

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暴露早期においてセロトニン系神経細胞内でのミトコンドリアでの活性酸素種生成を検出できることを明らかにしてきた⁷⁻¹⁰⁾。これまでの結果からも、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、しかも軽微な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と考えられる。

E. 結論

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。

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 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.
- 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 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.
- 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 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.

- 7) 浅沼幹人, 宮崎育子:違法ドラッグの早期神経細胞毒性の簡易迅速評価. 平成 23 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現機序と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). P37-49,2012.
- 8) 浅沼幹人, 宮崎育子: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. 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現機序と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). P38-55, 2010.
- 9) 浅沼幹人, 宮崎育子:フェネチルアミン系違法ドラッグによる神経細胞毒性の検討. 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現機序と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). P42-57, 2011.
- 10) 浅沼幹人, 宮崎育子:培養細胞を用いた違法ドラッグの神経細胞毒性評価と構造相関. 平成 24 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」研究報告書 (主任研究者: 船田正彦). P49-68, 2013.
- effect of cepharanthin on cisplatin-induced renal toxicity through metallothionein expression. *Life Sci.*, 92: 727-732, 2013.
- 2) 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.
- 3) 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
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sogawa, N., Hirai, K., Sogawa, C., Ohyama, K., Miyazaki, I., Tsukamoto, G., Asanuma, M., Sasaki, A., Kitayama, S.: Protective

- 九州栄養福祉大学研究紀要, 10: 179-191, 2013.
- 8) 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.
2. 学会等発表
- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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説明. 第 86 回日本薬理学会年会, 福岡, 2013.3.21.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 米田紗緒里, 服部紗代, 中村紘子, 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.
- 13) 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ードキソルビ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.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) 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.
- 21) 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.
- 22) 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.
- 23) 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.

H. 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

CATH.a cells

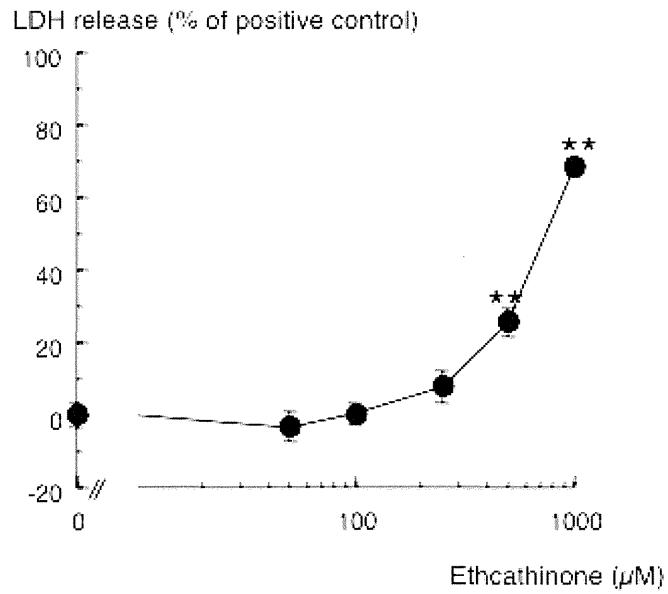


Fig. 1. Changes in released LDH from dopaminergic CATH.a cells after exposure to Ethcathinone (final concentration: 0-1 mM) for 24 hours. Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. ** $p < 0.001$ vs. control group without Ethcathinone.

