

平成 29 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政策研究事業：H27-医薬 A-一般-002)  
危険ドラッグおよび関連代謝産物の有害性予測法の確立と乱用実態把握に関する研究

分担研究報告書

## 危険ドラッグおよび類似化学物質の精神・神経毒性発現の蓋然性に関する簡易迅速スクリーニング法の開発

～モノアミン酸化酵素阻害活性を指標にして 3～

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脳神経機構学 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脳神経機構学 助教）

---

### 【研究要旨】

**研究目的：**危険ドラッグおよび類似化学物質の危険性および精神・神経毒性を予測する技術、すなわち精神・神経毒性発現の蓋然性を示す生体分子への作用を簡便に迅速に明らかにできる評価系、スクリーニング法の確立を目指して、危険ドラッグの精神・神経毒性発現の蓋然性を示す共通の指標としてのモノアミン酸化酵素 monoamine oxidase (MAO) について、一昨年度、昨年度その有用性を示すことができた発光性 MAO 基質による MAO 活性の発光検出システムを用いて、本年度は 8 種類の乱用ドラッグ、メタンフェタミン(METH), MDMA, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline, harmine を予め溶解させておいた 2 種類の市販されている水溶性アロマ(グレープフルーツ、ラベンダー)での MAO 阻害活性の検出について検討した。また、昨年度と同様にドラッグ入り天然抽出アロマオイル(スイートオレンジ、ラベンダー)からの水溶性抽出液での MAO 阻害活性の検出も再度行い比較検討した。**結果および結論：**ドラッグ入りアロマオイルからの水溶性抽出液においても、その MAO 阻害活性は、harmaline, harmine, PMMA が著明であり、次いで 4FMP>MDMA>METH>2CT-7>5MeO-DMT の順であった。しかし、昨年度と同様にドラッグの入っていないアロマオイルからの水溶性抽出液においても、MAO 活性検出系での発光量の抑制(約 50-60%)が認められた。また、水溶性アロマでは、乱用ドラッグの有無にかかわらず、ほとんど発光が認められなかった。さらに、アロマオイルからの水溶性抽出液、水溶性アロマのいずれにおいてもアロマオイル、水溶性アロマを段階希釈してもほぼ同程度の発光量の抑制が認められた。アロマオイルからの抽出成分自体や水溶性アロマ自体が MAO 活性検出システムの酵素以外の反応系に影響を与えている可能性を示唆するものであり、水溶性アロマが乳化された精油であることから、油系溶液に乱用ドラッグが混じられた場合には、水溶液での検出システムでの検出が難しくなるのかもしれない。本検討で用いた MAO 活性検出システムは小型キット化すれば、精製された粉末・顆粒状乱用ドラッグを溶解した水溶液では非常に高感度で簡便な精神・神経毒性発現の蓋然性をスクリーニング法になると考えられるが、油系溶液に混じた乱用ドラッグの MAO 阻害活性の検出には不適であると考えられる。油系溶液に混じた乱用ドラッグの検出には複数の評価系が必要となる。

---

## A. 研究目的

これまでに、培養神経細胞を用いて、危険(違法、脱法)ドラッグの神経細胞毒性に関する検討を行い、毒性発現のプロファイルならびに構造毒性相関を明らかにしてきた。

平成 15-17 年度には、当時乱用が社会問題となっていたインドールアルカロイド系合成薬剤である脱法ドラッグ 5MeO-DIPT および植物由来のハルマラの催幻覚成分である harmaline と 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 や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 methylone メチロン(平成 19 年 2 月麻薬指定)が、MDMA もしくは METH との併用で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>。

平成 19, 20 年度には、覚醒剤類似のフェネチルアミン系危険ドラッグの 4FMP(平成 19 年 4 月指定薬物)、PMMA(平成 19 年 4 月指定薬物)<sup>4)</sup>、さらにピペラジン系危険ドラッグ 4 種が<sup>5)</sup>、ドパミン系ならびにセロトニン系神経細胞に対して強い細胞毒性を惹起すること、とくにピペラジン系危険ドラッグがミトコンドリアでの活性酸素種の生成を伴う神経細胞死を惹起し、極めて毒性が高いことを明らかにした。

これに先立ち、平成 18 年度には、フェネチルアミン系危険ドラッグ「2C シリーズ」の 2CT-7(平成 18 年 4 月麻薬)、2CT-4(平成 19 年 4 月指定薬物、平成 20 年 1 月麻薬)、2CT-2(平成 19 年 4 月指定薬物、平成 20 年 1 月麻薬)、2C-I(平成 19 年 4 月指定薬物、平成 20 年 1 月麻薬)が、単独でドパミン系ならびにセロトニン系神経細胞において、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、また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、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>6)</sup>。平成 21, 22 年度には、「2C シリーズ」のなかでも、2C-C(平成 19 年 4 月指定薬物)、2C-C および類似体 trichloro-2C-H(T-2C-H)が、単独でドパミン系ならびにセロトニン系神経細胞に対して強い神経細胞毒性を示すこと、2C-C, T-2C-H は形態変化が認められない低濃度あるいは早期においても、ミトコンドリアでの活性酸素種生成を亢進させることを明らかにした<sup>7,8)</sup>。平成 23 年度には、2CT-7, 2CT-2, 2C-I が、比較的低濃度の暴露早期においてセロトニン系神経細胞のミトコンドリアでの活性酸素種生成を亢進させることを明らかにした<sup>9)</sup>。これらの結果から、フェネチルアミン系危険ドラッグ「2C シリーズ」の共通骨格が、単独で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強い細胞毒性を示すと考えられた。

