

平成 30 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)

危険ドラッグ及び関連代謝産物の有害作用解析
と乱用実態把握に関する研究

課題番号：H30-医薬-一般-004

研究報告書

平成 31 年 3 月

研究代表者：船田正彦

目次

平成 30 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) (課題番号: H30-医薬一般-004)

危険ドラッグ及び関連代謝産物の有害作用解析 と乱用実態把握に関する研究

I. 平成 30 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 30 年度 分担研究報告書		
研究-1: フェンタニル類縁化合物の中枢作用解析法に関する研究	-----	16
船田正彦 (国立精神・神経医療研究センター)		
研究-2: コンピュータシミュレーションによる危険ドラッグの		
有害性予測法に関する研究	-----	30
栗原正明 (国際医療福祉大学)		
研究-3: 危険ドラッグおよび類似物質の有害性簡易スクリーニング法の開発		
～神経炎症関連分子 HMGB1 を指標にして～	-----	34
浅沼幹人 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科)		
研究-4: 合成カンナビノイドの識別技術確立と代謝挙動に関する研究		
北市清幸 (岐阜薬科大学薬物動態学研究室)	-----	48
研究-5: 新規危険ドラッグの乱用実態把握のための効果的な調査手法の確立		
嶋根卓也 (国立精神・神経医療研究センター)	-----	64
III. 研究成果の刊行に関する一覧表		
	-----	80

総括研究報告書

危険ドラッグ及び関連代謝産物の有害作用解析と
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】

米国ではオピオイド系薬物の乱用が広がっており、「オピオイド・クライシス」として大きな社会問題となっている。その中には医薬品に加えて危険ドラッグとして、多種類のフェンタニル類縁化合物が流通している。WHO では、90 種類を超えるフェンタニル類縁化合物を要警戒対象としてリストアップしている。わが国では、合成カンナビノイドおよびカチノン系化合物は、依存性や細胞毒性等の強力な有害作用を示すため、既に包括指定等による規制がなされた。フェンタニル類縁化合物についても、包括指定の導入を検討する必要があると考えられる。また、合成カンナビノイドおよびカチノン系化合物についても、包括指定対象外の薬物の流通が台頭しており、現行の包括指定対象範囲については、再評価を行い範囲拡大等の対応が急務である。同様に、救急医療の現場での対応を考えた場合、危険ドラッグの検出に関しては、更なる検討が必要である。本研究では、フェンタニル類縁化合物の包括指定の可能性、カチノン系化合物検出手法に関する研究を実施した。また、合成カンナビノイドについては、生体からの検出を可能にするため、代謝産物の検出およびその機能解析を行った。また、危険ドラッグの乱用状況および周知に関する実態調査を実施し、危険ドラッグ対策手法策定に関する考察を行った。

【研究-1：フェンタニル類縁化合物の中樞作用解析法に関する研究】

新規精神活性物質であるフェンタニル類縁化合物 Cyclopropyl fentanyl (CF)、Methoxyacetyl fentanyl (Meth F)、ortho-Fluorofentanyl (OFF)、parafluoro butyrfentanyl (PFB)、paramethoxybutyrfentanyl (PMB) についてオピオイド受容体作用の解析並びに運動活性に対する影響を検討した。フェンタニル類縁化合物の投与により、用量依存的な運動促進作用が発現した。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬であるナロキソン前処置によって有意に抑制された。5 種類のフェンタニル類縁化合物の運動促進作用は、オピオイド受容体を介して発現する作用であることが明らかになった。また、CHO- μ 受容体発現細胞を利用して、5 種類のフェンタニル類縁化合物のオピオイド受容体作用強度を解析した。5 種類のフェンタニル類縁化合物の添加により、濃度依存的な蛍光発光が確認された。この作用は、 μ 受容体拮抗薬 (β -FNA) の前処置により完全に抑制された。5 種類のフェンタニル類縁化合物は μ 受容体を介して薬理作用が発現すると考えられる。薬物による運動活性と μ 受容体作用の強度についてその相関性を解析したところ、フェンタニル類縁化合物による運動促進作用の発現強度と μ 受容体作用の強度には正の相関性が認められた。フェンタニル類縁化合物はオピオイド μ 受容体に作用することから、CHO- μ 細胞を利用した蛍光強度解析データは、中樞作用の推測に利用できる可能性が示唆された。また、フェンタニルの基本化学構造を元に、包括指定対象範囲を定義で

きる可能性が示唆された。

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

危険ドラッグ及び関連化合物を速やかに規制するためには、それらの迅速な有害性評価法が必要である。それには、インシリコ活性予測法が有効である。本研究では、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ評価法を用いて危険ドラッグの活性予測を行い、危険ドラッグの規制、特に包括指定の範囲を決める等のデータを供するための新規評価法の開発を行うことを目的とする。これまでに、インシリコ活性予測法として主に構造活性相関(QSAR)を用いてきた。本年度はフェンタニル類縁化合物の QSAR モデル構築について検討した。オピオイド μ 受容体に対して活性値が既知である 9 種の化合物を用いて解析を行い、非常に相関性の高い QSAR モデルが得られた。QSAR 解析を利用することにより、フェンタニル類縁化合物の包括規制への展開が期待できる。

[研究-3: 危険ドラッグおよび類似物質の有害性簡易スクリーニング法の開発～神経炎症関連分子 HMGB1 を指標にして～]

危険ドラッグおよび覚せい剤など乱用薬物による神経障害において神経炎症は重要な役割を果たすと考えられる。核内 DNA 結合タンパク質 High mobility group box-1 (HMGB1) は、組織損傷時に細胞外へ放出され、RAGE、Toll-like receptor (TLR) に結合し炎症惹起に働く damage-associated molecular patterns (DAMPs) として知られている。本研究では、神経細胞毒性発現の共通の作用点となりうる神経炎症関連標的分子と想定される起炎物質 DAMPs の代表である HMGB1 に着目し、メタンフェタミン(METH)急性投与神経毒性モデルマウスにおける HMGB1 の発現動態ならびにドパミン(DA)神経毒性に対する抗 HMGB1 抗体の効果について検討した。神経毒性発現の陽性コントロールとなる BALB/c 系マウスへの METH 投与により、惹起されるモノアミン系神経障害に関連する高体温、DA トランスポーターの減少、DA 神経終末の脱落とともに、HMGB1 の末梢血中での増加ならびに線条体神経細胞での HMGB1 の核から細胞質への移行・放出がみられることを明らかにした。さらに抗 HMGB1 抗体の静脈内投与によりこれら METH 投与による HMGB1 血中濃度の上昇と神経細胞での核外移行、高体温、DA トランスポーターの減少、DA 神経終末の脱落を有意に抑制することができた。抗 HMGB1 抗体末梢投与によって METH による DAT の脱落およびミクログリアの活性化が抑制され、さらに脳内 HMGB1 の核外移行も抑制されたことから、抗 HMGB1 抗体には脳内の炎症を抑える可能性がある。また、末梢血中の HMGB1 が抗体により中和され、hyperthermia ならびに BBB の破綻が抑制されて、末梢からの起炎物質の侵入が軽減でき、これらが DA 神経終末の脱落抑制効果に関与することが考えられる。すなわち、抗 HMGB1 抗体が末梢で作用することによって METH による脳内神経毒性を抑制する可能性が示唆された。

[研究-4：合成カンナビノイドの識別技術確立と代謝挙動に関する研究]

合成カンナビノイド (SCs) の部分構造から入手困難な SCs 標準品を合成する適時供給体制が構築されたので、市販品と共にこの手法で合成された SCs を用い、以下の検討を行った。1) LCMS-IT-TOF による SCs の代謝物分析手法を用い、アダマンチル基の位置異性体構造を持つ 2 種の ATHPINACA 異性体 (ATHPINACA isomer 1、ATHPINACA isomer 2) におけるヒト肝ミクロソーム (HLMs) 代謝実験を行い、質量分析に基づく代謝物の識別および *in vitro* 代謝経路の推定を試みた。ATHPINACA 位置異性体 2 種はいずれも代謝半減期が非常に短く、摂取後の識別には代謝物の検出とその代謝プロファイル情報が必要であることが明らかになった。2) SCs 代謝物の *in vivo* 代謝挙動に関する知見を蓄積することを目的に、インダゾール環に導入されたペンチル鎖の構造異性体 2

種 (5F-CUMYL-PINACA、CUMYL-PINACA) について、動物実験系による *in vivo* 代謝実験を行った。5F-CUMYL-PINACA および CUMYL-PINACA は体温低下などの薬効を示す 0.3~0.5 mg/kg (iv) で実験を行った。両化合物の未変化体の尿中排泄は確認されず、*in vitro* 代謝実験で得られた主要代謝物もごく微量であった。よって、摂取 SCs の同定にはさらなる工夫が必要であることが考えられた。3) 高速液体クロマトグラフ(LC)–質量分析装置(MS)を用いた SCs 位置異性体 (FUB-JWH-018 とその異性体) のカラムによる分離と質量分析による識別法の開発を行った。SCs の構造類似化合物(異性体等)の識別を目指して、LC-MS 及びモデル化合物を用いた基礎研究を行い、FUB-JWH-018 とその異性体の識別が可能な系を確立した。なお、この評価系は、SCs を含む製品における位置異性体識別にも適用可能であった。

[研究-5：新規危険ドラッグの乱用実態把握のための効果的な調査手法の確立]

近年、大麻の使用形態に変化がみられる。従来の乾燥大麻や大麻樹脂に加えて、大麻ワックスや大麻リキッドといった有害成分を濃縮・抽出した製品や、大麻を食品に混入した大麻クッキーなどの新規形態の押収事例が報告されている。その一方で、国内における大麻乱用に関する疫学情報は生涯経験率等に限られており、新規形態の使用実態等については不明な点が多い。そこで、本研究では、関東地方で開催された音楽系の野外イベント来場者を対象に、携帯端末やタブレットを活用したオンライン調査を実施した。計 129 名より有効回答を得た。主な調査項目は、大麻使用の生涯経験および過去 1 年経験、大麻の使用回数、使用した大麻種別などであった。

- 1) 大麻の生涯経験率 (過去 1 年経験率) は、16.3% (5.4%) であった。
- 2) 大麻の使用回数は、数回 (7.0%)、数えきれない (6.2%)、1 回だけ (3.1%) であった。
- 3) 使用された大麻製品は、乾燥大麻 (14.0%)、大麻樹脂 (7.0%)、大麻クッキーなどの加工品 (3.1%)、大麻リキッド (2.3%)、大麻ワックス (1.6%) であった。
- 4) 北米の大麻合法化に対しては、「医療目的の解禁には賛成だが、嗜好目的は反対」という考えが最も多かった (43.4%)。

大麻の使用実態からは、乾燥大麻のみならず、大麻樹脂、大麻クッキーなどの加工品、大麻リキッド (電子タバコ)、大麻ワックスなど多岐にわたる新規形態の使用状況が明らかとなった。また、大麻の使用回数を「数えきれない」とする回答からは、薬物依存が疑われる反復使用者の存在が確認された。最後に、北米の大麻合法化に対しては、大麻を医療に用いることに対しては賛成する一方で、嗜好目的での解禁には反対する意見が最も多いことが明らかとなった。

結論：

(1) 本研究では、フェンタニル類縁化合物による運動活性に対する影響を検討した。フェンタニル類縁化合物の投与により、用量依存的な運動促進作用が発現した。薬物による運動活性と μ 受容体作用の強度についてその相関性を解析したところ、フェンタニル類縁化合物による運動促進作用の発現強度と μ 受容体作用の強度には正の相関性が認められた。フェンタニル類縁化合物はオピオイド μ 受容体に作用することから、CHO- μ 細胞を利用した蛍光強度解析データは、中枢作用の推測に利用できる可能性が示唆された。また、フェンタニルの基本化学構造を元に、包括指定対象範囲を定義できる可能性が示唆された。(2) コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ評価法を用いて危険ドラッグの活性予測を行なった。オピオイド μ 受容体作用強度を指標に、QSAR 解析を利用することにより、フェンタニル類縁化合物の包括規制への展開が期待できる。(3) また、HMGB1 は乱用薬物により惹起される神経細胞毒性発現の共通分子となりうる可能性がある。今後は、危険ドラッグ投与・添加による HMGB1 およびそのレセプター TLR の発現動態の変化について検討する

ことで、有害作用予測因子の有力な候補となるものと期待している。(4) 合成カンナビノイド(SCs)の代謝プロファイルの解析と異性体を含むSCsの解析法の確立に関する研究を行った。6種類のSCについて、LCによる全ての異性体のピーク分離と、MS/MSおよびIT-TOF-MSによる識別を達成した。一方、動物実験系におけるSCsの生体内代謝挙動の研究においては、尿中代謝物の同定が極めて困難であることが明らかになった。今後は、SCsの薬物動態学的情報を蓄積しながら、改善を進めていく予定である。(5) 音楽系の野外フェスティバルをフィールドとして、薬物乱用に関する実態調査を行った。大麻の使用実態からは、乾燥大麻のみならず、大麻樹脂、大麻クッキーなどの加工品、大麻リキッド(電子タバコ)、大麻ワックスなど多岐にわたる新規形態の使用状況が明らかとなった。また、大麻の使用回数を「数えきれない」とする回答からは、薬物依存が疑われる反復使用者の存在が確認された。本研究は、こうした大麻の新規形態の使用実態や大麻の合法化に関する考えについて調べた初めての報告である。ただし、対象者の代表性には限界があるため、今後は調査対象者を全国から無作為抽出した「薬物使用に関する全国住民調査」においても同様の実態把握を試みることが求められる。

本研究の危険ドラッグに関する機能評価から、その作用強度を解析する評価システムは、危険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包括的な規制根拠として活用できると考えられる。近年は、大麻の乱用拡大が顕著であることから、危険ドラッグ同等に乱用防止のために規制の在り方を再考し、再乱用防止(特に二次予防)の観点から一層の啓発が必要であろう。同時に、様々なイベントを通じて、危険ドラッグ、大麻等の薬物依存症からの回復へ向かうための対策が望まれる。

<p>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 室長</p>
<p>分担研究者：栗原正明 国際医療福祉大学 教授</p>
<p>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 脳神経機構学分野 教授</p>
<p>分担研究者：北市清幸 岐阜薬科大学 薬物動態学研究室 教授</p>
<p>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 室長</p>

A. 研究目的

危険ドラッグの流通は世界的な広がりを見せており、その乱用が大きな社会問題となっている。海外では、新規精神活性物質(New psychoactive substances, NPS)として分類されるものである。流通している危険ドラッグのタイプとしては、合成カンナビノイドやカチノン系化合物に加え、近年はフェンタニル類縁化合物などのオピオイド系薬物の台頭が深刻である。

危険ドラッグ蔓延における最大の問題点は、国内で流通する段階では、その多くが「未規制化合物」である点である。しかしながら、その作用は麻薬や覚せい剤と類似した効果を示すのである。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。同様に、カチノン系化合物についても、多種類の薬物が流通しており、平成25年12月より、カチノン系化合物の「包括規制」が導入された。一方、米国ではオキシコンチンなどのオピオイド系薬剤の過剰処方に基づく乱用が激増しており、安価なヘロイン乱用や強力な作用を有するフェンタニル乱用へ移行しており、「オピオイド・クライシス」の状況である。さらに、WHOでは、90種類を超えるフェンタニル類縁化合物が要警戒対象としてリストアップされている。わが国では、合成カンナビノイドおよびカチノン系化合物は、依存性や細胞毒性等の強力な有害作用を示すため、既に包括指定等による規制がなされたが、今後はフェンタニル類縁化合物についても、包括指定の導入を検討する必要があると考えられる。

本研究では、フェンタニル類縁化合物の行動薬理作用の解析を行い、作用点であるオピオイド μ 受容体作用強度との関連性を検討した。また、危険ドラッグを速やかに規制するためには、中枢作用の蓋然性に関する迅速な評価が必要である。それには、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ活性予測法が有効である。本年度は、量的構造活性相関(QSAR)法により、フェンタニル類縁化合物の化学構造とオピオイド μ 受容体活性強度について、活性予測解析を行った。一方、カチノン系化合物や合成カンナビノイドといった危険ドラッグが数多く流通していることから、各系統の危険ドラッグに着目し、迅速に毒性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。危険ドラッグおよび覚せい剤など乱用薬物による神経障害において神経炎症は重要な役割を果たすと考えられる。核内DNA結合タンパク質 High mobility group box-1 (HMGB1)は、組織損傷時に細胞外へ放出され、RAGE、Toll-like receptor (TLR)に結合し炎症惹起に働く damage-associated molecular patterns (DAMPs)として知られている。そこで、

本研究では、神経細胞毒性発現の共通の作用点となりうる神経炎症関連標的分子と想定される起炎物質 DAMPs の代表である HMGB1 に着目し、覚せい剤メタンフェタミン (METH) 急性投与神経毒性モデルマウスにおける HMGB1 の発現動態ならびに DA 神経毒性に対する抗 HMGB1 抗体の効果について検討した。

同様に、救急医療現場では、健康被害の原因となり得る危険ドラッグの生体からの検出が課題となっている。本研究では、合成カンナビノイドに着目し、摂取した合成カンナビノイドを類推する技術の確立を目指し、合成カンナビノイドの代謝物ならびに異性体検出法について検討した。

危険ドラッグの取締りにおいては、強化が進んでいる。しかしながら、取締りの強化により、危険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。危険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、フェンタニル類縁化合物の包括指定の実効性を検証する目的で、中枢興奮作用の発現における化学構造の特性について検討した。また、化学計算によるインシリコ評価法を用いてフェンタニル類縁化合物の活性予測を行った。同様に、危険ドラッグの検出手法を明確にする目的で、神経細胞毒性発現の共通の作用点となりうる神経炎症関連標的分子および合成カンナビノイドの代謝産物の検出手法に関する基盤研究を行なった。また、危険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、音楽系の野外フェスティバル参加者を対象に、危険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: フェンタニル類縁化合物の中枢作用解析法に関する研究]

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 室長

本研究では、新規精神活性物質であるフェンタニル類縁化合物 Cyclopropyl fentanyl (CF)、Methoxyacetyl fentanyl (Meth F)、ortho-Fluorofentanyl (OFF)、parafluorobutyrfentanyl (PFB)、paramethoxybutyrfentanyl (PMB) についてオピオイド受容体作用の解析、運動活性に対する影響を検討した。フェンタニル類縁化合物の投与により、用量依存的な運動促進作用が発現した。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬であるナロキソン前処置によって有意に抑制された。また、CHO- μ 受容体発現細胞を利用して、5 種類のフェンタニル類縁化合物のオピオイド受容体作用強度を解析した。5 種類のフェンタニル類縁化合物の添加により、濃度依存的な蛍光発光が確認された。この作用は、 μ 受容体拮抗薬 (β -FNA) の前処置により完全に抑制された。5 種類のフェンタニル類縁化合物は μ 受容体を介して薬理作用が発現すると考えられる。薬物による運動活性と μ 受容体作用の強度についてその相関性を解析したところ、フェンタニル類縁化合物による運動促進作用の発現強度と μ 受容体作用の強度には正の相関性が認められた。

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

栗原正明

国際医療福祉大学 教授

本研究では、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ評価法を用いて危険ドラッグの活性予測を行い、危険ドラッグの規制、特に包括指定の範囲を決める等のデータを供

するための新規評価法の開発を行うことを目的とする。フェンタニル類縁化合物の活性予測を2D-QSAR（定量的活性相関）で行った。化学計算パッケージ MOE（CCG社）を用いた。オピオイド μ 受容体に対する活性強度が既知の9化合物を用いた。活性値はオピオイド μ 受容体に対する EC_{50} を用いた。解析の結果、非常に相関性の高い QSAR モデルが得られた ($r^2=0.92$)。

[研究-3：危険ドラッグおよび類似物質の有害性簡易スクリーニング法の開発～神経炎症関連分子 HMGB1 を指標にして～]

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

脳神経機構学分野 教授

危険ドラッグおよび覚せい剤など乱用薬物による神経障害において神経炎症は重要な役割を果たすと考えられる。核内 DNA 結合タンパク質 High mobility group box-1 (HMGB1) は、組織損傷時に細胞外へ放出され、RAGE、Toll-like receptor (TLR) に結合し炎症惹起に働く damage-associated molecular patterns (DAMPs) として知られている。本研究では、神経細胞毒性発現の共通の作用点となりうる神経炎症関連標的分子と想定される起炎物質 DAMPs の代表である HMGB1 に着目し、覚せい剤メタンフェタミン (METH) 急性投与と神経毒性モデルマウスにおける HMGB1 の発現動態ならびにドパミン (DA) 神経毒性に対する抗 HMGB1 抗体の効果について検討した。

神経毒性発現の陽性コントロールとなる BALB/c 系マウスへの METH 投与により、惹起されるモノアミン系神経障害に関連する高体温、DA トランスポーターの減少、DA 神経終末の脱落とともに、HMGB1 の末梢血中での増加ならびに線条体神経細胞での HMGB1 の核から細胞質への移行・放出がみられることを明らかにした。さらに抗 HMGB1 抗体の静脈内投与によりこれら METH 投与による

HMGB1 血中濃度の上昇と神経細胞での核外移行、高体温、DA トランスポーターの減少、DA 神経終末の脱落を有意に抑制することができた。

[研究-4：合成カンナビノイドの識別技術確立と代謝挙動に関する研究]

北市清幸

岐阜薬科大学

薬物動態学研究室 教授

合成カンナビノイド (SCs) の部分構造から入手困難な SCs 標準品を合成する適時供給体制を構築し、市販品と共にこの手法で合成された SCs を用い3 課題について検討を行った。1) LCMS-IT-TOF による SCs の代謝物分析手法を用い、アダマンチル基の位置異性体構造を持つ 2 種の ATHPINACA 異性体

(ATHPINACA isomer 1、ATHPINACA isomer 2) におけるヒト肝ミクロソーム (HLMs) 代謝実験を行い、質量分析に基づく代謝物の識別および *in vitro* 代謝経路の推定を試みた。また、2) SCs 代謝物の *in vivo* 代謝挙動に関する知見を蓄積することを目的に、インダゾール環に導入されたペンチル鎖の構造異性体 2 種 (5F-CUMYL-PINACA、CUMYL-PINACA) について、動物実験系による *in vivo* 代謝実験を行った。さらに、3) 高速液体クロマトグラフ (LC) - 質量分析装置 (MS) を用いた SCs 位置異性体 (FUB-JWH-018 とその異性体) のカラムによる分離と質量分析による識別法の開発を行った。

1) ATHPINACA 位置異性体 2 種はいずれも代謝半減期が非常に短く、摂取後の識別には代謝物の検出とその代謝プロファイル情報が必要であることが明らかになった。なお、両化合物の主要代謝経路はアダマンチル基への速やかな水酸基の導入であり、代謝反応 3 時間後の主要代謝物は、isomer 1 では二水酸化体、isomer 2 では一水酸化体であることが明らかとなった。なお、両 isomer の未変化体および主要代謝物のプロトン付加分子から生成

されるプロダクトイオンには明確な違いがあり、ATHPINACA 位置異性体 2 種の識別は、未変化体、主要代謝物のいずれの検出によっても可能であることが示唆された。2) 5F-CUMYL-PINACA および CUMYL-PINACA は体温低下などの薬効を示す 0.3~0.5 mg/kg (iv)で実験を行った。両化合物の血中濃度を測定し、PK 解析を行った結果、2-コンパートメントモデルにより、両化合物の薬物動態学的パラメーターを導けることが明らかになった。しかし、両化合物の未変化体の尿中排泄は確認されず、*in vitro* 代謝実験で得られた主要代謝物もごく微量であった。よって、摂取 SCs の同定にはさらなる工夫が必要であることが考えられた。また、3) では SCs の構造類似化合物 (異性体等) の識別を目指して、LC-MS 及びモデル化合物を用いた基礎研究を行い、FUB-JWH-018 とその異性体の識別が可能な系を確立した。なお、この評価系は、SCs を含む製品における位置異性体識別にも適用可能であった。

[研究-5: 新規危険ドラッグの乱用実態把握のための効果的な調査手法の確立]

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 室長

近年、大麻の使用形態に変化がみられる。従来の乾燥大麻や大麻樹脂に加えて、大麻ワックスや大麻リキッドといった有害成分を濃縮・抽出した製品や、大麻を食品に混入した大麻クッキーなどの新規形態の押収事例が報告されている。その一方で、国内における大麻乱用に関する疫学情報は生涯経験率等に限定されており、新規形態の使用実態等については不明な点が多い。そこで、本研究では、音楽系の野外イベント参加者を対象に、大麻の新規形態を含む使用実態について調べることを目的とした。本研究を通じて、新規危険ドラッグの乱用実態把握のための効果的な調査

手法を確立させる。

関東地方で開催された音楽系の野外イベント来場者を対象に、携帯端末やタブレットを活用したオンライン調査を実施した。計 129 名より有効回答を得た。主な調査項目は、大麻使用の生涯経験および過去 1 年経験、大麻の使用回数、使用した大麻種別などであった。調査より、以下の結果を得た。

1. 大麻の生涯経験率 (過去 1 年経験率) は、16.3% (5.4%) であった。
2. 大麻の使用回数は、数回 (7.0%)、数えきれない (6.2%)、1 回だけ (3.1%) であった。
3. 使用された大麻種別は、乾燥大麻 (14.0%)、大麻樹脂 (7.0%)、大麻クッキーなどの加工品 (3.1%)、大麻リキッド (2.3%)、大麻ワックス (1.6%) と続いた。
4. 北米の大麻合法化に対しては、「医療目的の解禁には賛成だが、嗜好目的は反対」という考えが最も多かった (43.4%)。

大麻の使用実態からは、乾燥大麻のみならず、大麻樹脂、大麻クッキーなどの加工品、大麻リキッド (電子タバコ)、大麻ワックスなど多岐にわたる新規形態の使用状況が明らかとなった。また、大麻の使用回数を「数えきれない」とする回答からは、薬物依存が疑われる反復使用者の存在が確認された。

C. 考察

1. フェンタニル類縁化合物の中枢作用解析法に関する研究

本研究により、フェンタニル類縁化合物は強力な中枢興奮作用を有することが明らかになった。5 種類のフェンタニル類縁化合物 CF、Meth F、OFF、PFB、PMB の乱用により、重篤な健康被害の発生が危惧される。本研究から、5 種類のフェンタニル類縁化合物はオピオイド μ 受容体を介して中枢興奮作用を示し、高濃度では細胞毒性を示すことから、乱用に

より健康被害を示す危険性があると考えられる。フェンタニル類縁化合物はオピオイド μ 受容体に作用することから、CHO- μ 細胞を利用した蛍光強度解析データは、有害作用の推測に利用できる可能性が示唆された。また、FN の基本化学構造を元に、包括指定対象範囲を定義できる可能性が示唆された。

2. コンピュータシミュレーションによる危険ドラッグの有害性予測法に関する研究

危険ドラッグ及び関連化合物を速やかに規制するためには、それらの迅速な評価法が必要である。それには、インシリコ活性予測法が有効である。本研究では、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ評価法を用いて危険ドラッグの活性予測を行い、危険ドラッグの規制、特に包括指定の範囲を決める等のデータを供するための新規評価法の開発を行うことを目的とする。これまでに、インシリコ活性予測法として主に構造活性相関(QSAR)を用いてきた。本年度はフェンタニル類縁化合物のQSARモデル構築について検討した。オピオイド μ 受容体に対して活性値が既知である9種の化合物を用いて解析を行い、非常に相関性の高いQSARモデルが得られた。QSAR解析を利用することにより、フェンタニル類縁化合物の包括規制への展開が期待できる。

3. 危険ドラッグおよび類似物質の有害性簡易スクリーニング法の開発～神経炎症関連分子 HMGB1 を指標にして～

抗 HMGB1 抗体末梢投与によって METH による DAT の脱落およびミクログリアの活性化が抑制され、さらに脳内 HMGB1 の核外移行も抑制されたことから、抗 HMGB1 抗体には脳内の炎症を抑える可能性がある。また、抗 HMGB1 抗体投与によって脳内へのアルブミン流入を減少させることができたため、末梢血中の HMGB1 が抗体により中和され、

hyperthermia ならびに BBB の破綻が抑制されて、末梢からの起炎物質の侵入が軽減でき、これらが DA 神経終末の脱落抑制効果に関与することが考えられる。すなわち、抗 HMGB1 抗体が末梢で作用することによって METH による脳内神経毒性を抑制する可能性が示唆された。しかし、本研究では抗 HMGB1 抗体の脳室内投与あるいは脳内投与を行っていないため、末梢での作用に基づくという確証を得ることができていない。この点に関しては今後の課題としたい。本研究結果は、HMGB1 が METH 急性神経毒性に関与していることを明らかにしたとともに、HMGB1 が METH 急性神経毒性緩和の標的となりうることを示した。