CATH.a cells

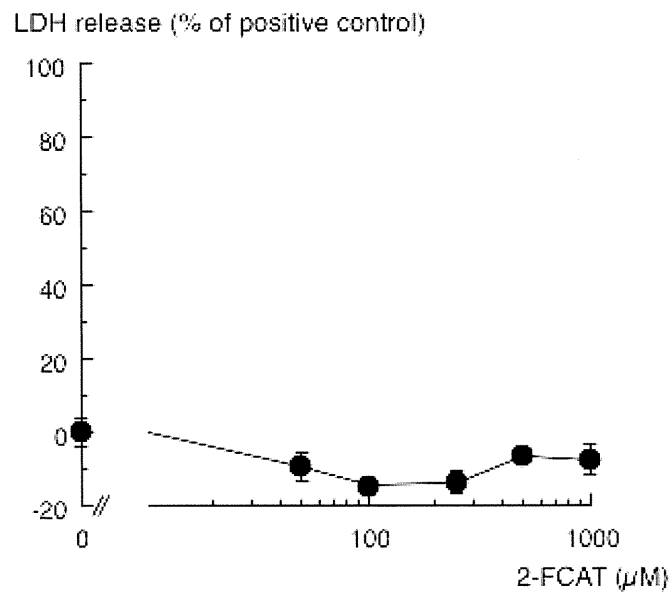


Fig. 2. Changes in released LDH from dopaminergic CATH.a cells after exposure to 2-FCAT (final concentration: 0-1 mM) for 24 hours. Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control.

CATH.a cells

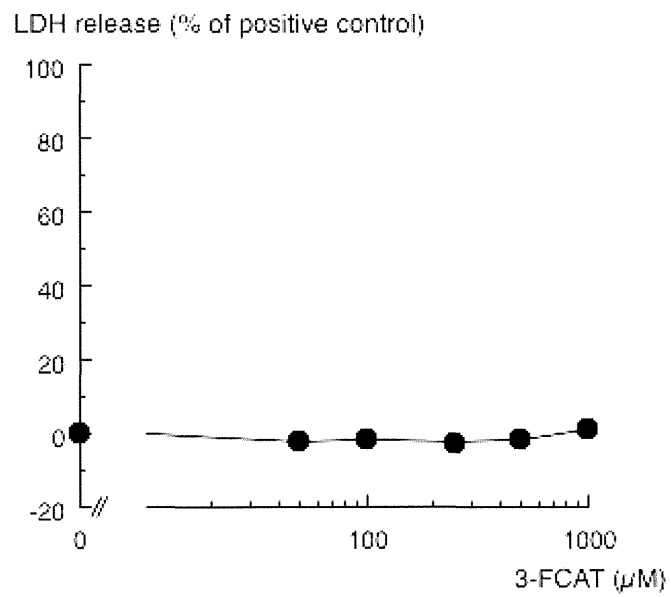


Fig. 3. Changes in released LDH from dopaminergic CATH.a cells after exposure to 3-FCAT (final concentration: 0-1 mM) for 24 hours. Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control.

CATH.a cells

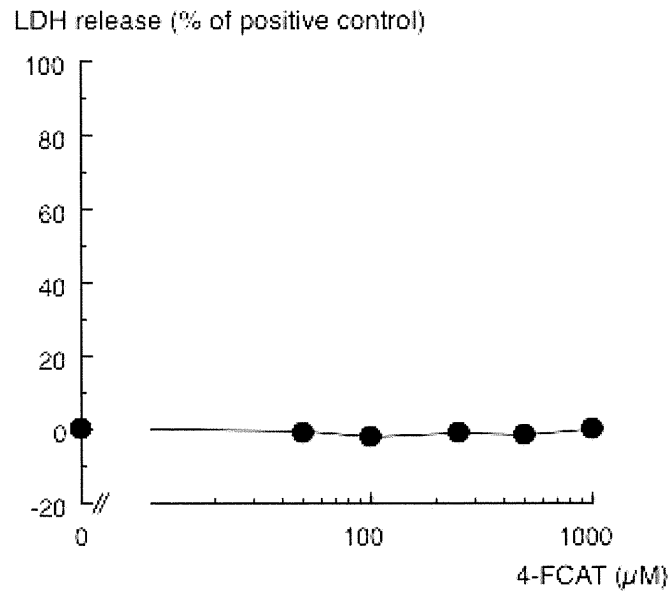
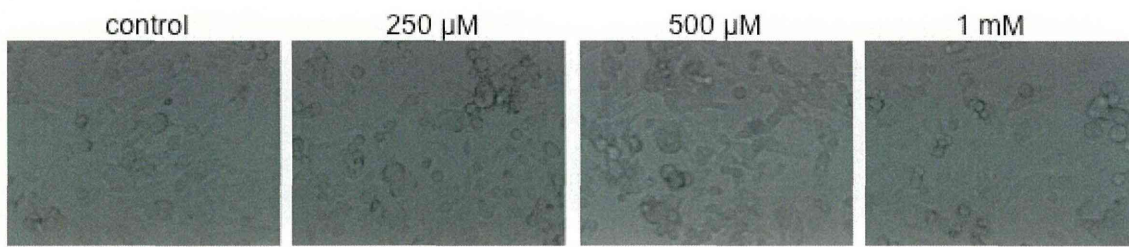


Fig. 4. Changes in released LDH from dopaminergic CATH.a cells after exposure to 4-FCAT (final concentration: 0-1 mM) for 24 hours. Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control.



