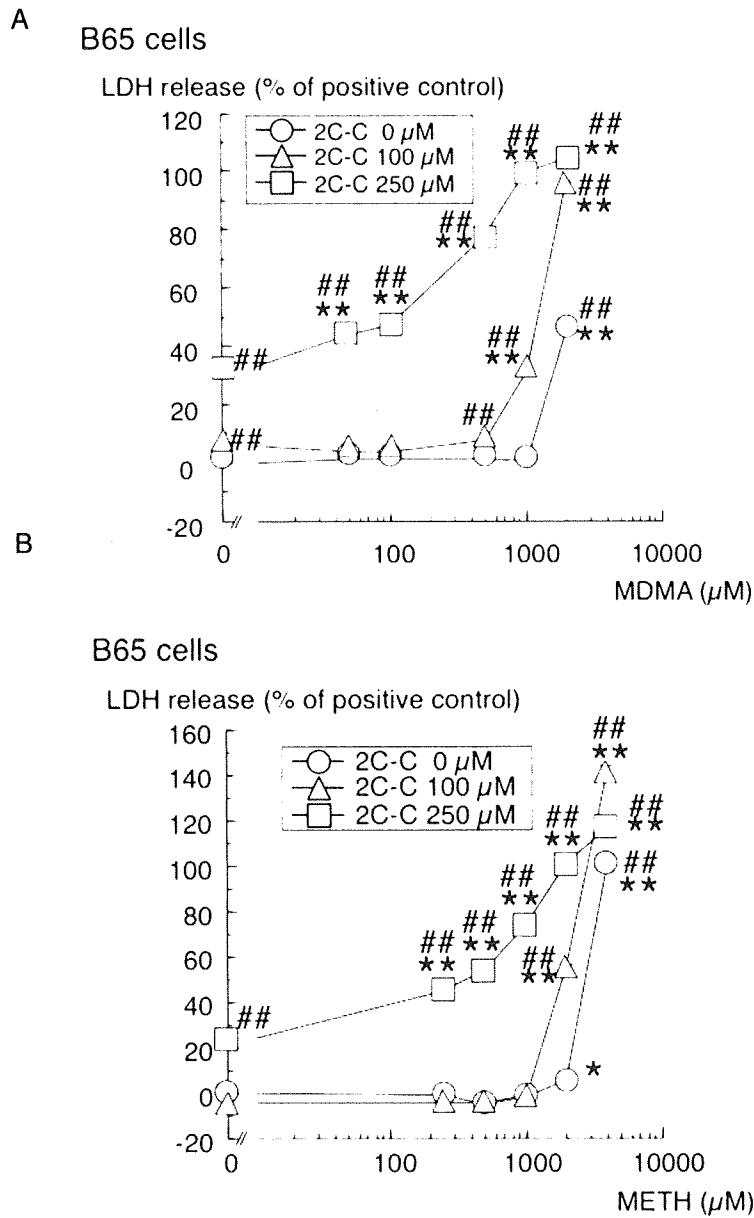


Fig. 5. Changes in released LDH from B65 cells after exposure to 2C-C+MDMA (A) or 2C-C+METH (B) for 24 hours. Each value mean  $\pm$  SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$  vs. each control group without MDMA or METH. ## $p < 0.001$  vs. MDMA/METH-dose-matched control group without 2C-C.