4. 合成カンナビノイドの識別技術確立と代謝挙動に関する研究

本研究を通じ、SCs の代謝プロファイルをさらに蓄積することが出来た。この結果の応用は摂取マーカーとなりうる代謝物を予測し、素早い危険ドラッグの法的規制や使用者の摘発に一定の貢献をすることが期待される。

一方、合成カンナビノイドの代謝物同定においては異性体等の構造類似化合物の可能性を考慮しつつ、親化合物同定する必要があるが、市販標準化合物の整備が間に合わず、代謝物分析時の異性体識別情報は村上らによる報告がなされているものの、希少であった。モデル化合物6種を用いて、LC による全ての異性体のピーク分離と、MS/MS および IT-TOF-MS による識別を達成した。今後は、我々が開発した構造識別手法のアミド型、エステル型合成カンナビノイドへの適用拡大を試みるとともに、実際の生体試料においても親化合物の構造識別に耐えうることを実証する必要がある。一方で、動物実験系における SCs の生体内代謝挙動の研究が、SCs の大量合成技術を用いることにより本年度から可能となったが、想定とは異なり、尿中代謝物の同定が極めて困難であることが明らかになった。

他の SCs についても合成を行い、SCs の薬物動態学的情報を蓄積しながら、この状況を理解してきたいと考えている。薬物検査に最も汎用される GC-MS/MS 装置を用いた本法は、実用性が高く、臨床検査機関、公的検査機関及び捜査機関における薬物検査において、誤同定の防止に資するものといえる。

5. 新規危険ドラッグの乱用実態把握のための効果的な調査手法の確立

大麻の使用実態からは、乾燥大麻のみならず、大麻樹脂、大麻クッキーなどの加工品、大麻リキッド（電子タバコ）、大麻ワックスなど多岐にわたる新規形態の使用状況が明らかとなった。また、大麻の使用回数を「数えきれない」とする回答からは、薬物依存が疑われる反復使用者の存在が確認された。最後に、北米の大麻合法化に対しては、大麻を医療に用いることに対しては賛成する一方で、嗜好目的での解禁には反対する意見が最も多いことが明らかとなった。今後は、全国住民調査などで国民全体の考えを調べていく必要がある。本研究は、こうした大麻の新規形態の使用実態や大麻の合法化に関する考えについて調べた初めての報告である。ただし、対象者の代表性には限界があるため、今後は調査対象者を全国から無作為抽出した「薬物使用に関する全国住民調査」においても同様の実態把握を試みることが求められる。

D. 結論

本研究では、新規危険ドラッグのフェンタニル類縁化合物は、中枢興奮作用と細胞毒性を有するため、乱用による健康被害の発生が危惧されることが明らかになった。フェンタニル類縁化合物の有害作用の発現については、基本化学構造から推測できる可能性が明らかになり、包括指定の新たな対象とすることが可能であると考えられる。コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ評価法を用い

て危険ドラッグの活性予測を行なった。フェンタニル類縁化合物については、2D-QSAR（定量的活性相関）法で有害性を予測できることを明らかにした。

毒性評価に関する研究として、HMGB1 は乱用薬物により惹起される神経細胞毒性発現の共通分子となりうる可能性がある。今後は、危険ドラッグ投与・添加による HMGB1 およびそのレセプター TLR の発現動態の変化について検討することで、有害作用予測因子の有力な候補となるものと期待している。合成カンナビノイド（SCs）の代謝プロファイルの解析と異性体を含む SCs の解析法の確立に関する研究を行った。6 種類の SC について、LC による全ての異性体のピーク分離と、MS/MS および IT-TOF-MS による識別を達成した。

音楽系の野外フェスティバルをフィールドとして、危険ドラッグ乱用に関する実態調査を行った。大麻の使用実態からは、乾燥大麻のみならず、大麻樹脂、大麻クッキーなどの加工品、大麻リキッド（電子タバコ）、大麻ワックスなど多岐にわたる新規形態の使用状況が明らかとなった。また、大麻の使用回数を「数えきれない」とする回答からは、薬物依存が疑われる反復使用者の存在が確認された。本研究は、こうした大麻の新規形態の使用実態や大麻の合法化に関する考えについて調べた初めての報告である。ただし、対象者の代表性には限界があるため、今後は調査対象者を全国から無作為抽出した「薬物使用に関する全国住民調査」においても同様の実態把握を試みることが求められる。

本研究の危険ドラッグに関する機能評価から、その作用強度を解析する評価システムは、危険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包括的な規制根拠として活用できると考えられる。近年は、大麻の乱用拡大が顕著であることから、危険ドラッグ同等に乱用防止のために規制の在り方を再考し、再乱用防止（特に二次予防）の観点から一層の

啓発が必要であろう。同時に、様々なイベントを通じて、危険ドラッグ、大麻等の薬物依存症からの回復へ向かうための対策が望まれる。

E. 健康危険情報

本研究は、危険ドラッグ及び大麻の中樞作用、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) Funada M, Takebayashi-Ohsawa M.: Synthetic cannabinoid AM2201 induces seizures: Involvement of cannabinoid CB1 receptors and glutamatergic transmission. *Toxicol Appl Pharmacol.* 338:1-8, 2018.
- 2) 船田正彦: 米国の大麻規制と薬物乱用防止. *日本薬剤師会雑誌.* 71(2), 75, 2019.
- 3) 船田正彦: 薬物依存の分子機構. *Clinical Neuroscience*, 36:1437-1440, 2018.
- 4) 栗原正明: in silico 計算毒性評価のための QSAR 手法の活用法 in silico 創薬におけるスクリーニングの高速化・高精度化技術, 技術情報協会, 1,31, 261-267, 2018.
- 5) Eto R, Misawa T, Noguchi-Yachide T, Ohoka N, Kurihara M, Naito M, Tanaka M, Demizu Y.; Design and synthesis of estrogen receptor ligands with a 4-heterocycle-4-phenylheptane skeleton. *Bioorg Med Chem.*, 26, 30060-30069, 2018.
- 6) K. Okitsu, T. Hattori, T. Misawa, T. Shoda, M. Kurihara, M. Naito, Y. Demizu; Development of a small hybrid molecule that mediates degradation of His-tag fused proteins. *J Med Chem.*, 2018, 61, 576-582, 2018.
- 7) Tsuji G, Hattori T, Kato M, Hakamata W, Inoue H, Naito M, Kurihara M, Demizu Y, Shoda T.; Design and synthesis of cell-permeable fluorescent nitrilotriacetic acid derivatives. *Bioorg Med Chem.*, 26, 5494-5498, 2018.
- 8) Misawa T, Tsuji G, Takahashi T, Ochiai E, Takagi KI, Horie K, Kakuda S, Takimoto-Kamimura M, Kurihara M, Demizu Y.; Structural development of non-secosteroidal vitamin D receptor (VDR) ligands without any asymmetric carbon. *Bioorg Med Chem.*, 26, 6146-6152, 2018.
- 9) Murakami, S., Miyazaki, I., Asanuma, M.: Neuroprotective effect of fermented papaya preparation by activation of Nrf2 pathway in astrocytes. *Nutr. Neurosci.*, 21 (3): 176-184, 2018.
doi.org/10.1080/1028415X.2016.1253171.
- 10) Tanaka, K., Yagi, T., Nanba, T., Asanuma, M.: Application of single prolonged stress induces post-traumatic stress disorder-like characteristics in mice. *Acta Med. Okayama*, 72 (5): 479-485, 2018.
- 11) Nakamura, Y., Kitamura, Y., Sumiyoshi, Y., Naito, N., Kan, S., Ushio, S., Miyazaki, I., Asanuma, M., Sendo, T.: Involvement of 5-HT2A receptor hyperfunction in the anxiety-like behavior induced by doxorubicin and cyclophosphamide combination treatment in rats. *J. Pharmacol. Sci.*, 138(3): 192-197, 2018. doi: 10.1016/j.jphs.2018.10.001
- 12) Asanuma, M., Okumura-Torigoe, N., Miyazaki, I., Murakami, S., Kitamura, Y., Sendo, T.: Region-specific neuroprotective features of astrocytes against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(3): 598, 2019. doi:10.3390/ijms20030598
- 13) Chikumoto T., Furukawa R., Kohyama E., Suenami K., Nagai H., Tada H., Kawashima H., Kadomura N., Soda M., Kitaichi K., Ito T. Liquid chromatography-mass spectrometry studies on the isomeric 1-fluorobenzyl-3-naphthoyl-indoles: FUB-JWH-018 and five isomers. *Forensic Toxicology* DOI: 10.1007/s11419-018-0442-9, 2018.
- 14) 嶋根卓也: 過量服薬に対する薬剤師の役

- 割. 臨床精神薬理. 22(3), 2019. 印刷中
- 15) Tanibuchi Y, Matsumoto T, Funada D, Shimane T: The influence of tightening regulations on patients with new psychoactive substance-related disorders in Japan. *Neuropsychopharmacol Rep.* 38(4), 189-196, 2018.
 - 16) 嶋根卓也, 今村顕史, 池田和子, 山本政弘, 辻麻理子, 長与由紀子, 松本俊彦: 薬物使用経験のある HIV 陽性者において危険ドラッグ使用が服薬アドヒアランスに与える影響、日本エイズ学会雑誌 20(1):32-40, 2018.
 - 17) 佐々木真人, 堀岡広稔, 村岡謙行, 長崎大武, 田村昌士, 西村直祐, 長田良和, 戸田憲, 宮田祥一, 西森康夫, 嶋根卓也: 薬局薬剤師を対象としたゲートキーパー研修会が知識・自己効力感・臨床行動に与える影響, 日本薬剤師会雑誌, 70(7):849-857, 2018.
 - 18) 嶋根卓也: 日本における薬物乱用のモニタリング調査と回復支援プログラムについて. *龍谷法学* 50(3): 1805-1812, 2018.
 - 19) 嶋根卓也: 【IV. 知っておきたい! 生活サポート&性教育】40 薬物乱用. *小児科* 50(5)4 月臨時増刊号「思春期を診る!」: 774-780, 2018.
 - 20) 嶋根卓也: 薬物乱用防止の最前線: 薬剤師に知ってほしいこと. *Excellent Pharmacy* 5月1日号, pp11-13, 2018.
 - 21) 嶋根卓也: 薬物乱用防止における薬剤師の役割. *ファルマシア* 54(6): 541-543, 2018.
 - 22) 嶋根卓也: 「NO」と言えない子どもたちー酒・タバコ・クスリと援助希求. *こころの科学* №202:47-51, 2018.
 - 23) 嶋根卓也: 薬物使用の最新動向: 大麻からエナジードリンクまで. *KNOW NEWS LETTER* 99号, p2-5, 2018.
 - 24) 嶋根卓也, 松本俊彦: 2. 評価尺度の解説 (2) 薬物使用障害の評価尺度. *新アルコール・薬物使用障害の診断治療ガイドライン*, 第1章 総論II 診断総論, 新興医学出版社, 東京, pp11-13, 2018.
 - 25) 嶋根卓也, 松本俊彦: 2. 薬物乱用・依存の疫学. *新アルコール・薬物使用障害の診断治療ガイドライン*, 第1章 総論 IV 疫学, 新興医学出版社, 東京, pp28-31, 2018.
2. 学会発表
 - 1) Funada, M., Takebayashi-Ohsawa, K, Tomiyama, K.: Synthetic cannabinoid AM2201 induces epileptic seizures by enhancing glutamatergic transmission in the hippocampus. College on problems of drug dependence (CPDD) 80th Annual scientific meeting, San Diego, CA, USA., 2018.6.11-16.
 - 2) Funada, M., Tomiyama, K.: Establishment of screening method for selective NMDA receptor antagonist using HEK-293 cell line expressing NR1/NR2B. College on problems of drug dependence (CPDD) 80th Annual scientific meeting, San Diego, CA, USA., 2018.6.11-16.
 - 3) 竹林美佳, 舩田正彦: 合成カンナビノイド AM2201 による痙攣発現の解明: グルタミン酸神経系の役割. 第48回日本神経精神薬理学会. 東京. 2018年11月14-16日.
 - 4) 荒井裕美子, 湯山円晴, Ciloy, Jose, 金谷貴行, 本間正充, 栗原正明: 構造類似性に基づいたインシリコ変異原性予測法の開発. 日本薬学会第139年会. 千葉. 2019年3月21-23日.
 - 5) 2) 湯山円晴, 松崎汐里, 原田裕章, 金谷貴行, 栗原正明: QSAR 及びドッキングスタディによるカンナビノイド受容体リガンドの活性評価. 日本薬学会第139年会. 千葉. 2019年3月21-23日.
 - 6) 浅沼幹人, 宮崎育子: アストロサイトの亜鉛関連分子を標的とした神経病態修飾薬. *Disease-modifying drugs for neurodegenerative diseases targeting*

- zinc-related molecules in astrocytes.
日本薬学会第 138 年会シンポジウム: 認知機能から神経疾患—日韓によるニューロジンクとその関連分子からの新展開—, 金沢, 2018.3.27.
- 7) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 船越英丸, Kyle Quin, 禅正和真, 村上真樹, 竹島美香, 三好 耕, 浅沼幹人: 妊娠・授乳期におけるエポキシ樹脂曝露の新生仔マウス脳への影響. 第 123 回日本解剖学会総会, 東京, 2018.3.28-30.
 - 8) Miyazaki, I., Kikuoka, R., Isooka, N., Murakami, S., Kitamura, Y., Asanuma, M.: Possible involvement of metallothionein in rotenone-induced dopaminergic neurotoxicity. 第 59 回日本神経学会学術大会, 札幌, 2018.5.23-26.
 - 9) Naito, N., Kitamura, Y., Nakamura, Y., Sumiyoshi, Y., Kan, S., Miyazaki, I., Asanuma, M., Sendo, T.: Involvement of enhanced 5-HT_{2A} receptor function on doxorubicin and cyclophosphamide-induced anxiety-like behavior in rats. 31st The International College of Neuropsychopharmacology (CINP World Congress), Vienna, Austria, 2018.6.16-19.
 - 10) Kitamura, Y., Okada, A., Hongo, S., Otsuki, K., Miki, A., Miyazaki, I., Asanuma, M., Sendo, T.: Influence of benzodiazepine medications and GABA_A receptor function on the pentobarbital-induced sleep behavior of lipopolysaccharide-treated mice. 31st The International College of Neuropsychopharmacology (CINP World Congress), Vienna, Austria, 2018.6.16-19.
 - 11) 宮崎育子, 磯岡奈未, 菊岡 亮, 和田晃一, 中山恵利香, 進 浩太郎, 山本大地, 北村佳久, 浅沼幹人: ロチゴチンによるアストロサイトのセロトニン 1A レセプターを標的としたドパミン神経保護. 第 12 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres (MDSJ), 京都, 2018.7.5-7.
 - 12) 黒田啓太, 磯岡奈未, 菊岡 亮, 村上真樹, 大熊 佑, 宮崎育子, 劉 克約, 西堀正洋, 浅沼幹人: メタンフェタミン神経毒性に対する HMGB1 抗体の保護効果. 第 29 回創薬・薬理フォーラム, 岡山, 2018.7.14.
 - 13) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 中山恵利香, 進 浩太郎, 山本大地, Quin E. Kyle, 船越英丸, 禅正和真, 浅沼幹人: 母体へのエポキシ樹脂 BADGE 曝露が新生仔マウス脳にもたらす影響. 第 45 回日本毒性学会学術年会, 大阪, 2018.7.18-20.
 - 14) 浅沼幹人: アストロサイトの抗酸化防御機構を標的とした神経保護薬探索と末梢先行性のパーキンソン病病態におけるグリア細胞. 特別講演, 第 29 回霧島神経薬理フォーラム, 由布市, 2018.8.18.
 - 15) Asanuma, M., Miyazaki, I., Isooka, N., Kikuoka, R., Wada, K., Nakayama, E., Shin, K., Yamamoto, D., Kitamura, Y.: Rotigotine protects dopaminergic neurons by targeting serotonin 1A receptors on astrocytes. 22nd International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Hong Kong, China, 2018.10.5-9.
 - 16) Miyazaki, I., Isooka, N., Kikuoka, R., Wada, K., Kitamura, Y., Asanuma, M.: Neuroprotective effects of coffee ingredients against rotenone induced neurodegeneration in parkinsonian model. 22nd International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Hong Kong, China, 2018.10.5-9.
 - 17) 浅沼幹人, 宮崎育子, 禅正和真, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 新居 麗, 園部奏生, 船越英丸, 中山恵利香, 進 浩太郎, 山本大地, Kyle Quin: 妊娠・授乳期エポキシ樹脂曝露産仔マウス脳への影響に関する組織学的・行動学的検討. 日本解剖学会第 73 回中国・四国支部学術集会, 徳島, 2018.10.20-21.
 - 18) 磯岡奈未, 和田晃一, 古川智英子, 宮崎育子, 浅沼幹人: パーキンソン病モデル

- マウスにおけるメタロチオネインを介したカフェイン酸、クロロゲン酸の神経保護効果. メタルバイオサイエンス研究会 2018, 仙台, 2018.11.16.
- 19) 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 5-HT1A 受容体を介したメタロチオネイン発現誘導とドパミン神経保護. メタルバイオサイエンス研究会 2018, 仙台, 2018.11.16.
 - 20) 宮崎育子, 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を標的とした神経保護. メタルバイオサイエンス研究会 2018 シンポジウム: メタロチオネイン研究の最新動向, 仙台, 2018.11.17.
 - 21) 磯岡奈未, 和田晃一, 古川智英子, 宮崎育子, 浅沼幹人: ロテノン誘発神経毒性に対するカフェイン酸, クロロゲン酸の神経保護効果. 第 134 回日本薬理学会近畿部会, 神戸, 2018.11.23.
 - 22) 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: 抗鬱薬ミルタザピンの神経-グリア連関を介したドパミン神経保護効果. 第 134 回日本薬理学会近畿部会, 神戸, 2018.11.23.
 - 23) 首村菜月, 古川諒一, 川島英頌, 松久貴哉, 曾田翠, 神山恵理奈, 筑本貴郎, 永井宏幸, 伊藤哲朗, 北市清幸. LCMS-IT-TOF を用いた危険ドラッグ成分 ATHPINACA の位置異性体識別および代謝物の推定. 第 64 回日本薬学会東海支部 総会・大会, 愛知, 2018 年 6 月 30 日.
 - 24) 伊藤哲朗, 首村菜月, 松久貴哉, 川島英頌, 神山恵理奈, 曾田翠, 筑本貴郎, 永井宏幸, 船田正彦, 北市清幸. 危険ドラッグ蔓延防止に向けた岐阜県における取り組み(3): 合成カンナビノイド代謝物の同定と異性体の構造識別. 第 53 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 横浜, 2018 年 9 月 8-10 日.
 - 25) 筑本貴郎, 首村菜月, 古川諒一, 川島英頌, 松久貴哉, 神山恵理奈, 永井宏幸, 曾田翠, 北市清幸, 伊藤哲朗. LC-MS を用いた危険ドラッグの異性体識別-FUB-JWH-018 について-. 第 55 回全国衛生化学技術協議会年会, 奈良, 2018 年 11 月 29-30 日.
 - 26) 伊藤哲朗, 神山恵理奈, 川島英頌, 首村菜月, 松久貴哉, 曾田翠, 筑本貴郎, 永井宏幸, 松永俊之, 原英彰, 北市清幸. 岐阜危険ドラッグ解析技術連携協議会の取り組みについて (第三報). 第 51 回東海薬剤師学会, 静岡, 2018 年 12 月 2 日.
 - 27) 伊藤哲朗, 神山恵理奈, 筑本貴郎, 永井宏幸, 川島英頌, 首村菜月, 松久貴哉, 曾田翠, 北市清幸. 指定薬物の同定を目指した官学連携による基礎研究について. 平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部衛生化学部会, 岐阜, 2019 年 1 月 31 日-2 月 1 日.
 - 28) Kadomura N., Kawashima H., Matsuhisa T., Soda M., Kohyama E., Chikumoto T., Nagai H., Ito T., Kitaichi K. The isomeric discrimination and investigation of the metabolic profiles of synthetic cannabinoids. ASEAN-CINP, Yogyakarta, Indonesia, Feb 28.- Mar. 2.
 - 29) Shimane T, Wada K, Qiu D : Prevalence of binge drinking and association with substance use : A cross-sectional nationwide general population survey in Japan. 19th World Congress of International Society for Biomedical Research on Alcoholism(ISBRA2018), Kyoto, Japan, 2018.9.12
 - 30) Shimane T, Tani M, Yamaki M, Kobayashi M, Kondo A, Takahashi M : Methamphetamine users in Japanese prisons : Comorbid hazardous alcohol consumption . 19th World Congress of International Society for Biomedical Research on Alcoholism(ISBRA2018), Kyoto, Japan, 2018.9.12
 - 31) Yamaki M, Takeshita Y, Takahashi M,

- Kondo A, Shimane T : Prevalence and correlates of adverse childhood experience(aces)among methamphetamine users in Japanese prison . 19th World Congress of International Society for Biomedical Research on Alcoholism(ISBRA2018), Kyoto, Japan, 2018.9.11
- 32) Shimane T : Drug use and addiction in Japan: Increase and decrease with new psychoactive substances . The 20th International Society of Addiction Medicine Annual Meeting(ISAM BUSAN 2018), Busan, Republic of Korea, 2018..11.4.
- 33) 嶋根卓也, 近藤あゆみ, 米澤雅子, 近藤恒夫, 松本俊彦 : 民間支援団体利用者のコホート調査と支援の課題に関する研究 (第二報). シンポジウム 33 刑の一部執行猶予制度施行後における薬物依存症地域支援の現状と課題. 第 114 回日本精神神経学会学術総会, 兵庫, 2018.6.21.
- 34) 大西真由美, 尾崎敬子, 嶋根卓也 : 国際保健と疫学～フィールドとアカデミアをつなぐために. 第 33 回日本国際保健医療学会学術大会シンポジウム, 東京, 2018.12.1.
- 35) 嶋根卓也 : 危険ドラッグ問題の行方 : 全国住民調査 2015 年の結果より. 第 22 回埼玉県薬剤師会学術大会, 埼玉, 2016.11.6.
- 36) 和田清, 合川勇三, 森田展彰, 嶋根卓也 : 薬物乱用・依存症者における HIV・HCV 等感染状況と感染ハイリスク行動に関する研究. 平成 29 年度日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 神奈川, 2017.9.9.
- 37) 嶋根卓也, 邱冬梅, 和田清 : 一般住民におけるカフェイン製剤使用状況と薬物使用との関連 : 薬物使用に関する全国住民調査より. 平成 30 年度日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 京都, 2018.9.10.
- 38) 嶋根卓也, 邱冬梅, 和田清 : 一般住民におけるエナジードリンク使用状況と薬物使用との関連 : 薬物使用に関する全国住民調査より. 平成 30 年度日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 京都, 2018.9.10.
- 39) 嶋根卓也, 邱冬梅, 和田清 : 一般住民における大麻使用の増加 : 薬物使用に関する全国住民調査より. 平成 30 年度日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 京都, 2018.9.10.
- 40) 引土絵未, 岡崎重人, 加藤隆, 山本大, 山崎明義, 松本俊彦, 嶋根卓也 : 回復支援施設における TC エンカウンター・グループの適用に関する研究. 平成 30 年度日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 京都, 2018.9.10.
- 41) 嶋根卓也, 今村顕史, 池田和子, 山本政弘, 辻麻理子, 長与由紀子, 松本俊彦 : 薬物使用経験のある HIV 陽性者における亜硝酸エステル使用が服薬アドヒアランスに与える影響. 第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪, 2018.12.4.

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

フェンタニル類縁化合物の中枢作用解析法に関する研究

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（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）

【試験要旨】

本試験では、5 種類のフェンタニル類縁化合物について、オピオイド受容体作用の解析、運動活性に対する影響を検討した。

1. Cyclopropyl fentanyl (CF)
2. Methoxyacetyl fentanyl (Meth F)
3. ortho-Fluorofentanyl (OFF)
4. parafluoro butyrfentanyl (PFB)
5. paramethoxybutyrfentanyl (PMB)

1) オピオイド受容体作用：CHO- μ 受容体発現細胞を利用して、5 種類のフェンタニル類縁化合物のオピオイド受容体作用を解析した。5 種類のフェンタニル類縁化合物の添加により、濃度依存的な蛍光発光が確認された。この作用は、 μ 受容体拮抗薬 (β -FNA) の前処置により完全に抑制された。5 種類のフェンタニル類縁化合物は μ 受容体を介して薬理作用が発現すると考えられる。2) 行動解析：5 種類のフェンタニル類縁化合物による運動活性に対する影響を検討した。フェンタニル類縁化合物の投与により、用量依存的な運動促進作用が発現した。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬である Naloxone、ドパミン D1 受容体拮抗薬である SCH23390 およびドパミン D2 受容体拮抗薬である raclopride 前処置によって有意に抑制された。CF、MethF、OFF、PFB および PMB の運動促進作用は、ドパミン受容体を介して発現する作用であることが明らかになった。3) 中枢興奮作用とオピオイド受容体：薬物による運動活性と μ 受容体作用の強度についてその相関性を解析した。5 種類のフェンタニル類縁化合物による運動促進作用の発現強度と μ 受容体作用の強度には正の相関性が認められた。

本研究より、5 種類のフェンタニル類縁化合物は強力な中枢興奮作用を有することが明らかになった。5 種類のフェンタニル類縁化合物の中枢興奮作用の発現には、ドパミン神経系が関与している可能性が示唆された。また、フェンタニル類縁化合物については運動促進作用の発現強度と μ 受容体作用の強度には正の相関性が認められることから、CHO- μ 受容体発現細胞を利用して、危険性を予測できる可能性が示唆された。5 種類のフェンタニル類縁化合物の乱用により、中枢作用による健康被害の発生が危惧される。

A. 研究目的

ヘロインを始めとするオピオイド系薬物の乱用は過量摂取による死亡など、重篤な健康

被害を及ぼす。米国やカナダにおいて、フェンタニルやフェンタニル類縁化合物の流通が拡大しており、乱用に基づく健康被害は大きな社会問題となっている^{1,2)}。危険ドラッグとして流通している新規のフェンタニル類縁化合物については、その薬理作用や有害作用については、不明な点が多い。

本試験では5種類のフェンタニル類縁化合物の薬理学的特性及び中枢作用を明確にする目的で、1) オピオイド受容体作用、2) 運動活性に対する影響について検討を行った。

B. 研究方法

使用動物:すべての行動薬理実験には、ICR系雄性マウス (Jcl, 20 - 25g, 日本クレア) を使用した。

使用薬物:

1. Cyclopropyl fentanyl (CF)
 2. Methoxyacetyl fentanyl (Meth F)
 3. ortho-Fluorofentanyl (OFF)
 4. parafluoro butyrfentanyl (PFB)
 5. paramethoxybutyrfentanyl (PMB)
- を使用した(化学構造: Fig.1)。

1. フェンタニル類縁化合物のオピオイド受容体作用

Chinese Hamster Ovary (CHO)チャイニーズハムスター卵巣細胞にヒト-オピオイド μ 受容体をトランスフェクションし、発現安定細胞株 CHO- μ 細胞を樹立した。この細胞を使用して、細胞内カルシウム濃度を測定した。96 穴ブラックプレート(BD Falcon)に 5×10^4 cells/ well となるように播種し、 $37^\circ\text{C} \cdot 5.0\% \text{CO}_2$ 条件下で培養した。24 時間後、Fluo-4 を1時間取り込ませ、フェンタニル類縁化合物添加による蛍光強度の変化を、Flexstation II により測定した。

2. フェンタニル類縁化合物による運動活性への影響

フェンタニル類縁化合物により誘発される

運動活性を、自発運動量測定装置 (ACTIMO-100, バイオリサーチセンター社) を用いて測定した。3 時間の環境適応後、薬物投与から 120 分間にわたって運動量を測定した。

フェンタニル類縁化合物により誘発される行動変化に対するオピオイド受容体拮抗薬ナロキソン前処置(薬物投与の30分前投与)の効果を検討した。また、フェンタニル類縁化合物により誘発される行動変化に対するドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 およびドパミン D2 受容体拮抗薬 raclopride 前処置(薬物投与の30分前投与)の効果を検討した。

3. フェンタニル類縁化合物運動活性と μ 受容体作用の相関性

5 種類のフェンタニル類縁化合物による運動促進作用について、用量と運動量 (カウント) から作用強度を算出した(A)。また、CHO- μ 細胞による評価から、 μ 受容体作用強度を算出した(B)。