B65 cells

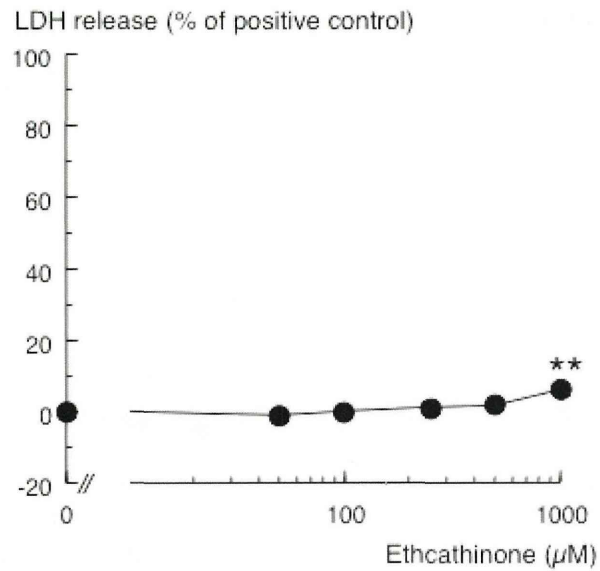
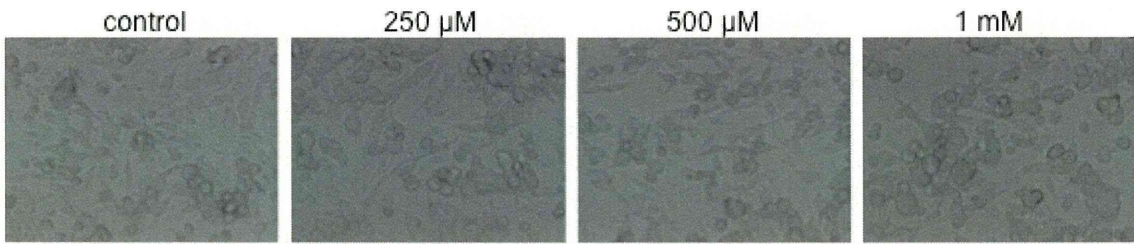


Fig. 5. Photographs of serotonergic B65 cells treated with Ethcathinone (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μM) for 3 hours (upper). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to Ethcathinone (final concentration: 0-1 mM) for 3 hours (lower). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control. ** $p < 0.001$ vs. control group.



B65 cells

LDH release (% of positive control)

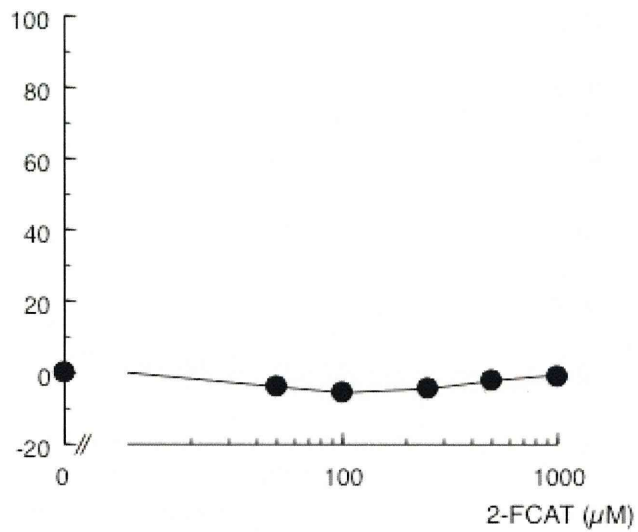
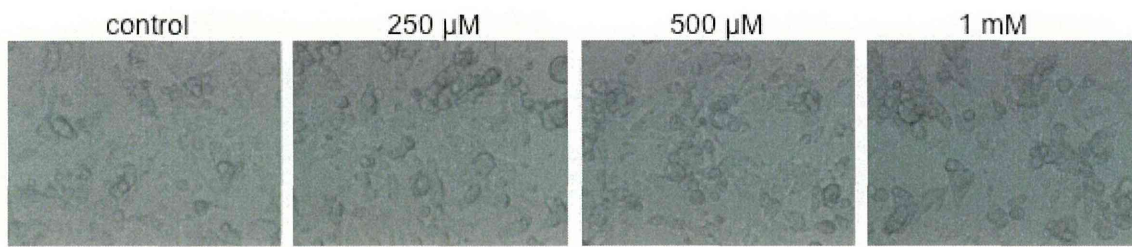


