

201328017A

平成 25 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)

違法ドラッグの構造類似性に基づく有害性 評価法の確立と乱用実態把握に関する研究

課題番号：H24-医薬-一般-008

平成 25 年度 研究報告書

平成 26 年 3 月

研究代表者：船田正彦

目次

平成25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：H24-医薬-一般-008) 研究報告書

違法ドラッグの構造類似性に基づく有害性評価法の確立と 乱用実態把握に関する研究

I. 平成25年度 総括研究報告書		
船田正彦 (国立精神・神経医療研究センター)	-----	1
II. 平成25年度 分担研究報告書		
研究-1：カチノン系化合物の行動薬理学的特性と モノアミントランスポーターの関連性 船田正彦 (国立精神・神経医療研究センター)	-----	14
研究-2：コンピュータシミュレーションによる違法ドラッグの 有害性予測法に関する研究 栗原正明 (国立医薬品食品衛生研究所)	-----	23
研究-3：培養細胞を用いた覚せい剤類似化合物の新規検出システムの構築 富山健一 (国立精神・神経医療研究センター)	-----	29
研究-4：培養細胞を用いたカチノン系違法ドラッグの神経細胞毒性評価 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)	-----	35
研究-5：クラブイベント来場者における違法ドラッグの 乱用実態把握に関する研究 嶋根卓也 (国立精神・神経医療研究センター)	-----	58
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	71

総括研究報告書

違法ドラッグの構造類似性に基づく有害性評価法の確立と
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・神経医療研究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】

[研究-1：カチノン系化合物の行動薬理学的特性とモノアミントランスポーターの関連性]

違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）の流通拡大は深刻である。脱法ドラッグを含む製品としては、パウダー、リキッドおよびハーブの3タイプが主流であり、合成カンナビノイドやカチノン系化合物が検出されている。合成カンナビノイドやカチノン系化合物において、特定の化学物質が規制されるとその類似構造を有する別の化学物質が登場する悪循環が続いている。本研究では、カチノン系化合物の行動薬理作用発現におけるモノアミントランスポーターの役割について検討した。カチノン系化合物 16 種類について、行動薬理学的特性を解析した。

1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone (α -PVP)
1-(3-fluorophenyl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone (3F-PVP)
1-phenyl-2-(1-piperidinyl)-1-butanone (α -PBP)
1-(4-chlorophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)butan-1-one (4Cl-PBP)
1-(4-bromophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)butan-1-one (4Br-PBP)
1-(4-iodophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)butan-1-one (4I-PBP)
1-(4-fluorophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)butan-1-one (4F-PBP)
2-(methylamino)-1-phenyl-1-pentanone (Pentedrone)
2-(pyrrolidin-1-yl)-1-(p-tolyl)propan-1-one (4Me-PPP)
1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(methylamino)-1-butanone (Butylone)
2-(methylamino)-1-phenyl-1-butanone (Buphedrone)
2-(methylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-butanone (4Me-buphe)
2-(dimethylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-butanone (4MeMebup)
1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(dimethylamino)-1-propanone (bk-MDDMA)
1-(4-bromophenyl)-2-(methylamino)-1-propanone (4-BMC)
1-(4-fluorophenyl)-2-(methylamino)propan-1-one (4-FMC)

行動薬理学的解析：16 種類のカチノン系化合物による運動活性に対する影響を検討した。すべてのカチノン系化合物において、運動促進作用が発現した。カチノン系化合物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。カチノン系化合物による運動促進作用は、ドパミン受容体拮抗薬の前処置により抑制されることから、作用発現にはドパミン神経系が関与していることが確認された。カチノン系化合物：16種によって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。ドパミントランスポーター(DAT)およびセロトニントランスポーター(SERT)に関する定量的構造活性相関(QSAR)法解析[研究-2]による QSAR 値との相関性を検討したところ、DAT：相関係数 $r=0.883$ 、SERT：相関係数 $r=0.04$ であった。カチノン系化合物における運動促進作用の発現強度は、DAT の QSAR 値により推測可能である事が示唆された。

[研究-2：コンピュータシミュレーションによる違法ドラッグの有害性予測法に関する研究]

構造活性相関(QSAR)によるカチノン系化合物の活性予測を行った。カチノン系化合物 (図 1、図 2) において流通化合物等を考慮し、活性に重要な 3つの置換基 (R^1, R^2, R^3) を決め、そのバリエーションにより考えられる 504 化合物について QSAR 法によって DAT および SERT の活性予測を行った。QSAR 式は活性既知化合物より求めた。カチノン系化合物における運動促進作用の発現強度は、DAT の QSAR 値により推測可能である事が示唆された。

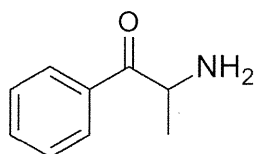


図 1：カチノン (Cathinone)

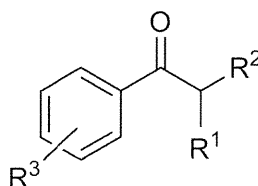


図 2：カチノン系化合物

[研究-3：培養細胞を用いた覚せい剤類似化合物の新規検出システムの構築]

カチノン系化合物は中枢興奮作用を有しており、その薬理機序は脳内神経伝達物質のドパミン、ノルエピネフリンそしてセロトニンの遊離促進および再取り込みの阻害であると考えられる。本研究では、カチノン系化合物の作用点であるドパミントランスポーター(DAT)、ノルエピネフリントランスポーター(NET)そしてセロトニントランスポーター(SERT)を安定的に発現する細胞株を作成し、生物学的応答をもとに薬理効果から薬物の種類を推測可能なスクリーニングシステム構築を試みた。マルチクローニングサイトに DAT、NET そして SERT 遺伝子を挿入したベクター-CMV6-Entry と Lipofectamine 2000 を用いて HEK-293 細胞にトランスフェクションを行った。その結果、DAT および SERT タンパク質を発現する安定細胞株を得ることができた。今後は、この細胞を用いて各モノアミントランスポーター機能の確認を進め、ラジオアイソトープを使用しない簡便で正確なスクリーニングシステムの構築を行う。また、これらモノアミントランスポーター発現細胞株を用いることで、今まで初代培養による神経細胞を用いた細胞毒性試験もより短時間で評価可能になると考えられる。

[研究-4：培養細胞を用いたカチノン系違法ドラッグの神経細胞毒性評価]

本研究では、fluoro 基を有するカチノン系違法ドラッグである 2-fluorocathinone (2-FCAT), 3-fluorocathinone (3-FCAT) および 4-fluorocathinone (4-FCAT) の神経細胞毒性について、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 細胞における細胞生存率、形態学的変化ならびに暴露早期におけるミトコンドリアでの活性酸素種生成について蛍光指示薬を用いて検討した。2-FCAT, 3-FCAT および 4-FCAT はドパミン系・セロトニン系両神経細胞に対してほとんど毒性を示さなかった。2-FCAT, 3-FCAT および 4-FCAT のいずれも、セロトニン含有神経