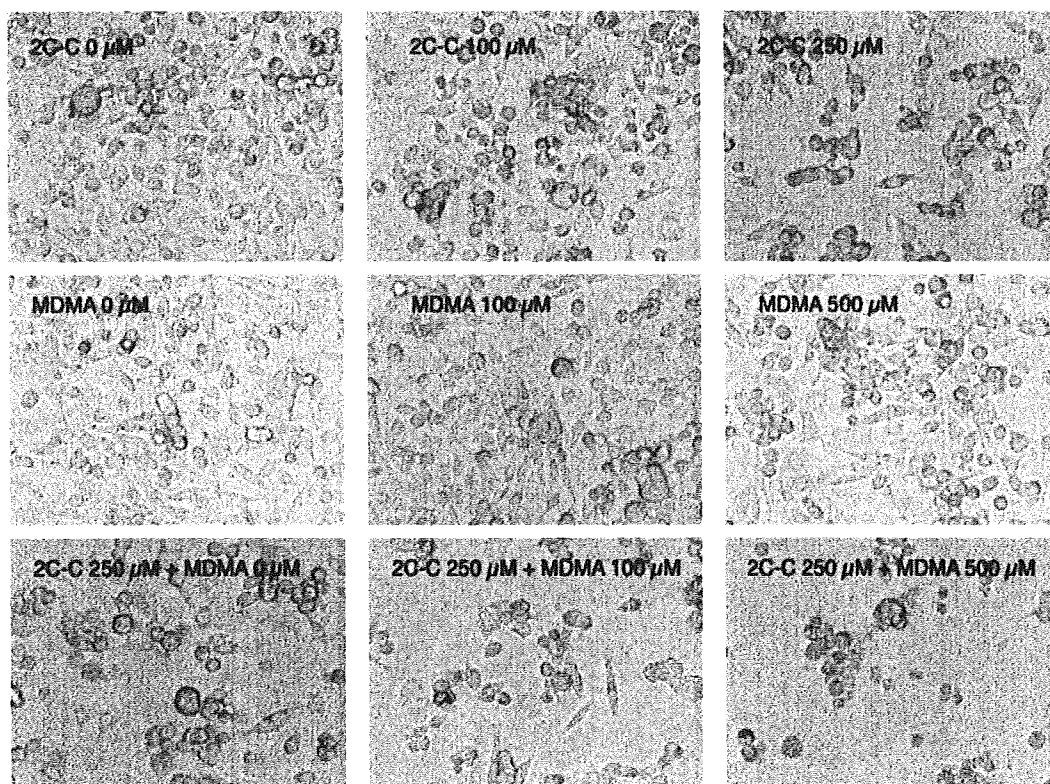


Fig. 6. Photographs of B65 cells treated with 2C-C and/or MDMA (final concentration: 0, 100  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$ ) for 24 hours.