Fig. 6. Photographs of serotonergic B65 cells treated with 2-FCAT (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μM) for 3 hours (upper). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to 2-FCAT (final concentration: 0-1 mM) for 3 hours (lower). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control.



B65 cells

LDH release (% of positive control)

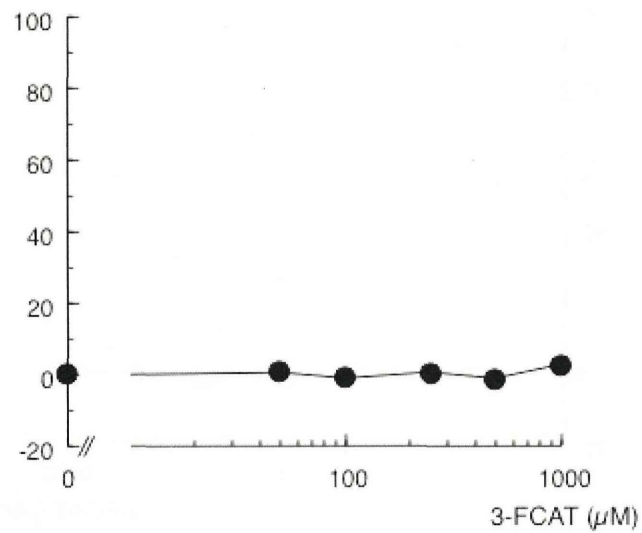
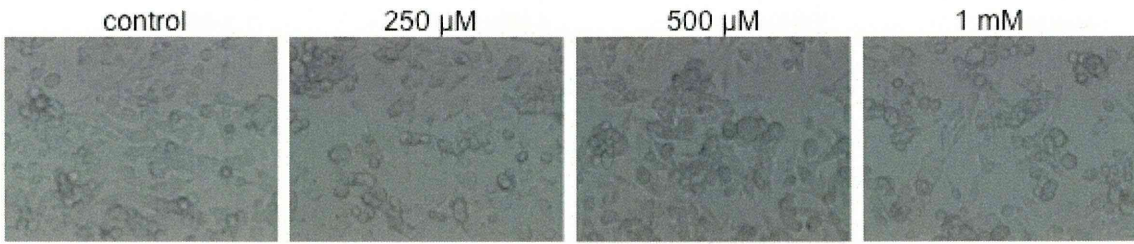


Fig. 7. Photographs of serotonergic B65 cells treated with 3-FCAT (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μM) for 3 hours (upper). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to 3-FCAT (final concentration: 0-1 mM) for 3 hours (lower). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control.



B65 cells

LDH release (% of positive control)

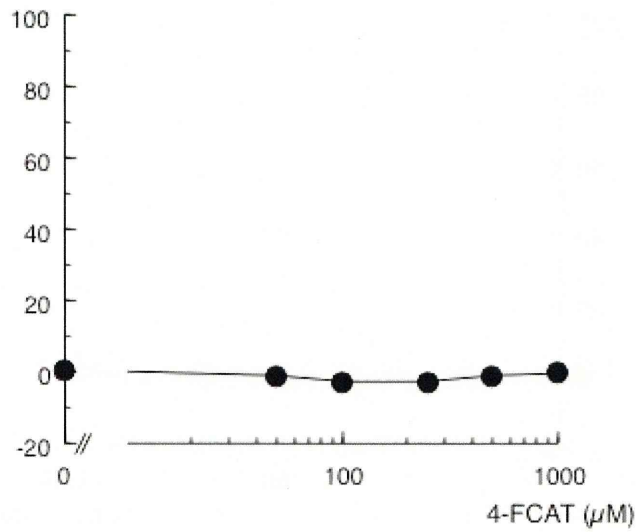


Fig. 8. Photographs of serotonergic B65 cells treated with 4-FCAT (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μM) for 3 hours (upper). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to 4-FCAT (final concentration: 0-1 mM) for 3 hours (lower). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control.