細胞に曝露した場合に、高濃度(1 mM)の3時間後においてのみ軽度のアポトーシス様形態変化が認められ、LDH 放出量に変化がなかったのに対して、蛍光指示薬による活性酸素種生成の検出法では形態変化をきたさない濃度(500 μ M)でのミトコンドリアでの活性酸素生成の亢進という細胞障害性を検出できた。以上の結果から、カチノン骨格はあまり強い神経毒性を呈さないが、カチノン類のベンゼン環の fluoro 基による修飾はさらにそのドパミン神経細胞毒性を低下させると考えられる。さらに、蛍光指示薬による活性酸素種生成の検出法は、形態変化がほとんどみられない比較的低濃度の違法ドラッグの曝露早期における神経細胞障害性を明らかにできることから、迅速かつ感度良く、しかも軽微な細胞障害性を評価できる方法として有用であると考えられた。

[研究-5：クラブイベント来場者における違法ドラッグの乱用実態把握に関する研究(2013)]

クラブイベント来場者における脱法ドラッグの使用パターン、および使用に伴う主観的症状を脱法ドラッグの形状別に検討することを目的に、東京都内で開催された計4回のクラブイベントの来場者を対象とする実態調査を実施した。ノートパソコンを用いた無記名自記式調査に355名が回答し(回収率60.6%)、このうち307名(平均年齢31歳、女性44%)より有効回答を得た(有効回答率86.5%)。主な知見は以下の通りである。1) 脱法ドラッグの生涯経験率は、ハーブ系22.8%、パウダー系7.2%、リキッド系3.3%であり、過去1年経験率は、ハーブ系13.0%、パウダー系1.6%、リキッド系1.0%であった。2) ハーブ系脱法ドラッグの生涯使用経験者の半数以上が過去1年以内にも使用していることから、1回~数回の機会的使用で終わるのではなく、薬物依存につながる反復使用となっている可能性が示唆される。3) パウダー系脱法ドラッグは、レクリエーション目的の、いわゆる「クラブドラッグ」として使われている可能性が示唆される。4) リキッド系脱法ドラッグは、性交時(あるいは性交前に使う)の「セックスドラッグ」として使われている可能性が示唆される。脱法ドラッグが「セックスドラッグ」として用いられる場合、コンドームを使わない無防備なセックスに結びつき、結果としてHIV感染をはじめとする性感染症や、望まない妊娠などのリスクを高める可能性がある。脱法ドラッグ対策は精神医学的対応のみならず、セクシュアルヘルスの観点からも充実させていくことが求められる。

本研究では、カチノン系化合物に関する包括指定に係る対象範囲の妥当性を検討した。包括指定の範囲としては、実効性の高い範囲を指定するために、DATおよびSERTに関する文献値及びQSAR(定量的構造活性相関)法による予測値を効果的に用いることでその範囲を検討した。DATに対するQSAR解析により、包括指定の範囲として総数504化合物を抽出した。包括指定範囲内のカチノン系化合物について行動解析を行った結果、中枢興奮作用を示す化合物である事が示唆され、包括指定範囲の妥当性が確認された。また、DAT、SERT発現細胞やモノアミン系培養神経細胞株と化学発光による細胞毒性評価、蛍光指示薬を用いての酸化ストレスの検出法は、低濃度の薬物暴露早期における細胞障害性を迅速かつ感度良く、定量的に評価できる方法として有用であることが確認された。脱法ドラッグに関する実態調査から、脱法ドラッグの生涯経験率は、ハーブ系21.7%、パウダー系7.2%、リキッド系4.3%であり、依然として脱法ハーブの乱用が拡大していることが示唆された。

本研究のカチノン系化合物に対する作用強度を解析する評価システムは、違法ドラッグの中枢作用および有害作用発現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。脱法ハーブを筆頭に、いわゆる脱法ドラッグの乱用拡大は依然として深刻な状況であり、乱用防止のため一層の啓発が必要であろう。

分担研究者：船田正彦
国立精神・神経医療研究センター
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：栗原正明
国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部 部長

分担研究者：富山健一
放射線医学総合研究所
緊急被ばく医療研究センター
博士研究員

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：嶋根卓也
国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所薬物依存研究部
心理社会研究室長

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。

最近の問題としては、平成 24 年 1 月以降表面化した「脱法ハーブ」と称される製品の流通拡大である。その乱用による健康被害が多数発生し、救急搬送される事例が増大した。脱法ハーブは乾燥した植物片に精神作用を示す薬物が混ぜ込まれており、この混在する薬物を乱用しているのが現状である。現在のところ、検出される化学物質の多くは、合成カンナビノイドである事が判明している。世界的には、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。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。

現在までに、ドイツや日本において、スパ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-hydroxycyclohexyl)phenol (CP-47,497-C8)、(1-pentyl-1H-indol-3-yl)-1-naphthalenyl-methanone (JWH-018)、(1-butyl-1H-indol-3-yl)-1-naphthalenyl-methanone (JWH-

073)、(4-methyl-1-naphthalenyl) (1-pentyl-1H-indol-3-yl)-methanone (JWH-122)、2-(2-chlorophenyl)-1-(1-pentyl-1H-indol-3-yl)-ethanone (JWH-203)、(4-ethyl-1-naphthalenyl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl)-methanone (JWH-210)、[1-(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl]-1-naphthalenyl-methanone (AM-2201)、[1-(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl] (4-methyl-1-naphthalenyl)-methanone (MAM-2201)、2-(4-methoxyphenyl)-1-(1-pentyl-indol-3-yl)methanone (RCS-4)などが検出されている。この合成カンナビノイドは多くの類縁体の存在が知られており、特定の薬物を規制しても、次々に新しい薬物が登場する状況が続いていた。こうした状況を打破するために、平成25年2月より、合成カンナビノイドの構造に着目し、類似したものを一括で規制するいわゆる「包括規制」が導入された。

一方、脱法パウダーや脱法リキッドなどの流通も深刻であり、こうした製品では覚せい剤と類似の効果を示すカチノン系化合物が検出される場合が多い。カチノン系化合物もその種類は多いため、包括規制を実施する必要がある。カチノン系化合物はドパミントランスポーター(DAT)およびセロトニントランスポーター(SERT)を介して、様々な薬理作用を示す事が知られている。DATやSERTに対する作用強度と薬理作用発現の強度には相関があると考えられる。

本研究では、カチノン系化合物の行動薬理作用発現におけるDATおよびSERTの役割について検討した。量的構造活性相関(QSAR)解析による予測値と中枢興奮作用の発現強度の相関性を検討し、カチノン系化合物における包括規制の範囲の妥当性について検証した。

一方、カチノン系化合物に加え、合成カンナビノイド、セロトニン系化合物といった脱法ドラッグが数多く流通している。各系統の脱法ドラッグに着目し、迅速に毒性発現等の有害作用を検出する評価システムの構築が重要である。現在までの研究から、培養細胞を利用する毒性評価は迅速かつ客観的な解析法として有用であると考えられる。本研究では、