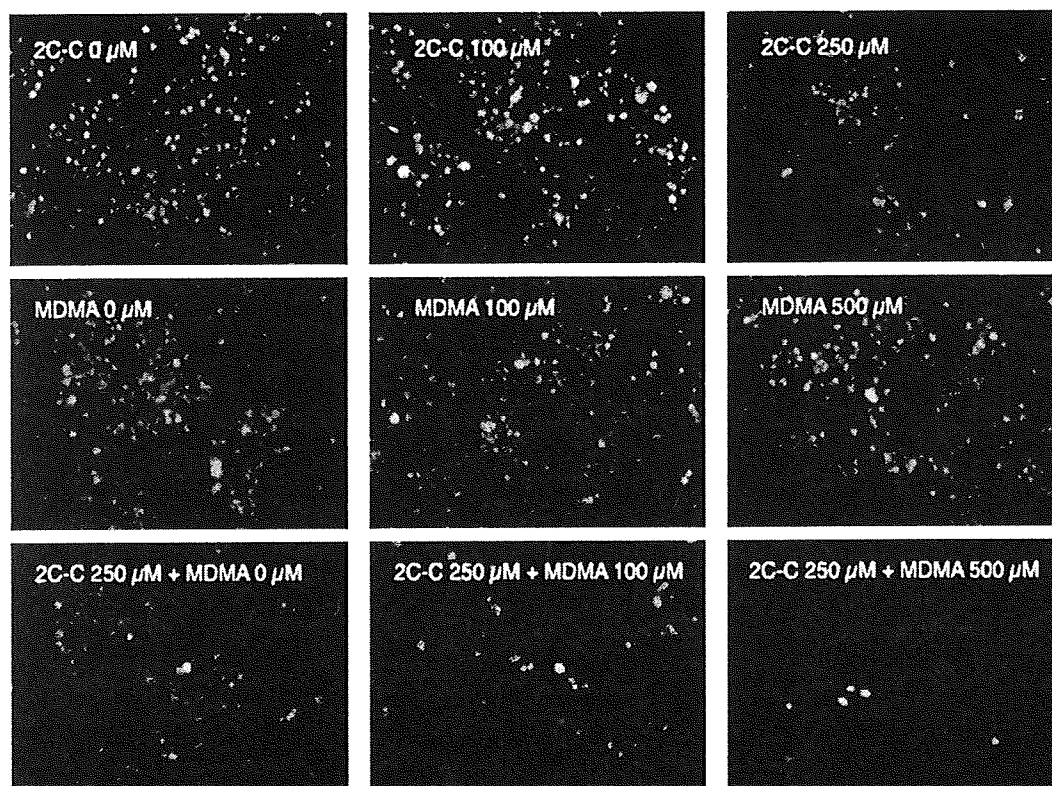


Fig. 7. Nuclear staining of B65 cells treated with 2C-C and/or MDMA (final concentration: 0, 100  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$ ) for 24 hours. Nuclei were visualized by incubation with Hoechst33342 dye.



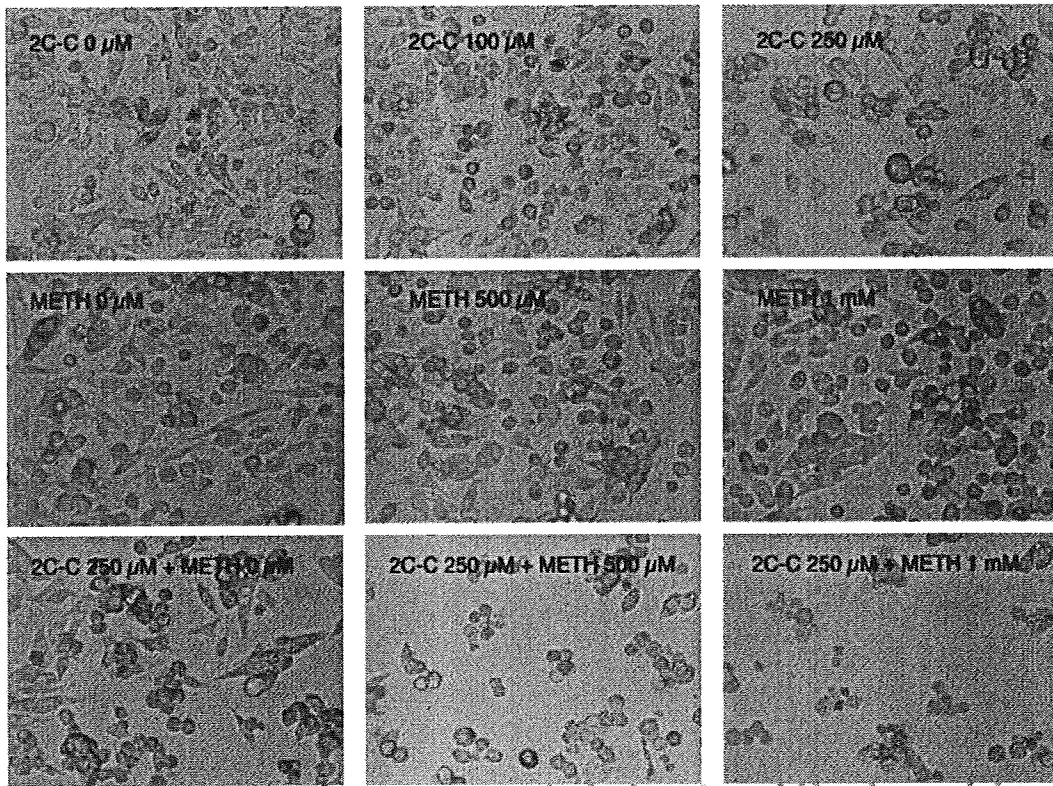


Fig.8. Photographs of B65 cells treated with 2C-C and/or METH (final concentration: 0, 500 μM, 1 mM) for 24 hours.