(A) 作用強度 = (総運動カウント/用量)

(B) μ 受容体作用強度 = $(1/EC50)$

2 つのパラメータを利用して、相関性を検証した。

4. 統計解析

全ての統計解析には、GraphPad Prism 7.0d software (San Diego, CA) を使用した。

C. 研究結果

1. フェンタニル類縁化合物のオピオイド受容体作用

CHO- μ 細胞を利用して、5 種類のフェンタニル類縁化合物の μ 受容体作用を解析した。すべてのフェンタニル類縁化合物の添加により、蛍光量の増加が確認された(Fig. 2)。すべてのフェンタニル類縁化合物による蛍光強度の増加作用は、選択的 μ オピオイド受容体拮

抗薬 (β -FNA, 0.01 μ M) の前処置により完全に抑制された(Fig. 3)。5種類のアピオイド類縁化合物: Cyclopropyl fentanyl、Methoxyacetyl fentanyl、ortho-Fluorofentanyl、parafluoro butyrfentanyl、paramethoxybutyrfentanyl はアピオイド μ 受容体を介して薬理作用を示すことが明らかになった。

2. アピオイド類縁化合物の行動薬理学的特性

【1】対象薬物: Cyclopropyl fentanyl (CF)

(1) Cyclopropyl fentanyl による運動活性への影響

Cyclopropyl fentanyl (0.25, 0.5 mg/kg, i.p.)によって、運動促進作用が発現し、中枢作用を有することが明らかになった(Fig. 4)。Cyclopropyl fentanyl (0.5 mg/kg, i.p.)の効果は、アピオイド受容体拮抗薬 Naloxone (5 mg/kg)の前処置により抑制された(Fig. 5A)。同様に、Cyclopropyl fentanyl (0.5 mg/kg, i.p.)によって誘発される運動促進作用はドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 およびドパミン D2 受容体拮抗薬 raclopride の前処置により有意に抑制された (Fig. 5B)。

【2】対象薬物: Methoxyacetyl fentanyl (MethF)

(1) Methoxyacetyl fentanyl による運動活性への影響

Methoxyacetyl fentanyl (0.5, 1 mg/kg, i.p.)によって、運動促進作用が発現し、中枢作用を有することが明らかになった(Fig. 6)。Methoxyacetyl fentanyl (1 mg/kg, i.p.)の効果は、アピオイド受容体拮抗薬 Naloxone (5 mg/kg)の前処置により抑制された(Fig. 7A)。同様に、Methoxyacetyl fentanyl (1 mg/kg, i.p.)によって誘発される運動促進作用はドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 およびドパミン D2 受容体拮抗薬 raclopride の前処置により有意に抑制された (Fig. 7B)。

【3】対象薬物: ortho-Fluorofentanyl (OFF)

(1) ortho-Fluorofentanyl による運動活性への影響

ortho-Fluorofentanyl (0.0625, 0.25 mg/kg, i.p.)によって、運動促進作用が発現し、中枢作用を有することが明らかになった(Fig. 8)。ortho-Fluorofentanyl (0.25 mg/kg, i.p.)の効果は、アピオイド受容体拮抗薬 Naloxone (5 mg/kg)の前処置により抑制された(Fig. 9A)。同様に、ortho-Fluorofentanyl (0.25 mg/kg, i.p.)によって誘発される運動促進作用はドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 およびドパミン D2 受容体拮抗薬 raclopride の前処置により有意に抑制された (Fig. 9B)。

【4】対象薬物: parafluoro butyrfentanyl (PFB)

(1) parafluoro butyrfentanyl による運動活性への影響

parafluoro butyrfentanyl (1, 2 mg/kg, i.p.)によって、運動促進作用が発現し、中枢作用を有することが明らかになった(Fig. 10)。parafluoro butyrfentanyl (2 mg/kg, i.p.)の効果は、アピオイド受容体拮抗薬 Naloxone (5 mg/kg)の前処置により抑制された(Fig. 11A)。同様に、parafluoro butyrfentanyl (2 mg/kg, i.p.)によって誘発される運動促進作用はドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 およびドパミン D2 受容体拮抗薬 raclopride の前処置により有意に抑制された (Fig. 11B)。

【5】対象薬物: paramethoxybutyrfentanyl (PMB)

(1) paramethoxybutyrfentanyl による運動活性への影響

paramethoxybutyrfentanyl (5, 10 mg/kg, i.p.)によって、運動促進作用が発現し、中枢作用を有することが明らかになった(Fig. 12)。paramethoxybutyrfentanyl (10 mg/kg, i.p.)の効果は、アピオイド受容体拮抗薬 Naloxone (5 mg/kg)の前処置により抑制された(Fig. 13A)。同様に、paramethoxybutyrfentanyl (10 mg/kg, i.p.)によって誘発される運動促進作用はドパ

ミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 およびドパミン D2 受容体拮抗薬 raclopride の前処置により有意に抑制された (Fig. 13B)。

3. フェンタニル類縁化合物運動活性と μ 受容体作用の相関性

5 種類のフェンタニル類縁化合物による運動促進作用について、用量と運動量 (カウント) から作用強度を算出した。また、CHO- μ 細胞による評価から、 μ 受容体作用強度を算出した。相関性を検証したところ、正の相関性が確認された ($R=0.9184$)。

D. 考察

本試験では、5 種類のフェンタニル類縁化合物: Cyclopropyl fentanyl、Methoxyacetyl fentanyl、ortho-Fluorofentanyl、parafluorobutyrfentanyl、paramethoxybutyrfentanyl のオピオイド受容体作用、中枢作用に関する評価を行った。

細胞実験では、オピオイド μ 受容体をトランスフェクションし、発現安定細胞株 CHO- μ 細胞を樹立し、薬理的解析に利用した。蛍光発現の検出により、5 種類のフェンタニル類縁化合物は、オピオイド μ 受容体作用薬であることを確認した。

次に、5 種類のフェンタニル類縁化合物の行動薬理学特性を解析した。5 種類のフェンタニル類縁化合物の投与により、運動促進作用が発現し、中枢作用を有することが明らかになった。この効果は、オピオイド受容体拮抗薬 Naloxone によって抑制されることから、5 種類のフェンタニル類縁化合物の中枢作用は、オピオイド受容体を介して発現することが確認された。また、5 種類のフェンタニル類縁化合物の運動促進作用は、ドパミン D1 受容体拮抗薬およびドパミン D2 受容体拮抗薬の前処置により抑制された。これらの結果から、5 種類のフェンタニル類縁化合物の中枢作用の発現には、ドパミン神経系が関与しており、ドパミン D1 受容体およびドパミン

D2 受容体の双方の関与が示唆された。

評価したフェンタニル類縁化合物については運動促進作用の発現強度と μ 受容体作用の強度には正の相関性が認められることから、CHO- μ 受容体発現細胞を利用して、危険性を予測できる可能性が示唆された。

依存性薬物による精神依存形成および中枢興奮作用の発現には中脳辺縁系ドパミン神経系の関与が示唆されている。現在までに、フェンタニルはオピオイド μ 受容体に結合し、側坐核においてドパミン遊離量の増加を引き起こすことが報告されている^{3,4)}。こうした薬理学的特性に基づいて、側坐核においてドパミン遊離量の増加が発現したことで、中枢興奮作用が発現したものと考えられる。また、5 種類のフェンタニル類縁化合物の乱用による有害作用の発現が危惧される。

本試験の評価結果により 5 種類のフェンタニル類縁化合物、Cyclopropyl fentanyl、Methoxyacetyl fentanyl、ortho-Fluorofentanyl、parafluorobutyrfentanyl、paramethoxybutyrfentanyl は強力な中枢作用を有することから、その乱用の拡大には特に注意を要すると考えられる。

E. 結論

本試験から、5 種類のフェンタニル類縁化合物、Cyclopropyl fentanyl、Methoxyacetyl fentanyl、ortho-Fluorofentanyl、parafluorobutyrfentanyl、paramethoxybutyrfentanyl は中枢興奮作用を有し、乱用される危険性が極めて高いと考えられる。また、フェンタニル類縁化合物については運動促進作用の発現強度と μ 受容体作用の強度には正の相関性が認められることから、CHO- μ 受容体発現細胞を利用して、危険性を予測できる可能性が示唆された。

F. 参考文献

- 1) Rudd, R. A., Puja, S., Felicita, D., & Scholl, L.

- (2016). Increases in drug and opioid- involved overdose deaths - United States, 2010-2015. Morbidity and Mortality Weekly Report, 65 (50-51), 1445-1452.
- 2) Young, M. M., Pirie, T., Buxton, J. A., & Hosein, S. F. (2015). The Rise of Overdose Deaths Involving Fentanyl and the Value of Early Warning. Canadian Journal of Addiction, 6(3), 13-17.
 - 3) Yoshida Y, Koide S, Hirose N, Takada K, Tomiyama K, Koshikawa N, Cools AR. Fentanyl increases dopamine release in rat nucleus accumbens: involvement of mesolimbic mu- and delta-2-opioid receptors. Neuroscience. 92(4): 1357-1365, (1999).
 - 4) Di Chiara G., Imperato A.: Opposite effects of mu and kappa opiate agonists on dopamine release in the nucleus accumbens and in the dorsal caudate of freely moving rats. J Pharmacol Exp Ther. 244(3): 1067-1080, 1988.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Funada M, Takebayashi-Ohsawa M.: Synthetic cannabinoid AM2201 induces seizures: Involvement of cannabinoid CB1 receptors and glutamatergic transmission. Toxicol Appl Pharmacol. 338:1-8, 2018.
- 2) 船田正彦: 米国の大麻規制と薬物乱用防止. 日本薬剤師会雑誌. 71(2), 75, 2019.
- 3) 船田正彦: 薬物依存の分子機構. Clinical Neuroscience, 36:1437-1440, 2018.

2. 学会発表

- 1) Funada, M., Takebayashi-Ohsawa, K, Tomiyama, K.: Synthetic cannabinoid AM2201 induces epileptic seizures by enhancing glutamatergic transmission in the hippocampus. College on problems of drug dependence (CPDD) 80th Annual scientific meeting, San Diego, CA, USA., 2018.6.11-16.
- 2) Funada, M., Tomiyama, K.: Establishment of screening method for selective NMDA receptor antagonist using HEK-293 cell line expressing NR1/NR2B. College on problems of drug dependence (CPDD) 80th Annual scientific meeting, San Diego, CA, USA., 2018.6.11-16.
- 3) 伊藤哲朗, 首村菜月, 松久貴哉, 川島英頌,

- 神山恵理奈, 曾田翠, 筑本貴郎, 永井宏幸, 船田正彦, 北市清幸. 危険ドラッグ蔓延防止に向けた岐阜県における取り組み(3): 合成カンナビノイド代謝物の同定と異性体の構造識別. 第53回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 横浜, 2018年9月8-10日.
- 4) 竹林美佳, 船田正彦: 合成カンナビノイド AM2201 による痙攣発現の解明: グルタミン酸神経系の役割. 第48回日本神経精神薬理学会. 東京. 2018年11月14-16日.

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

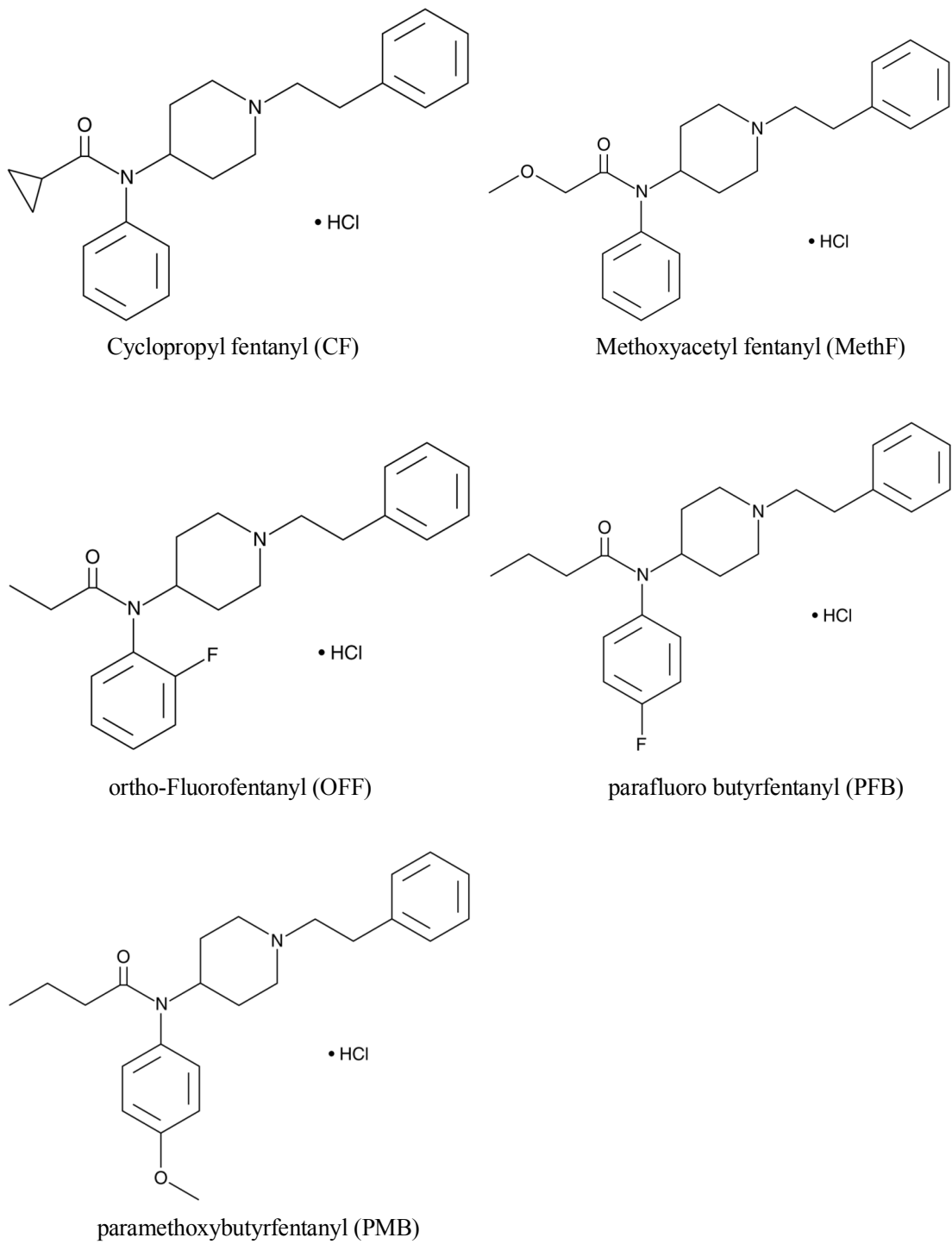
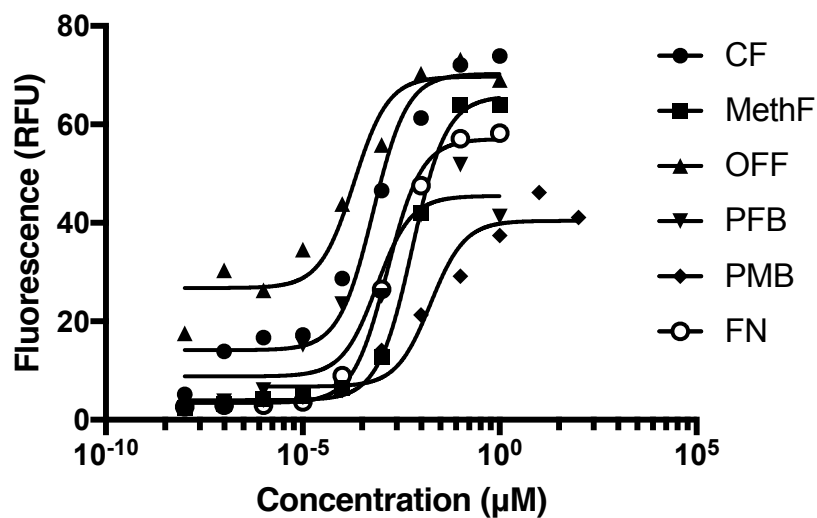


Fig. 1. (薬物の化学構造)

Chemical structures of Cyclopropyl fentanyl, Methoxyacetyl fentanyl, ortho-Fluorofentanyl, parafluoro butyrfentanyl and paramethoxybutyrfentanyl.



	EC50(μM)
OFF	0.0002
CF	0.0006
PFB	0.0008
FN	0.0014
MethF	0.0061
PMB	0.0177

Fig. 2. (オピオイド受容体作用の評価)

Effects of fentanyl analogues on intracellular Ca^{2+} in CHO- μ cells. (A) Changes in intracellular Ca^{2+} levels were detected as changes in fluorescence in the FlexStation II. Fluorescence measurements corresponding to increases in intracellular Ca^{2+} levels following simultaneous activation by Cyclopropyl fentanyl (CF), Methoxyacetyl fentanyl (Meth F), ortho-Fluorofentanyl (OFF), parafluoro butyrfentanyl (PFB), paramethoxybutyrfentanyl (PMB) or Fentanyl (FN). Each column represents the mean with S.E.M. of three independent experiments. Each plot represents the mean with S.E.M. of three independent experiments.

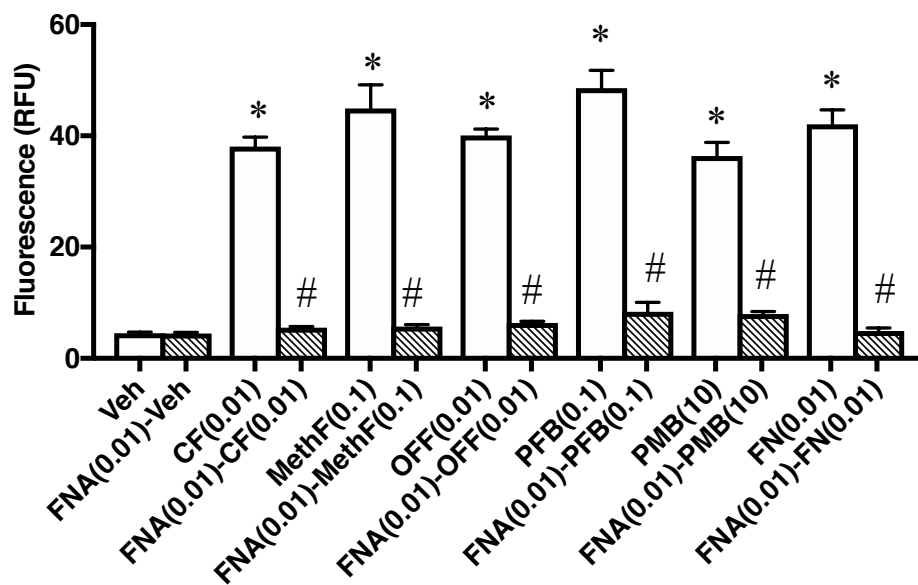


Fig. 3. (オピオイド μ 受容体拮抗薬の影響)

Effect of pretreatment with μ opioid receptor antagonist β -funaltrexamine (FNA) on fentanyl analogues-induced elevation of intracellular Ca^{2+} levels in CHO- μ cells. Changes in intracellular Ca^{2+} levels were detected as changes in fluorescence in the Flexstation II. Each column represents the mean with S.E.M. of three independent experiments. * $P < 0.05$ vs. # $P < 0.05$ vs. fentanyl analogues-treated group.

Cyclopropyl fentanyl

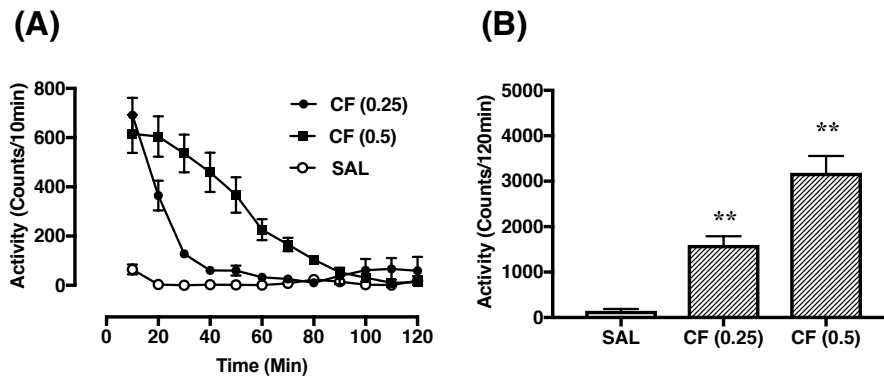


Fig. 4. (Cyclopropyl fentanyl の運動活性に対する影響:オピオイド受容体拮抗薬)

Effect of acute treatment with Cyclopropyl fentanyl on the locomotor activity in mice. (A) Time course changes after acute administration of Cyclopropyl fentanyl (CF, 0.25 or 0.5 mg/kg, i.p.)-induced hyperlocomotion in mice. Each point represents the mean activity counts with S.E.M. for 10 min (n=8 to 12). (B) Total locomotor activity changes after acute administration of CF (0.25 or 0.5 mg/kg)-treated in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 120 min (n=8 to 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group.

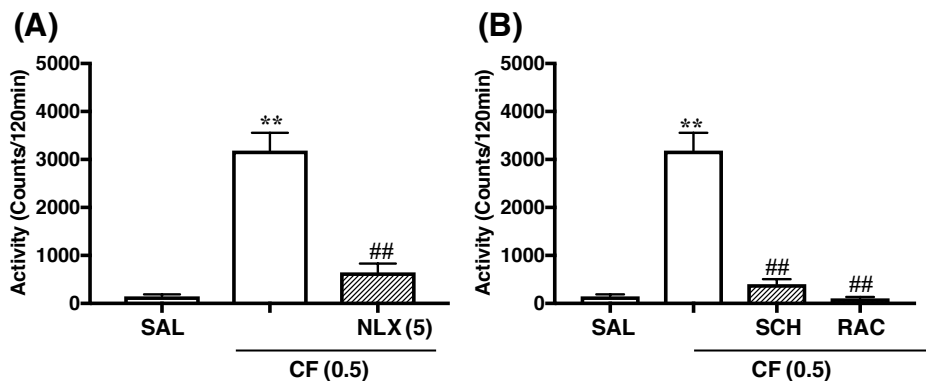


Fig. 5. (Cyclopropyl fentanyl の薬理学的特性)

(A)(Cyclopropyl fentanyl の運動活性に対する影響:オピオイド受容体拮抗薬)

Effect of pretreatment with a opioid receptor antagonist naloxone (NAL, 5 mg/kg, pre 30 min) on the CF (0.5 mg/kg)-induced hyperlocomotion in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=10 or 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group. ##P<0.01 vs. CF-treated group.

(B) (Cyclopropyl fentanyl の運動活性に対する影響:ドパミン受容体拮抗薬)

Effect of pretreatment with a dopamine D1 receptor antagonist SCH23390 (SCH, 0.5 mg/kg, pre 30 min) or a dopamine D2 receptor antagonist raclopride (RAC, 6 mg/kg, pre 30 min) on the CF (0.5 mg/kg)-induced hyperlocomotion in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=10 or 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group. ##P<0.01 vs. CF-treated group.

Methoxyacetyl fentanyl

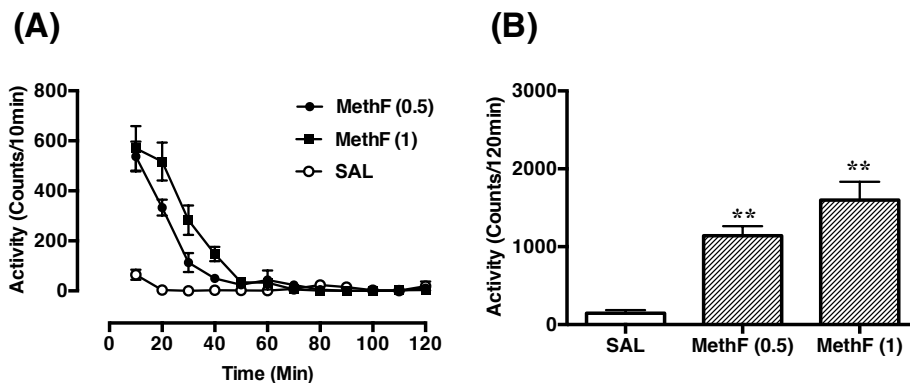


Fig. 6. (Methoxyacetyl fentanyl の運動活性に対する影響:オピオイド受容体拮抗薬)

Effect of acute treatment with Methoxyacetyl fentanyl on the locomotor activity in mice. (A) Time course changes after acute administration of Methoxyacetyl fentanyl (MethF, 0.5 or 1 mg/kg, i.p.)-induced hyperlocomotion in mice. Each point represents the mean activity counts with S.E.M. for 10 min (n=8 to 12). (B) Total locomotor activity changes after acute administration of MethF (1 mg/kg)-treated in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 120 min (n=8 to 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group.

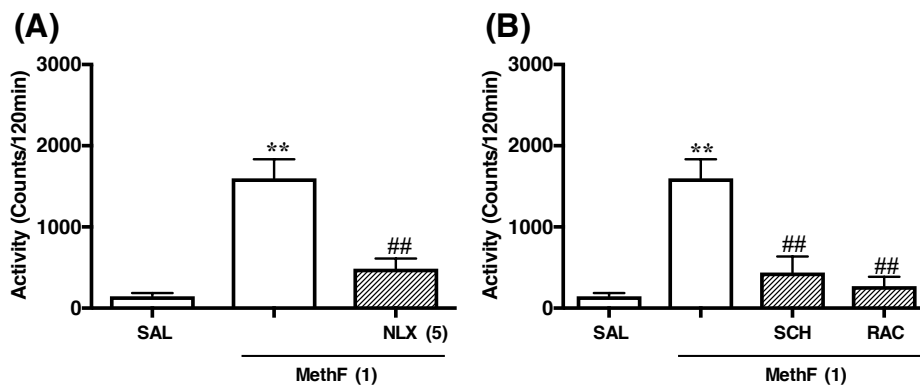


Fig. 7. (Methoxyacetyl fentanyl の薬理学的特性)

(A)(Methoxyacetyl fentanyl の運動活性に対する影響:オピオイド受容体拮抗薬)

Effect of pretreatment with a opioid receptor antagonist naloxone (NAL, 5 mg/kg, pre 30 min) on the MethF (1 mg/kg)-induced hyperlocomotion in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=10 or 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group. ###P<0.01 vs. MethF-treated group.

(B) (Methoxyacetyl fentanyl の運動活性に対する影響:ドパミン受容体拮抗薬)

Effect of pretreatment with a dopamine D1 receptor antagonist SCH23390 (SCH, 0.5 mg/kg, pre 30 min) or a dopamine D2 receptor antagonist raclopride (RAC, 6 mg/kg, pre 30 min) on the MethF (1 mg/kg)-induced hyperlocomotion in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=10 or 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group. ###P<0.01 vs. MethF-treated group.

ortho-Fluorofentanyl

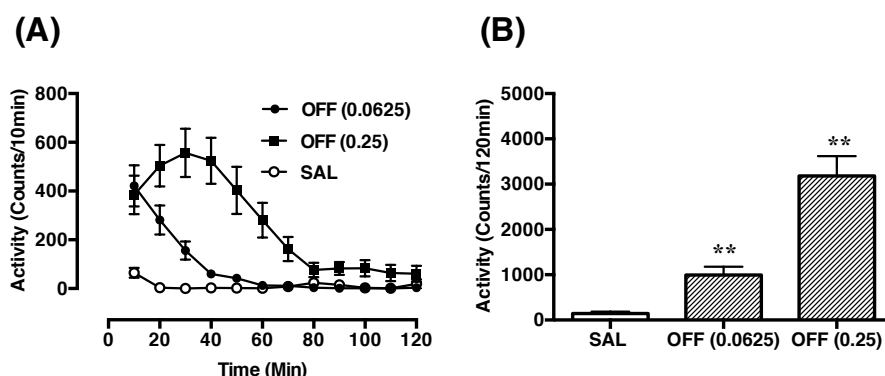


Fig. 8. (ortho-Fluorofentanyl の運動活性に対する影響:オピオイド受容体拮抗薬)

Effect of acute treatment with ortho-Fluorofentanyl on the locomotor activity in mice. (A) Time course changes after acute administration of ortho-Fluorofentanyl (OFF, 0.0625 or 0.25 mg/kg, i.p.)-induced hyperlocomotion in mice. Each point represents the mean activity counts with S.E.M. for 10 min (n=8 to 12). (B) Total locomotor activity changes after acute administration of OFF (0.25 mg/kg)-treated in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 120 min (n=8 to 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group.