平成 24 年度は、インドールアルカロイド系危険ドラッグについて検討し、5MeO-MIPT, 5MeO-DMT, 5MeO-DALT が 5MeO-DIPT よりも神経毒性が軽度であることから、5MeO-DIPT のインドール骨格に加え側鎖の diisopropyl 基が強い神経細胞毒性を惹起する可能性を推測できた<sup>10)</sup>。さらに、カチノン系危険ドラッグの ethcathinone、覚醒剤類似の par-chloroamphetamine (PCA)が、セロトニン系神経細胞にはほとんど毒性を示さないのに対して、ドパミン系神経細胞には中等度の毒性を有した。ethcathinone と同様にカチノン骨格をもつ MDMA 類似のメチロンが、MDMA に比べて両細胞系に対して比較的毒性が弱いことから、カチノン骨格をとることにより神経毒性が低下すると推測できた<sup>10)</sup>。平成 25 年度には、fluoro 基を有するカチノン系危険ドラッグ 2-FCAT, 3-FCAT および 4-FCAT が、ドパミン・セロトニン両系神経細胞に対してほとんど形態変化をきたさないことを明らかにした<sup>11)</sup>。

平成 26 年度は、これまでに神経細胞毒性を検討した多種のドラッグの神経毒性-構造相関を包括的に再評価し、フェネチルアミン系危険ドラッグが有するカテコールアミンに類似した骨格が少なくともドパミン系神経細胞に対

する強い親和性をもたらすこと、特に「2C シリーズ」については、2,5 位に dimethoxy 基を有する共通骨格によりドパミン系・セロトニン系神経細胞に対して、MDMA、メチロンや METH よりもはるかに強い毒性を発揮すること、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ことなどを明らかにした<sup>12)</sup>。

これらの知見は、一定の構造を有する薬剤を指定薬物にすることで包括的に規制することの必要性、重要性を示すものである。しかし、次々に別の類似構造をもつ化学物質が製造され、流通・乱用されていることから、危険ドラッグおよび類似化学物質の危険性および精神・神経毒性を予測する技術、すなわち精神・神経毒性発現の蓋然性の指標となる生体分子への作用を簡便に迅速に評価できるスクリーニング法の確立が急務であると考えられた。

平成 27 年度には、危険ドラッグの精神・神経毒性発現の蓋然性を示す共通の作用点となりうるモノアミン酸化酵素 monoamine oxidase (MAO)の阻害活性について、発光性 MAO 基質による MAO 活性の発光検出システムを用いて、ハルマラの催幻覚成分である harmaline および harmine が極めて高い MAO 阻害活性を有すること、フェネチルアミン系危険ドラッグの PMMA, 4FMP, 2CT-7 が METH や MDMA と同等あるいはそれ以上の MAO 阻害活性を有することを明らかにできた<sup>13)</sup>。また、昨年度は麻薬 MDPV の類似体でカチノン系危険ドラッグ MDB-C4, MDB-C5, MDB-C6, MDB-C7 の MAO 阻害活性が非常に弱いことを明らかにし、カチノン骨格をとることによりその MAO 阻害活性が弱まる可能性を示した<sup>14)</sup>。これはカチノン骨格をとることにより神経毒性が低下するという平成 24 25 年度の検討結果<sup>10, 11)</sup>とも合致し、MAO 阻害活性が神経毒性発現の蓋然性の指標となりうる可能性を示す結果であった。この MAO 活性検出システムは小型キット化すれば、精製された粉末・顆粒状のドラッグの非常に高感度で簡便な MAO 阻害活性検出系になりうると思われた。昨年度は、危険ドラッグのなか

でもアロマオイルとして販売、乱用されているものも多いことから、種々の乱用ドラッグが含まれたアロマオイルからの MAO 阻害成分の検出の可能性を探るため、平成 27 年度の検討で強い MAO 阻害活性が示された METH, MDMA, PMMA, 2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline を予め混入させておいた 2 種類の天然抽出アロマオイル(スウィートオレンジ、ラベンダー)を用いて、ドラッグ入りアロマオイルからの水溶性成分抽出液で明らかな MAO 阻害活性を検出できることを示した<sup>14)</sup>。

また、平成 27 年度の乾燥ハーブ(マローブルーフラワー、ペパーミントリーフ) 昨年度の天然抽出アロマオイルなど市販されている嗜好品からの抽出成分自体でも MAO 阻害活性がみられたことから、ハーブやアロマオイルの抽出成分自体が MAO 阻害活性を有している可能性あるいはこれらの抽出成分が MAO 活性検出システムの酵素以外の反応系に影響を与えている可能性も考えられた。