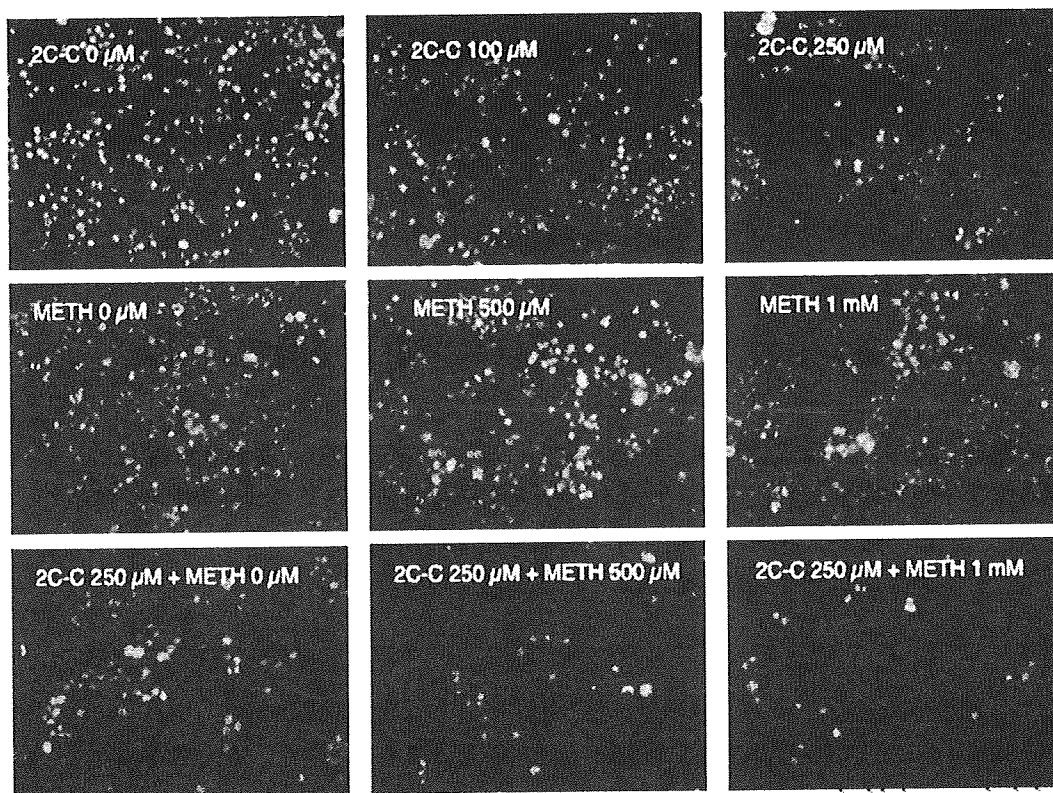


Fig. 9. Nuclear staining of B65 cells treated with 2C-C and/or METH (final concentration: 0, 500  $\mu$ M, 1 mM) for 24 hours. Nuclei were visualized by incubation with Hoechst33342 dye.

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  
(H21-医薬-一般-031)

分担研究報告書

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

研究分担者：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）

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

三島健一（福岡大学薬学部 臨床疾患薬理学教室）

藤原道弘（福岡大学薬学部 臨床疾患薬理学教室）

【研究要旨】

本研究では、大学生の違法ドラッグを含む薬物乱用実態の一端を把握するために、定点大学における新入生 382 名および 4 年生 250 名を対象に自記式質問紙調査を実施し、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。

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。

A. 研究目的

麻薬又は向精神薬には指定されておらず、それらと類似の有害性が疑われる物質であって、人に乱用させることを目的として販売等がされている違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）の乱用が若年層を中心に問題となっている<sup>1)</sup>。

筆者らは、平成 18-19 年にかけて大学生や高校生を対象とする定点調査（大学生 474 名：平成 18 年度、定時制高校生 247 名：平成 18 年度、全日制高校生 1094 名：平成 19