モノアミン系樹立安定株細胞および初代培養神経細胞を利用した毒性評価を行い、脱法ドラッグによる細胞毒性評価のシステム構築並びに構図活性相関について検討した。

一方、脱法ドラッグの取締りにおいては、強化が進んでいる。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、脱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。脱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、脱法ドラッグとして流通拡大が懸念されるカチノン系化合物の包括指定導入を目指し、DATおよびSERTに対する親和性と機能調節を指標に、QSAR(定量的構造活性相関)法による指定範囲の設定を行った。同様に、脱法ドラッグの有害作用を明確にする目的で、培養細胞を利用した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、脱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、クラブユーザーを対象に、脱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. 各研究の目的、方法、結果

[研究-1: カチノン系化合物の行動薬理学的特性とモノアミントランスポーターの関連性]

船田正彦

国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所 薬物依存研究部
依存性薬物研究室長

本研究では、16種類のカチノン系化合物による運動活性に対する影響を検討した。すべてのカチノン系化合物において、運動促進作

用が発現した。カチノン系化合物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。カチノン系化合物による運動促進作用は、ドパミン受容体拮抗薬の前処置により抑制されることから、作用発現にはドパミン神経系が関与していることが確認された。カチノン系化合物:16 種によって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。ドパミントランスポーター (DAT) およびセロトニントランスポーター (SERT) に関する定量的構造活性相関 (QSAR) 法解析[研究-2]による QSAR 値との相関性を検討したところ、DAT: 相関係数 $r=0.883$ 、SERT: 相関係数 $r=0.04$ であった。カチノン系化合物における運動促進作用の発現強度は、DAT の QSAR 値により推測可能である事が示唆された。

[研究-2: コンピュータシミュレーションによる違法ドラッグの有害性予測法に関する研究]

栗原正明
国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部 部長

カチノン系化合物に関する包括指定の対象範囲の妥当性を検討した。包括指定の範囲としては、実効性の高い範囲を指定するために、文献値及び QSAR (定量的構造活性相関) 法による予測値を効果的に用いることでその範囲を検討した。DAT および SERT に対する親和性強度に関する解析より、包括指定の範囲として総数 504 化合物を抽出した。

[研究-3: 培養細胞を用いた覚せい剤類似化合物の新規検出システムの構築]

富山健一
放射線医学総合研究所
緊急被ばく医療研究センター
博士研究員

カチノン系化合物は中枢興奮作用を有しており、その薬理機序は脳内神経伝達物質のドパミン、ノルエピネフリンそしてセロトニンの遊離促進および再取り込みの阻害であると考えられる。本研究では、カチノン系化合物の作用点であるドパミントランスポーター (DAT)、ノルエピネフリントランスポーター (NET) そしてセロトニントランスポーター (SERT) を安定的に発現する細胞株を作成し、生物学的応答をもとに薬理効果から薬物の種類を推測可能なスクリーニングシステム構築を試みた。マルチクローニングサイトに DAT、NET そして SERT 遺伝子を挿入したベクター CMV6-Entry と Lipofectamine 2000 を用いて HEK-293 細胞にトランスフェクションを行った。その結果、DAT および SERT タンパク質を発現する安定細胞株を得ることができた。今後は、この細胞を用いて各モノアミントランスポーター機能の確認を進め、ラジオアイソトープを使用しない簡便で正確なスクリーニングシステムの構築を行う。また、これらモノアミントランスポーター発現細胞株を用いることで、今まで初代培養による神経細胞を用いた細胞毒性試験もより短時間で評価可能になると考えられる。

[研究-4: 培養細胞を用いたカチノン系違法ドラッグの神経細胞毒性評価]

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

本研究では、fluoro 基を有するカチノン系違法ドラッグである 2-fluorocathinone (2-FCAT), 3-fluorocathinone (3-FCAT) および 4-fluorocathinone (4-FCAT) の神経細胞毒性について、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 細胞における細胞生存率、形態学的変化ならびに暴露早期におけるミトコンドリア

での活性酸素種生成について蛍光指示薬を用いて検討した。2-FCAT, 3-FCAT および 4-FCAT はドパミン系・セロトニン系両神経細胞に対してもほとんど毒性を示さなかった。2-FCAT, 3-FCAT および 4-FCAT のいずれも、セロトニン含有神経細胞に曝露した場合に、高濃度(1 mM)の3時間後においてのみ軽度のアポトーシス様形態変化が認められ、LDH 放出量に変化がなかったのに対して、蛍光指示薬による活性酸素種生成の検出法では形態変化をきたさない濃度(500 μ M)でのミトコンドリアでの活性酸素生成の亢進という細胞障害性を検出できた。以上の結果から、カチノン骨格はあまり強い神経毒性を呈さないが、カチノン類のベンゼン環の fluoro 基による修飾はさらにそのドパミン神経細胞毒性を低下させると考えられる。さらに、蛍光指示薬による活性酸素種生成の検出法は、形態変化がほとんどみられない比較的低濃度の違法ドラッグの曝露早期における神経細胞障害性を明らかにできることから、迅速かつ感度良く、しかも軽微な細胞障害性を評価できる方法として有用であると考えられた。

[研究-5: クラブイベント来場者における違法ドラッグの乱用実態把握に関する研究]

嶋根卓也

国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所薬物依存研究部
心理社会研究室長

クラブイベント来場者における脱法ドラッグの使用パターン、および使用に伴う主観的症状を脱法ドラッグの形状別に検討することを目的に、東京都内で開催された計4回のクラブイベントの来場者を対象とする実態調査を実施した。ノートパソコンを用いた無記名自記式調査に355名が回答し(回収率60.6%)、このうち307名(平均年齢31歳、女性44%)より有効回答を得た(有効回答率86.5%)。主な知見は以下の通りである。1) 脱法ドラッグの生涯経験率は、ハーブ系22.8%、パウダー

系7.2%、リキッド系3.3%であり、過去1年経験率は、ハーブ系13.0%、パウダー系1.6%、リキッド系1.0%であった。2) ハーブ系脱法ドラッグの生涯使用経験者の半数以上が過去1年以内にも使用していることから、1回~数回の機会的使用で終わるのではなく、薬物依存につながる反復使用となっている可能性が示唆される。3) パウダー系脱法ドラッグは、レクリエーション目的の、いわゆる「クラブドラッグ」として使われている可能性が示唆される。4) リキッド系脱法ドラッグは、性交時(あるいは性交前に使う)の「セックスドラッグ」として使われている可能性が示唆される。脱法ドラッグが「セックスドラッグ」として用いられる場合、コンドームを使わない無防備なセックスに結びつき、結果としてHIV感染をはじめとする性感染症や、望まない妊娠などのリスクを高める可能性がある。脱法ドラッグ対策は精神医学的対応のみならず、セクシュアルヘルスの観点からも充実させていくことが求められる。

C. 考察

1. カチノン系化合物の行動薬理学的特性とモノアミントランスポーターの関連性

本研究では、16種類のカチノン系化合物の行動薬理学的特性に関する解析を行った。すべてのカチノン系化合物において、運動促進作用が発現し、中枢興奮作用を示す事が明らかになった。カチノン系化合物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。カチノン系化合物による運動促進作用は、ドパミン受容体拮抗薬の前処置により抑制されることから、作用発現にはドパミン神経系が関与していることが確認された。ドパミントランスポーター(DAT)およびセロトニントランスポーター(SERT)に関する定量的構造活性相関(QSAR)法解析[研究-2]による