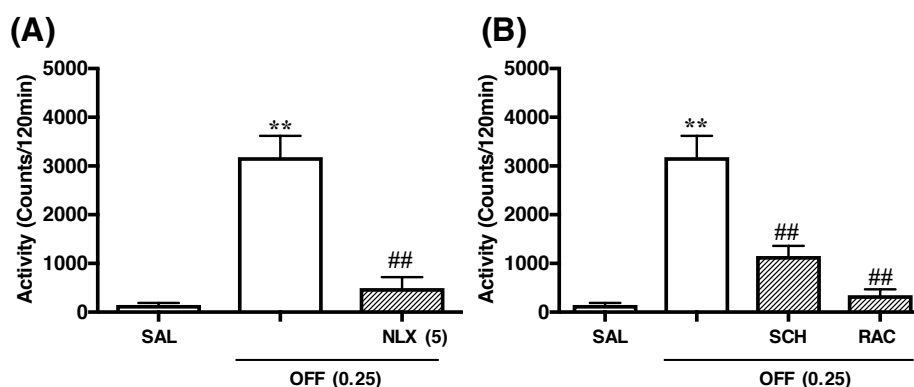


Fig. 9. (ortho-Fluorofentanyl の薬理学的特性)

(A)(ortho-Fluorofentanyl の運動活性に対する影響:オピオイド受容体拮抗薬)

Effect of pretreatment with a opioid receptor antagonist naloxone (NAL, 5 mg/kg, pre 30 min) on the OFF (0.25 mg/kg)-induced hyperlocomotion in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=10 or 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group. ##P<0.01 vs. OFF-treated group.

(B) (ortho-Fluorofentanyl の運動活性に対する影響:ドパミン受容体拮抗薬)

Effect of pretreatment with a dopamine D1 receptor antagonist SCH23390 (SCH, 0.5 mg/kg, pre 30 min) or a dopamine D2 receptor antagonist raclopride (RAC, 6 mg/kg, pre 30 min) on the OFF (0.25 mg/kg)-induced hyperlocomotion in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=10 or 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group. ##P<0.01 vs. OFF-treated group.

parafluoro butyrfentanyl

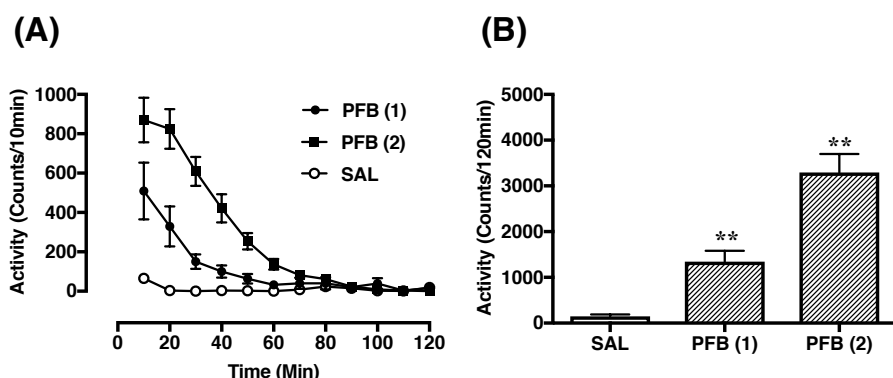


Fig. 10. (parafluoro butyrfentanyl の運動活性に対する影響:オピオイド受容体拮抗薬)

Effect of acute treatment with parafluoro butyrfentanyl on the locomotor activity in mice. (A) Time course changes after acute administration of parafluoro butyrfentanyl (PFB, 1 or 2 mg/kg, i.p.)-induced hyperlocomotion in mice. Each point represents the mean activity counts with S.E.M. for 10 min (n=8 to 12). (B) Total locomotor activity changes after acute administration of PFB (1 or 2 mg/kg)-treated in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 120 min (n=8 to 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group.

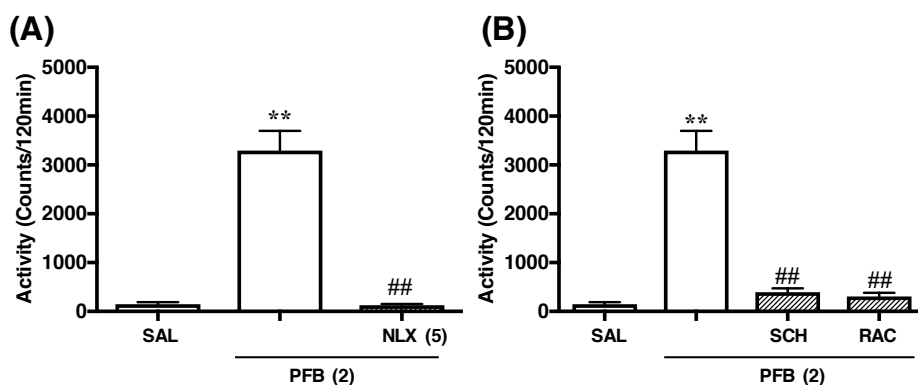


Fig. 11. (parafluoro butyrfentanyl の薬理学的特性)

(A)(parafluoro butyrfentanyl の運動活性に対する影響:オピオイド受容体拮抗薬)

Effect of pretreatment with a opioid receptor antagonist naloxone (NAL, 5 mg/kg, pre 30 min) on the PFB (2 mg/kg)-induced hyperlocomotion in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=10 or 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group. ##P<0.01 vs. PFB-treated group.

(B) (parafluoro butyrfentanyl の運動活性に対する影響:ドパミン受容体拮抗薬)

Effect of pretreatment with a dopamine D1 receptor antagonist SCH23390 (SCH, 0.5 mg/kg, pre 30 min) or a dopamine D2 receptor antagonist raclopride (RAC, 6 mg/kg, pre 30 min) on the PFB (2 mg/kg)-induced hyperlocomotion in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=10 or 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group. ##P<0.01 vs. PFB-treated group.

paramethoxybutyrfentanyl

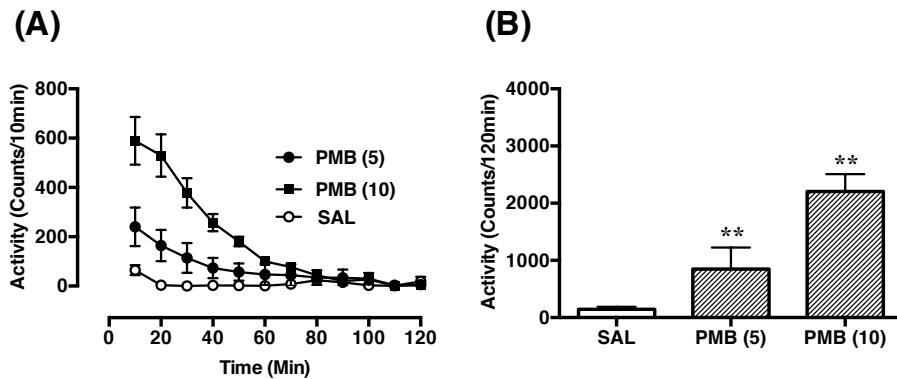


Fig. 12. (paramethoxybutyrfentanyl の運動活性に対する影響:オピオイド受容体拮抗薬)

Effect of acute treatment with paramethoxybutyrfentanyl on the locomotor activity in mice. (A) Time course changes after acute administration of paramethoxybutyrfentanyl (PMB, 5 or 10 mg/kg, i.p.)-induced hyperlocomotion in mice. Each point represents the mean activity counts with S.E.M. for 10 min (n=8 to 12). (B) Total locomotor activity changes after acute administration of PMB (10 mg/kg)-treated in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 120 min (n=8 to 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group.

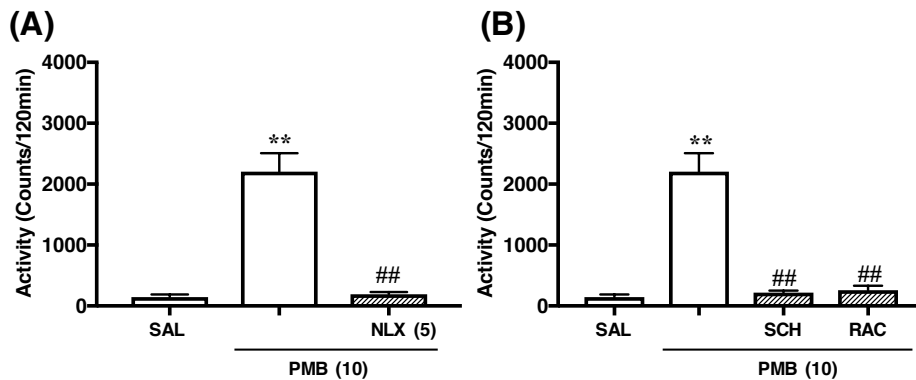


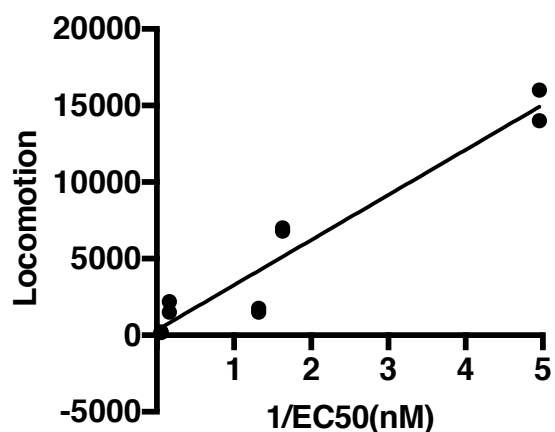
Fig.13. (paramethoxybutyrfentanyl の薬理学的特性)

(A)(paramethoxybutyrfentanyl の運動活性に対する影響:オピオイド受容体拮抗薬)

Effect of pretreatment with a opioid receptor antagonist naloxone (NAL, 5 mg/kg, pre 30 min) on the PMB (10 mg/kg)-induced hyperlocomotion in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=10 or 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group. ##P<0.01 vs. paramethoxybutyrfentanyl-treated group.

(B) (paramethoxybutyrfentanyl の運動活性に対する影響:ドパミン受容体拮抗薬)

Effect of pretreatment with a dopamine D1 receptor antagonist SCH23390 (SCH, 0.5 mg/kg, pre 30 min) or a dopamine D2 receptor antagonist raclopride (RAC, 6 mg/kg, pre 30 min) on the PMB (10 mg/kg)-induced hyperlocomotion in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=10 or 12). Dunnet's posttest was also applied on each graph. **P<0.01 vs. SAL-treated group. ##P<0.01 vs. paramethoxybutyrfentanyl-treated group.



Goodness of Fit	
R square	0.9184
Sy.x	1744
Is slope significantly non-zero?	
F	90.09
P value	<0.0001
Deviation from zero?	Significant
Equation	$Y = 2945 * X + 328.2$

Fig.14. (フェンタニル類縁化合物運動活性と μ 受容体作用の相関性)

Linear correlations of log EC50 values (nM) for fentanyl-analogs induced hyperlocomotion in mice.

The log (1/EC50) value was plotted against the corresponding locomotor activity (counts) for each fentanyl-analog. The solid line in each plot represents the linear regression of that data set. The correlation coefficients for EC50 and locomotor activity counts was 0.9184.

分担研究報告書

コンピュータシミュレーションによる危険ドラッグの
有害性予測法に関する研究

分担研究者：栗原正明（国際医療福祉大学 薬学部）

【研究要旨】

危険ドラッグ及び関連化合物を速やかに規制するためには、それらの迅速な評価法が必要である。それには、インシリコ活性予測法が有効である。本研究では、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ評価法を用いて危険ドラッグの活性予測を行い、危険ドラッグの規制、特に包括指定の範囲を決める等のデータを供するための新規評価法の開発を行うことを目的とする。本年度はフェンタニル類縁体の QSAR モデルの構築について検討した。フェンタニル類の包括規制への布石とすることができると考えられる。

A. 研究目的

違法ドラッグが大きな社会問題となっている。そこで、違法ドラッグを速やかに規制するためには、違法ドラッグの迅速な評価法が必要である。それには、インシリコ活性予測法が有効である。本研究では、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ評価法を用いて危険ドラッグの活性予測を行い、危険ドラッグの規制、特に包括指定の範囲を決めるデータを供することを目的とする。本年度はフェンタニル類縁体の QSAR について検討した。

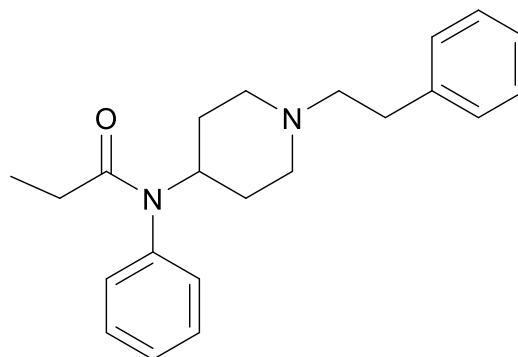


Fig. 1. Fentanyl

B. 研究方法

フェンタニル類縁体の活性予測を 2D-QSAR (定量的活性相関) で行った。化学計算パッケージ MOE (CCG 社) を用いた。活性が既知の化合物として 1~9 の化合物を用いた。(Table 1) 活性値はオピオイド μ 受容体に対する EC_{50} を用いた。

C. 研究結果

AutoQuaSAR 法を使って妥当な QSAR モデル式を構築した。QSAR モデル式で用いた記述子は、MOE 上で動作する AutoQuaSAR プログラムによって、MOE に搭載されている 184 のすべての 2D 記述子から選択されたものである。QSAR 式は交差検定の R^2 (相関係数の 2 乗) が最も良いものを用いた。(Fig. 2,

X 軸：活性値の予測， Y 軸：活性値)

相関係数の二乗(R^2) = 0.98

交差検定の相関係数の二乗(XR^2) = 0.92

QSAR 式

$pEC_{50} = 14.62920$

$- 0.063482 * PEOE_VSA+0$

$- 0.000204 * PEOE_VSA-0$

$+ 0.071527 * SMR_VSA2$

$+ 0019985 * SlogP_VSA8$

D. 考察

フェンタニル類縁体の QSAR モデルの構築を行った。活性値が既知である 9 種の化合物を用いて行った。非常に相関性の高い QSAR モデルが得られた。今後、フェンタニル類の包括規制への展開が期待される。QSAR 式を用いてモデルケースとして 24 個の化合物の予測を行ってみた。(Fig.3)

E. 結論

本年度は、フェンタニル類縁体の QSAR モデルの構築について検討した。非常に相関性の高い QSAR モデルを得ることに成功した。フェンタニル類の包括規制への展開が期待できる。

F. 参考文献

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 栗原正明
in silico 計算毒性評価のための QSAR 手法の活用法
in silico 創薬におけるスクリーニングの高速化・高精度化技術，技術情報協会，2018.1.31, 261-267
- 2) Eto R, Misawa T, Noguchi-Yachide T, Ohoka N, Kurihara M, Naito M, Tanaka M,

Demizu Y.; Design and synthesis of estrogen receptor ligands with a 4-heterocycle-4-phenylheptane skeleton. Bioorg Med Chem., 2018, 26, 30060-9.

- 3) K. Okitsu, T. Hattori, T. Misawa, T. Shoda, M. Kurihara, M. Naito, Y. Demizu; Development of a small hybrid molecule that mediates degradation of His-tag fused proteins J Med Chem., 2018, 61, 576-582.
- 4) Tsuji G, Hattori T, Kato M, Hakamata W, Inoue H, Naito M, Kurihara M, Demizu Y, Shoda T.; Design and synthesis of cell-permeable fluorescent nitrilotriacetic acid derivatives. Bioorg Med Chem., 2018, 26, 5494-5498.
- 5) Misawa T, Tsuji G, Takahashi T, Ochiai E, Takagi KI, Horie K, Kakuda S, Takimoto-Kamimura M, Kurihara M, Demizu Y.; Structural development of non-secosteroidal vitamin D receptor (VDR) ligands without any asymmetric carbon. Bioorg Med Chem., 2018, 26, 6146-6152.

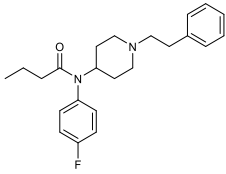
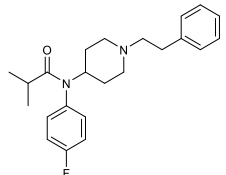
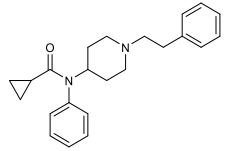
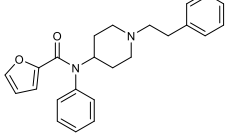
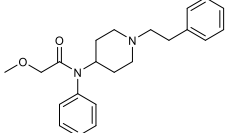
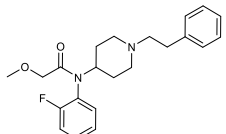
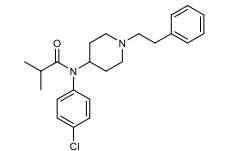
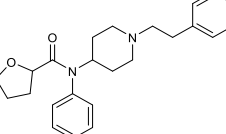
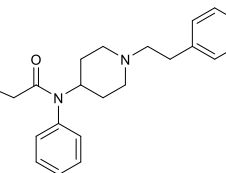
2. 学会発表

- 1) 荒井裕美子，湯山円晴，Ciloy, Jose，金谷貴行，本間正充，栗原正明
構造類似性に基づいたインシリコ変異原性予測法の開発
日本薬学会第 139 年会 (2019/03/21-23, 千葉)
- 2) 湯山円晴，松崎汐里，原田裕章，金谷貴行，栗原正明
QSAR 及びドッキングスタディによるカンナビノイド受容体リガンドの活性評価
日本薬学会第 139 年会 (2019/03/21-23, 千葉)

I. 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。

Table 1

	化学名	構造	EC ₅₀
1	N-(4-Fluorophenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)butyramide		5.72 x 10 ⁻⁹
2	N-(4-fluorophenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)isobutyramide		6.43 X 10 ⁻⁹
3	N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)-N-phenylcyclopropanecarboxamide		1.23 X 10 ⁻⁹
4	N-phenyl-N-(1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl)furan-2-carboxamide		6.45 X 10 ⁻¹⁰
5	2-methoxy-N-(1-(2-phenethyl)piperidin-4-yl)-N-phenylacetamide		1.81 X 10 ⁻⁸
6	N-(2-Fluorophenyl)2-methoxy-N-(1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl)acetamide		1.77 X 10 ⁻⁹
7	N-(4-chlorophenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)isobutyramide		4.63 X 10 ⁻⁸
8	N-phenyl-N-(1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl)tetrahydrofuran-2-carboxamide		3.29 X 10 ⁻⁹ (S) 9.09 X 10 ⁻⁹ (R)
9	Fentanyl		2.88 X 10 ⁻⁸

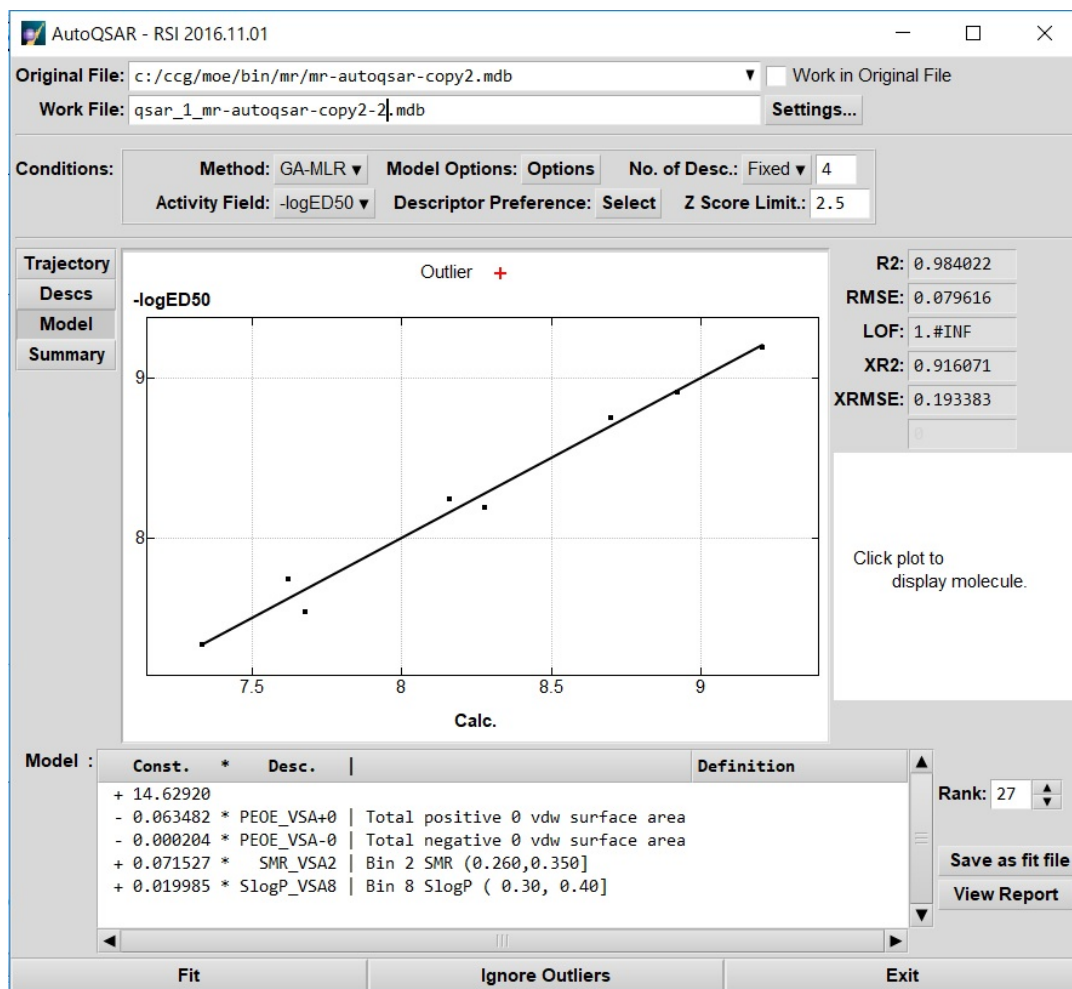


Fig 2

	2.88×10^{-8}	8.46×10^{-8}	8.46×10^{-8}	8.40×10^{-8}
	3.58×10^{-6}	5.72×10^{-9}	7.92×10^{-8}	3.56×10^{-7}
	8.47×10^{-7}	6.43×10^{-9}	1.59×10^{-6}	4.63×10^{-8}
	1.23×10^{-9}	5.24×10^{-9}	5.24×10^{-9}	2.36×10^{-8}
	6.45×10^{-10}	6.16×10^{-8}	6.16×10^{-8}	2.77×10^{-7}
	1.81×10^{-8}	6.06×10^{-10}	1.77×10^{-9}	2.72×10^{-9}

Fig 3

分担研究報告書

危険ドラッグおよび類似物質の有害性簡易スクリーニング法の開発
～神経炎症関連分子 HMGB1 を指標にして～

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】

[緒言] 危険ドラッグおよび覚せい剤など乱用薬物による神経障害において神経炎症は重要な役割を果たすと考えられる。核内 DNA 結合タンパク質 High mobility group box-1 (HMGB1)は、組織損傷時に細胞外へ放出され、RAGE、Toll-like receptor (TLR)に結合し炎症惹起に働く damage-associated molecular patterns (DAMPs)として知られている。本研究では、神経細胞毒性発現の共通の作用点となりうる神経炎症関連標的分子と想定される起炎物質 DAMPs の代表である HMGB1 に着目し、覚せい剤メタンフェタミン(METH)急性投与神経毒性モデルマウスにおける HMGB1 の発現動態ならびにドパミン(DA)神経毒性に対する抗 HMGB1 抗体の効果について検討した。

[結果] 神経毒性発現の陽性コントロールとなる BALB/c 系マウスへの METH 投与により、惹起されるモノアミン系神経障害に関連する高体温、DA トランスポーターの減少、DA 神経終末の脱落とともに、HMGB1 の末梢血中での増加ならびに線条体神経細胞での HMGB1 の核から細胞質への移行・放出がみられることを明らかにした。さらに抗 HMGB1 抗体の静脈内投与によりこれら METH 投与による HMGB1 血中濃度の上昇と神経細胞での核外移行、高体温、DA トランスポーターの減少、DA 神経終末の脱落を有意に抑制することができた。

[考察] 本研究では、METH による末梢での HMGB1 発現上昇が脳線条体での METH 急性神経毒性に関与していることを明らかにしたとともに、HMGB1 が METH 急性神経毒性緩和の標的となりうることを示した。これまでの研究で、METH 投与による末梢血中 HMGB1 濃度の上昇が、抗 HMGB1 抗体投与により抑制されることを見出している。抗 HMGB1 抗体末梢投与によって METH による DAT の脱落およびミクログリアの活性化が抑制され、さらに脳内 HMGB1 の核外移行も抑制されたことから、抗 HMGB1 抗体には脳内の炎症を抑える可能性がある。また、末梢血中の HMGB1 が抗体により中和され、hyperthermia ならびに BBB の破綻が抑制されて、末梢からの起炎物質の侵入が軽減でき、これらが DA 神経終末の脱落抑制効果に関与することが考えられる。すなわち、抗 HMGB1 抗体が末梢で作用することによって METH による脳内神経毒性を抑制する可能性が示唆された。HMGB1 は乱用薬物により惹起される神経細胞毒性発現の共通分子となりうる可能性があり、今後細胞・非細胞評価系を用いた危険ドラッグ投与・添加による HMGB1 およびそのレセプターTLR の発現動態の変化について検討する予定である。

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¹⁾¹²⁾。

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年度から平成29年度の一連の検討で、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る MAO 阻害活性に着目し、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¹³⁾⁻¹⁵⁾。

危険ドラッグおよび覚せい剤など乱用薬物による神経障害において神経炎症は重要な役割を果たすと考えられる。High mobility group box-1 (HMGB1)は、核内 DNA 結合タンパク質であるが、組織損傷に応じて細胞外へ放出され、Receptor for Advanced Glycation End products (RAGE)、Toll-like receptor (TLR)に結合し炎症惹起に働く damage-associated molecular patterns (DAMPs)として知られている¹⁶⁾⁻¹⁸⁾。これまでの研究により、脳卒中(脳梗塞、脳出血)、脳外傷、てんかん、神経因性疼痛モデルにおいて HMGB1 発現が誘導されており、中和活性を有する抗 HMGB1 抗体を投与することによって神経障害が有意に抑制されることが報告されている¹⁹⁾。本研究では、神経細胞毒性発現の共通の作用点となりうる神経炎症関連標的分子と想定される起炎物質 DAMPs の代表である HMGB1 に着目し、覚せい剤メタンフェタミン(METH)急性投与神経毒性モデルマウスにおける HMGB1 の発現動態ならびに DA 神経毒性に対する抗 HMGB1 抗体の効果について検討した。

B. 研究方法

使用動物：8 週齢の雄性 BALB/c 系マウス(日本チャールズ・リバー株式会社)を使用した。
METH 急性神経毒性モデルマウス作成：マウスにイソフルラン吸入麻酔下で

phosphate-buffered saline (pH 7.4: PBS)、ラット IgG、ラット抗 HMGB1 モノクローナル抗体 (HMGB1 Ab: 1 mg/kg)を尾静脈より投与し、投与直後と 2 時間後に、METH (4 mg/kg, i.p. × 2) または生理食塩水を腹腔内投与し、METH 急性神経毒性モデルを作成した。

直腸温測定：METH または生理食塩水の腹腔内投与(1 回目)直前および投与後 1 時間毎に 5 時間後まで経時的に直腸温を測定した。

切片作成：METH 投与 3 日後に、ペントバルビタール深麻酔下で、冷生理食塩水および 4% パラホルムアルデヒドによる灌流固定を行った。固定後、脳を取り出し、15%スクロース溶液に浸透させ、クリオスタットで 20 μm 厚の凍結冠状断切片を作成した。

免疫組織化学(発色法)：各群の線条体中部を含む凍結切片を用いて free-floating 法による DAT の免疫染色を行った。抗体の浸透性を高めるため、0.2% TritonX-100 を含有した PBS (0.2% PBS-T)に切片を 10 分間浸すことを 3 回繰り返した。非特異的反応を防ぐために、切片を 0.5%過酸化水素で 30 分間処理し、さらに 1%正常ウサギ血清で 30 分間のブロッキング処理を行った後、1 次抗体ラット抗 DAT モノクローナル抗体(Millipore: MAB369, PBS-T で 500 倍希釈)で 4°C で 1 晩 incubate した。その後切片を PBS-T で 10 分間 3 回洗浄し、ウサギビオチン標識抗ラット IgG 抗体(BA-4000, 1000 倍希釈)で 2 時間処置した。洗浄後、3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride 試薬 (SIGMA-ALDRICH: D5905)で発色させ、切片をスライドガラスに載せた後、エタノール系列とキシレンによる脱水・脱脂後に、エンテランニュー(Merck)を用いて封入した。