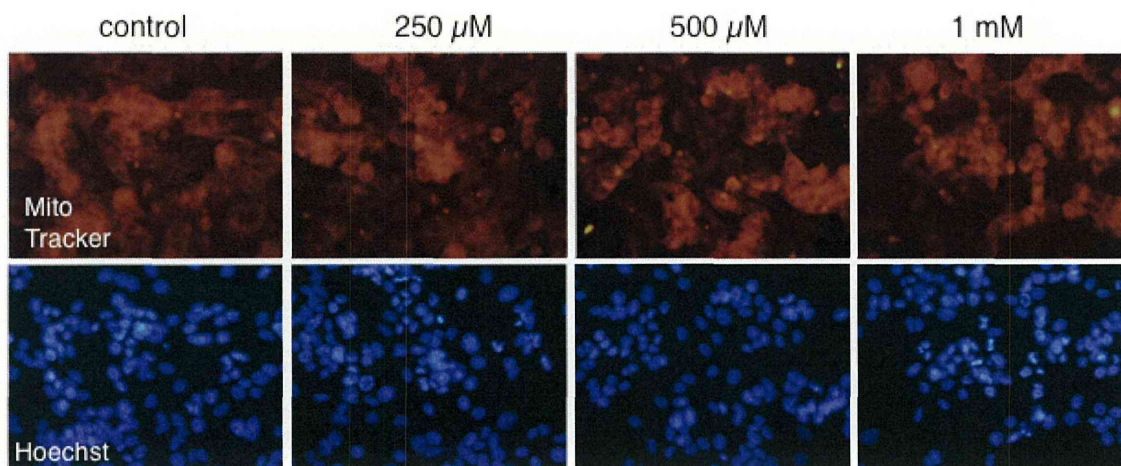


Fig. 9. Reactive oxygen species (ROS) formation and nuclear staining in B65 cells exposed to 2-FCAT (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μM) for 3 hours. Mitochondrial ROS formation was detected by MitoTracker (CM-H₂XRos). Nuclei were visualized by incubation with Hoechst33342 dye.

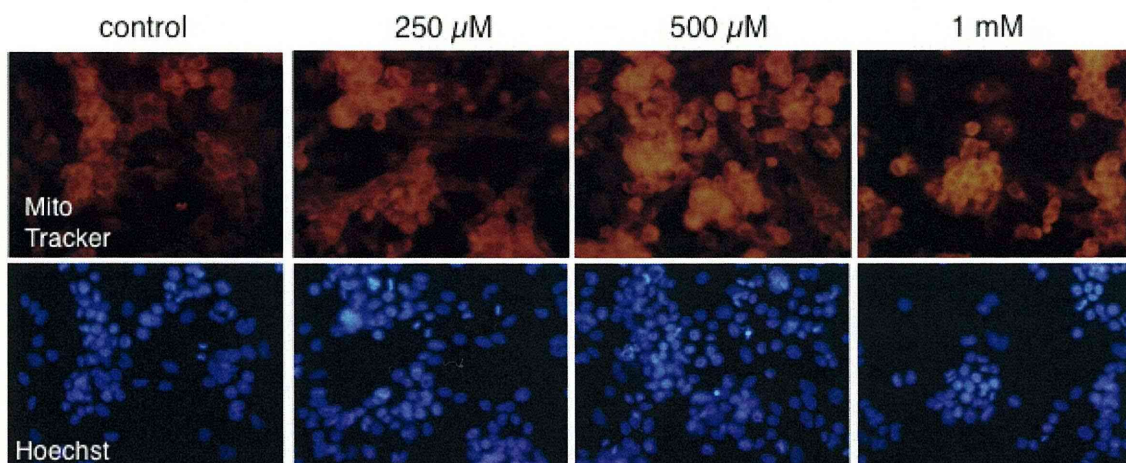


Fig. 10. Reactive oxygen species (ROS) formation and nuclear staining in B65 cells exposed to 3-FCAT (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μM) for 3 hours. Mitochondrial ROS formation was detected by MitoTracker (CM-H₂XRos). Nuclei were visualized by incubation with Hoechst33342 dye.