QSAR 値との相関性を検討したところ、DAT:相関係数 $r=0.883$ 、SERT:相関係数 $r=0.04$ であった。カチノン系化合物における運動促進作用の発現強度は、DATのQSAR値により推測可能である事が示唆された。本研究のカチノン系化合物のDATおよびSERTに対する作用強度を解析する評価システムは、違法ドラッグの中枢作用発現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「包括指定」等の規制根拠として活用できると考えられる。

2.カチノン系化合物に関するQSAR解析

カチノン系化合物に関する包括指定の対象範囲の妥当性を検討した。包括指定の範囲としては、実効性の高い範囲を指定するために、文献値及びQSAR（定量的構造活性相関）法による予測値を効果的に用いることでその範囲を検討した。DATに対する親和性強度に関する解析より、包括指定の範囲として総数504化合物を抽出した。指定範囲内に属するカチノン系化合物の評価を行ったところ、中枢興奮作用の発現が確認され[研究1]、包括指定の範囲としての妥当性が明らかになった。本研究から、包括指定の範囲を検討する上で、ターゲットになる受容体に対する親和性や細胞内情報伝達機構の調整強度などの文献値及びQSAR（定量的構造活性相関）法による予測値を効果的に用いることでその範囲を推定することが可能であると考えられる。

3. 培養細胞を用いた覚せい剤類似化合物の新規検出システム

カチノン系化合物の作用点であるモノアミントランスポーターを安定発現する培養細胞株の樹立を試みた。本研究では、クローニングサイトにSLC6A3 (DAT)、ELK3 (NET)およびSLC6A4 (SERT)の遺伝子を導入したベクターCMV6-EntryとLipofectamine 2000を用いて、HEK-293細胞にトランスフェクションを行った。その結果、DATおよびSERTを安定発現するHEK-293細胞株を得ることができた。

今後は、各トランスポーターの機能評価を行うために、トリチウムラベルをしたドパミン、ノルエピネフリンそしてセロトニンを用いて再取り込み阻害作用を検討し、トランスポーターの働きを確認する。その後機能が正常に働く細胞株の中からより均一な細胞集団を得るためのクローニングを行う予定である。

4. 培養細胞を用いた脱法ドラッグの神経細胞毒性評価と構造相関

最近乱用が問題視されている fluoro 基を有するカチノン系違法ドラッグである 2-FCAT、3-FCAT および 4-FCAT のドパミン系培養神経細胞とセロトニン含有培養神経細胞における細胞生存率、形態学的変化を ethcathinone と比較して検討した。また、暴露早期におけるミトコンドリアでの活性酸素種生成についても検討した。ethcathinone がドパミン系神経細胞に対して中等度の神経細胞毒性を有するのに対して、2-FCAT、3-FCAT および 4-FCAT はドパミン系・セロトニン系両神経細胞に対してもほとんど毒性を示さなかった。カチノン骨格はあまり強い神経毒性を呈さないが、カチノン類のベンゼン環の fluoro 基による修飾はさらにそのドパミン神経細胞毒性を低下させると考えられる。さらに、これまでに行ってきた一連の蛍光指示薬による活性酸素種生成の検出法は、形態変化がほとんどみられない比較的低濃度の違法ドラッグの曝露早期における神経細胞障害性を明らかにできることから、迅速かつ感度良く、しかも軽微な細胞障害性を評価できる方法として有用であると考えられた。

5. クラブイベント来場者における違法ドラッグの乱用実態把握に関する研究

1. 脱法ドラッグの生涯経験率は、ハーブ系 22.8%、パウダー系 7.2%、リキッド系 3.3%であり、過去1年経験率は、ハーブ系 13.0%、パウダー系 1.6%、リキッド系 1.0%であった。
2. ハーブ系脱法ドラッグの生涯使用経験者の半数以上が過去1年以内にも使用している

ことから、1回～数回の機会的使用で終わるのではなく、薬物依存につながる反復使用となっている可能性が示唆される。

3. パウダー系脱法ドラッグの使用場所（車内、クラブ内）や使用パターン（仲間との使用、パーティーやクラブイベント等でたくさんの人との使用）などの特徴を踏まえると、パウダー系脱法ドラッグは、レクリエーション目的の、いわゆる「クラブドラッグ」として使われている可能性が示唆される。

4. リキッド系脱法ドラッグの使用場所（車内、ホテル・ラブホテル）や、使用パターン（単独使用、恋人・パートナーと）などの特徴を踏まえると、リキッド系脱法ドラッグは、性交時（あるいは性交前に使う）の「セックスドラッグ」として使われている可能性が示唆される。

5. 脱法ドラッグが「セックスドラッグ」として用いられる場合、コンドームを使わない無防備なセックスに結びつき、結果としてHIV感染をはじめとする性感染症や、望まない妊娠などのリスクを高める可能性がある。脱法ドラッグ対策は精神医学的対応のみならず、セクシュアルヘルスの観点からも充実させていくことが求められる。

D. 結論

本研究では、カチノン系化合物に関する包括指定の対象範囲の妥当性を検討した。包括指定の範囲としては、実効性の高い範囲を指定するために、文献値及びQSAR（定量的構造活性相関）法による予測値を効果的に用いることでその範囲を検討した。ドパミントランスポーター（DAT）に対する親和性強度に関する解析より、包括指定の範囲として総数504化合物を抽出した。包括指定範囲内のカチノン系化合物について行動薬理的解析により、範囲内のカチノン系化合物は中枢興奮作用を発現する危険性が示唆され、包括指定範囲の妥当性が確認された。また、DATおよ

びSERT発現細胞およびモノアミン系培養神経細胞株と化学発光による細胞毒性評価、蛍光指示薬を用いての酸化ストレスの検出法は、低濃度の薬物暴露による早期の細胞障害性を迅速かつ感度良く、定量的に評価できる方法として有用であることが確認された。脱法ドラッグに関する実態調査から、脱法ドラッグの生涯経験率は、ハーブ系22.8%、パウダー系7.2%、リキッド系3.3%であり、依然として脱法ハーブの乱用が深刻であることが示唆された。

本研究のモノアミントランスポーターに対する作用強度を解析する評価システムは、違法ドラッグの中枢作用および有害作用発現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。脱法ハーブを筆頭に、いわゆる脱法ドラッグの乱用拡大は依然として深刻な状況であり、乱用防止のため一層の啓発が必要であろう。

E. 健康危険情報

本研究は、違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)の中枢作用、毒性および乱用実態把握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) Tomiyama, K., Funada, M : Cytotoxicity of synthetic cannabinoids on primary neuronal cells of the forebrain: the involvement of cannabinoid CB1 receptors and apoptotic cell death. *Toxicol Appl Pharmacol.* 274:17-23. 2013.
- 2) 栗原正明：コンピュータシミュレーションによる違法ドラッグの活性予測. *YAKUGAKU ZASSHI*, 133, 13-16 (2013).
- 3) Demizu, S. Nagoya, M. Shirakawa, M. Kawamura, N. Yamagata, Y. Sato, M. Doi,