年度）により、違法ドラッグを含む薬物乱用の実態調査を行った<sup>2-4)</sup>。計 34 種類の薬物（指定薬物、麻薬指定済みの薬物が含まれる）についてその周知状況を尋ねたが、違法ドラッグの認知度は、ラッシュ（ニトライト）を除いて全般的に低く、乱用実態に関する有力な情報を得ることはできなかった。

これらの先行研究を踏まえると、青少年における違法ドラッグの乱用実態を把握するには、認知度の高い薬物に限定することが妥当と考えられる。そこで今年度は、平成 18 年から経年的に実態調査を行っている定点大学

をフィールドとして、比較的認知度の高い違法ドラッグに加え、従来から問題となっている覚せい剤等と合わせて、大学生における薬物乱用の実態を広く把握することを目的とした。

また若年層を中心として大麻取締法での検挙人員が増加傾向にあり、その背景としてインターネット等で入手した大麻種子による不正栽培の増加が危惧されている<sup>5-7)</sup>。実際には発芽能力のある大麻種子を「観賞目的」、「植物標本」などと称して販売している実態は違法ドラッグとの共通点も多い。

筆者らは、昨年度民間薬物依存リハビリテーションの入所者を対象に大麻種子の取り扱いに関する調査を行い、「観賞目的」のみで大麻種子を購入するケースはないことを報告した<sup>8-10)</sup>。しかし、大麻乱用の拡大が危惧されている青少年人口において大麻種子がどのような認識をされているかについては未だ不明である。そこで、大麻種子や大麻栽培に関する情報についての調査項目も追加した。

## B. 研究方法

### 1. 対象者

対象者は、A 大学の新生である。講義時間内に、調査に関するインフォームド・コンセントを書面および口頭で行い、同意の得られた学生に対して無記名自記式の質問紙調査を実施した。

新生向けの健康関連科目を履修した 389 名の学生を対象とした。これらの学生の所属学部は単一ではなく、理系・文系を問わず複数の学部生から構成される。計 386 名に対して質問紙調査を実施し (4 月)、このうち新生でなかった 3 名および、学年不明者 1 名を除き、計 382 名を分析対象とした。なお、A 大学における平成 21 年度新生は計 4507 名であり、分析対象者はこの約 8.5%にあたる。

なお、比較対照群として大学 4 年生にも同

様の調査を実施した。A 大学 4 年生 175 名、B 大学 4 年生 76 名の計 251 名に対して調査を行い (7 月)、1 名の白紙回答を除いた計 250 名 (A 大学 175 名、B 大学 75 名) を分析対象とした。なお、これらの学生は理系の単一学部である。

### 2. 倫理面への配慮

調査用紙には氏名など個人を特定する項目はないが、個人情報保護の観点から、以下の配慮を施した。なお、本研究は、国立精神・神経センター倫理審査委員会の承認を得た。

- ① 調査用紙には、個人情報を書く必要はないことやデータの管理方法などを明記する。
- ② 記載内容の秘密保持のために、調査用紙と共に「個人用封筒」を配布し、調査対象者は調査用紙に回答した後、用紙をその封筒に入れて封をした上で、回収用の大きな「教室回収用封筒」に投函する形式をとる。
- ③ 「個人用封筒」の配布・封印により、白紙等による事実上の拒否を保証している。
- ④ 「個人用封筒」は未開封のまま、国立精神・神経センターに郵送され、研究協力者の立ち会いの下で、開封作業を行う。よって、調査済みの調査用紙が外部に流出することはない。なお、開封作業の段階で、開封済の封筒があった場合には、無効回答とする。

### 3. 調査項目

薬物乱用は、9 種類の乱用薬物 (有機溶剤、大麻、覚せい剤、MDMA、コカイン、ガス、ラッシュ、向精神薬、リタリン) を採用した。このうち、違法ドラッグに該当するのは先行研究において比較的周知度が高かったラッシュ (ニトライト) のみである。しかし、人に乱用させることを目的として販売されているわけではないが、ガス (ブタンガス等) をラ