最近、アロマオイルだけではなく、精油を乳化させ親水性にした水溶性アロマが広く流通、販売され、嗜好されている。このような水溶性アロマは噴霧することで嗜好されるが、水溶性危険ドラッグあるいは溶剤で溶解させた危険ドラッグを混入させることが容易である。そこで、種々の乱用ドラッグが含まれた水溶性アロマからの MAO 阻害成分の検出の可能性を探るため、8 種類の乱用ドラッグ METH, MDMA, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline, harmine を予め溶解させておいた 2 種類の市販されている水溶性アロマ(グレープフルーツ、ラベンダー)を用いて、ドラッグ入り水溶性アロマで MAO 阻害活性を検出できるかについて検討した。また、アロマオイルに混じたものと比較するために昨年度と同様に乱用ドラッグを混入させておいた 2 種類の天然抽出アロマオイル(スウィートオレンジ、ラベンダー)との比較も行った。

## B. 研究方法

### 1. 危険ドラッグおよび規制乱用薬物

覚醒剤 METH, フェネチルアミン系合成麻薬 MDMA, フェネチルアミン系危険ドラッグ 4FMP, PMMA, 2CT-7, インドールアルカロイド系危険ドラッグ 5MeO-DMT, ハルマラ催幻覚成分 harmaline と harmine を用いた。METH, MDMA, 4FMP, PMMA, harmine は精製水で溶解し、2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline は dimethylsulfoxide (DMSO) で溶解し、400  $\mu$ M, 1 mM (アロマオイルあるいは水溶性アロマ中最終濃度として 40, 100  $\mu$ M) になるように精製水で段階希釈した。

DMSO の最終濃度は 0.2% 以下となるように調整した。溶解、濃度調整後は、MAO 活性測定まで 4°C で保存した。

### 2. ドラッグ入りアロマオイルからの水溶成分抽出液の調整

2 種類の天然抽出アロマオイル、果皮圧搾抽出スウィートオレンジ (*Citrus sinensis*) アロマオイル、あるいは花葉水蒸気蒸留抽出ラベンダー (*Lavandula angustifolia*) アロマオイル各 50  $\mu$ l に、乱用ドラッグ 400  $\mu$ M, 1 mM METH, MDMA, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline, harmine 溶液を各 5  $\mu$ l 加え、激しく攪拌し 30 分間静置した溶液をドラッグ入りアロマオイルとして、以下の検討に用いた。精製水あるいは <0.2% DMSO 加精製水をアロマオイルに加えたものを対照コントロールとした。

このドラッグ入りアロマオイル (アロマオイル中濃度として 0, 40, 100  $\mu$ M) 55  $\mu$ l に、精製水 50  $\mu$ l を加え、激しく攪拌し、3,000 rpm, 3 分間遠心し、油層およびやや白濁した中間薄層を取り除きアロマオイルからの水溶成分抽出液を得た。この水溶成分抽出液のうち 12.5  $\mu$ l を後述の MAO 活性測定系に供し (測定系推定最終濃度として 0, 10, 25  $\mu$ M), その MAO 阻害活性の検出可能性を検討した。

### 3. ドラッグ入り水溶性アロマの調整

精油を乳化剤に乳化させ親水性にした 2 種類の水溶性アロマ (グレープフルーツ、ラベン

ダー) 各 50  $\mu$ l に、乱用ドラッグ 400  $\mu$ M, 1 mM METH, MDMA, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline, harmine 溶液を各 5  $\mu$ l 加え、激しく攪拌し溶解させた溶液をドラッグ入り水溶性アロマとして、以下の検討に用いた。精製水あるいは <0.2% DMSO 加精製水を水溶性アロマに加えたものを対照コントロールとした。

このドラッグ入り水溶性アロマ 12.5  $\mu$ l を後述の MAO 活性測定系に供した (測定系推定最終濃度として 0, 10, 25  $\mu$ M)。

### 4. ドラッグ入りアロマオイルからの水溶成分抽出液およびドラッグ入り水溶性アロマを用いた MAO 阻害活性検出

MAO 活性の測定には、甲虫ルシフェリンの類似体である発光性物質前駆体の MAO 基質にヒトリコンビナント MAO を反応させ、生じたルシフェリンをルシフェラーゼとエラスターゼにより発光させるシステム (MAO-Glo Assay System, Promega 社) を用いた。96 穴プレートに MAO 基質 (最終濃度 40  $\mu$ M), ドラッグ入りアロマオイルからの水溶成分抽出液およびドラッグ入り水溶性アロマ (測定系での最終濃度 1, 10, 25  $\mu$ M), ヒトリコンビナント MAO (最終濃度 10  $\mu$ U/ $\mu$ l) を加え、室温で 1 時間インキュベートした後、ルシフェラーゼとエラスターゼを含む Lusiferin Detection Reagent を加えさらに 20 分間遮光下でインキュベートし、発光を FUJIFILM Luminescent Image Analyzer LAS-3000 (FUJIFILM) および解析ソフトウェア Multi Gauge (v3.0) software (FUJIFILM) により検出・定量した。発光量を MAO 活性として各薬剤の MAO 活性への作用を対照コントロール溶液 (精製水あるいは <0.2% DMSO) での発光量を 100% とした半定量も行った。