- M. Kurihara: Development of stapled short helical peptides capable of inhibiting vitamin D receptor (VDR)-coactivator interactions. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 23, 4292-4296 (2013).
- 4) N. Sakakibara, T. Hamasaki, M. Baba, Y. Demizu, M. Kurihara, K. Irie, M. Iwai, E. Asada, Y. Kato, T. Maruyama; Synthesis and evaluation of novel 3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil analogs as potential anti-HIV-1 agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 21, 5900-5906 (2013).
 - 5) Okuhira, K.; Demizu, Y.; Hattori, T.; Ohoka, N.; Shibata, N.; Nishimaki-Mogami, T.; Okuda, H.; Kurihara, M.; Naito, M.; Development of small molecules that induce degradation of estrogen receptor-alpha and necrosis in breast cancer cells. *Cancer Science*, 104, 1492-1498 (2013).
 - 6) T. Shoda, K. Okuhira, M. Kato, Y. Demizu, H. Inoue, M. Naito, M. Kurihara: Design and synthesis of tamoxifen derivatives as a selective estrogen receptor down-regulator. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 24, 87-89 (2014).
 - 7) Sogawa, N., Hirai, K., Sogawa, C., Ohyama, K., Miyazaki, I., Tsukamoto, G., Asanuma, M., Sasaki, A., Kitayama, S.: Protective effect of cepharanthin on cisplatin-induced renal toxicity through metallothionein expression. *Life Sci.*, 92: 727-732, 2013.
 - 8) Kuwatsuka, K., Hayashi, H., Onoue, Y., Miyazaki, I., Koyama, T., Asanuma, M., Kitamura, Y. and Sendo, T.: The mechanisms of electroconvulsive stimuli in BrdU-positive cells of the dentate gyrus in ACTH-treated rats. *J. Pharmacol. Sci.*, 122: 34-41, 2013.
 - 9) Asanuma, M., Miyazaki, I., Diaz-Corrales, F.J., Higashi, Y., Namba, M. and Ogawa, N.: Transplantation of melanocytes obtained from the skin ameliorates apomorphine-induced abnormal behavior in rodent hemi-parkinsonian models. *PLoS ONE*, 8(6): e65983, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0065983
 - 10) Miyazaki, I., Asanuma, M., Murakami, S., Takeshima, M., Torigoe, N., Kitamura, Y. and Miyoshi, K.: Targeting 5-HT1A receptors in astrocytes to protect dopaminergic neurons in parkinsonian models. *Neurobiol. Dis.*, 59: 244-256, 2013.
 - 11) Tachibana, H., Ogawa, D., Sogawa, N., Asanuma, M., Miyazaki, I., Terami, N., Hatanaka, T., Horiguchi, C.S., Nakatsuka, A., Eguchi, J., Wada, J., Yamada, H., Takei, K. and Makino, H.: Metallothionein deficiency exacerbates diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic mice. *Am. J. Physiol.-Renal Physiol.*, 306(1):F105-115, 2014.
 - 12) Onoue, Y., Kuwatsuka, K., Miyazaki, I., Asanuma, M., Kitamura, Y. and Sendo, T.: Effects of bupropion and pramipexole on cell proliferation in the hippocampus of adrenocorticotrophic hormone-treated rats. *Biol. Pharm. Bull.*, 37: 327-330, 2014.
 - 13) 喜多大三, 浅沼幹人, 宮崎育子, 竹島美香: お茶の旨味成分テアニンの培養アストログリア細胞における細胞保護効果. 九州栄養福祉大学研究紀要, 10: 179-191, 2013.
 - 14) 浅沼幹人, 宮崎育子: アストロサイトと Parkinson 病治療. *神経内科*, 79 (2): 257-261, 2013.
 - 15) Wada, K., Funada, M., Matsumoto, T., Shimane, T.: Current status of substance abuse and HIV infection in Japan. *Journal of Food and Drug Analysis*, 21(4):33-36, 2013.
 - 16) 嶋根卓也, 日高庸晴. 薬物使用障害と性的マイノリティ, HIV. 物質使用障害とアデクション臨床ハンドブック. *精神科治療学*. 28 : 289-293. 2013.
 - 17) 嶋根卓也. ゲートキーパーとしての薬剤師, 医薬品の薬物乱用・依存への対応. *YAKUGAKUZASSHI*. 133:617-630. 2013.

- 18) 嶋根卓也. 薬剤師からみた くすり漬け問題, くすりにたよらない精神医学 (井原裕、松本俊彦=編). 日本評論社. 35-39, 2013.
- 19) 嶋根卓也, 日高庸晴. 性的マイノリティと薬物乱用・依存の関係. 依存と嗜癖—どう理解し、どう対処するか— (和田清=編). 医学書院. 115-126, 2013.
- 20) 嶋根卓也. 一般用医薬品のインターネット販売解禁が及ぼす乱用・依存症の危険性. 大阪保険医雑誌. 41 : 13-16, 2013.
- 21) 嶋根卓也. ゲートキーパーとしての薬剤師, うつ病パーフェクトガイド. 「調剤と情報」 19 : 36-37, 2013.
- 22) 嶋根卓也. 薬剤師から見た「処方薬を適切に使えない患者たち」, うつ病パーフェクトガイド. 「調剤と情報」 19 : 126-130, 2013.
- 23) 嶋根卓也. 脱法ドラッグを使う若者たち. 東京都こころの健康だより 107 : 6, 2013.
2. 学会発表
- 1) 船田正彦、富山健一、和田清、脱法ドラッグに含まれる合成カンナビノイドの神経細胞毒性、平成 25 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会、岡山コンベンションセンター、10 月 5 日・2013 年.
- 2) M. Funada, K. Tomiyama, K. Wada, Role of dopamine system on the expression of behavioral and cytotoxicological properties of MDPV in mice. 75th Annual Meeting - College on Problems of Drug Dependence. June 15-20, 2013, San Diego, CA, USA.
- 3) 栗原 正明 : コンピュータシミュレーションによる違法ドラッグの活性予測 日本薬学会第 132 年会 (2012/03/29-31, 札幌)
- 4) 宮崎育子, 村上真樹, 竹島美香, 鳥越菜央, 三好 耕, 北村佳久, 浅沼幹人 : 5-HT1A アゴニスト 8-OH-DPAT による神経保護効果はアストロサイトを標的とする. 第 86 回日本薬理学会年会, 福岡, 2013.3.21.
- 5) 鳥越菜央, 宮崎育子, 村上真樹, 小山敏広, 北村佳久, 浅沼幹人 : アストロサイトの部位特異的プロファイリングと、その抗酸化防御機構を標的とした神経保護. 第 86 回日本薬理学会年会, 福岡, 2013.3.21.
- 6) 北村佳久, 服部紗代, 三宅彩香, 小山敏広, 宮崎育子, 浅沼幹人 : ドキソルビシンおよびシクロホスファミド投与ラットにおける精神機能変化および病態機序解明. 第 86 回日本薬理学会年会, 福岡, 2013.3.21.
- 7) 三宅彩香, 北村佳久, 服部紗代, 小山敏広, 宮崎育子, 浅沼幹人, 千堂年昭 : ACTH 反復投与ラットにおける 5-HT1A 受容体アゴニストの抗うつ効果および海馬神経新生に与える影響. 第 86 回日本薬理学会年会, 福岡, 2013.3.21.
- 8) 村上真樹, 宮崎育子, 鳥越菜央, 十川紀夫, 浅沼幹人 : 中枢および末梢神経系におけるロテノンによる神経変性に対するメタロチオネインの関与. 第 86 回日本薬理学会年会, 福岡, 2013.3.23.
- 9) 宮崎育子, 村上真樹, 竹島美香, 三好 耕, 浅沼幹人 : セロトニン 1A アゴニストによるアストロサイトを標的としたドパミン神経保護. 第 54 回日本神経学会学術大会, 東京, 2013.5.29.
- 10) 宮崎育子, 村上真樹, 竹島美香, 鳥越菜央, 三好 耕, 北村佳久, 浅沼幹人 : セロトニン 1A アゴニストによる神経-アストロサイト連関の修飾. 第 36 回日本神経科学大会・第 56 回日本神経化学学会大会・第 23 回日本神経回路学会大会合同大会, 京都, 2013.6.22.
- 11) 村上真樹, 宮崎育子, 十川紀夫, 浅沼幹人 : ロテノン神経毒性に対する中枢および末梢神経系のニューロンとグリアの変化とメタロチオネインの関与. 第 36 回日本神経科学大会 第 56 回日本神経化学学会大会・第 23 回日本神経回路学会大会合同大会, 京都, 2013.6.22.
- 12) 三好 耕, 笠原恭輔, 村上真樹, 宮崎育子, 黒田啓介, 貝淵弘三, 片山泰一, 浅沼幹人 :