免疫組織化学(蛍光染色)：細胞膜浸透処理と

洗浄を行うため、切片を 0.2% PBS-T 中に 10 分間浸すことを 3 回繰り返した。抗体に対しての非特異的反応を防ぐために、各抗体に適した 1% 正常血清で 30 分間ブロッキング処理を行った。切片を PBS-T で希釈した 1 次抗体、ウサギ抗 Iba1 ポリクローナル抗体(WAKO: 019-19741, 500 倍希釈)、ウサギ抗 HMGB1 ポリクローナル抗体(abcam: ab18256, 5000 倍希釈)、マウス抗 NeuN モノクローナル抗体(Millipore: MAB377, 2000 倍希釈)、ヤギ抗アルブミンポリクローナル抗体(Bethyl: A90-234A-7, 500 倍希釈)と 4°C で 1 晩反応させた。PBS-T で 10 分間 3 回洗浄し、それぞれ 1000 倍希釈した二次抗体、ヤギ抗ウサギ IgG Alexa Fluor488 抗体(Alexa: A-11034)、ヤギ抗マウス IgG Alexa Fluor 594 抗体(Alexa: A-11032)、ロバ抗ヤギ IgG Alexa Fluor594 抗体(Alexa: A-11058)と室温で 2 時間 incubate した。PBS で 10 分間の洗浄を 3 回行い、Hoechst33342 (Thermo Fisher, 2000 倍希釈)による核染色を行った。PBS で 2 分間洗浄を行い、切片をスライドガラスに載せた後、DAKO Fluorescence Mounting Medium を用いて封入した。

評価分析法：線条体中部背外側でのシグナル陽性細胞の個数および蛍光強度を cellSens ソフトウェア (Olympus)によって測定し、DAT のシグナル強度は Image J 1.52a(NIH)により測定した。有意義検定は、one-way ANOVA および *post-hoc* test として Tukey 法を用いた。

C. 研究結果

1. METH 誘発 hyperthermia に対する抗 HMGB1 抗体の効果

METH の急性投与により hyperthermia (高体温)が惹起されることが知られている。抗 HMGB1 抗体の METH による hyperthermia に対する影響を調べるため、直腸温を経時的に測定した。

対照群(saline+PBS)と比較して、METH と PBS あるいは IgG を投与した群(METH+PBS,

METH+IgG)では METH 初回投与 3 時間後(2 回目投与 1 時間後)に hyperthermia が観測されたが、METH と抗 HMGB1 抗体を投与した群(METH+HMGB1 Ab)では、hyperthermia が抑制されていた(図 1)。

2. METH 神経毒性に対する抗 HMGB1 抗体の保護効果

METH 急性投与による神経毒性では、線条体 DA 神経終末の有意な脱落が惹起される。METH 神経毒性における抗 HMGB1 抗体の保護効果を検討するために、DA 神経終末の指標である DAT の免疫染色を行った。METH+PBS、METH+IgG 群では、線条体中部背外側における DAT の脱落が認められた。これに対して、METH+抗 HMGB1 群では DAT の脱落が抑制されていた(図 2)。

3. METH 誘発 Iba1 陽性ミクログリアの活性化に対する抗 HMGB1 抗体の効果

METH によって Iba1 陽性ミクログリアの活性化ならびに炎症反応が誘導されるため、ミクログリアの活性化に対する抗 HMGB1 抗体の効果について検討した。METH 投与により線条体背外側における Iba1 陽性ミクログリアの活性化と細胞数の増加が認められたが、抗 HMGB1 抗体投与により抑制された(図 3)。

4. METH 急性投与による HMGB1 発現の変化と抗 HMGB1 抗体投与の効果

METH 投与による線条体における HMGB1 の動態ならびに抗 HMGB1 抗体投与の効果について検討するため、HMGB1 と神経細胞の核のマーカーである NeuN との二重染色を行った。METH 投与により線条体背外側において神経細胞の HMGB1 の核内から細胞質への移行、さらに細胞外への分泌がみとめられ、抗 HMGB1 抗体投与により、METH 誘発 HMGB1 の核外移行が有意に抑制された(図 4)。

5. METH 投与による BBB 破綻に対する抗 HMGB1 抗体の効果

METH 投与による hyperthermia が BBB の破綻をもたらすことが報告されている^{20,21)}。抗 HMGB1 抗体投与により hyperthermia が抑制されることを確認したので(図 1)、BBB の破

綻に対する抗 HMGB1 抗体の効果について検討した。METH 急性投与により BBB の破綻を示すアルブミンの脳実質内への流入がみられたが、抗 HMGB1 抗体投与によりアルブミンの流入が減少していた(図 5)。これにより、METH 投与による BBB の破綻が抗 HMGB1 抗体で抑制されたと考えられる。

D. 考察

METH の急性神経毒性には様々な障害機転が関与することが知られている²²⁻²⁶⁾。METH による hyperthermia は、BBB を破綻させ、炎症反応を惹起しうる物質・細胞等の末梢から脳内への侵入を増大させると考えられている^{20,21)}。また、hyperthermia は脳内での DA の自動酸化を亢進させ、活性酸素種および DA キノン生成により DA 神経障害を増悪させる^{23,27)}。フリーラジカル消去剤 edaravone 投与により METH による DA 神経毒性は抑制されるが、hyperthermia およびミクログリアの活性化は抑制されないことから、フリーラジカル産生は hyperthermia やミクログリア活性化よりも下流の事象と考えられる²⁸⁾。また、脳内線条体への METH 直接投与により末梢投与と同様に線条体での DA 放出は亢進するが、DA 神経毒性(DA 枯渇)および hyperthermia は惹起されないことから、末梢での作用が METH 神経毒性を惹起することが示唆されていた²⁹⁾。さらに我々は、IFN- γ の腹腔内投与および脳室内投与は METH による DA 神経毒性を抑制し、hyperthermia は腹腔内投与で抑制されるが脳室内投与では抑制されないことを見出しており³⁰⁾、METH による hyperthermia は末梢の分子機転によると考えられる。

本研究で我々は、抗 HMGB1 抗体の末梢投与が METH の急性神経毒性に対し保護効果を示すこと、また hyperthermia を抑制することを見出した。これまでの研究で、METH 投与による末梢血中 HMGB1 濃度の上昇が、抗 HMGB1 抗体投与により抑制されることを見出している。したがって、抗 HMGB1 抗体は

末梢で HMGB1 を中和することにより hyperthermia を抑制している可能性が考えられる。hyperthermia の抑制効果が METH 神経毒性の抑制効果につながったかどうかについては、体温コントロール下での検証が今後必要となると考えられる。

抗 HMGB1 抗体末梢投与によって METH による DAT の脱落およびミクログリアの活性化が抑制され、さらに脳内 HMGB1 の核外移行も抑制されたことから、抗 HMGB1 抗体には脳内の炎症を抑える可能性がある。また、抗 HMGB1 抗体投与によって脳内へのアルブミン流入を減少させることができたため、末梢血中の HMGB1 が抗体により中和され、hyperthermia ならびに BBB の破綻が抑制されて、末梢からの起炎物質の侵入が軽減でき、これらが DA 神経終末の脱落抑制効果に関与することが考えられる。すなわち、抗 HMGB1 抗体が末梢で作用することによって METH による脳内神経毒性を抑制する可能性が示唆された。しかし、本研究では抗 HMGB1 抗体の脳室内投与あるいは脳内投与を行っていないため、末梢での作用に基づくという確証を得ることができていない。この点に関しては今後の課題としたい。複数の論文で、神経炎症が絡む神経疾患病態モデルにおける抗 HMGB1 抗体投与による治療効果が報告されている³¹⁻³⁵⁾。本研究結果は、HMGB1 が METH 急性神経毒性に関与していることを明らかにしたとともに、HMGB1 が METH 急性神経毒性緩和の標的となりうることを示した。

E. 結論

METH 投与により、惹起されるモノアミン系神経障害に関連する高体温、DAT の減少、DA 神経終末の脱落とともに、起炎物質 HMGB1 の末梢血中での増加ならびに線条体神経細胞での HMGB1 の核から細胞質への移行・放出がみられることを明らかにした。さらに抗 HMGB1 抗体の静脈内投与によりこれら METH 投与による HMGB1 血中濃度の上昇

と神経細胞での核外移行、高体温、DAT の減少、DA 神経終末の脱落を有意に抑制することができた。HMGB1 が乱用薬物により惹起される神経細胞毒性発現の共通分子となりうる可能性があり、今後細胞・非細胞評価系を用いた危険ドラッグ投与・添加によるHMGB1 およびそのレセプターTLR の発現動態の変化について検討する予定である。

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.
- 15) 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～3. 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)「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). 2018.
- 16) Wang, H., Bloom, O., Zhang, M., Vishnubhakat, J.M., Ombrellino, M., Che, J., Frazier, A., Yang, H., Ivanova, S., Borovikova, L., Manogue, K.R., Faist, E., Abraham, E., Andersson, J., Andersson, U., Molina, P.E., Abumrad, N.N., Sama, A., Tracey, K.J.: HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 285 (5425): 248-251, 1999.
- 17) Yang, H., Ochani, M., Li, J., Qiang, X., Tanovic, M., Harris, H.E., Susarla, S.M., Ulloa, L., Wang, H., DiRaimo, R., Czura, C.J., Wang, H., Roth, J., Warren, H.S., Fink, M.P., Fenton, M.J., Andersson, U., Tracey, K.J.: Reversing established sepsis with antagonists of endogenous high-mobility group box 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101 (1): 296-301, 2004.
- 18) Andersson, U., Tracey, K.J.: HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection. *Annu. Rev. Immunol.*, 29: 139-162, 2011.
- 19) 西堀正洋: DAMP としての HMGB1 と抗 HMGB1 抗体療法. *日本薬理学雑誌*, 151 (1): 4-8, 2018.
- 20) Bowyer, J.F., Ali, S.: High doses of methamphetamine that cause disruption of the blood-brain barrier in limbic regions

- produce extensive neuronal degeneration in mouse hippocampus. *Synapse*, 60 (7): 521-532, 2006.
- 21) Kiyatkin, E.A., Brown, P.L., Sharma, H.S.: Brain edema and breakdown of the blood-brain barrier during methamphetamine intoxication: critical role of brain hyperthermia. *Eur. J. Neurosci.*, 26 (5): 1242-1253, 2007.
 - 22) Fumagalli, F., Gainetdinov, R.R., Wang, Y.M., Valenzano, K.J., Miller, G.W., Caron, M.G.: Increased methamphetamine neurotoxicity in heterozygous vesicular monoamine transporter 2 knock-out mice. *Neuroscience*, 19 (7): 2424-2431, 1999.
 - 23) LaVoie, M.J., Hastings, T.G.: Dopamine quinone formation and protein modification associated with the striatal neurotoxicity of methamphetamine: evidence against a role for extracellular dopamine. *J. Neurosci.*, 9 (4): 1484-1491, 1999.
 - 24) Miyazaki, I., Asanuma, M., Diaz-Corrales, F.J., Fukuda, M., Kitaichi, K., Miyoshi, K., Ogawa, N.: Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity is regulated by quinone-formation-related molecules. *FASEB J.*, 20 (3): 571-573 2006.
 - 25) Cadet, J.L., Jayanthi, S., Deng, X.: Speed kills: cellular and molecular bases of methamphetamine-induced nerve terminal degeneration and neuronal apoptosis. *FASEB J.*, 17 (13): 1775-1788, 2003.
 - 26) 喜多大三, 竹島美香, Wagner, G.C., 穂積宏彰, 宮崎育子, 浅沼幹人: メタンフェタミン神経毒性発現に関する研究の新展開. *日本神経精神薬理学雑誌*, 28 (2): 49-61, 2008.
 - 27) Kil, H.Y., Zhang, J., Piantadosi, C.A.: Brain temperature alters hydroxyl radical production during cerebral ischemia/reperfusion in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 16 (1): 100-106, 1996.
 - 28) Kawasaki, T., Ishihara, K., Ago, Y., Nakamura, S., Itoh, S., Baba, A., Matsuda, T.: Protective effect of the radical scavenger edaravone against methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity in mouse striatum. *Eur. J. Pharmacol.*, 542 (1-3): 92-99, 2006.
 - 29) Burrows, K.B., Nixdorf, W.L., Yamamoto, B.K.: Central administration of methamphetamine synergizes with metabolic inhibition to deplete striatal monoamines: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 292 (3): 853-860, 2000.
 - 30) Hozumi, H., Asanuma, M., Miyazaki, I., Fukuoka, S., Kikkawa, Y., Kimoto, N., Kitamura, Y., Sendo, T., Kita, T., Gomita, Y.: Protective effects of interferon-gamma against methamphetamine-induced neurotoxicity. *Toxicol. Lett.*, 177 (2): 123-129, 2008.
 - 31) Liu, K., Mori, S., Takahashi, H.K., Tomono, Y., Wake, H., Kanke, T., Sato, Y., Hiraga, N., Adachi, N., Yoshino, T., Nishibori, M.: Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody ameliorates brain infarction induced by transient ischemia in rats. *FASEB J.*, 21 (14): 3904-3916, 2007.
 - 32) Okuma, Y., Liu, K., Wake, H., Zhang, J., Maruo, T., Date, I., Yoshino, T., Ohtsuka, A., Otani, N., Tomura, S., Shima, K., Yamamoto, Y., Yamamoto, H., Takahashi, H.K., Mori, S., Nishibori, M.: Anti-high mobility group box-1 antibody therapy for traumatic brain injury. *Ann. Neurol.*, 72 (3): 373-384, 2012.
 - 33) Wang, D., Liu, K., Wake, H., Teshigawara, K., Mori, S., Nishibori, M.: Anti-high mobility group box-1 (HMGB1) antibody inhibits hemorrhage-induced brain injury and improved neurological deficits in rats. *Sci. Rep.*, 7: 46243, 2017.
 - 34) Zhao, J., Wang, Y., Xu, C., Liu, K., Wang, Y., Chen, L., Wu, X., Gao, F., Guo, Y., Zhu, J., Wang, S., Nishibori, M., Chen, Z.:

Therapeutic potential of an anti-high mobility group box-1 monoclonal antibody in epilepsy. *Brain Behav. Immun.*, 64: 308-319, 2017.

- 35) Yamasoba, D., Tsubota, M., Domoto, R., Sekiguchi, F., Nishikawa, H., Liu, K., Nishibori, M., Ishikura, H., Yamamoto, T., Taga, A., Kawabata, A.: Peripheral HMGB1-induced hyperalgesia in mice: Redox state-dependent distinct roles of RAGE and TLR4. *J. Pharmacol. Sci.*, 130 (2): 139-142, 2016.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Murakami, S., Miyazaki, I., Asanuma, M.: Neuroprotective effect of fermented papaya preparation by activation of Nrf2 pathway in astrocytes. *Nutr. Neurosci.*, 21 (3): 176-184, 2018.
doi.org/10.1080/1028415X.2016.1253171.
- 2) Tanaka, K., Yagi, T., Nanba, T., Asanuma, M.: Application of single prolonged stress induces post-traumatic stress disorder-like characteristics in mice. *Acta Med. Okayama*, 72 (5): 479-485, 2018.
- 3) Nakamura, Y., Kitamura, Y., Sumiyoshi, Y., Naito, N., Kan, S., Ushio, S., Miyazaki, I., Asanuma, M., Sendo, T.: Involvement of 5-HT2A receptor hyperfunction in the anxiety-like behavior induced by doxorubicin and cyclophosphamide combination treatment in rats. *J. Pharmacol. Sci.*, 138(3): 192-197, 2018. doi: 10.1016/j.jphs.2018.10.001
- 4) Asanuma, M., Okumura-Torigoe, N., Miyazaki, I., Murakami, S., Kitamura, Y., Sendo, T.: Region-specific neuroprotective features of astrocytes against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(3): 598, 2019.

doi:10.3390/ijms20030598

2. 学会発表

- 1) 浅沼幹人, 宮崎育子: アストロサイトの亜鉛関連分子を標的とした神経病態修飾薬. Disease-modifying drugs for neurodegenerative diseases targeting zinc-related molecules in astrocytes. 日本薬学会第 138 年会シンポジウム: 認知機能から神経疾患—日韓によるニューロジンクとその関連分子からの新展開—, 金沢, 2018.3.27.
- 2) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 船越英丸, Kyle Quin, 禅正和真, 村上真樹, 竹島美香, 三好 耕, 浅沼幹人: 妊娠・授乳期におけるエポキシ樹脂曝露の新生仔マウス脳への影響. 第 123 回日本解剖学会総会, 東京, 2018.3.28-30.
- 3) Miyazaki, I., Kikuoka, R., Isooka, N., Murakami, S., Kitamura, Y., Asanuma, M.: Possible involvement of metallothionein in rotenone-induced dopaminergic neurotoxicity. 第 59 回日本神経学会学術大会, 札幌, 2018.5.23-26.
- 4) Naito, N., Kitamura, Y., Nakamura, Y., Sumiyoshi, Y., Kan, S., Miyazaki, I., Asanuma, M., Sendo, T.: Involvement of enhanced 5-HT2A receptor function on doxorubicin and cyclophosphamide-induced anxiety-like behavior in rats. 31st The International College of Neuropsychopharmacology (CINP World Congress), Vienna, Austria, 2018.6.16-19.
- 5) Kitamura, Y., Okada, A., Hongo, S., Otsuki, K., Miki, A., Miyazaki, I., Asanuma, M., Sendo, T.: Influence of benzodiazepine medications and GABAA receptor function on the pentobarbital-induced sleep behavior of lipopolysaccharide-treated mice. 31st The International College of Neuropsychopharmacology (CINP World Congress), Vienna, Austria, 2018.6.16-19.

- 6) 宮崎育子, 磯岡奈未, 菊岡 亮, 和田晃一, 中山恵利香, 進 浩太郎, 山本大地, 北村佳久, 浅沼幹人: ロチゴチンによるアストロサイトのセロトニン 1A レセプターを標的としたドパミン神経保護. 第 12 回パーキンソン病・運動障害疾患コンGRESS (MDSJ), 京都, 2018.7.5-7.
- 7) 黒田啓太, 磯岡奈未, 菊岡 亮, 村上真樹, 大熊 佑, 宮崎育子, 劉 克約, 西堀正洋, 浅沼幹人: メタンフェタミン神経毒性に対する HMGB1 抗体の保護効果. 第 29 回創薬・薬理フォーラム, 岡山, 2018.7.14.
- 8) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 中山恵利香, 進 浩太郎, 山本大地, Quin E. Kyle, 船越英丸, 禅正和真, 浅沼幹人: 母体へのエポキシ樹脂 BADGE 暴露が新生仔マウス脳にもたらす影響. 第 45 回日本毒性学会学術年会, 大阪, 2018.7.18-20.
- 9) 浅沼幹人: アストロサイトの抗酸化防御機構を標的にした神経保護薬探索と末梢先行性のパーキンソン病病態におけるグリア細胞. 特別講演, 第 29 回霧島神経薬理フォーラム, 由布市, 2018.8.18.
- 10) Asanuma, M., Miyazaki, I., Isooka, N., Kikuoka, R., Wada, K., Nakayama, E., Shin, K., Yamamoto, D., Kitamura, Y.: Rotigotine protects dopaminergic neurons by targeting serotonin 1A receptors on astrocytes. 22nd International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Hong Kong, China, 2018.10.5-9.
- 11) Miyazaki, I., Isooka, N., Kikuoka, R., Wada, K., Kitamura, Y., Asanuma, M.: Neuroprotective effects of coffee ingredients against rotenone induced neurodegeneration in parkinsonian model. 22nd International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Hong Kong, China, 2018.10.5-9.
- 12) 浅沼幹人, 宮崎育子, 禅正和真, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 新居 麗, 園部奏生, 船越英丸, 中山恵利香, 進 浩太郎, 山本大地, Kyle Quin: 妊娠・授乳期エポキシ樹脂暴露産仔マウス脳への影響に関する組織学的・行動学的検討. 日本解剖学会第 73 回中国・四国支部学術集会, 徳島, 2018.10.20-21.
- 13) 磯岡奈未, 和田晃一, 古川智英子, 宮崎育子, 浅沼幹人: パーキンソン病モデルマウスにおけるメタロチオネインを介したカフェイン酸, クロロゲン酸の神経保護効果. メタルバイオサイエンス研究会 2018, 仙台, 2018.11.16.
- 14) 菊岡 亮, 宮崎育子, 久保田菜月, 前田恵実, 香川大樹, 守山雅晃, 糸 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 5-HT1A 受容体を介したメタロチオネイン発現誘導とドパミン神経保護. メタルバイオサイエンス研究会 2018, 仙台, 2018.11.16.
- 15) 宮崎育子, 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を標的とした神経保護. メタルバイオサイエンス研究会 2018 シンポジウム: メタロチオネイン研究の最新動向, 仙台, 2018.11.17.
- 16) 磯岡奈未, 和田晃一, 古川智英子, 宮崎育子, 浅沼幹人: ロテノン誘発神経毒性に対するカフェイン酸, クロロゲン酸の神経保護効果. 第 134 回日本薬理学会近畿部会, 神戸, 2018.11.23.
- 17) 菊岡 亮, 宮崎育子, 久保田菜月, 前田恵実, 香川大樹, 守山雅晃, 糸 明日香, 村上真樹, 北村佳久, 浅沼幹人: 抗鬱薬ミルタザピンの神経-グリア連関を介したドパミン神経保護効果. 第 134 回日本薬理学会近畿部会, 神戸, 2018.11.23.

J. 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

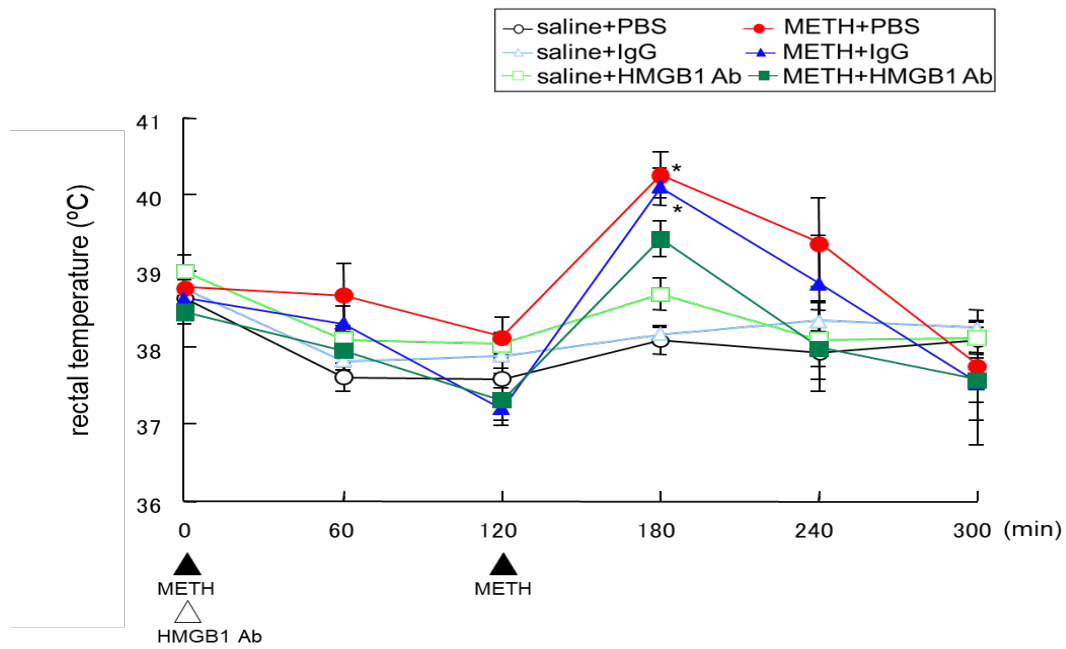
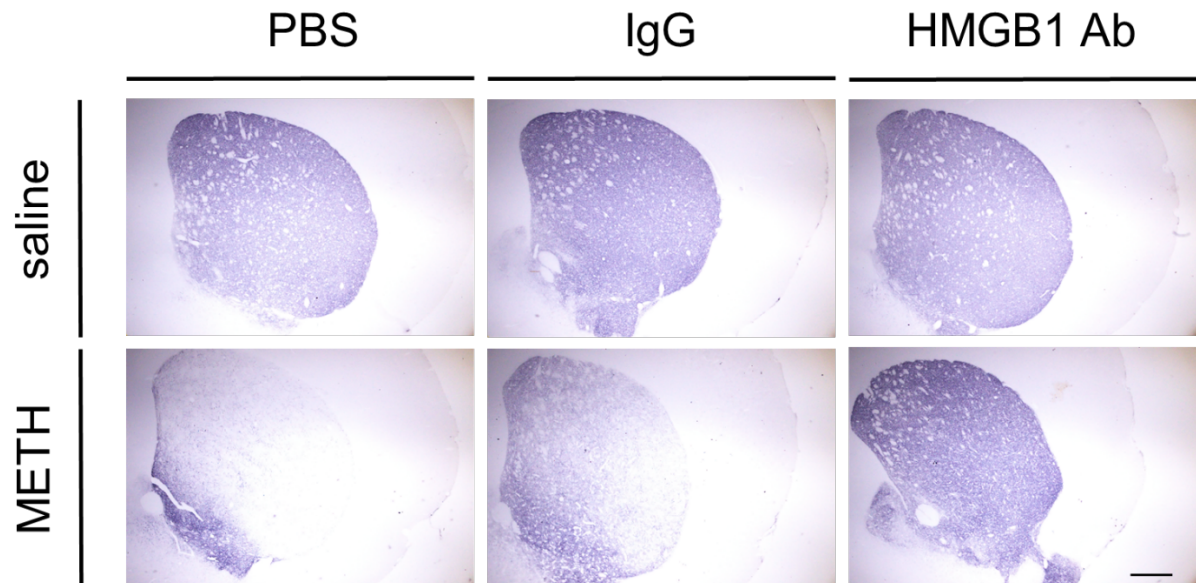


図 1. METH 急性神経毒性モデルマウスにおける直腸温の経時的変化

saline あるいは METH 投与直前と投与後 1 時間毎にモデルマウスの直腸温を測定した。saline + PBS (n=5), saline+IgG (n=4), saline+HMGB1 Ab (n=4), METH+PBS (n=6), METH+IgG (n=6), METH+HMGB1 Ab (n=6). *p<0.05 vs time-matched saline-treated group. (one-way ANOVA, *post-hoc* Tukey's test)

A



B

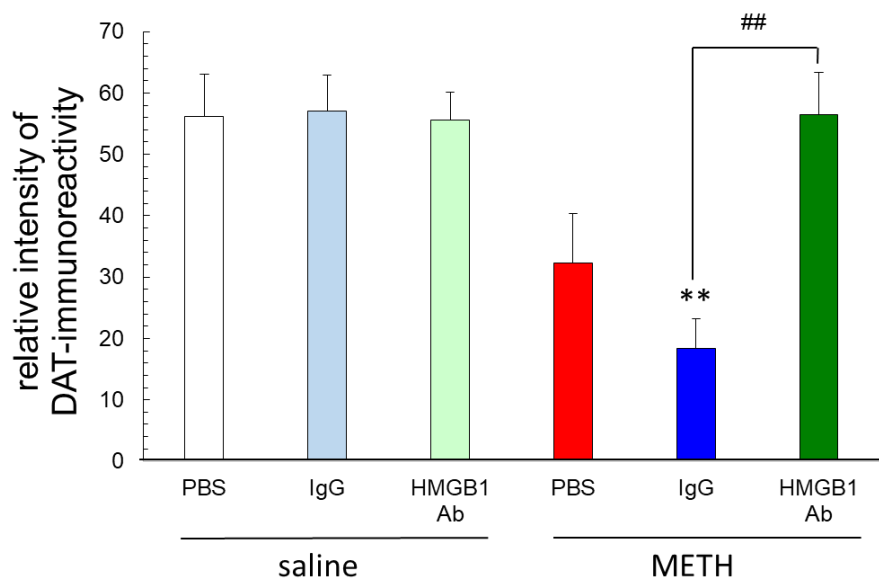
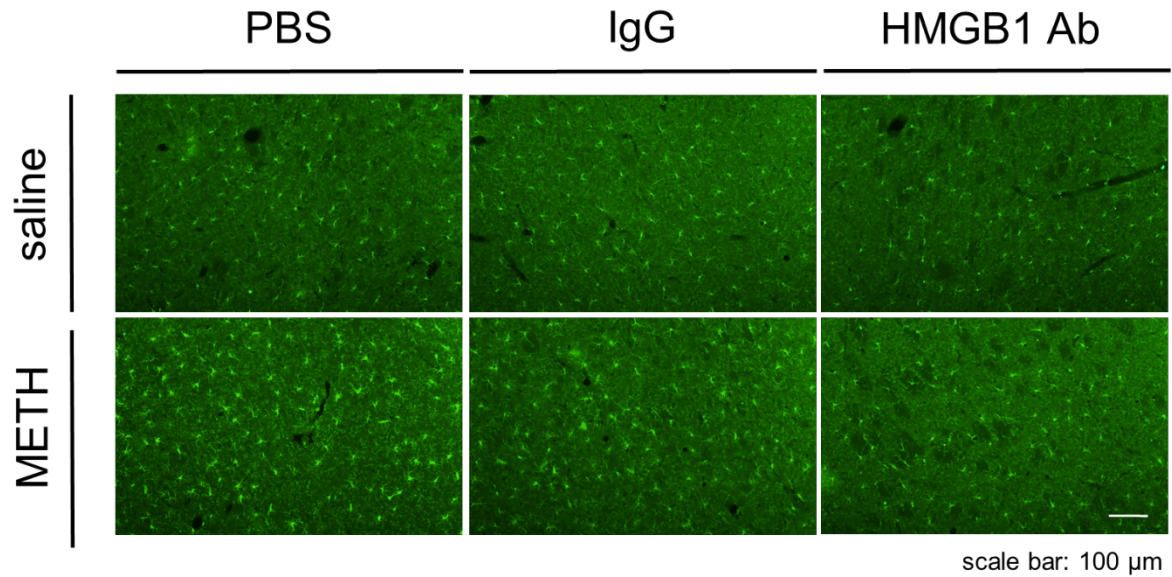


図2. METH神経毒性によるDAT脱落と抗HMGB1抗体の効果

(A)免疫染色像。saline+PBS (n=4), saline+IgG (n=4), saline+HMGB1 Ab (n=4), METH+PBS (n=5), METH+IgG (n=6), METH+HMGB1 Ab (n=4), scale bar=500 μ m.