### 5. アロマオイルからの水溶成分抽出液および水溶性アロマ自体の MAO 阻害活性の検出

ドラッグ無しアロマオイルからの水溶成分抽出液および水溶性アロマを精製水で段階希釈し、上述の MAO 活性測定系に供した。

## C. 研究結果

### 1. ドラッグ入りアロマオイルからの水溶成分抽出液を用いた MAO 阻害活性検出

昨年度と同様に、乱用ドラッグを予め混入させておいた 2 種類の天然抽出アロマオイル(スウィートオレンジ、ラベンダー)を用いて、ドラッグ入りアロマオイルからの水溶成分抽出液で MAO 阻害活性を検討した。

検討に用いた検出系での至適ドラッグ濃度は 100  $\mu$ M(測定系推定最終濃度として 25  $\mu$ M)であった。いずれのドラッグ入りアロマオイルからの水溶成分抽出液においても、ドラッグ無し対照群に比して検討した全ての乱用薬剤の MAO 阻害活性が検出できた。いずれのドラッグ入りアロマオイルからの水溶成分抽出液においても、その MAO 阻害活性は、harmaline, harmine, PMMA が著明であり、4FMP > MDMA > METH > 2CT-7 が中等度の MAO 阻害活性を呈し、5MeO-DMT の阻害活性は極めて弱くスウィートオレンジアロマオイルからの水溶成分抽出液でのみ認められ、ラベンダーアロマオイルからの水溶成分抽出液では認められなかった(Fig. 1)。

さらに、昨年度の結果と同様に、ドラッグの入っていない天然抽出アロマオイル(スウィートオレンジ、ラベンダー)に精製水を加えて遠心して得た水溶成分抽出液においても、アロマオイルを混じていない精製水あるいは <0.2% DMSO 加精製水での標準 MAO 活性に比べ、MAO 活性(発光量)が約 50-60%に減少することが認められた。

### 2. ドラッグ入り水溶性アロマを用いた MAO 阻害活性検出

乱用ドラッグ METH, MDMA, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline, harmine を予め混じた 2 種類の水溶性アロマ(グレープフルーツ、ラベンダー)を用いて、ドラッグ入り水溶性アロマで MAO 阻害活性を検出できるか検討した。

いずれのドラッグ入り水溶性アロマおよびドラッグ無し対照群においても、MAO 活性を

示す発光がほとんど認められなかった(Fig. 1)。

### 3. アロマオイルからの水溶成分抽出液および水溶性アロマ自体の MAO 阻害活性の検出

ドラッグ無しのアロマオイルからの水溶成分抽出液および水溶性アロマにおいても発光量の減少および消失が認められたことから、アロマオイルからの水溶成分抽出液および水溶性アロマ自体の MAO 阻害活性について検討するために、ドラッグの入っていない天然抽出アロマオイル(スウィートオレンジ、ラベンダー)に精製水を加えて遠心して得た水溶成分抽出液およびドラッグ無しの水溶性アロマを精製水で段階希釈し MAO 活性を検討した。

段階希釈したドラッグ無しのアロマオイルからの水溶成分抽出液において、どの濃度においてもほぼ同程度の発光量の抑制が認められた。また、ドラッグ無しの水溶性アロマにおいては、100 倍希釈した水溶性アロマ溶液でも原液とほとんど変わらない程度の発光量の抑制が認められた(Fig. 2)。

## D. 考察

MAO 阻害活性は危険ドラッグの精神・神経毒性発現の蓋然性を示す共通の作用点となりうると考えられ、平成 27 年度は発光性 MAO 基質による MAO 活性の発光検出システムを用いて、種々の危険ドラッグおよび規制薬物の MAO 活性への影響について検討し、harmaline および harmine が極めて高い MAO 阻害活性を有すること、フェネチルアミン系危険ドラッグの PMMA, 4FMP, 2CT-7 が METH や MDMA と同等あるいはそれ以上の MAO 阻害活性を有することを明らかにした<sup>13)</sup>。

オイル等油系溶液に混じた危険ドラッグがアロマオイルとして販売、乱用されることも多いことから、乱用ドラッグが混じた油系溶液からの水溶成分抽出液で MAO 阻害活性を評価することは重要であると考えられたので、今年度は昨年度に引き続き、平成 27 年度のドラッグ溶解液の検討で用いた乱用ドラッグ METH,

MDMA, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline, harmine を予め混じてある 2 種類の天然抽出アロマオイル（スイートオレンジ、ラベンダー）に精製水を加えて遠心して得た水溶性成分抽出液で、MAO 阻害活性を検出できるか、また検出可能な至適ドラッグ濃度の検討をおこなった。