- Mice carrying a 25-base-pair deletion in exon 6 of the *Disc1* gene lack the *Disc1* protein. 第11回世界生物学的精神医学会国際会議 (WFSBP2013KYOTO)・第35回日本生物学的精神医学会合同大会, 京都, 2013.6.23.
- 13) Asanuma, M. and Miyazaki, I: Astrocytes in the striatum act as a reservoir of L-DOPA but less convert to dopamine. XI European Meeting on Glial Cells in Health and Disease, Berlin, 2013.7.3-4.
- 14) Miyazaki, I., Murakami, S., Takeshima, M, and Asanuma, M.: Neuroprotective effects of serotonin1A agonist target astrocytes. XI European Meeting on Glial Cells in Health and Disease, Berlin, 2013.7.5-6.
- 15) 米田紗緒里, 服部紗代, 中村絃子, 渡邊沙織, 村上真樹, 宮崎育子, 浅沼幹人, 北村佳久, 千堂年昭: 抗がん剤投与動物における精神機能および神経新生に関する検討. 第24回霧島神経薬理フォーラム, 鹿児島, 2013.8.18.
- 16) 北村佳久, 服部紗代, 米田紗緒里, 三宅彩香, 小山敏広, 宮崎育子, 浅沼幹人, 千堂年昭: ラットの行動変化から推察する抗がん剤投与による精神機能変化—ドキシソルピシンおよびシクロホスファミド投与による影響—. 第26回日本サイコオンコロジー学会, 大阪, 2013.9.20-21.
- 17) 浅沼幹人, 宮崎育子: 創薬標的としてのアストロサイトのメタロチオネイン. メタルバイオサイエンス研究会 2013, シンポジウム I: メタロチオネイン研究の新展開—メタロチオネインと疾患、創薬を探る(1), 静岡, 2013.9.26.
- 18) 三好 耕, 松崎伸介, 宮崎育子, 浅沼幹人, 片山泰一: ニューロンの1次繊毛の解析. 第40回日本脳科学会, 浜松, 2013.9.28.
- 19) 喜多大三, 浅沼幹人, 宮崎育子, 竹島美香: お茶の旨味成分テアニンの神経保護機構に関する研究—培養アストログリア細胞におけるテアニンの細胞保護効果について— 第23回日本臨床神経精神薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会 合同年会, 沖縄, 2013.10.25.
- 20) 鳥越菜央, 宮崎育子, 村上真樹, 北村佳久, 千堂年昭, 浅沼幹人: 線条体アストロサイトが酸化ストレスに対して発現誘導する因子の網羅的解析. 第23回日本臨床神経精神薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会合同年会, 沖縄, 2013.10.25.
- 21) 宮崎育子, 村上真樹, 竹島美香, 村上真樹, 三好 耕, 北村佳久, 浅沼幹人: セロトニン1Aアゴニストによるアストロサイトにおけるメタロチオネイン発現誘導とドパミン神経保護. 第23回日本臨床神経精神薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会合同年会, 沖縄, 2013.10.25.
- 22) 村上真樹, 村上真樹, 村上真樹, 十川紀夫, 浅沼幹人: 環境毒誘発性パーキンソン病モデルマウスの中枢・末梢神経系障害におけるアストロサイトとメタロチオネインの関与. 第23回日本臨床神経精神薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会合同年会, 沖縄, 2013.10.25.
- 23) Kitamura, Y., Miyake, A., Hattori, S., Koyama, T., Miyazaki, I., Asanuma M. and Sendo, T.: Involvement of the 5-HT1A receptor function in the 8-OH-DPAT treatment on neurogenesis in ACTH-treated rats. 43rd Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience2013), San Diego, 2013.11.9.
- 24) Nakamura, H., Yoneda, S., Miyake, A., Koyama, T., Miyazaki, I., Asanuma, M., Kitamura, Y. and Sendo, T.: Ketamine exerts antidepressant-like effects during the forced swim test in adrenocorticotrophic hormone-treated rats. 43rd Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience2013), San Diego, 2013.11.9.
- 25) Yoneda, S., Hattori, S., Nakamura, H.,