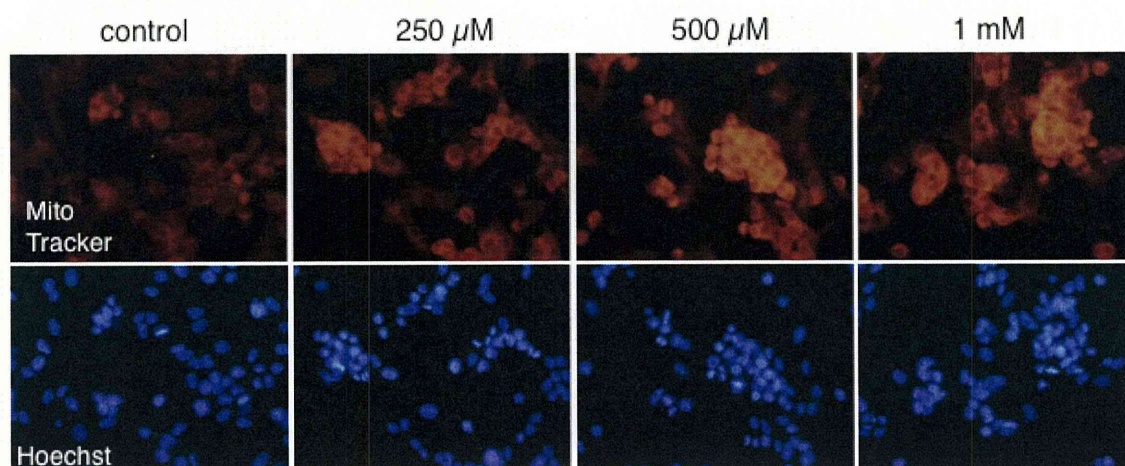
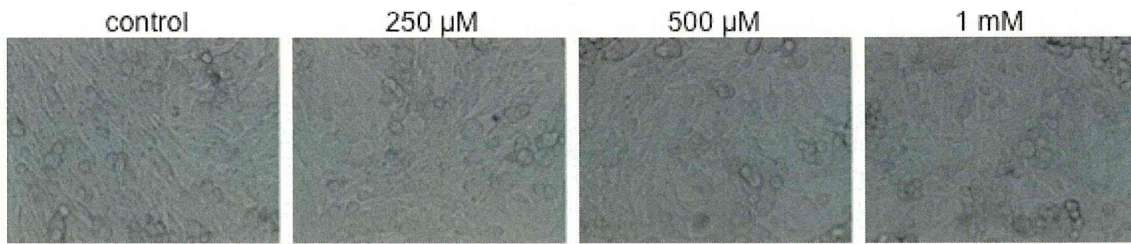


Fig. 11. Reactive oxygen species (ROS) formation and nuclear staining in B65 cells exposed to 4-FCAT (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μM) for 3 hours. Mitochondrial ROS formation was detected by MitoTracker (CM- H_2XROS). Nuclei were visualized by incubation with Hoechst33342 dye.



B65 cells

LDH release (% of positive control)