(B)線条体背外側DAT陽性シグナル強度。**p<0.01 vs. saline+PBS-treated group. ##p<0.01 between indicated groups. (one-way ANOVA, *post-hoc* Tukey's test)

A



B

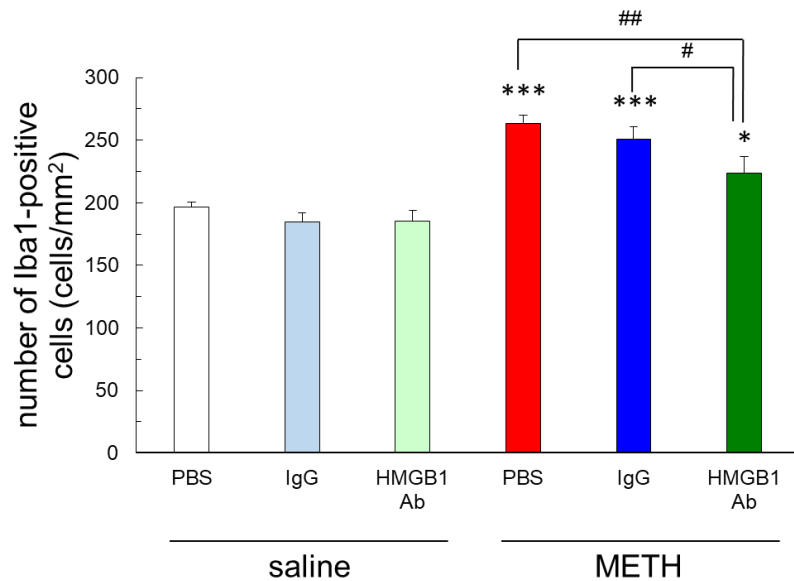
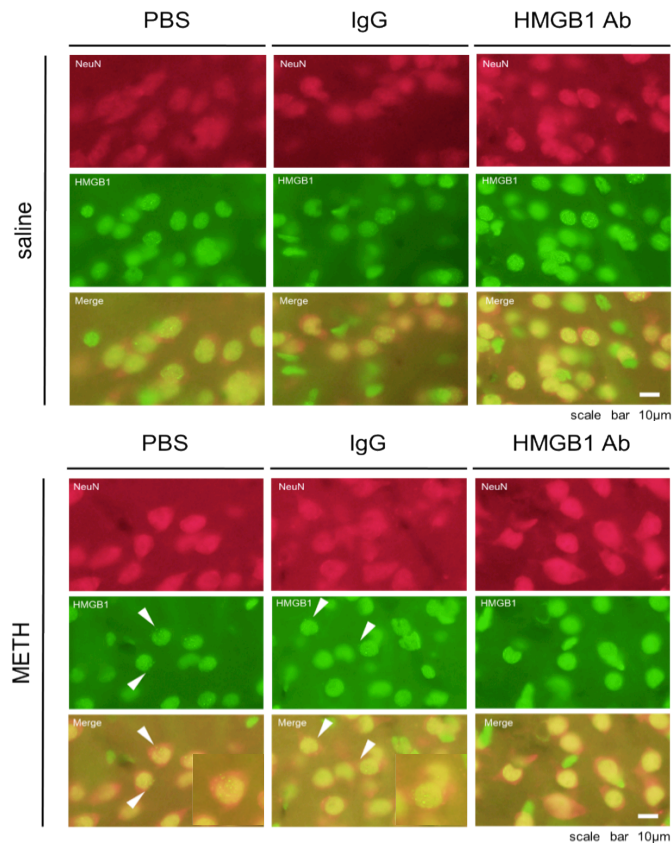


図3. METH急性投与によるミクログリアの活性化に対する抗HMGB1抗体の影響

(A)ミクログリアマーカーIba1の蛍光免疫染色像。saline+PBS (n=4), saline+IgG (n=4), saline+HMGB1 Ab (n=4), METH+PBS (n=5), METH+IgG (n=6), METH+HMGB1 Ab (n=4), scale bar=100 μ m.

(B)線条体背外側 Iba1 陽性ミクログリア細胞数。* p <0.05, *** p <0.001 vs. saline+PBS-treated group, # p <0.05, ## p <0.01 between indicated groups. (one-way ANOVA, *post-hoc* Tukey's test)

A



B

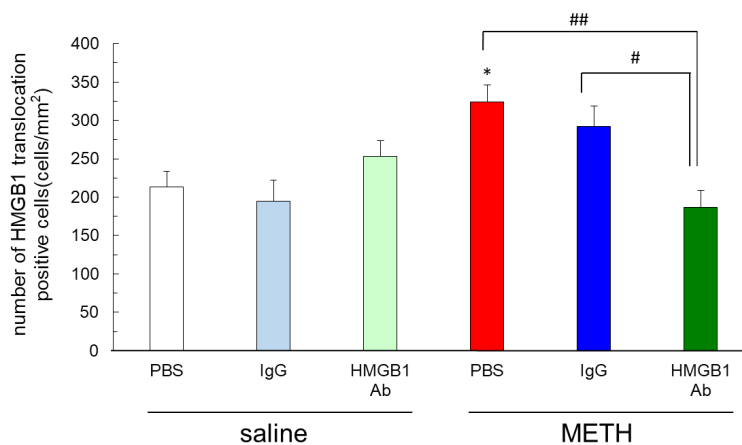
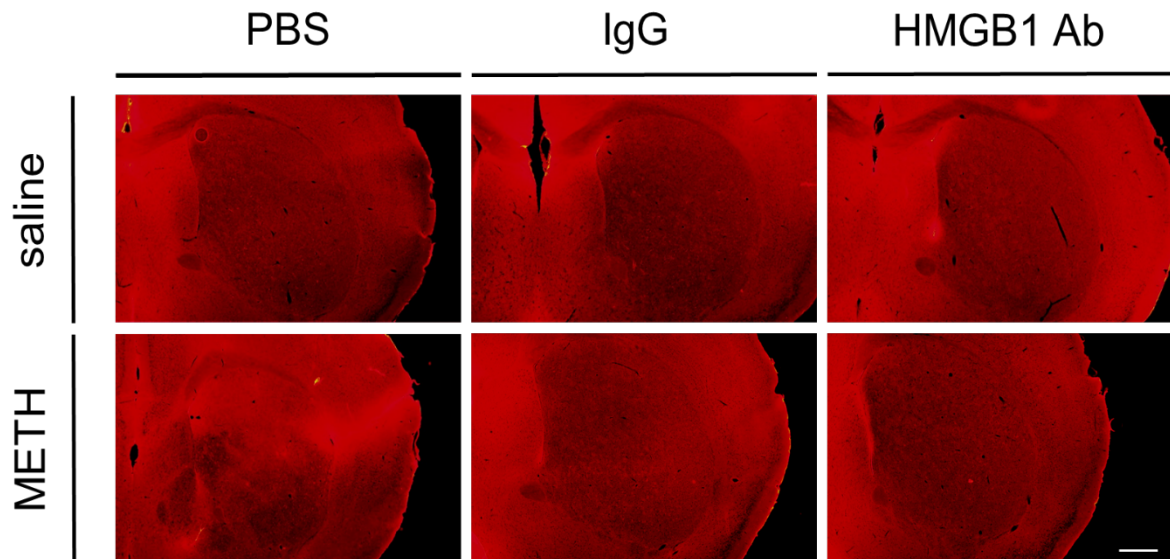


図 4. METH 急性投与による線条体神経細胞における HMGB1 動態と抗 HMGB1 抗体投与の影響 (A)NeuN(赤)、HMGB1(緑)の蛍光二重染色像。METH 投与により HMGB1 の核外移行(矢頭)、細胞外放出(inset)が認められた。saline+PBS (n=4), saline+IgG (n=4), saline+HMGB1 Ab (n=4), METH+PBS (n=5), METH+IgG (n=5), METH+HMGB1 Ab (n=5), scale bar=10 μm.

(B)線条体背外側における HMGB1 の核外移行がみられた神経細胞数の変化。*p<0.05 vs. saline+PBS-treated group, #p<0.05, ##p<0.01 between indicated groups. (one-way ANOVA, *post-hoc* Tukey's test)

A



B

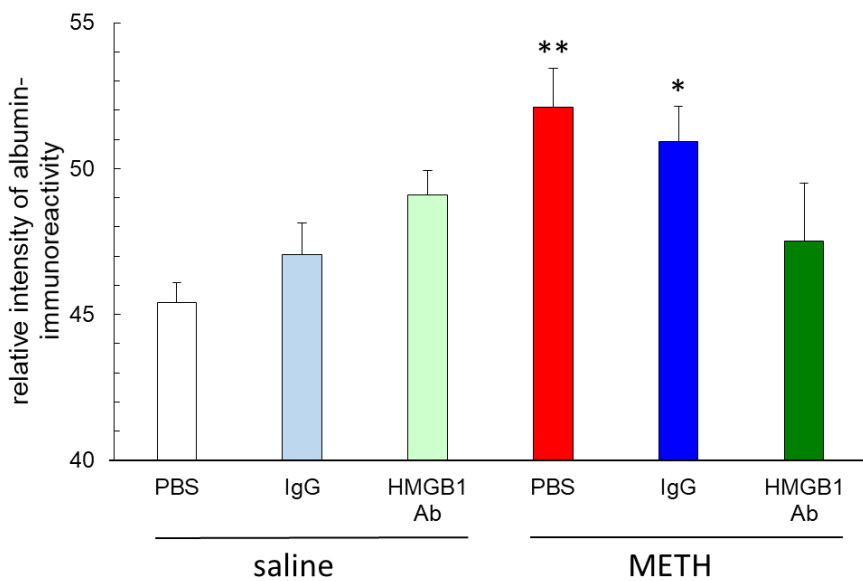


図 5. METH 投与による BBB 破綻に対する抗 HMGB1 抗体の効果

(A)線条体中部の脳冠状断切片におけるアルブミンの蛍光免疫染色像。saline+PBS (n=4), saline+IgG (n=4), saline+HMGB1 Ab (n=4), METH+PBS (n=5), METH+IgG (n=5), METH+HMGB1 Ab (n=5), scale bar=500 μ m.

(B)線条体背外側におけるアルブミンシグナル強度。* p <0.05, ** p <0.01 vs. saline+PBS-treated group. (one-way ANOVA, *post-hoc* Tukey's test).

分担研究報告書

合成カンナビノイドの識別技術確立と代謝挙動に関する研究

分担研究者：	北市清幸	(岐阜薬科大学 薬物動態学研究室)
研究協力者：	伊藤哲朗	(岐阜県保健環境研究所 生活科学部)
研究協力者：	川島英頌	(岐阜薬科大学 薬物動態学研究室)
研究協力者：	首村菜月	(岐阜薬科大学 薬物動態学研究室)
研究協力者：	松久貴哉	(岐阜薬科大学 薬物動態学研究室)
研究協力者：	曾田 翠	(岐阜薬科大学 薬物動態学研究室)
研究協力者：	筑本貴郎	(岐阜県保健環境研究所 生活科学部)
研究協力者：	神山恵理奈	(岐阜県保健環境研究所 生活科学部)
研究協力者：	永井宏幸	(岐阜県保健環境研究所 生活科学部)

【研究要旨】

本年度より、合成カンナビノイド (SCs) の部分構造から入手困難な SCs 標準品を合成する適時供給体制が構築されたので、市販品と共にこの手法で合成された SCs を用い、各種の検討を行った。すなわち、1) 昨年度までに確立した LCMS-IT-TOF による SCs の代謝物分析手法を用い、アダマンチル基の位置異性体構造を持つ 2 種の ATHPINACA 異性体 (ATHPINACA isomer 1, ATHPINACA isomer 2) におけるヒト肝ミクロソーム (HLMs) 代謝実験を行い、質量分析に基づく代謝物の識別および *in vitro* 代謝経路の推定を試みた。また、2) SCs 代謝物の *in vivo* 代謝挙動に関する知見を蓄積することを目的に、インダゾール環に導入されたペンチル鎖の構造異性体 2 種 (5F-CUMYL-PINACA, CUMYL-PINACA) について、動物実験系による *in vivo* 代謝実験を行った。さらに、3) 高速液体クロマトグラフ (LC) - 質量分析装置 (MS) を用いた SCs 位置異性体 (FUB-JWH-018 とその異性体) のカラムによる分離と質量分析による識別法の開発を行った。

1) の検討により、ATHPINACA 位置異性体 2 種はいずれも代謝半減期が非常に短く、摂取後の識別には代謝物の検出とその代謝プロファイル情報が必要であることが明らかになった。なお、両化合物の主要代謝経路はアダマンチル基への速やかな水酸基の導入であり、代謝反応 3 時間後の主要代謝物は、isomer 1 では二水酸化体、isomer 2 では一水酸化体であることが明らかとなった。なお、両 isomer の未変化体および主要代謝物のプロトン付加分子から生成されるプロダクトイオンには明確な違いがあり、ATHPINACA 位置異性体 2 種の識別は、未変化体、主要代謝物のいずれの検出によっても可能であることが示唆された。

2) は、5F-CUMYL-PINACA および CUMYL-PINACA は体温低下などの薬効を示す 0.3~0.5 mg/kg (iv) で実験を行った。両化合物の血中濃度を測定し、PK 解析を行った結果、2-コンパートメントモデルにより、両化合物の薬物動態学的パラメーターを導けることが明らかになった。しかし、両化合物の未変化体の尿中排泄は確認されず、*in vitro* 代謝実験で得られた主要代謝物もごく微量であった。よって、摂取 SCs の同定にはさらなる工夫が必要であることが考えられた。

また、3) では SCs の構造類似化合物 (異性等) の識別を目指して、LC-MS 及びモデル化合物を用いた基礎研究を行い、FUB-JWH-018 とその異性体の識別が可能な系を確立した。なお、この評価系は、SCs を含む製品における位置異性体識別にも適用可能であった。

以上の知見は、摂取 SCs およびその代謝物の識別技術確立に技術的基盤として極めて有用であり、

A. 研究目的

危険ドラッグに含まれる成分にはカチノン類や合成カンナビノイド (SCs) 等が知られている。国はこれらについて法律による規制を行っているが、その構造の一部を変えた指定薬物対象外の新規化合物が次々と出現する、いわゆる“イタチごっこ”が続いてきた。特に合成カンナビノイドは、未変化体が尿などの生体試料から検出困難であることが知られている。一方、臨床における中毒者への対応、及び代謝物を分析対象とした危険ドラッグ規制に資する薬物動態学的知見は乏しく、SCs およびその代謝物の経時的な濃度推移や代謝物の排泄挙動に関する研究はほとんど行われていない。従って、*in vitro* および *in vivo* 実験モデルは、実際の生体内における SCs 代謝をより正確に予測するために重要であり、これらの代謝プロファイルの情報を蓄積することは SCs の摂取を裏付けるエビデンスとして有用であると考えられる。現在、SCs の使用は下火になってきたと言われているが、海外において電子タバコに装填する e-liquid 中にアミド型の SCs の存在が確認されている。本研究では、これらアミド型の SCs の中で今後日本でも流通する可能性が否定できない ATHPINACA 位置異性体 2 種および 5F-CUMYL-PINACA とその構造類似物質 CUMYL-PINACA 等を用いて、*in vitro* 代謝実験系および *in vivo* 代謝実験系における代謝物並びに代謝経路の推定を試みた。

SCs に代表される危険ドラッグは、ビルディングブロックの置換により、規制対象外且つ有害作用が同等の誘導体へと容易に導かれ、それらの代謝物は多岐に渡る¹⁾。代謝物の化学構造と作用の相関解析は危険ドラッグ代謝物の有害作用を解釈する基礎となるため、指定対象外とされる指定薬物の異性体由来の代謝物解析と親化合物の同定は、本研究課題の基盤となる。そこで本研究では、代謝物の物理化学的特性を考慮し、分析系に高速液体クロマトグラフ質量分析装置 (LC/MS) 及びモ

デル化合物を用いた異性体識別を開発することを目指した。また、多種多様な合成カンナビノイドの分析に対応するため、フラグメントライブラリー整備による化合物の適時供給体制を整えるとともに、国内の検出動向を反映した化合物選定と異性体モデル化合物の合成を進め、合成カンナビノイドの代謝物測定系 (*in vitro*, *in vivo*) の開発に資することを目指した。

B. 研究方法

1. 肝ミクロソーム画分を用いた *in vitro* 代謝実験

薬物の代謝反応は Erratico et al²⁾の方法に一部改良を加えて行った。

氷上にて、100 mM リン酸 buffer (pH 7.4) 900 μ L に、HLMs 終濃度 0.5 mg/mL (XenoTec, Kansas, USA)、NADPH Regeneration System Solution A 50 μ L、Solition B 10 μ L (Corning, USA)、UDPGA 終濃度 1 mM (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)、alamethicin in DMSO 終濃度 10 μ g/mL (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) を添加し、全量を 990 μ L とした。

この混液を、5 分間のプレインキュベートした後に、対象となる SCs を終濃度 10 μ M となるように 10 μ L 添加後、37 $^{\circ}$ C の水浴で 3 時間までインキュベートを行った。

1-1. 経時サンプルの作製

各タイムポイント(0, 10, 20, 30, 40, 60, 120, 180 分) の混液を 200 μ L 採取し、内部標準物質であるパパベリン 0.01 μ g/mL (日医工, 富山) を含有するアセトニトリル溶液 (4 $^{\circ}$ C) を 1200 μ L 添加し、代謝反応を停止させた。得られたサンプルは、遠心 (12,000 rpm, 10 min) し、上清を、45 $^{\circ}$ C で遠心乾固し、超音波処理のもとで 100 μ L の 50%アセトニトリルに再溶解した。その後、遠心 (12,000 rpm, 10 min) を行い、上清をフィルター濾過し、測定に用いた。

2. SCsの大量合成

Fig. 1 に示す合成スキームにより 5F-CUMYL-PINACA およびペンチル鎖末端の構造異性体 CUMYL-PINACA を合成し、各々の化学構造をガスクロマトグラフ質量分析法および核磁気共鳴分光法 (NMR) により得られた情報を元に決定した後、動物実験に用いた。

3. ラットを用いた *in vivo* 代謝実験

9 週齢の Wister-ST 雄性ラット (SLC, 日本) を使用した。頸静脈および膀胱にカテーテルを挿入し、頸静脈から 2 mL/hour の速度で 4% マンニトールを負荷した状態で経時的な採血および採尿を行った。なお、SCs は、終濃度としてエタノール 1%, Tween80 5% となるよう生理食塩水で希釈したものを静脈内投与した。5F-CUMYL-PINACA では 0.5 mg/kg, CUMYL-PINACA では 0.3 mg/kg をラットに投与した。5F-CUMYL-PINACA については投与後 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120 分、CUMYL-PINACA については上記に加え 180, 240 分のタイムポイントで 0.5 mL の採血を行った。採尿は 1 時間ごとに行った。採取後のサンプルは直ちに遠心分離を行い、その上清を分析まで -80°C で保存した。

血漿中濃度算出に用いる検量線は、0, 30, 50, 100, 200, 300 ng/mL のポイントで作成した。血漿サンプルについては、Oasis HLB 1cc (30 mg, Waters, Milford, MA, USA) を用いて SPE 処理を行った。アセトニトリル 1 mL で 2 回コンディショニングを行い、精製水 2 mL で平衡化後、サンプルをロードした。サンプル調製は、血漿 100 μ L, 精製水 900 μ L, アセトニトリルで 600 μ g/mL に希釈した内部標準物質 50 μ L (5F-CUMYL-PINACA または CUMYL-PINACA), 検量線の各濃度に希釈したスタンダードサンプルまたはアセトニトリル 50 μ L とした。5%アセトニトリル 1 mL を用いたウォッシュを 3 回行った後、1.2 mL のアセトニトリルでエリユートし、45°C で遠心乾固した。

尿サンプルは β -Glucuronidase (終濃度 15,000 Unit/mL) を用いた 37°C, 120 分間のイ

ンキュベーションにてグルクロン酸抱合体を加水分解後、液液抽出を行った。尿量の 2 倍量のクロロホルム:イソプロパノール=3:1、600 μ g/mL に希釈した内部標準物質 50 μ L (5F-CUMYL-PINACA または CUMYL-PINACA) を加え、10%NH₃aq で pH=10 に調整した。5 分間混合し、遠心分離 (3600 rpm, 20 分) 後の水層を 50°C にて窒素乾固した。

乾燥後の各サンプルは超音波処理のもとで 100 μ L の 50%アセトニトリルに再溶解した。その後、遠心 (12,000 rpm, 10 分) を行い、上清をフィルター濾過し、測定に用いた。

4. 分析条件

それぞれの合成カンナビノイドおよびその代謝物の分析には、LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto)、LC カラムには ZORBAX Eclipse Plus C8 2.1 \times 150 mm, 3.5 μ m を使用した。

移動相には、(A) 0.1% formic acid in water および(B) 0.1% formic acid in acetonitrile を用い、グラジエントの条件は、(B) 0-2 min: 10%、2-40 min: 10 \rightarrow 90%、40-48 min: 10%とし、測定時間は 48 分に設定した。また、カラム温度は 40 °C、流速は 0.18 mL/min とし、測定サンプルのインジェクト量は 10 μ L とし、測定を行った。LCMS-IT-TOF は、イオン化法として positive/negative electrospray ionization (ESI) 法を用い、測定範囲を *m/z* 100-700 とし、測定を行った。なお、イオン蓄積時間は 40 msec. とした。また、各プリカーサアイソレーション幅は 1 Da とし、周波数は 45.0 kHz、CID エネルギーは 100% で測定を行った。

5. データ解析

保持時間、精密質量および代謝物と考えられるマスキロマトグラム中のピークから得られたプロダクトイオンスペクトルのデータより、その化合物が SCs 由来の化合物であることを確認し代謝物とした。なお、ブランクとして用いた HLMs 溶液から検出されるものについては代謝物から除外した。また、代謝物の命名は第一相代謝物に関しては溶出時間 (Rt) 順に命名し、第二相代謝物はグルクロン酸抱

合前の代謝物名にGを付けて命名した。なお、最終的にすべての代謝物は以下の基準を満たすことを確認した。

- ① ブランクサンプル中に存在しない
- ② 他の代謝物の同位体ではない
- ③ プリカーサーイオンの精密質量が理論値から 5 ppm 以内である
- ④ プロダクトイオンがプリカーサーイオンの部分構造として推定可能である

代謝半減期の算出は、実験に用いた SCs の各タイムポイントにおけるクロマトグラムのピーク面積の変化を用いて算出した。

代謝物の生成量は、各代謝物のピーク面積を内部標準物質のピーク面積で補正したものを、その経時変化を観察した。

in vivo 実験の薬物動態学的パラメーターの算出には Phoenix PK 解析ソフトを用いた。

6. LC-MS による規制薬物の構造異性体識別

我々は既に、検出動向を反映した化合物選定とモデル化合物の合成(フッ素位置異性体)を行い、Fig. 2 に示す 6 種のモデル化合物を得ている (FUB-JWH-018 (**3**))³。これらのメタノール溶液 (5ppm) を標準溶液とした。

LC-MS 装置と条件：

LC-MS 装置：1100 Series LC/MSD (Agilent Technologies, Santa Clara, USA)、カラム：Discovery HS F5 (2.1×150 mm, 3 μm, Supelco (PFP カラム)、移動相：0.1% ギ酸 / 0.1% ギ酸アセトニトリル混液 (58 : 42)、流速：0.4 mL/min、カラム温度：40°C、注入量：5 μL、イオン化モード:ESI (+)、Scan 範囲：*m/z* 50-450
LC-MS/MS 装置：1200 Series / 6460 Triple Quadrupole MS (Agilent Technologies)、カラム：ZORBAX Eclipse Plus C8 (2.1×150 mm, 3.5 μm, Agilent Technologies (C8 カラム)、移動相：0.1% ギ酸 / 0.1% ギ酸アセトニトリル混液 (20 : 80)、流速：0.18 mL/min、その他の条件は LC-MS と同様である。

LC-IT-TOF-MS 装置：Prominence UFLC / IT-TOF (Shimadzu, Kyoto, Japan)、移動相条件：C8 カラムの場合は LC-MS/MS、PFP カラムの場合は LC-MS に準じた。

全ての装置において、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) を適用し、ポジティブモードにて、スキャン分析(LC-MS)と衝突誘起解離による分析(LC-MS/MS, LC-IT-TOF-MS)を行った。後者では、水素付加イオン ($[M+H]^+$ *m/z* 380) をプリカーサーイオンとして設定し、種々の条件下得られたスペクトルの差異から異性体を識別することとした。

C. 研究結果

1. ATHPINACA 位置異性体の識別および代謝物の推定

ATHPINACA isomer 1 および isomer 2 は、アミド結合に付随するアダマンチル基の位置異性体構造を持つ合成カンナビノイドである。HLMs を用いた *in vitro* 試験において ATHPINACA isomer 1 では 14 種、isomer 2 では 12 種の代謝物が推定された。Fig. 3 に示すように、両化合物の未変化体の保持時間はほぼ同じであり、isomer 1 では 34.5 分、isomer 2 では 33.7 分であった。また、未変化体の HLMs による代謝半減期は isomer 1 では 4.56 ± 0.85 分、isomer 2 では 5.1 ± 0.51 分であった。両化合物の主要代謝経路はアダマンチル基への速やかな水酸基の導入であり、代謝反応 3 時間後の主要代謝物は、ATHPINACA isomer 1 では二水酸化体、ATHPINACA isomer 2 では一水酸化体であることが明らかとなった。(Fig. 4, 5) また、未変化体および主要代謝物のプロトン付加分子から生成されるプロダクトイオンには明確な違いが見られ、isomer 1 ではアダマンチル基を、isomer 2 ではインダゾール骨格を示すものが得られた (Fig. 6)。

2. *in vivo* 実験における代謝挙動の解析

CUMYL-PINACA, 5F-CUMYL-PINACA は類似の構造を持つ合成カンナビノイドである。両化合物は共に、ラットへの投与量が 0.3~0.5 mg/kg で SCs が共通して持つ低体温などの薬理作用を示し、それ以上の投与量では低体温と呼吸抑制による致死が観察された。