ドラッグ入りアロマオイルからの水溶性成分抽出液においては、検討に用いた MAO 阻害活性検出系での至適ドラッグ濃度は 100  $\mu$ M（測定系推定最終濃度として 25  $\mu$ M）であった。昨年度と同様に<sup>14)</sup>、ドラッグ無し対照群に比して、検討した全ての乱用薬剤において MAO 阻害活性が検出でき、harmaline, harmine, PMMA が著明であり、次いで 4FMP > MDMA > METH > 2CT-7 > 5MeO-DMT の順であった。昨年度算出した MAO 阻害活性（測定系での推定最終濃度として算出）は、平成 27 年度の精製された粉末・顆粒状危険ドラッグおよび規制薬物の MAO 阻害活性の強さとほぼ同じ傾向であった<sup>13, 14)</sup>。しかし、ドラッグ入りラベンダーアロマオイルからの水溶性成分抽出液においては、MAO 阻害活性が検出されないドラッグもあった。MAO 阻害活性の比較的軽度な 5MeO-DMT ではラベンダーアロマオイルから検出できたことから、検出できないことはその薬物自体の MAO 阻害活性の程度によるものではないと考えられた。

我々が用いた MAO 活性検出システムは小型キット化すれば、精製された粉末・顆粒状のドラッグあるいはオイル等油系溶液に混じたドラッグの非常に高感度で簡便な MAO 阻害活性検出系になりうると思われる。また、発色による検出系でないことから、色素などの混入の影響も受けにくく、多剤、植物成分のブレンドされた薬剤においても活性を評価できるという利点があると考えられる。

しかし、昨年度と同様にドラッグの入っていない天然抽出アロマオイル（スイートオレンジ、ラベンダー）に精製水を加えて遠心して得た水溶性成分抽出液においても、明らかな MAO 活性検出系での発光量の抑制が認められた。また、今年度は最近流通されている水溶性アロマ

を用いてそれに混じた乱用ドラッグの MAO 抑制活性の検出を試みたが、乱用ドラッグの有無にかかわらず、ほとんど発光が認められなかった。平成 27 年度の危険ドラッグ付着ハーブからの抽出液による MAO 阻害活性の検討においても、ドラッグが付着していない乾燥ハーブ（マローブルーフラワー、ペパーミントリーフ）を精製水に浸した抽出液でも発光量の低下が認められた<sup>13)</sup>。これらのことから、天然抽出アロマオイルや乾燥ハーブなど市販されている嗜好品からの抽出成分自体や水溶性アロマ自体が強い MAO 阻害活性を有している可能性、あるいはこれらが MAO 活性検出システムの酵素以外の反応系に影響を与えている可能性が考えられた。

アロマオイルからの水溶性成分抽出液および水溶性アロマ自体が MAO 阻害活性を有していることが考えられたので、ドラッグの入っていない天然抽出アロマオイルからの水溶性成分抽出液およびドラッグ無しの水溶性アロマをそれぞれ精製水で段階希釈し MAO 活性を検討したが、どの濃度においても同程度の発光量の抑制が認められた。特に、水溶性アロマ溶液では原液とほとんど変わらない程度の発光量の抑制が認められた。この結果は、アロマオイルからの抽出成分自体や水溶性アロマ自体が MAO 活性検出システムの酵素以外の反応系に影響を与えている可能性を示唆するものと考えられる。水溶性アロマは精油を乳化剤により乳化したものであり、アロマオイルの場合には精製水を加え激しく攪拌しているので、抽出成分には乳化された精油が混入している可能性がある。乳化された精油が MAO 活性検出システムの反応系を阻害していることも考えられる。乳化された精油に乱用ドラッグが混じられた場合には、このような水溶液での検出システムでの検出が難しくなるのかもしれない。

平成 27 年度からの一連の検討で、MAO 活性検出システムは精製された粉末・顆粒状乱用ドラッグを溶解した水溶液を用いた場合、精神・神経毒性発現の蓋然性をスクリーニングする評価系となりうることを明らかにできた。しか

し、乱用ドラッグの溶液を混入・付着させたアロマオイル、ハーブからの抽出液あるいは溶解させた水溶性アロマでは、ハーブからの抽出液や精油成分自体が MAO 活性検出系に影響するため、MAO 活性検出システムだけでなく、ドパミントランスポーターおよびセロトニントランスポーターへの阻害活性の簡易評価系なども加えて、複数の指標による精神・神経毒性発現の蓋然性の評価システムの確立が必要である。

## E. 結論

発光性 MAO 基質による MAO 活性の発光検出システムを用いれば、精製された粉末・顆粒状乱用ドラッグの水溶液の MAO 阻害活性を非常に高感度で簡便に評価でき、精神・神経毒性発現の蓋然性をスクリーニングする有用な方策の一つとなりうることを明らかにできた。また、アロマオイルに混じた乱用ドラッグの MAO 阻害活性については比較的高感度で検出することができた。しかし、アロマオイルからの抽出成分自体や乳化された水溶性アロマ自体が、MAO 活性検出システムの酵素以外の反応系に影響を与えている可能性が示されたことから、油系溶液に乱用ドラッグが混じられた場合には、水溶液での検出システムでの検出が難しくなることが考えられる。複数の指標による精神・神経毒性発現の蓋然性の評価システムの確立が求められる。