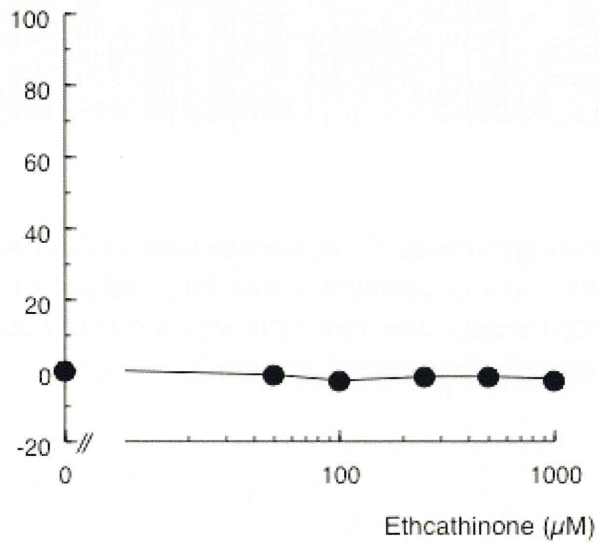
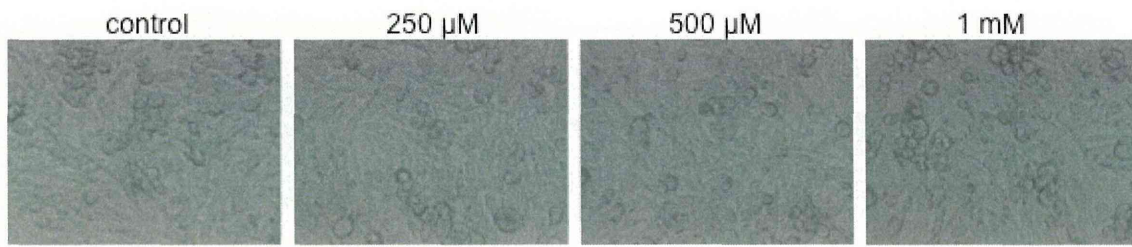


Fig. 12. Photographs and nuclear staining of serotonergic B65 cells treated with Ethcathinone (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μM) for 24 hours (upper). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to Ethcathinone (final concentration: 0-1 mM) for 24 hours (lower). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control.



B65 cells

LDH release (% of positive control)

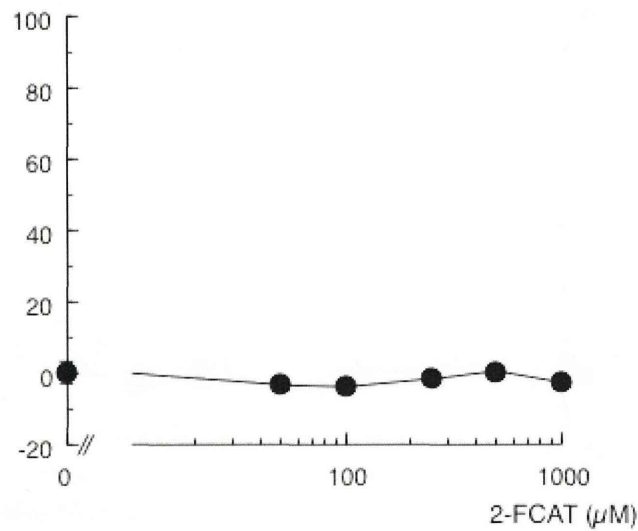
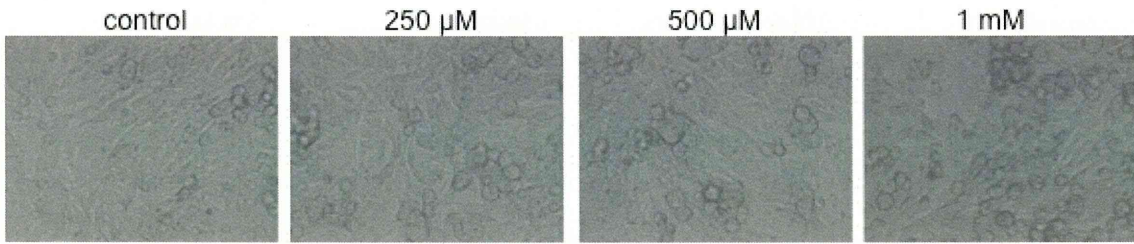


Fig. 13. Photographs and nuclear staining of serotonergic B65 cells treated with 2-FCAT (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μM) for 24 hours (upper). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to 2-FCAT (final concentration: 0-1 mM) for 24 hours (lower). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control.