PK 解析ソフトを用いたコンパートメント

解析をノンコンパートメントモデル、1-コンパートメントモデル、2-コンパートメントモデルそれぞれで行い、両化合物ともに2-コンパートメントモデルを用いた解析が、最も予測値から実測値のズレが小さいモデルとなった。このモデルより算出した、血中濃度推移のグラフを Fig. 7 に示す。両化合物は2-コンパートメントモデルにおける典型的な血中濃度推移を示した。薬物動態学的パラメーターの算出からは、両化合物の体循環コンパートメントの分布容積 (V1) よりも、末梢コンパートメントの分布容積 (V2) の方が大きくなることが明らかとなった (CUMYL-PINACA: $V1 = 1.1 \pm 0.2$ mL/kg, $V2 = 2.9 \pm 1.0$ mL/kg; 5F-CUMYL-PINACA: $V1 = 0.5 \pm 0.2$ mL/kg, $V2 = 1.5 \pm 0.2$ mL/kg)。また、消失半減期は、CUMYL-PINACA: 3.4 ± 1.5 h; 5F-CUMYL-PINACA: 1.0 ± 0.2 h であることも明らかになった。

代謝物に関しては血中尿中ともに検出限界以下であった (data not shown)。

3. LC-MS による規制薬物の構造異性体識別

指定薬物 FUB-JWH-018 (3) およびその異性体 5 種 (1, 2, 4-6) の混合溶液を LC-MS で分析したところ、PFP カラムを用いた条件においてすべての異性体が良好に分離された (Fig. 8)。

LC-MS/MS において、C8 カラムを用い、 m/z 380 ($[M+H]^+$) をプリカーサーイオンとして Collision energy (CE) 10-80 eV におけるプロダクトイオンスペクトルを測定した結果、低い CE では calbonyl 基の α -開裂による m/z 155 及び m/z 252、高い CE では fluorobenzyl cation (m/z 109) から生じる m/z 83、naphthalene cation (m/z 127) から生じる m/z 77 が特徴的なイオンとして観察された。また、 m/z 109 と m/z 252 の相対強度には違いが認められ、同じ naphthyl 基を有する異性体のフッ素の結合位置の識別が可能であった。

さらに LC-IT-TOF-MS を用いた結果、位置異性体間で、 m/z 252 のイオン強度に違いが認められた。なお、イオン強度は *meta*-、*ortho*- 及び *para*-isomer の順 ($2 > 1 > 3$ 、 $5 > 4 > 6$)

であった (Fig. 9)。

LC-MS/MS 及び LC-IT-TOF-MS のプロダクトイオンの違い及びイオン強度を比較することで、すべての位置異性体の識別が可能であった。

なお、本法は FUB-JWH-018 異性体を含む製品においても適用が可能であることも明らかになった。

D. 考察

本研究では、アダマンチル基の位置異性体構造を持つ 2 種化合物における代謝物、代謝経路および *in vitro* での半減期が明らかとなった。未変化体はその構造の類似性からほぼ同じ時間に溶出し、LC のみによるアダマンチル基の位置異性体の完全分離は困難であることが示唆された。

両化合物の代謝挙動からは、立体障害の大きい骨格と高い疎水性の性質を持つアダマンチル基が迅速に水酸化を受けて代謝され、HLMs による非常に短い代謝半減期へ寄与していることが示唆された。同官能基への水酸化が他の被代謝部位と比較して優先的に進行することは、5F-AKB-48 を用いた同様の代謝実験においても確認されていることから⁴⁾、本反応はアダマンチル基を持つ合成カンナビノイドに特有の代謝挙動であると考えられる。

また、isomer 2 では主要代謝物がアダマンチル基の一水酸化体であり、それ以降の代謝反応は非常に進みにくいことが示唆された。

両化合物の未変化体および主要代謝物から得られるプロダクトイオンの明確な違いには、アダマンチルカチオンの安定性が寄与していると考えられる。プロダクトイオンとして、isomer 1 では第 3 級、isomer 2 では第 2 級アダマンチルカチオンが生成する。第 3 級カルボカチオンは、電子供与性であるメチレンに周囲を囲まれており、隣接する炭素原子上の C-C 結合および C-H 結合との超共役構造をとるため安定化に有利である。そのため、isomer 1 ではアダマンチルカチオンがインダゾール骨格よりも格段に検出されやすくなっていると考えられた。また、アダマンチル基に水酸

基が付加するに伴ってその安定性は低下し、イオン化を受けたインダゾール骨格由来のイオンが相対的に検出されやすくなると考えられた。一方、isomer2 のアダマンチルカチオンは第2級カルボカチオンであるため共役構造を取りにくく、安定化を受けにくくなった結果イオン強度が小さくなり、イオン化を受けたインダゾール骨格由来のイオンがより大きな強度で検出されたと考えられた。この未変化体のプロダクトイオンの違いによる識別法は GC-MS で報告されているが⁵⁾、LC-MS を用いた ATHPINACA 位置異性体の識別および代謝物分析は初めての試みであり、本研究から未変化体、主要代謝物のいずれの検出によっても、両化合物の識別は可能であることが示唆された。

in vivo 実験からは、インダゾール骨格およびペンチル鎖を有する化合物は、その脂溶性の高さなどから非常に毒性が高いことが明らかとなった。CUMYL-PINACA、5F-CUMYL-PINACA における同様の構造活性相関の結果が既報においても報告されている⁶⁾。

PK 解析ソフトを用いた分布容積の算出結果から、両化合物は投与後血中から迅速に消失し、体内へ分布された後にゆっくりと血中へ放出され、肝臓で代謝されることが示唆された。このような特徴を持つ SCs は短時間で効果が切れてしまい、再び次のドラッグを吸引したくなるため、使用者が容易に薬物依存に至ることを目的として製造されたと考えられた。

なお、両者の薬物動態学的パラメーターを比較すると、5F-CUMYL-PINACA の消失半減期は CUMYL-PINACA に比して短く、分布容積も小さかった。一般にフッ素原子の導入は代謝抵抗性や組織移行性の増大をもたらすと考えられており、半減期の延長や分布容積の増大を引き起こすことが多いが、今回の結果はこれとは異なっていた。この点については今後さらに検討する必要があると思われる。

また、今回検討した SCs は未変化体として尿中では検出されなかった。また、代謝物も血中でもごく僅かしか検出されず、尿中から

の検出もごく微量であった。両薬物は HLMs による代謝実験では代謝物の生成が確認されており、この結果とは齟齬が生じている。

検出法の高感度化は詳細な検討に必須であり、さらに進めていく必要があるが、今回用いた SCs に関しては、生成された代謝物がキャパシティの大きい腎臓以外に存在するトランスポーターによって生成後、直ちに排泄されている可能性もある。その候補には、グルクロン酸抱合体を排泄するトランスポーターが複数存在する胆汁排泄経路が挙げられる。

よって、代謝物が検出される可能性のある胆汁や糞便における代謝物濃度測定を行い、SCs 代謝物の排泄トランスポーター指向性に関する情報を蓄積していきたいと考えている。

一般にフッ素原子が芳香環に置換する化合物の位置異性体は、物性が類似するため、近接した保持時間と類似したマススペクトルを与える傾向にあり、同定には注意を要する^{3, 7-10)}。FUB-JWH-018 および AB-FUBINACA のように 1*H*-インドールまたは 1*H*-インダゾールの *N*-1 位に 4-フルオロベンジル基を持つ化合物は、実際に植物片形態製品中から検出され続けており、危険ドラッグ市場において、2-または 3-フルオロベンジル基を持つ化合物が流通した場合、指定薬物として誤同定される可能性がある。したがって、市場に流通する様々な位置異性体を識別するために、GC および LC の両方を用いた測定手法が求められてきた。FUB-JWH-018 および位置異性体 (1-6) については GC-MS/MS 法による構造識別は達成しているが³⁾、多様な化学構造と広範な物理化学的特性を持つ代謝物の分析を行うためには LC-MS 法による識別法を開発する必要があった。本研究では PFP カラムを用いて、これらの分離に成功し、LC-IT-TOF-MS および LC-MS/MS を用いることで、フルオロベンジル基を持つ合成カンナビノイドの異性体識別を行うことができた。より複雑な成分系を持つ生体試料(代謝物)を用いた異性体識別へと、適用を拡大するため、さらなるデータ蓄積が必要である。

E. 結論

今回の一連の研究により、SCsの代謝プロファイルをさらに蓄積することが出来た。この結果の応用は摂取マーカーとなりうる代謝物を予測し、素早い危険ドラッグの法的規制や使用者の摘発に一定の貢献をすることが期待される。

一方、合成カンナビノイドの代謝物同定においては異性体等の構造類似化合物の可能性を考慮しつつ、親化合物同定する必要があるが、市販標準化合物の整備が間に合わず、代謝物分析時の異性体識別情報は村上らによる報告がなされているものの、希少であった^{9, 10)}。

今回我々は、モデル化合物6種を用いて、LCによる全ての異性体のピーク分離と、MS/MSおよびIT-TOF-MSによる識別を達成した。今後は、我々が開発した構造識別手法のアミド型、エステル型合成カンナビノイドへの適用拡大を試みるとともに、実際の生体試料においても親化合物の構造識別に耐えうることを実証する必要がある。

一方で、動物実験系におけるSCsの生体内代謝挙動の研究が、SCsの大量合成技術を用いることにより本年度から可能となったが、想定とは異なり、尿中代謝物の同定が極めて困難であることが明らかになった。他のSCsについても合成を行い、SCsの薬物動態学的情報を蓄積しながら、この状況を理解していきたいと考えている。

一方、今般の指定薬物への指定状況を概観すると、麻薬成分であるフェンタニル誘導体が頻見されると共に、同系誘導体のフッ素位置異性体の構造識別が新たな問題として浮上している。このことから、本研究における基礎データは、新たに出現する依存性薬物の同定と構造識別を行う上で基盤となりうると思われる。

F. 参考文献

1) Kikura-Hanajiri R. New Designer Drugs in Japan, In: Victor, RP (ed), *Neuropathology of*

Drug Addictions and Substance Misuse, vol 2. Academic Press, Cambridge, pp. 1055–1065, 2016.

2) Erratico C, Neqreira N, Norouzizadeh H, Covaci A, Neels H, Maudens K, van Nuijs AL: In vitro and in vivo human metabolism of the synthetic cannabinoid AB-CHMINACA. *Drug Test Anal.* 7: 866-876, 2015.

3) Kohyama E, Chikumoto T, Furukawa R, Suenami K, Kawashima H, Tada H, Nagai H, Soda M, Kitaichi K, Ito T. Regioisomeric differentiation of synthetic cannabinoids with an *N*-fluorobenzyl indole core by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Forensic Chemistry* 6: 28–35, 2017.

4) Holm NB, Pedersen AJ, Dalsgaard PW and Linnet K, Metabolites of 5F-AKB-48, a synthetic cannabinoid receptor agonist, identified in human urine and liver microsomal preparations using liquid chromatography high-resolution mass spectrometry *Drug Testing and Analysis* 7: 199-206, 2015.

5) Asada, A., Doi, T., Tagami, T., Takeda, A., & Sawabe, Y. (2017). Isomeric discrimination of synthetic cannabinoids by GC-EI-MS: 1-adamantyl and 2-adamantyl isomers of *N*-adamantyl carboxamides. *Drug Testing and Analysis*.

6) Angerer, V., Franz, F., Moosmann, B., Bisel, P., & Auwärter, V. (2019). 5F-Cumyl-PINACA in ‘e-liquids’ for electronic cigarettes: comprehensive characterization of a new type of synthetic cannabinoid in a trendy product including investigations on the in vitro and in vivo phase I metabolism of 5F-Cumyl-PINACA and its non-fluorinated analog Cumyl-PINACA. *Forensic Toxicology*, 37(1), 186–196.

7) Westphal F, Rosner P, Junge T. Differentiation of regioisomeric ring-substituted fluorophenethylamines with

product ion spectrometry. Forensic Science International 194: 53–9, 2010

- 8) Westphal F, Junge T. Ring positional differentiation of isomeric N-alkylated fluorocathinones by gas chromatography/tandem mass spectrometry. Forensic Science International 223: 97–105, 2012.
- 9) Murakami T, Iwamuro Y, Ishimaru R, Chinaka S, Takayama N, Hasegawa H. Differentiation of AB-FUBINACA and its five positional isomers using liquid chromatography–electrospray ionization-linear ion trap mass spectrometry and triple quadrupole mass spectrometry. Forensic Toxicology 36: 351–358, 2018.
- 10) Murakami T, Iwamuro Y, Ishimaru R, Chinaka S, Sugimura N, Takayama N. Differentiation of AB-FUBINACA positional isomers by the abundance of product ions using electron ionization-triple quadrupole mass spectrometry. Journal of mass spectrometry 51: 1016–1022, 2016.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chikumoto T., Furukawa R., Kohyama E., Suenami K., Nagai H., Tada H., Kawashima H., Kadomura N., Soda M., Kitaichi K., Ito T. Liquid chromatography–mass spectrometry studies on the isomeric 1-fluorobenzyl-3-naphthoyl-indoles: FUB-JWH-018 and five isomers. Forensic Toxicology DOI: 10.1007/s11419-018-0442-9, 2018.

2. 学会発表

- 1) 首村菜月, 古川諒一, 川島英頌, 松久貴哉, 曾田翠, 神山恵理奈, 筑本貴郎, 永井宏幸, 伊藤哲朗, 北市清幸. LCMS-IT-TOF を用いた危険ドラッグ成分 ATHPINACA の位置異性体識別および代謝物の推定. 第 64 回日本薬学会東海

支部 総会・大会, 愛知, 2018 年 6 月 30 日.

- 2) 伊藤哲朗, 首村菜月, 松久貴哉, 川島英頌, 神山恵理奈, 曾田翠, 筑本貴郎, 永井宏幸, 船田正彦, 北市清幸. 危険ドラッグ蔓延防止に向けた岐阜県における取り組み(3): 合成カンナビノイド代謝物の同定と異性体の構造識別. 第 53 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 横浜, 2018 年 9 月 8-10 日.
- 3) 筑本貴郎, 首村菜月, 古川諒一, 川島英頌, 松久貴哉, 神山恵理奈, 永井宏幸, 曾田翠, 北市清幸, 伊藤哲朗. LC-MS を用いた危険ドラッグの異性体識別-FUB-JWH-018 について-. 第 55 回全国衛生化学技術協議会年会, 奈良, 2018 年 11 月 29-30 日.
- 4) 伊藤哲朗, 神山恵理奈, 川島英頌, 首村菜月, 松久貴哉, 曾田翠, 筑本貴郎, 永井宏幸, 松永俊之, 原英彰, 北市清幸. 岐阜危険ドラッグ解析技術連携協議会の取り組みについて (第三報). 第 51 回東海薬剤師学会, 静岡, 2018 年 12 月 2 日.
- 5) 伊藤哲朗, 神山恵理奈, 筑本貴郎, 永井宏幸, 川島英頌, 首村菜月, 松久貴哉, 曾田翠, 北市清幸. 指定薬物の同定を目指した官学連携による基礎研究について. 平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部衛生化学部会, 岐阜, 2019 年 1 月 31 日-2 月 1 日.
- 6) Kadomura N., Kawashima H., Matsuhisa T., Soda M., Kohyama E., Chikumoto T., Nagai H., Ito T., Kitaichi K. The isomeric discrimination and investigation of the metabolic profiles of synthetic cannabinoids. ASEAN-CINP, Yogyakarta, Indonesia, Feb 28.– Mar. 2.

K. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録 特になし。

その他

- 1) 新聞掲載 危険薬物の構造 研究成果を報告 岐阜薬大連携協で 中日新聞 2019年1月27日.
- 2) 新聞掲載 鵜の目 薬物乱用を防ぐには 中日新聞 2019年2月8日.

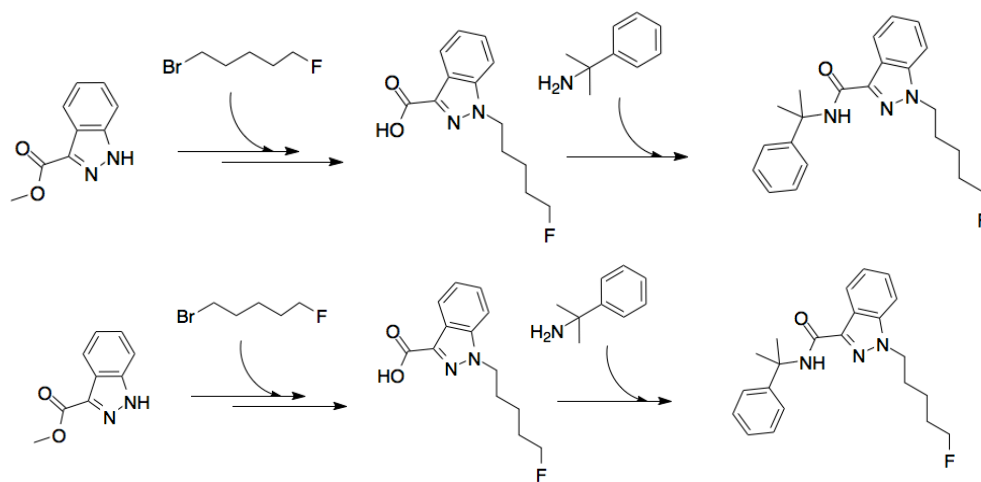


Fig. 1 Synthetic scheme of 5F-CUMYL-PINACA

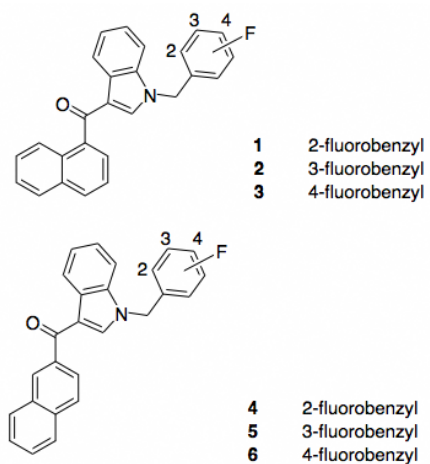


Fig. 2 Structures of FUB-JWH-018 (3) and five isomers (1, 2, 4-6) synthesized in this study.

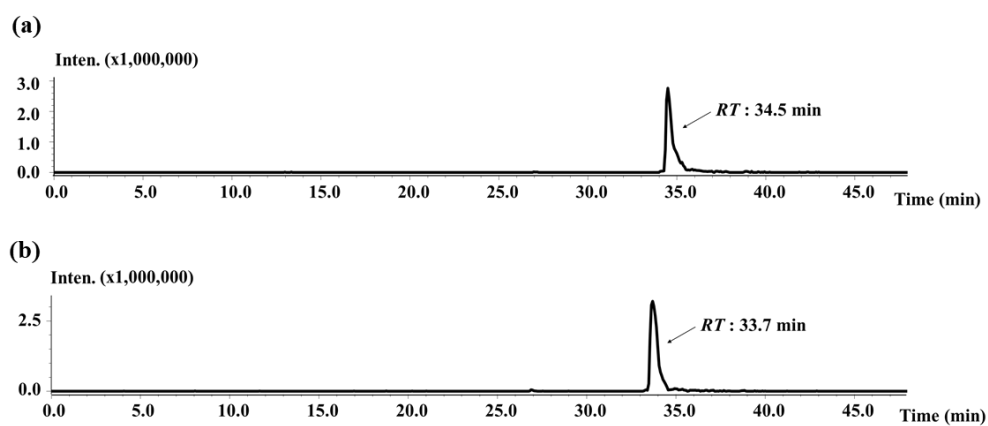


Fig. 3 The extracted ion ion chromatograms of ATHPINACA isomer 1 (a) and isomer 2 (b)

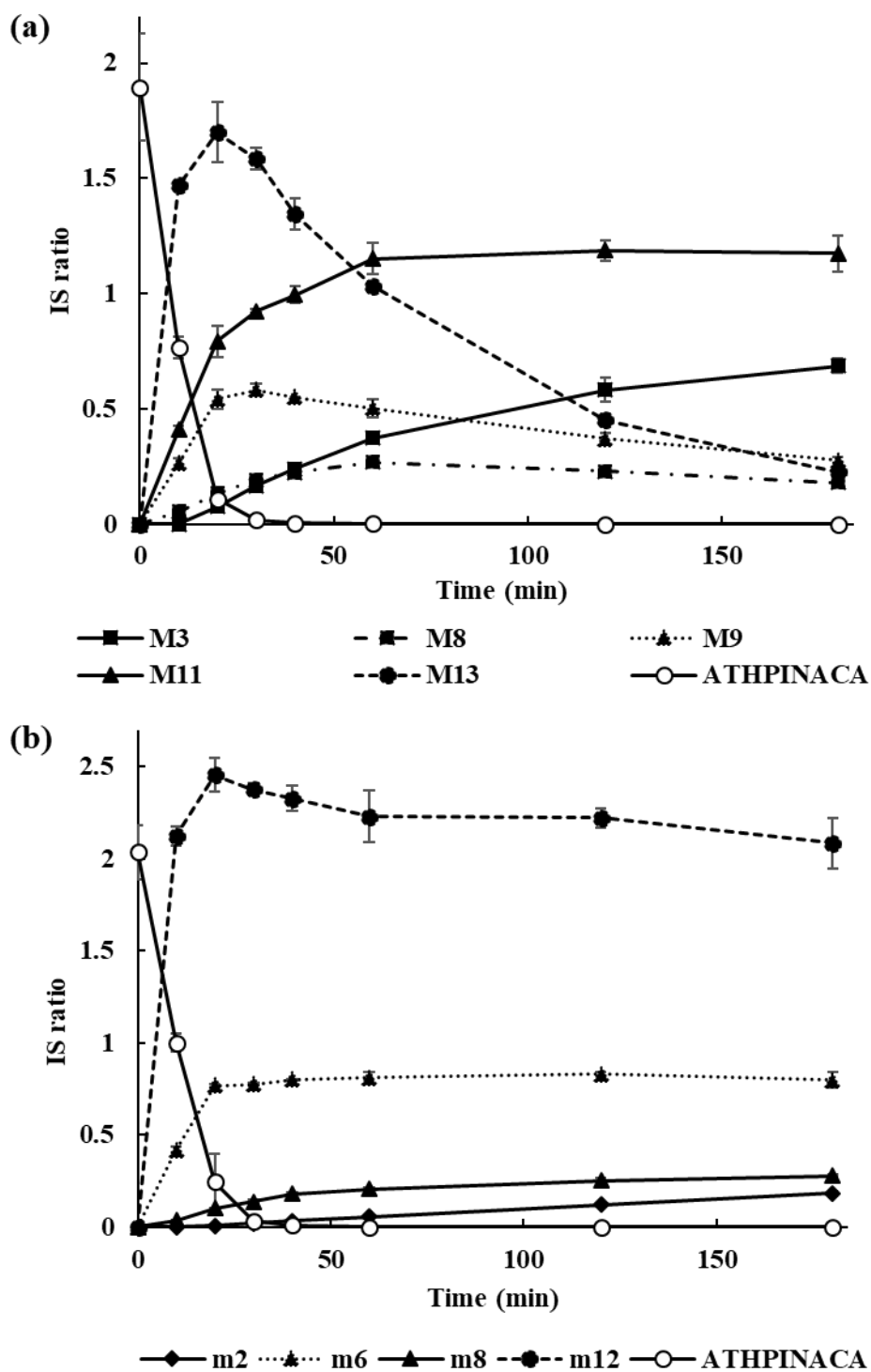


Fig. 4 The production of the metabolites of ATHPINACA isomer 1 (a) and isomer 2 (b) using HLMs incubations. Data represents mean \pm SD (N=3).

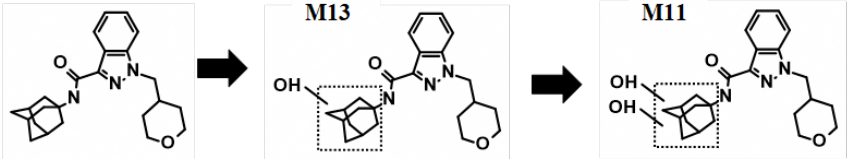
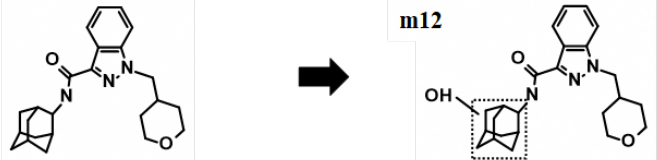
Parent SCs	Major metabolism	T _{1/2} (min)
ATHPINACA isomer1		4.6 ± 0.9
ATHPINACA isomer2		5.1 ± 0.5

Fig. 5 The estimated major metabolic pathways of ATHPINACA isomers

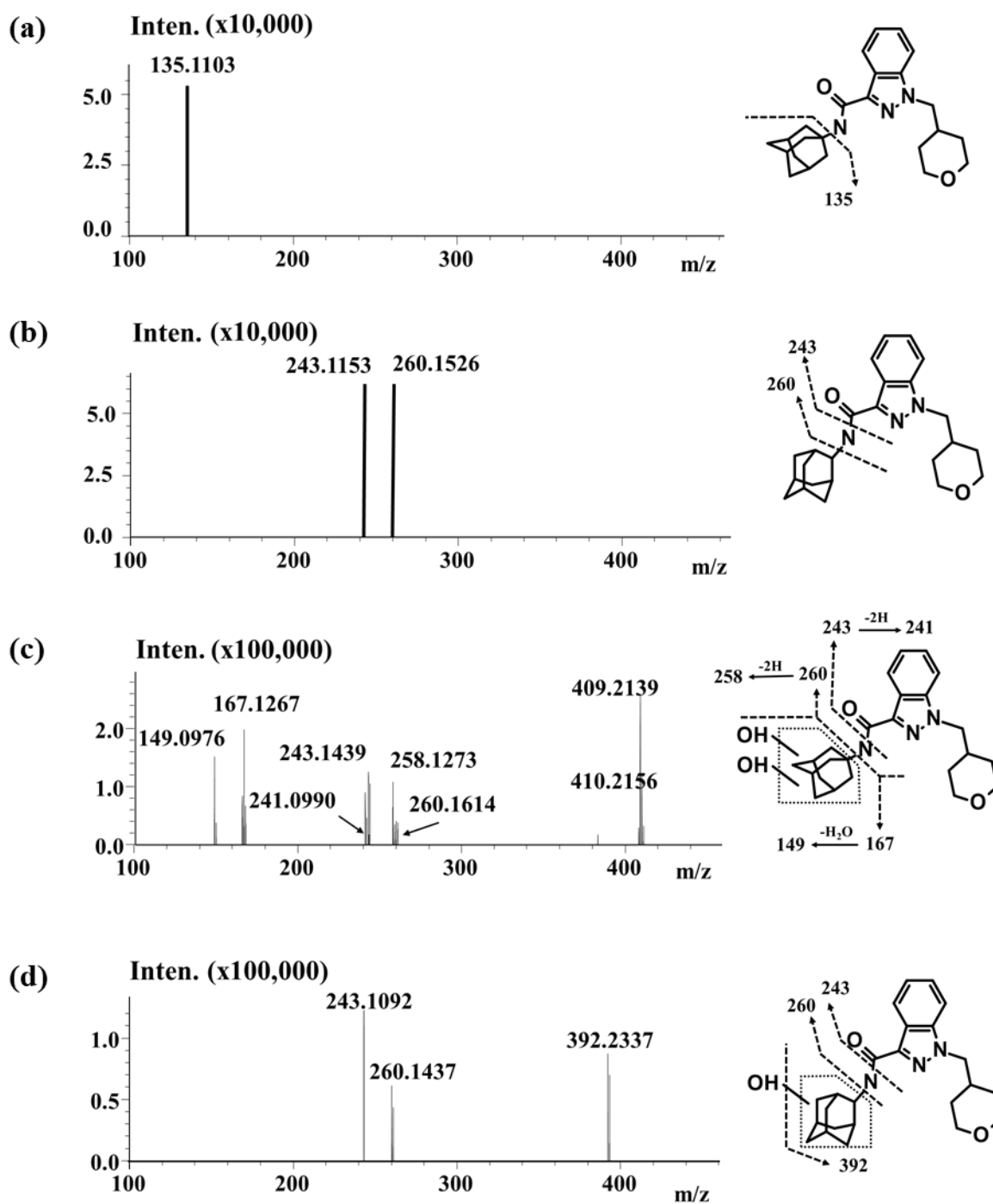


Fig. 6 The product ion spectra and proposed fragmentation of ATHPINACA isomer 1 (a), M11 (b), isomer 2 (c) and m12 (d)

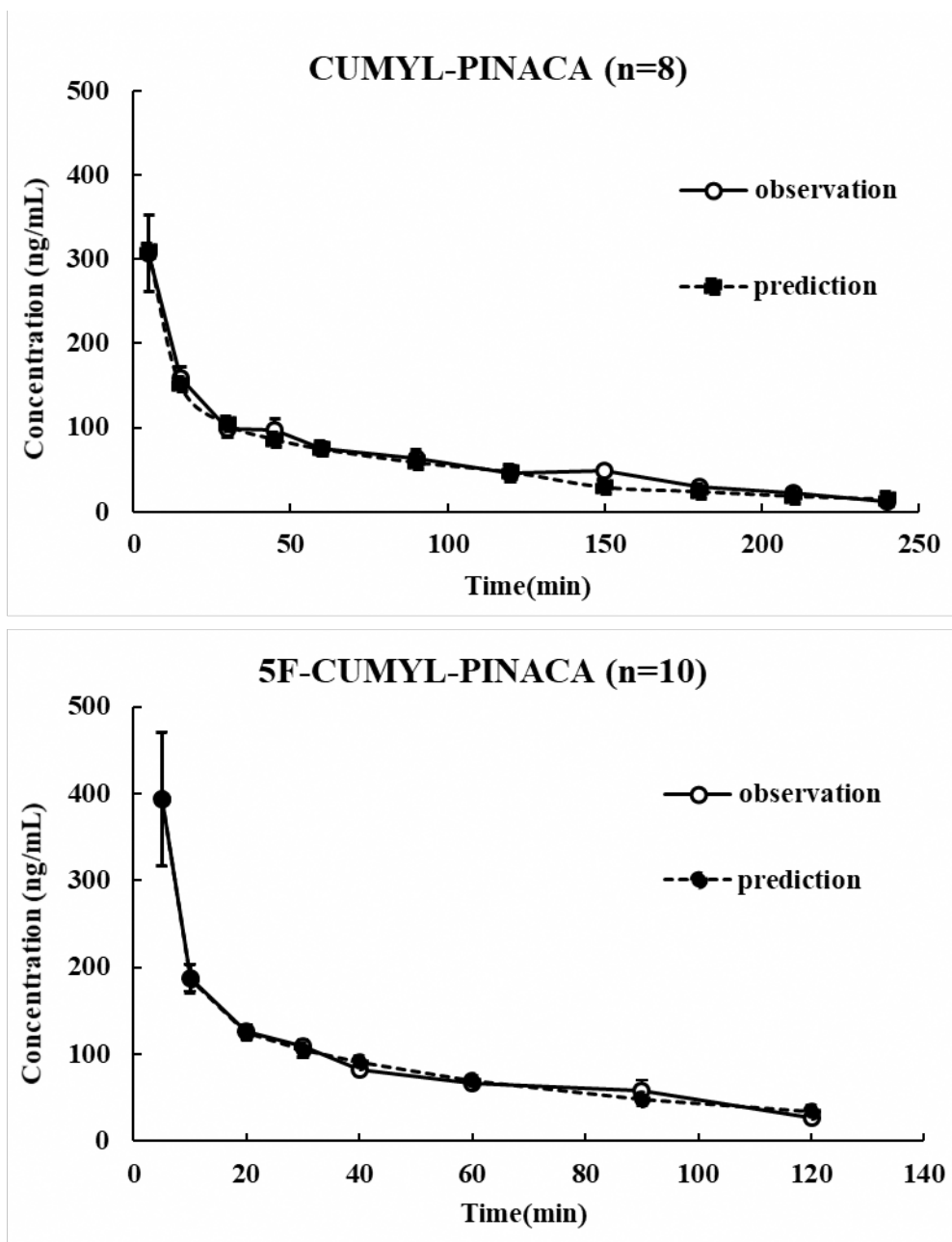


Fig. 7 Mean observed and predicted plasma concentrations-time plots of CUMYL-PINACA and 5F-CUMYL-PINACA following i.v. injection in male Wister-ST rats. Data represents mean \pm SE.