- Watanabe, S., Koyama, T., Miyazaki, I., Asanuma, M., Kitamura, Y. and Sendo, T.: Comparative study of psychological response on treatment with doxorubicin and cyclophosphamide between rats and mice. 43rd Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience2013), San Diego, 2013.11.13.
- 26) 鳥越菜央, 宮崎育子, 村上真樹, 北村佳久, 千堂年昭, 浅沼幹人: 酸化ストレスに対するアストロサイトの神経保護作用における、脳部位特異的プロファイリング. 第20回創薬・薬理フォーラム岡山, 岡山, 2013.12.21.
- 27) Shimane, T., Hidaka, Y., Wada, K., Funada, M. Patterns and settings of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) use at dance parties in Japan. CPDD 75th Annual Scientific Meeting. 6.15-20. 2013, San Diego, USA.
- 28) Wada, K., Funada, M., Shimane, T. Current status of substance abuse and HIV in Japan. The 2013 International Conference on Global Health: Prevention and Treatment of Substance Use Disorders and HIV. 4.17-19, 2013, Taipei, Taiwan.
- 29) 嶋根卓也, 日高庸晴. MSM における脱法ドラッグ使用がコンドーム使用に与える影響 - インターネット調査より -. 第27回日本エイズ学会学術集会・総会, 2013年、熊本.
- 30) 嶋根卓也, 宮野廣美, 川崎裕子, 膳亀昭三, 金子伸行. 過量服薬防止に重点をおいたゲートキーパー研修を通じて薬剤師の職能を考える. 第19回埼玉県薬剤師会学術大会, 2013年, 埼玉.
- 31) 三田村俊宏, 嶋根卓也, 阿部真也, 吉町昌子, 後藤輝明, 宮本法子. 薬剤師と自殺予防～“つなぎ”の現状からゲートキーパーとしての薬剤師の役割を考える～. 日本社会薬学会第32年会, 2013年, 東京.
- 32) 嶋根卓也, 日高庸晴, 和田清, 船田正彦. クラブにおける薬物乱用の実態、シンポジウム 8 薬物乱用の動向とその防止策. 平成25年度アルコール・薬物依存関連学会 合同総会, 2013年, 岡山.
- 33) 嶋根卓也, 和田清, 日高庸晴, 船田正彦. 脱法ドラッグ使用による主観的症状と形状の関係 - クラブユーザー調査より -. 平成25年度アルコール・薬物依存関連学会 合同総会, 2013年, 岡山.
- 34) 和田 清, 船田正彦, 嶋根卓也, 松本俊彦. 薬物の乱用・依存・中毒と脱法ドラッグ. 日本法中毒学会第32年会, 2013年, 千葉.
- 35) 和田 清, 船田正彦, 嶋根卓也, 松本俊彦. 脱法ドラッグを含む薬物の乱用・依存・中毒. 北海道薬剤師会学校薬剤師部会. 第60回北海道薬学大会, 2013年, 札幌.

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

カチノン系化合物の行動薬理学的特性と
モノアミントランスポーターの関連性

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

研究協力者：富山健一（放射線医学総合研究所 緊急被ばく医療研究センター）

【研究要旨】

違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）の流通拡大は深刻である。脱法ドラッグを含む製品としては、パウダー、リキッドおよびハーブの3タイプが主流であり、合成カンナビノイドやカチノン系化合物が検出されている。合成カンナビノイドやカチノン系化合物において、特定の化学物質が規制されるとその類似構造を有する別の化学物質が登場する悪循環が続いている。本研究では、カチノン系化合物の行動薬理作用発現におけるモノアミントランスポーターの役割について検討した。カチノン系化合物 16 種類について、行動薬理学的特性を解析した。

1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone (α -PVP)
1-(3-fluorophenyl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone (3F-PVP)
1-phenyl-2-(1-piperidinyl)-1-butanone (α -PBP)
1-(4-chlorophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)butan-1-one (4Cl-PBP)
1-(4-bromophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)butan-1-one (4Br-PBP)
1-(4-iodophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)butan-1-one (4I-PBP)
1-(4-fluorophenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)butan-1-one (4F-PBP)
2-(methylamino)-1-phenyl-1-pentanone (Pentedrone)
2-(pyrrolidin-1-yl)-1-(p-tolyl)propan-1-one (4Me-PPP)
1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(methylamino)-1-butanone (Butylone)
2-(methylamino)-1-phenyl-1-butanone (Buphedrone)
2-(methylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-butanone (4Me-buphe)
2-(dimethylamino)-1-(4-methylphenyl)-1-butanone (4MeMebup)
1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(dimethylamino)-1-propanone (bk-MDDMA)
1-(4-bromophenyl)-2-(methylamino)-1-propanone (4-BMC)
1-(4-fluorophenyl)-2-(methylamino)propan-1-one (4-FMC)

行動薬理学的解析：16 種類のカチノン系化合物による運動活性に対する影響を検討した。すべてのカチノン系化合物において、運動促進作用が発現した。カチノン系化合物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。カチノン系化合物による運動促進作用は、ドパミン受容体拮抗薬の前処置により抑制されることから、作用発現にはドパミン神経系が関与していることが確認され

た。カチノン系化合物：16種によって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。ドパミントランスポーター(DAT)およびセロトニントランスポーター(SERT)に関する定量的構造活性相関(QSAR)法解析[研究-2]による QSAR 値との相関性を検討したところ、DAT：相関係数 $r=0.883$ 、SERT：相関係数 $r=0.04$ であった。カチノン系化合物における運動促進作用の発現強度は、DAT の QSAR 値により推測可能である事が示唆された。

本研究のカチノン系化合物の DAT に対する作用強度を解析する評価システムは、カチノン系化合物の中枢作用および有害作用発現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「包括指定」等の規制根拠として活用できると考えられる。

A. 研究目的

我が国では、2000年以降、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⁾。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。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。

2012年に入り、急激な「脱法ハーブ」の流通拡大が最大の問題となっている。脱法ハーブには、大麻と類似の効果を有する合成カンナビノイドが含まれている。この合成カンナビノイドは、通称「スパイス、K2」という呼称で流通しており、世界的にその乱用が拡大している⁴⁾。我が国においても、「脱法ハーブ」はカラフルな大きな腫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。脱法ハーブは、「何らかの乾燥植物片に合成カンナビノイド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としては 5-(1,1-dimethylheptyl)-2-(3-hydroxycyclohexyl)-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-hydroxycyclohexyl)-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。

合成カンナビノイドは多数の未規制の化合物が存在することから、特定の化合物を規制すると一部構造の異なる化合物が登場する規制と流通の「いたちごっこ」が起きている。そこで、我が国では、3-(1-naphthoyl)indole 構造を有する合成カンナビノイドを一括で規制する包括指定が導入され、750種以上の合成カンナビノイドが規制された。

一方、脱法パウダー(粉末)や脱法リキッド(液状)と称される製品の流通も深刻である。こうした製品からは、合成カンナビノイド以外にカチノン系化合物が検出されており、乱用による健康被害の発生および暴力事件発生への関与等の深刻な社会問題を引き起こしている。カチノン系化合物における幅広い規制の導入は急務である。

カチノン系化合物は、モノアミントランスポーターに結合し、モノアミンの取り込みを阻害する事が報告されている^{4,8)}。カチノン系化合物の行動解析より、運動促進作用を示す事が明らかになっている⁹⁾。運動促進作用の発現においては、ドパミントランスポーター(DAT)およびセロトニントランスポーター(SERT)の関与が示唆されている⁹⁾。薬物により誘発される行動変化とその作用点に対する神経科学的パラメーター(受容体結合能、神経伝達物質の遊離や取り込み作用)強度の相関性を検証する事で、薬物の作用を推測できる

可能性が示唆されている¹⁰⁾。すなわち、カチノン系化合物による行動変化とモノアミントランスポーターに対する作用強度の関連性を解析することにより、中枢作用の有無を推測できると考えられる。

本研究では、カチノン系化合物による運動活性に対する影響を検討した。この行動解析のデータと[研究 2: 構造活性相関(QSAR)解析]より得られるドパミントランスポーター(DAT)およびセロトニントランスポーター(SERT)に関する QSAR 値の相関性を解析し、中枢作用発現におけるモノアミントランスポーターの役割について検証した。また、ドパミン受容体拮抗薬の前処置の影響を検討し、ドパミン神経系の役割についても検討を加えた。