B65 cells

LDH release (% of positive control)

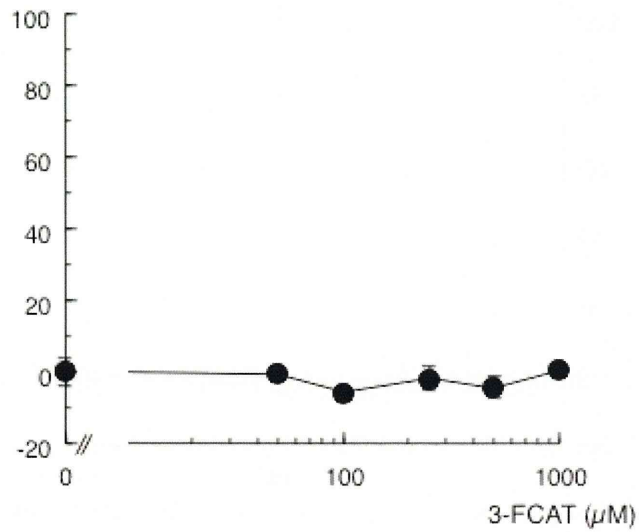
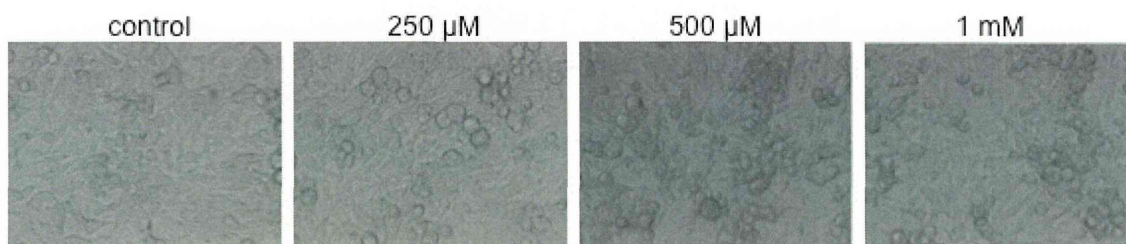


Fig. 14. Photographs and nuclear staining of serotonergic B65 cells treated with 3-FCAT (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μ M) for 24 hours (upper). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to 3-FCAT (final concentration: 0-1 mM) for 24 hours (lower). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control.



B65 cells

LDH release (% of positive control)

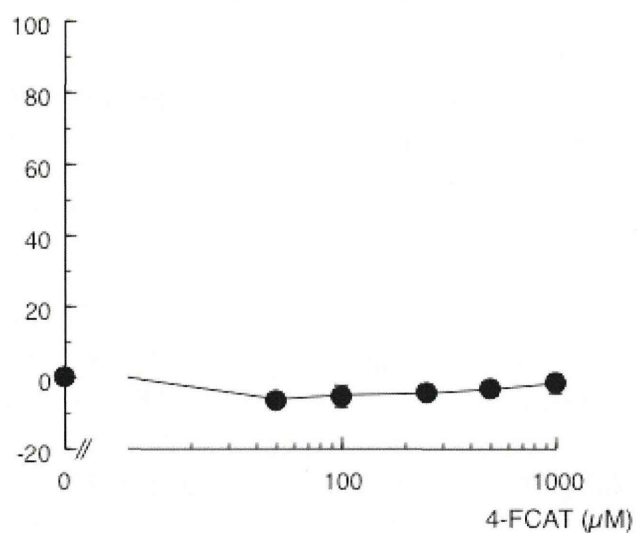


Fig. 15. Photographs and nuclear staining of serotonergic B65 cells treated with 4-FCAT (final concentration: 0, 250, 500, 1000 μ M) for 24 hours (upper). Changes in released LDH from B65 cells after exposure to 4-FCAT (final concentration: 0-1 mM) for 24 hours (lower). Each value mean \pm SEM of released LDH expressed as percentage of Tween-20-treated positive control.

分担研究報告書

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)

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）

研究協力者：和田 清（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）

日高庸晴（宝塚大学看護学部）

【研究要旨】

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。

A. 研究目的

現在、合法ハーブ、アロマリキッドなどの俗称で呼ばれる違法ドラッグ（いわゆる脱法

ドラッグ、以下「脱法ドラッグ」と表記）が流行しており、乱用による影響が疑われる意識障害、自動車事故、死亡事例など、脱法ドラッグ使用による影響が疑われる有害事象は