## 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関連に関する研究 . 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関連に関する研究 . 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関連に関する研究 . 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 .
- 8) 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 .
- 9) 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 .
- 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 .
- 11) 浅沼幹人, 宮崎育子: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 . 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」研究報告書（主任研究者：船田正彦）. 2014 .
- 12) 浅沼幹人, 宮崎育子: 合成危険ドラッグの神経細胞毒性-構造相関の評価 . 平成 26 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政策研究事業）「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）. 2015 .
- 13) 浅沼幹人, 宮崎育子:危険ドラッグおよび類似化学物質の精神・神経毒性発現の蓋然性に関する簡易迅速スクリーニング法の開発～モノアミン酸化酵素阻害活性を指標にして～. 平成 27 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政策研究事業）「危険ドラッグおよび関連代謝産物の有害性予測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）. 2016 .
- 14) 浅沼幹人, 宮崎育子:危険ドラッグおよび類似化学物質の精神・神経毒性発現の蓋然性に関する簡易迅速スクリーニング法の開発～モノアミン酸化酵素阻害活性を指標にして～2. 平成 28 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政策研究事業）「危険ドラッグおよび関連代謝産物の有害性予測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）. 2017 .

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kitamura, Y., Kanemoto, E., Sugimoto, M., Machida, A., Nakamura, Y., Naito, N., Kanzaki, H., Miyazaki, I., Asanuma, M. and Sendo, T.: Influence of nicotine on doxorubicin and cyclophosphamide combination treatment-induced spatial cognitive impairment and anxiety-like behavior in rats. *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 390(4): 369-378, 2017. doi: 10.1007/s00210-016-1338-z.
- 2) Kim, M.S., Takahashi, T., Lee, J.Y., Miura, N., Asanuma, M., Hwang, G.W. and Naganuma, A.: Identification of transcription factors activated by methylmercury in mouse brain. *Fundam. Toxicol. Sci.*, 4(1): 37-39, 2017. <http://doi.org/10.2131/fts.4.37>
- 3) Tanaka, K., Sonoda, K. and Asanuma, M.: Effect of alteration of glutathione content on



cell viability in  $\alpha$ -synuclein-transfected SH-SY5Y cells. *Adv. Parkinson's Dis.*, 6: 93-100, 2017. <http://doi.org/10.2485/jhtb.25.21>

- 4) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Therapeutic strategy of targeting astrocytes for neuroprotection in Parkinson's disease. *Curr. Pharm. Design*, 23(33): 4936-4947, 2017.
- 5) Murakami, S., Miyazaki, I., and Asanuma, M.: Neuroprotective effect of fermented papaya preparation by activation of Nrf2 pathway in astrocytes. *Nutr. Neurosci.*, 21(3): 176-184, 2018. published online 14 Nov 2016. <http://dx.doi.org/10.1080/1028415X.2016.1253171>
- 6) 浅沼幹人, 宮崎育子: Nrf2 . 高橋良輔, 山中宏二, 樋口真人, 漆谷 真編, 脳内環境辞典, メディカルドウ, 大阪, 2017, pp122-123.