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:カチノン系化合物(Fig. 1)としては、 α -PVP、3F-PVP、 α -PBP、Pentedrone、4Me-PPP、Butylone、Buphedrone、4Me-buphe、4MeMebup、bk-MDDMA、4-BMC、4-FMC は Cayman Chem.より購入、4Cl-PBP、4Br-PBP、4I-PBP、4F-PBP (ナード研究所にて合成)を使用した。また、ドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 (Sigma-Aldrich)およびドパミン D2 受容体拮抗薬 raclopride (Sigma-Aldrich)を使用した。

カチノン系化合物の行動薬理学特性

カチノン系化合物投与による運動量の変化は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。3時間の環境適応後、薬物投与から 180 分間にわたって運動量を測定した。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 はカチノン系化合物投与の 30 分前に処置した。

C. 研究結果

カチノン系化合物の行動薬理学特性

すべてのカチノン系化合物により、運動促進作用が引き起こされた(Fig. 2)。この効果は、ドパミン D1 受容体拮抗薬およびドパミン D2 受容体拮抗薬 raclopride 前処置によって抑制された(Fig. 3)。

ドパミントランスポーター(DAT)およびセロトニントランスポーター(SERT)に関する定量的構造活性相関(QSAR)法解析[研究-2]による QSAR 値との相関性を検討したところ、DAT:相関係数 $r=0.883$ 、SERT:相関係数 $r=0.04$ であった(Fig. 4)。

D. 考察

カチノン系化合物の投与によって、運動促進作用が発現した。これらの薬理作用は、ドパミン D1 受容体拮抗薬およびドパミン D2 受容体拮抗薬で抑制されることから、ドパミン受容体を介して発現することを確認した。

カチノン系化合物の作用点は、モノアミントランスポーターであることが明らかになっている^{5,6)}。モノアミントランスポーターは、ドパミントランスポーター(DAT)、セロトニントランスポーター(SERT)およびノルエピネフrintトランスポーター(NET)の 3 種類が存在し、12 回膜貫通の構造を有し、 Na^+ 、 Cl^- の細胞内輸送と共役してモノアミンの細胞内輸送に関与する¹¹⁾。カチノン系化合物は DAT および SERT に結合し、ドパミンおよびセロトニンの取り込み阻害作用を示す一方、ドパミンおよびセロトニン自体の直接遊離作用は弱い事が報告されている⁶⁾。したがって、カチノン系化合物による運動促進作用の発現には、DAT を介するドパミン取り込み阻害作用に基づく脳内ドパミン濃度の増加が関与するものと考えられる。

本研究では、カチノン系化合物の投与によ

る運動促進作用の発現と、DAT および SERT に対する親和性強度に関する相関性を検討したところ、DAT において正の相関(DAT : 相関係数 $r=0.883$ 、SERT : 相関係数 $r=0.04$)が認められた。運動促進作用は、カチノン系化合物の中樞作用を推測するための行動薬理学的マーカーとして有用である。数種カチノン系化合物のモノアミン取り込み阻害作用の比較から、共通の効果として DAT および NET に結合する事により、ドパミンおよびノルエピネフリンの取り込み阻害作用を示す一方、SERT に結合してセロトニン取り込みを阻害する作用が極めて弱い薬物も存在する事が明らかになっている⁹⁾。したがって、本研究においてカチノン系化合物による運動促進作用の発現と DAT 取り込み阻害作用強度の相関性が認められたことは妥当であると考えられる。こうした解析で得られる一連のデータはカチノン系化合物の包括指定の根拠として、利用可能であると考えられる。

本研究では、こうした行動薬理学的指標および生化学的指標による評価システムは、国内で流通しているカチノン系化合物の迅速な発見に活用できると考えられる。また、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。

F. 参考文献

- 1) Drug Enforcement Administration, Department of Justice. Schedules of controlled substances: temporary placement of alpha-methyltryptamine and 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine into Schedule I. Final rule. Fed Regist. 68: 1627-1630, 2003.
- 2) De Boer D., Bosman I.: A new trend in drugs-of-abuse; the 2C-series of phenethylamine designer drugs. Pharmacy World and Science. 26: 110-113, 2004.
- 3) Rösner P, Quednow B, Girreser U, Junge T.: Isomeric fluoro-methoxy-phenylalkylamines: a new series of controlled-substance analogues (designer drugs). Forensic Sci Int. 148: 143-156, 2005.
- 4) Lindigkeit R, Boehme A, Eiserloh I, Luebbecke M, Wiggermann M, Ernst L, Beuerle T.: Spice: a never ending story? Forensic Sci Int. 191: 58-63, 2009.
- 5) Kelly JP.: Cathinone derivatives: a review of their chemistry, pharmacology and toxicology. Drug Test Anal. 3(7-8): 439-453, 2011.
- 6) Simmler LD, Buser TA, Donzelli M, Schramm Y, Dieu LH, Huwyler J, Chaboz S, Hoener MC, Liechti ME: Pharmacological characterization of designer cathinones in vitro. Br J Pharmacol. 168: 458-470, 2013.
- 7) Fleckenstein AE, Haughey HM, Metzger RR, Kokoshka JM, Riddle EL, Hanson JE, Gibb JW, Hanson GR.: Differential effects of psychostimulants and related agents on dopaminergic and serotonergic transporter function. Eur J Pharmacol. 382: 45-49, 1999.
- 8) Meltzer PC, Butler D, Deschamps JR, Madras BK.: 1-(4-Methylphenyl)-2-pyrrolidin-1-yl-pentan-1-one (Pyrovalerone) analogues: a promising class of monoamine uptake inhibitors. J Med Chem. 49: 1420-1432, 2006.
- 9) López-Arnau R, Martínez-Clemente J, Pubill D, Escubedo E, Camarasa J.: Comparative neuropharmacology of three psychostimulant cathinone derivatives: butylone, mephedrone and methylone. Br J Pharmacol. 167: 407-420, 2012.
- 10) 船田正彦: 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. 平成 22 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) 研究報告書 (主任研究者: 船田正彦) .

- 11) Torres GE, Gainetdinov RR, Caron MG.:
Plasma membrane monoamine transporters:
structure, regulation and function. Nature
Rev Neurosci. 4: 13-25, 2003.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tomiyama, K., Funada, M. : Cytotoxicity of
synthetic cannabinoids on primary neuronal
cells of the forebrain: the involvement of
cannabinoid CB1 receptors and apoptotic cell
death. Toxicol Appl Pharmacol. 274:17-23.
2013.

2. 学会発表

- 1) 船田正彦、富山健一、和田清、脱法ドラッグ
に含まれる合成カンナビノイドの神経細胞
毒性、平成 25 年度アルコール・薬物依存関
連学会合同学術総会、岡山コンベンションセ
ンター、10 月 5 日・2013 年.
- 2) M. Funada, K. Tomiyama, K. Wada, Role of
dopamine system on the expression of behavioral
and cytotoxicological properties of MDPV in
mice. 75th Annual Meeting - College on
Problems of Drug Dependence. June 15-20,
2013, San Diego, CA, USA.

H. 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