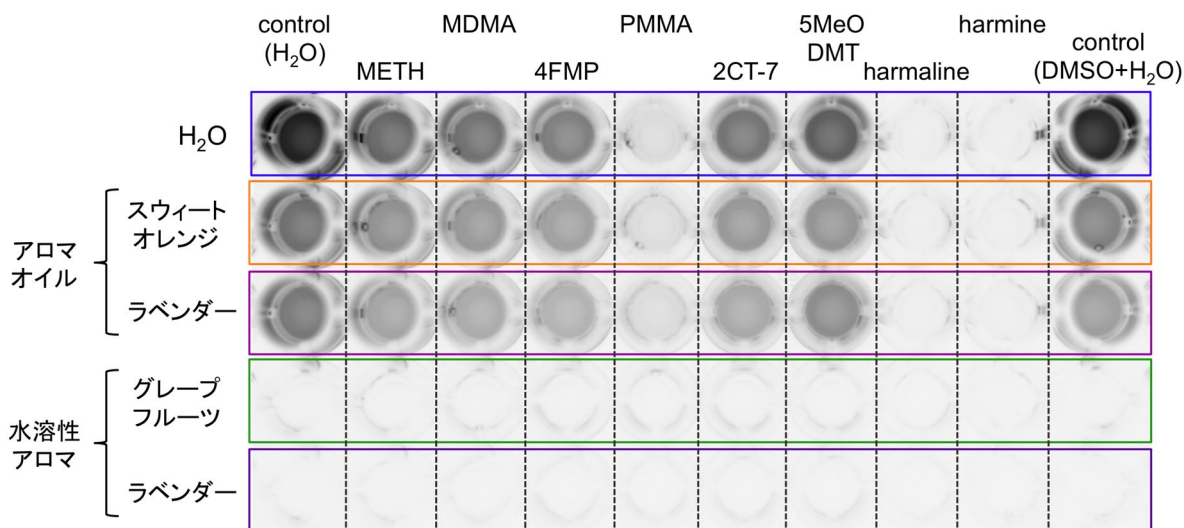
## 2. 学会等発表

- 1) Miyazaki, I., Murakami, S., Kikuoka, R., Isooka, N., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Rotenone-induced dopaminergic neurotoxicity mediated by astrocytes. 第90回日本薬理学会年会, 長崎, 2017.3.15.
- 2) Isooka, N., Miyazaki, I., Kikuoka, R., Wada, K., Nakayama, E., Yamamoto, D., Shin, K., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Neuroprotective effects of rosiglitone in parkinsonian mice. 第90回日本薬理学会年会, 長崎, 2017.3.15.
- 3) 浅沼幹人, 宮崎育子, 竹島美香, 村上 真樹, 三好 耕: 妊娠・授乳期におけるエポキシ樹脂暴露の産仔脳1次繊毛への影響. 第122回日本解剖学会総会・全国学術集会, 長崎, 2017.3.30.
- 4) 宮崎育子, 磯岡奈未, 桑 明日香, 三好 耕, 浅沼幹人: セロトニン1Aアゴニストによる1次繊毛への影響. 第122回日本解剖学会総会・全国学術集会, 長崎, 2017.3.28.
- 5) Miyazaki, I., Murakami, S., Kikuoka, R., Isooka, N., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Rotenone induces astrocyte-mediated non-cell autonomous dopaminergic neurotoxicity. 21st International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Vancouver, BC, Canada, 2017.6.4-8.
- 6) Asanuma, M., Miyazaki, I., Kikuoka, R., Murakami, S., Isooka, N. and Kitamura, Y.: Neuroprotective effects of antidepressant mirtazapine against dopaminergic neurodegeneration in cultured cells and in parkinsonian mice possibly by targeting astrocytes. 21st International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Vancouver, BC, Canada, 2017.6.4-8.
- 7) 磯岡奈未, 和田晃一, 宮崎育子, 菊岡 亮, 浅沼幹人: ロテノン誘発パーキンソン病モデルへのコーヒー成分カフェイン酸, クロロゲン酸投与による神経保護効果. 第27回創薬・薬理フォーラム, 岡山, 2017.7.29.
- 8) 菊岡 亮, 宮崎育子, 久保田菜月, 前田恵実, 香川大樹, 守山雅晃, 桑 明日香, 北村佳久, 浅沼幹人: 抗うつ薬ミルタザピンのアストロサイトにおけるメタロチオネイン発現誘導およびドパミン神経保護効果. 第27回創薬・薬理フォーラム, 岡山, 2017.7.29.
- 9) Miyazaki, I., Murakami, S., Kikuoka, R., Isooka, N., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Rotenone-induced dopaminergic neurotoxicity promoted by mesencephalic astrocyte dysfunction. 23rd World Congress of Neurology, Kyoto, Japan, 2017.9.18.
- 10) Asanuma, M., Miyazaki, I., Isooka, N., Kikuoka, R., Wada, K., Nakayama, E., Shin, K., Yamamoto, D., and Kitamura, Y.: Neuroprotective effects of rosiglitone against dopaminergic neurodegeneration by targeting astrocytes. 23rd World Congress of Neurology, Kyoto, Japan, 2017.9.17.
- 11) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 北村佳久, 浅沼幹人: 農薬ロテノンによるアストロサイト機能異常がもたらすドパミン神経障

- 害. 第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会合同年会, 札幌, 2017.9.28-30.
- 12) 磯岡奈未, 和田晃一, 宮崎育子, 浅沼幹人: コーヒー成分カフェイン酸, クロロゲン酸の PD モデルマウスにおける神経保護効果. 第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会合同年会, 札幌, 2017.9.28-30.
- 13) 菊岡 亮, 宮崎育子, 久保田菜月, 前田恵実, 香川大樹, 守山雅晃, 桑 明日香, 村上真樹, 北村佳久, 浅沼幹人: アストロサイトを介したミルタザピンのドパミン神経保護に関する検討. 第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会合同年会, 札幌, 2017.9.28-30.
- 14) 宮崎育子, 村上真樹, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 北村佳久, 十川千春, 十川紀夫, 浅沼幹人: 農薬ロテノンによる非細胞自律性ドパミン神経障害へのメタロチオネインの関与. メタルバイオサイエンス研究会 2017, 岡山, 2017.10.13.
- 15) 菊岡 亮, 宮崎育子, 久保田菜月, 前田恵実, 香川大樹, 守山雅晃, 桑 明日香, 北村佳久, 浅沼幹人: 抗うつ薬ミルタザピンによるアストロサイトのメタロチオネイン発現誘導がもたらすドパミン神経保護. メタルバイオサイエンス研究会 2017, 岡山, 2017.10.13.
- 16) 磯岡奈未, 和田晃一, 宮崎育子, 古川智英子, 浅沼幹人: パーキンソン病モデルにおけるコーヒー成分の神経保護効果とメタロチオネイン発現誘導. メタルバイオサイエンス研究会 2017, 岡山, 2017.10.13-14.
- 17) 宮崎育子, 磯岡奈未, 菊岡 亮, 和田晃一, 北村佳久, 浅沼幹人: 農薬ロテノン暴露による腸管神経障害とコーヒー成分による神経保護. 第 11 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres (MDSJ), 品川, 2017.10.26-28.
- 18) Kikuoka, R., Miyazaki, I., Kubota, N., Maeda, M., Kagawa, D., Moriyama, M., Kume, A., Murakami, S., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Mirtazapine exerts astrocyte-mediated dopaminergic neuroprotection. 47th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2017), Washington, DC, 2017.11.11-15.
- 19) 浅沼幹人: アストロサイトを介した神経変性抑制. シンポジウム, Current Trends in Parkinson's Disease 2018, 東京, 2018.1.28.

#### 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



溶媒	control (H <sub>2</sub> O)	METH	MDMA	4FMP	PMMA	2CT-7	5MeO DMT	harmaline	harmine	control (DMSO+H <sub>2</sub> O)	
H <sub>2</sub> O	100	63	59	52	11	59	71	3	3	100	
アロマオイル	スウィートオレンジ	60 (100)	44 (73)	40 (68)	36 (61)	9 (16)	42 (78)	44 (82)	3 (6)	3 (4)	53 (100)
	ラベンダー	55 (100)	35 (63)	32 (58)	28 (51)	10 (18)	34 (86)	47 (120)	3 (6)	2 (4)	39 (100)
水溶性アロマ	グレープフルーツ	1.6 (100)	1.4 (90)	1.2 (80)	1.2 (76)	1.1 (72)	1.2 (137)	1.0 (117)	0.6 (70)	0.6 (41)	0.8 (100)
	ラベンダー	0.7 (100)	0.8 (113)	0.7 (94)	0.7 (91)	0.6 (78)	0.7 (145)	0.5 (119)	0.4 (83)	0.4 (56)	0.5 (100)

Fig. 1. ドラッグ入りアロマオイルからの水溶成分抽出液および水溶性アロマを用いた MAO 阻害活性検出。2 種類の天然抽出アロマオイル（スウィートオレンジアロマオイル、ラベンダーアロマオイル）各 50  $\mu$ l に、1 mM METH, MDMA, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline, harmine 溶液（METH, MDMA, 4FMP, PMMA, harmine は精製水で溶解、2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline は<0.2% DMSO 加精製水で溶解）を各 5  $\mu$ l 加えておいたものをドラッグ入りアロマオイルとした。これに、精製水 50  $\mu$ l を加えて攪拌し遠心して得た水溶成分抽出液を MAO 活性の発光検出システムに供した。また、精油を乳化剤に乳化させ親水性にした 2 種類の水溶性アロマ（グレープフルーツ、ラベンダー）各 50  $\mu$ l に、乱用ドラッグ 1 mM METH, MDMA, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 5MeO-DMT, harmaline, harmine 溶液を各 5  $\mu$ l 加え、激しく攪拌し溶解させた溶液をドラッグ入り水溶性アロマとした。アロマオイルあるいは水溶性アロマ中最終濃度として 100  $\mu$ M。上：MAO 活性を示す発光画像。下：MAO 活性を示す発光量の変化（%：精製水あるいは<0.2% DMSO 加精製水のみを 100% とした）。カッコ内はドラッグ無しアロマオイルあるいは水溶性アロマを 100% とした発光量%を示す。最上列にはアロマオイルあるいは水溶性アロマと混じていない精製水あるいは<0.2% DMSO 加精製水に溶解した各ドラッグの MAO 活性を示す。

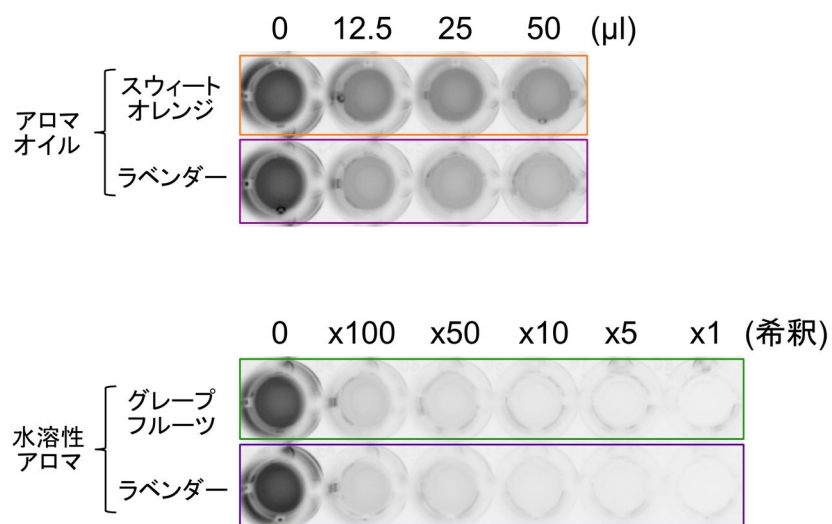


Fig. 2. アロマオイルからの水溶成分抽出液および水溶性アロマ自体の MAO 阻害活性の検出。上段：2 種類の天然抽出アロマオイル（スウィートオレンジアロマオイル、ラベンダーアロマオイル）各 0, 12.5, 25, 50  $\mu$ l に精製水 50  $\mu$ l を加えて攪拌し遠心して得た水溶成分抽出液を MAO 活性の発光検出システムに供した MAO 活性を示す発光画像。下段：2 種類の水溶性アロマ（グレープフルーツ、ラベンダー）を精製水で段階希釈して MAO 活性の発光検出システムに供した。