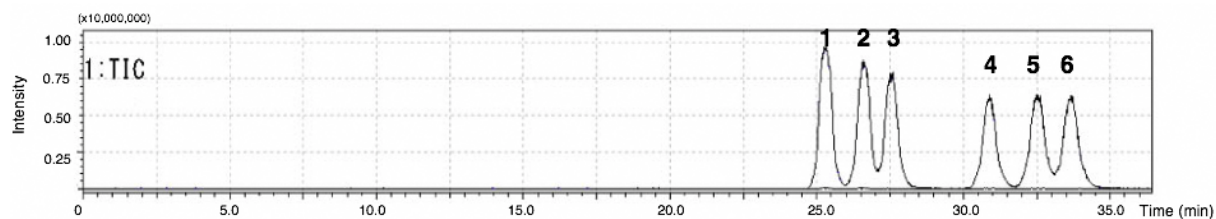


Fig. 8 Total ion current chromatogram obtained by liquid chromatography–mass spectrometry of isomeric synthetic cannabinoids (1-6).

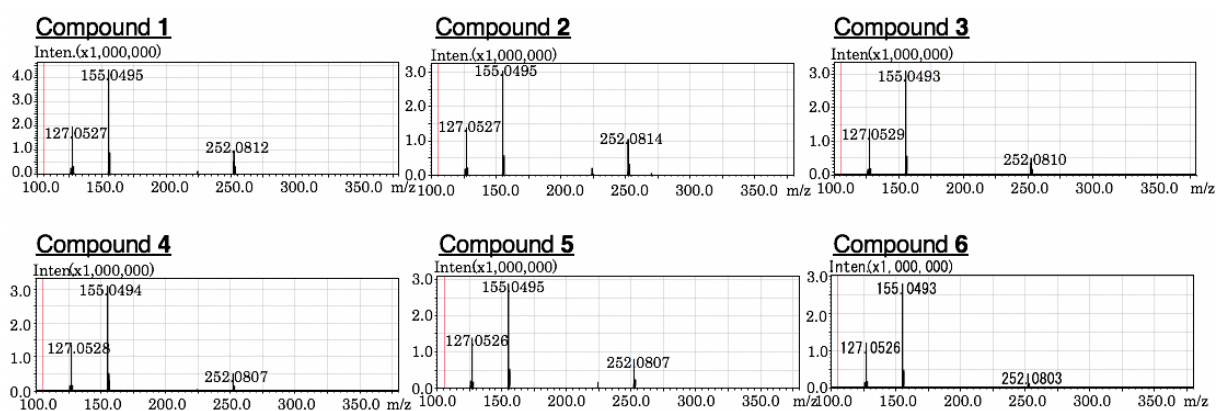


Fig. 9 Mass spectra of FUB-JWH-018 and its regioisomers obtained by electrospray ionization ion trap time-of-flight mass spectrometry (Precursor ion: $[M+H]^+$ m/z 380, CID energy: 100%).

分担研究報告書

新規危険ドラッグの乱用実態把握のための効果的な調査手法の確立

分担研究者：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）
研究協力者：山田 理沙（国立精神・神経センター神経研究所 疾病研究第三部）

【研究要旨】

【目的】近年、大麻の使用形態に変化がみられる。従来の乾燥大麻や大麻樹脂に加えて、大麻ワックスや大麻リキッドといった有害成分を濃縮・抽出した製品や、大麻を食品に混入した大麻クッキーなどの新規形態の押収事例が報告されている。その一方で、国内における大麻乱用に関する疫学情報は生涯経験率等に限られており、新規形態の使用実態等については不明な点が多い。そこで、本研究では、音楽系の野外イベント参加者を対象に、大麻の新規形態を含む使用実態について調べることを目的とした。本研究を通じて、新規危険ドラッグの乱用実態把握のための効果的な調査手法を確立させる。

【方法】関東地方で開催された音楽系の野外イベント来場者を対象に、携帯端末やタブレットを活用したオンライン調査を実施した。計 129 名より有効回答を得た。主な調査項目は、大麻使用の生涯経験および過去 1 年経験、大麻の使用回数、使用した大麻種別、CBD（カンナビジオール）製品の使用経験などであった。

【結果】

1. 大麻の生涯経験率（過去 1 年経験率）は、16.3%（5.4%）であった。
2. 大麻の使用回数は、数回（7.0%）、数えきれない（6.2%）、1 回だけ（3.1%）であった。
3. 使用された大麻種別は、乾燥大麻（14.0%）、大麻樹脂（7.0%）、大麻クッキーなどの加工品（3.1%）、大麻リキッド（2.3%）、大麻ワックス（1.6%）と続いた。
4. CBD 製品の使用経験率は 3.1%であった。
5. 北米の大麻合法化に対しては、「医療目的の解禁には賛成だが、嗜好目的は反対」という考えが最も多かった（43.4%）。

【考察】大麻の使用実態からは、乾燥大麻のみならず、大麻樹脂、大麻クッキーなどの加工品、大麻リキッド（電子タバコ）、大麻ワックスなど多岐にわたる新規形態の使用状況が明らかとなった。また、大麻の使用回数を「数えきれない」とする回答からは、薬物依存が疑われる反復使用者の存在が確認された。最後に、北米の大麻合法化に対しては、大麻を医療に用いることに対しては賛成する一方で、嗜好目的での解禁には反対する意見が最も多いことが明らかとなった。今後は、全国住民調査などで国民全体の考えを調べていく必要がある。

A. 研究目的

近年、危険ドラッグの流行が沈静化する一方で、大麻使用者の増加が報告されている。

2017 年に実施された「薬物使用に関する全国住民調査」によれば、15 歳～64 歳までの一般住民の 1.4%が大麻の使用経験を有しており、使用者人口は全国で約 130 万人と推計さ

れている^り。2015年から2017年にかけて大麻使用者は増加し、現在では有機溶剤（シンナー）を上回り、大麻が国内で最も乱用される薬物となった。

一方、大麻の使用形態に変化がみられる。平成30年8月に策定された第五次薬物乱用防止五年戦略によれば、大麻ワックスや大麻リキッドといった有害成分のみを濃縮・抽出した製品や、大麻を食品に混入した大麻クッキーなどの新しい使用形態への対応の強化が明記されているもの、国内におけるこれらの疫学情報は限られている。

また近年、アメリカの一部の州およびカナダ全土において、嗜好目的での大麻販売が合法化される動きがあるが、これらの合法化に対する意識についてもまとまったデータは報告されていない。

そこで本研究では、近年の大麻使用者の増加を背景として、音楽系の野外イベント来場者を対象に、大麻使用の実態や意識について調べることを目的とした。本研究を通じて、新規危険ドラッグの乱用実態把握のための効果的な調査手法を確立させる。

B. 研究方法

1. 対象者

対象は、関東地方で開催された音楽系の野外イベント来場者に参加した16歳以上の来場者である。なお、2015年から2017年にかけて調査を実施したイベントが、2018年は主催者の都合で実施されなかったため、他のイベントでの調査となった。このため、イベント参加者の属性が異なる可能性があり、過去データとの単純比較は難しいと判断した。

2. 調査方法

調査は無記名の自記式調査によって行われた。まず、調査実施にあたり、イベント主催者の了承を得た上で、イベント会場にブースを設営した（プロジェクト名：One Love Online）。次に、事前にトレーニングを受けた

スタッフが来場者に対して、薬物乱用・依存の予防啓発および薬物依存症の理解を訴えながらチラシを配布し、アンケートへの参加を呼びかけた。アンケート参加を希望する来場者は、チラシに書かれたQRコードを携帯電話・スマートフォンから読み取り、アンケートサイトに誘導した（図1）。携帯電話を持っていない場合や、QRコードを読み取れない場合は、ブースに設置されたタブレット端末を使って回答した。

回答者へのインセンティブとして、調査終了画面をイベント会場内の出展ブースで、スタッフに提示することで、謝礼品（音楽CD）を手渡した。また、ダルクなどの民間支援団体に関するパンフレットや、依存症の理解を促進するための啓発資材も併せて配布した。

本研究では、イベント会場内（あるいは店舗）で調査実施の案内チラシを受け取った来場者が、自由意思に基づき調査システムにアクセスするという「応募法」を採用しており、「案内チラシを受け取らない」、「チラシを受け取ったとしても自ら調査システムにアクセスしない」という形で拒否機会が担保されている。また、「アンケートへの回答は任意であること」、「回答途中でも回答をやめることができること」を調査画面に明記することで、「拒否機会の担保」をより確実にした。

なお、研究実施にあたり、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得た（承認番号A2015-025）。

3. インターネット・セキュリティ

本研究におけるオンライン調査のシステム開発は、株式会社マイ・ビジネスサービス（以下、MBS）に委託した。MBSは、以下の手順でインターネット上のセキュリティを確保する。本研究で用いるweb上の調査システムは、Hypertext Transfer Protocol (HTTP) を Secure Socket Layer (SSL) で保護することによって、研究対象者が回答したデータを暗号化してサーバーに送信、情報漏洩防止策とした。サイトの構築、収集データの際には、File

Transfer Protocol (FTP) での接続を許可し、主に SSL で保護された FTP over SSL (FTPS) で暗号化してサーバーに接続を行った。ただし、開発元でも管理者 ID を発行して ID 保持者のみがサーバーへアクセス可能なように制限した。インターネットとサーバーの間にサービス提供内のプロトコル以外で不正なパケットの転送がないよう Firewall で適切なブロックを行った。

研究に用いるサーバーは、MBS が外部サーバー会社と契約している OEM サーバーを使用した。このサーバーは、Redundant Array of Inexpensive Disks (RAID) 機能を有しており、不測の事態によりサーバーのディスクが停止した場合も代替ディスクによりシステムが正常に稼動するように配慮した。なお、サーバーが設置されている建物へのアクセスは厳重な入室管理チェックによってセキュリティが保たれていた。消火設備にはハロゲン消火装置が設置され、その他にも、EIA 規格の 19 インチラックの使用、電源系統の多重化、センター内のバッテリー、非常用発電機設備、精密な空調管理と耐震設備により安全な運用を行った。サーバーの稼動状況を監視するため、専用の監視サーバーを構築。死活監視及びサービス監視を行い、サーバー監視により機器異常を検知した場合は、外部サーバー会社から MBS に速やかに警告メールが送信される体制とした。

同一対象者による重複回答を防止するために、Cookie 機能を用いて、ブラウザの Cookie 情報にユニーク ID と各設問の回答状況を保持することにより、同一端末の同一ブラウザによる回答は、調査期間中 1 回のみ可能とした。また、次のページへ遷移するたびにユニーク ID をアンケートシステム側がチェックすることによって、アンケートの最初のページへ 1 回もアクセスしていない場合に、途中ページへ直接アクセスすることを防止した。

4. 調査項目・統計解析

薬物使用は、危険ドラッグ、大麻、MDMA、

有機溶剤、覚せい剤、LDS、コカイン、ヘロインについての生涯経験および過去 1 年経験を尋ねた。

大麻使用については、使用回数 (1 回だけ、数回、数えきれない)、使用種別 (乾燥大麻、大麻樹脂、大麻ワックス、大麻リキッド、大麻クッキーなどの加工品)、CBD (大麻草から抽出されるオイルや粉末) 製品の使用経験について尋ねた。

北米の大麻合法化に対する考えについては、「どのような目的でも反対」、「医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対」、「医療目的は反対だが、嗜好目的は賛成」、「どのような目的でも賛成」、「いずれも当てはまらない」の 5 項目から一つを選択する形式をとった。

その他、年齢や性別などの基本属性、飲酒、喫煙、エナジードリンクの使用状況、エナジードリンクにアルコールを混ぜたエナジードリンク・カクテルの使用状況について尋ねた。

統計解析は、性別および大麻使用経験別にクロス集計を行った。群間の有意差検定は、フィッシャーの正確確率検定を用いた。

C. 研究結果

1. 薬物使用の経験率

薬物使用の生涯経験率は、大麻 (16.3%)、危険ドラッグ (3.9%)、覚せい剤 (3.1%)、MDMA (3.1%)、LSD (3.1%) と続いた。過去 1 年経験率は、大麻 (5.4%)、危険ドラッグ (2.6%) と続いた。いずれの経験率についても、男女間で有意差は認められなかった (表 3)。

2. 大麻の使用回数・使用種別について

大麻の使用回数は、数回 (7.0%)、数えきれない (6.2%)、1 回だけ (3.1%) であった。使用された大麻種別は、乾燥大麻 (14.0%)、大麻樹脂 (7.0%)、大麻クッキーなどの加工品 (3.1%)、大麻リキッド (2.3%)、大麻ワックス (1.6%) と続いた。CBD 製品の使用経験率は 3.1% であった。使用回数や使用種別につ

いて、男女間で有意差は認められなかった(表3)。

3. 北米の大麻合法化に対する考え

「医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対」が43.4%を占め最も多かった。次いで「どのような目的でも反対(22.5%)」、「どのような目的でも賛成(18.6%)」が多かった(表4)。

4. 大麻使用者の特徴

表5～8に大麻使用者/非使用者のクロス集計を示した。大麻使用者は、非使用者に比べて、喫煙率が高く、エナジードリンクの使用頻度が高く、エナジードリンク・カクテルの使用頻度が高かった。また、覚せい剤や危険ドラッグの併用率が高く、CBD製品の経験率が高く、いずれも有意差が認められた。なお、年齢、性別、国籍など基本属性は群間に有意な差はみられなかった。

薬物の規制に対する考えにも差がみられ、非使用者は「違法・合法に関わらず薬物は規制すべき(63.0%)」という考えが最も多い一方で、大麻使用者では「大麻など植物由来のものは規制すべきではない(47.6%)」という考えが最も多かった。

北米における大麻合法化に対する考えについても差がみられ、非使用者は「医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対(47.2%)」という考えが最も多い一方で、大麻使用者では「どのような目的でも賛成(57.1%)」という考えが最も多かった。

D. 考察

本研究では、近年の大麻使用者の増加および大麻リキッド・大麻ワックスなど新規形態の押収事例を背景として、大麻使用の実態を掘り下げる試みを行った。大麻使用に関する疫学情報は、「薬物使用に関する全国住民調査」において生涯経験率や使用者人口の推計値が算出されているものの、大麻リキッドなどの新規形態については依然として不明な点が多

い。

2017年に実施された「薬物使用に関する全国住民調査」では、15歳～64歳までの一般住民における大麻の生涯経験率は1.4%と報告されている¹⁾。本研究の対象者における大麻の生涯経験率は16.3%であり、一般住民に比べて10倍以上高いことが明らかとなった。音楽系の野外イベント参加者における薬物使用率が、一般住民に比べて高いことは平成27～29年度に実施した先行調査でも報告してきた²⁾。大麻使用者へのアクセスという観点から、本研究の調査対象は、大麻の使用実態を効率的に把握することができる集団であったと考えることができる。

大麻の使用実態からは、乾燥大麻のみならず、大麻樹脂、大麻クッキーなどの加工品、大麻リキッド(電子タバコ)、大麻ワックスなど多岐にわたる新規形態の使用状況が明らかとなった。大麻の使用回数に関する結果では、対象者全体の6.2%がこれまでの大麻の使用回数を「数えきれない」という回答を得た。これらの対象者の中には、薬物依存が疑われる者も含まれることが想定される。また、大麻草から抽出されるオイルや粉末の形態であるCBD(カンナビジオール)製品に関する使用状況についても明らかとなった。また、北米の大麻合法化に対しては、大麻を医療に用いることに対しては賛成する一方で、嗜好目的での解禁には反対する意見が最も多いことから、大麻の嗜好目的での解禁が乱用拡大につながることを懸念する者が多いことが示唆された。

本研究は、こうした大麻の新規形態の使用実態や大麻の合法化に関する考えについて調べた初めての報告である。ただし、対象者の代表性には限界があるため、今後は調査対象者を全国から無作為抽出した「薬物使用に関する全国住民調査」においても同様の実態把握を試みることを求められる。

E. 結論

音楽系の野外イベントの来場者 129 名に対して、携帯端末を用いたオンライン調査を実施し、以下の知見を得た。

1. 大麻の生涯経験率(過去1年経験率)は、16.3% (5.4%) であった。
2. 大麻の使用回数は、数回 (7.0%)、数えきれない (6.2%)、1 回だけ (3.1%) であった。
3. 使用された大麻種別は、乾燥大麻 (14.0%)、大麻樹脂 (7.0%)、大麻クッキーなどの加工品 (3.1%)、大麻リキッド (2.3%)、大麻ワックス (1.6%) と続いた。
4. CBD 製品の使用経験率は 3.1%であった。
5. 北米の大麻合法化に対しては、「医療目的の解禁には賛成だが、嗜好目的は反対」という考えが最も多かった (43.4%)。

F. 参考文献

1. 嶋根卓也, 邱冬梅, 和田清: 薬物使用に関する全国住民調査 (2017 年). 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「薬物乱用・依存状況等のモニタリング調査と薬物依存症者・家族に対する回復支援に関する研究」分担研究報告書, pp7-148, 2018.
2. 嶋根卓也, 日高庸晴: 様々なフィールドにおける危険ドラッグ乱用に関するオンライン調査. 平成 27~29 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)「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」平成 27-29 年度総合研究報告書 pp121-124, 2018.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 嶋根卓也: 過量服薬に対する薬剤師の役

割. 臨床精神薬理. 22(3), 2019. 印刷中

- 2) Tanibuchi Y, Matsumoto T, Funada D, Shimane T: The influence of tightening regulations on patients with new psychoactive substance-related disorders in Japan. *Neuropsychopharmacol Rep.* 38(4), 189-196, 2018.
- 3) 嶋根卓也, 今村顕史, 池田和子, 山本政弘, 辻麻理子, 長与由紀子, 松本俊彦: 薬物使用経験のある HIV 陽性者において危険ドラッグ使用が服薬アドヒアランスに与える影響, 日本エイズ学会雑誌 20(1): 32-40, 2018.
- 4) 佐々木真人, 堀岡広稔, 村岡謙行, 長崎大武, 田村昌士, 西村直祐, 長田良和, 戸田憲, 宮田祥一, 西森康夫, 嶋根卓也: 薬局薬剤師を対象としたゲートキーパー研修会が知識・自己効力感・臨床行動に与える影響, 日本薬剤師会雑誌, 70(7):849-857, 2018.
- 5) 嶋根卓也: 日本における薬物乱用のモニタリング調査と回復支援プログラムについて. 龍谷法学 50(3): 1805-1812, 2018.
- 6) 嶋根卓也: 【IV. 知っておきたい! 生活サポート&性教育】40 薬物乱用. 小児科 50 (5) 4 月臨時増刊号「思春期を診る!」: 774-780, 2018.
- 7) 嶋根卓也: 薬物乱用防止の最前線: 薬剤師に知ってほしいこと. *Excellent Pharmacy*5 月 1 日号, pp11-13, 2018.
- 8) 嶋根卓也: 薬物乱用防止における薬剤師の役割. *ファルマシア* 54(6): 541-543, 2018.
- 9) 嶋根卓也: 「NO」と言えない子どもたち—酒・タバコ・クスリと援助希求. *こころの科学* No202: 47-51, 2018.
- 10) 嶋根卓也: 薬物使用の最新動向: 大麻からエナジードリンクまで, *KNOW NEWS LETTER* 99 号,p2-5,2018.
- 11) 嶋根卓也, 松本俊彦: 2.評価尺度の


- 解説 (2) 薬物使用障害の評価尺度. 新アルコール・薬物使用障害の診断治療ガイドライン, 第 1 章 総論Ⅱ診断総論, 新興医学出版社, 東京, pp11-13, 2018.
- 12) 嶋根卓也, 松本俊彦: 2.薬物乱用・依存の疫学. 新アルコール・薬物使用障害の診断治療ガイドライン, 第 1 章 総論 IV 疫学, 新興医学出版社, 東京, pp28-31, 2018.
2. 学会発表
- 1) Shimane T, Wada K, Qiu D: Prevalence of binge drinking and association with substance use: A cross-sectional nationwide general population survey in Japan. 19th World Congress of International Society for Biomedical Research on Alcoholism(ISBRA2018), Kyoto, Japan, 2018.9.12
- 2) Shimane T, Tani M, Yamaki M, Kobayashi M, Kondo A, Takahashi M: Methamphetamine users in Japanese prisons: Comorbid hazardous alcohol consumption. 19th World Congress of International Society for Biomedical Research on Alcoholism(ISBRA2018), Kyoto, Japan, 2018.9.12
- 3) Yamaki M, Takeshita Y, Takahashi M, Kondo A, Shimane T: Prevalence and correlates of adverse childhood experience(aces)among methamphetamine users in Japanese prison. 19th World Congress of International Society for Biomedical Research on Alcoholism(ISBRA2018), Kyoto, Japan, 2018.9.11
- 4) Shimane T: Drug use and addiction in Japan: Increase and decrease with new psychoactive substances. The 20th International Society of Addiction Medicine Annual Meeting(ISAM BUSAN 2018), Busan, Republic of Korea, 2018.11.4.
- 5) 嶋根卓也, 近藤あゆみ, 米澤雅子, 近藤恒夫, 松本俊彦: 民間支援団体利用者のコホート調査と支援の課題に関する研究 (第二報). シンポジウム 33 刑の一部執行猶予制度施行後における薬物依存症地域支援の現状と課題. 第 114 回日本精神神経学会学術総会, 兵庫, 2018.6.21.
- 6) 大西真由美, 尾崎敬子, 嶋根卓也: 国際保健と疫学～フィールドとアカデミアをつなぐために. 第 33 回日本国際保健医療学会学術大会シンポジウム, 東京, 2018.12.1.
- 7) 嶋根卓也: 危険ドラッグ問題の行方: 全国住民調査 2015 年の結果より. 第 22 回埼玉県薬剤師会学術大会, 埼玉, 2016.11.6.
- 8) 和田清, 合川勇三, 森田展彰, 嶋根卓也: 薬物乱用・依存症者における HIV・HCV 等感染状況と感染ハイリスク行動に関する研究. 平成 29 年度日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 神奈川, 2017.9.9.
- 9) 嶋根卓也, 邱冬梅, 和田清: 一般住民におけるカフェイン製剤使用状況と薬物使用との関連: 薬物使用に関する全国住民調査より. 平成 30 年度日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 京都, 2018.9.10.
- 10) 嶋根卓也, 邱冬梅, 和田清: 一般住民におけるエナジードリンク使用状況と薬物使用との関連: 薬物使用に関する全国住民調査より. 平成 30 年度日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 京都, 2018.9.10.
- 11) 嶋根卓也, 邱冬梅, 和田清: 一般住民における大麻使用の増加: 薬物使用に関する全国住民調査より. 平成 30 年度日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 京都, 2018.9.10.
- 12) 引土絵未, 岡崎重人, 加藤隆, 山本大, 山崎明義, 松本俊彦, 嶋根卓也: 回復支援施設における TC エンカウンタ

ー・グループの適用に関する研究. 平成
30年度日本アルコール・アディクション
医学会学術総会, 京都, 2018.9.10.

- 13) 嶋根卓也, 今村顕史, 池田和子, 山
本政弘, 辻麻理子, 長与由紀子, 松本俊
彦: 薬物使用経験のある HIV 陽性者にお
ける亜硝酸エステル使用が服薬アドヒ
アランスに与える影響. 第 32 回日本エイ
ズ学会学術集会・総会, 大阪, 2018.12.4.

L. 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。



ONE LOVE ONLINE
依存症は回復できる
Addiction needs connection ♡

1 → 2 → 3 → 4 → **5 now** → 6

Q19 この1年間に、大麻（ガンジャ、マリファナ）を使いましたか？

この1年間は使っていない

使った

Q20 これまでに使ったことがある大麻（ガンジャ、マリファナ）のタイプをすべてお選びください。

乾燥した大麻の葉

大麻樹脂（チョコ）

大麻ワックス

リキッド（電子タバコ）

THCを含有する加工品（クッキー、チョコレートなど）

その他のタイプ

▶ 次 へ

前のページへ戻る

*ブラウザの戻るボタンは使用しないでください。

(C) ONE LOVE ONLINE

図 1. 調査画面の一部

表1. 男女別にみた対象者の基本属性、エナジードリンク使用状況

	性別			p-value
	女性	男性	合計	
	n=57 n (%)	n=72 n (%)	n=129 n (%)	
平均年齢	41.1	42.1	41.7	0.674
年齢階級				0.946
10代	3 (5.3)	4 (5.6)	7 (5.4)	
20代	8 (14)	9 (12.5)	17 (13.2)	
30代	15 (26.3)	22 (30.6)	37 (28.7)	
40代	16 (28.1)	15 (20.8)	31 (24.0)	
50代	11 (19.3)	15 (20.8)	26 (20.2)	
60代以上	4 (7.0)	7 (9.7)	11 (8.5)	
イベント参加				0.904
初回	44 (77.2)	56 (77.8)	100 (77.5)	
2回目	5 (8.8)	5 (6.9)	10 (7.8)	
3回以上	8 (14.0)	11 (15.3)	19 (14.7)	
国籍				0.828
日本	53 (93.0)	69 (95.8)	122 (94.6)	
日本以外	3 (5.3)	2 (2.8)	5 (3.9)	
エナジードリンク使用 (過去30日)				0.418
あり	12 (21.0)	20 (27.8)	32 (24.8)	
なし	45 (78.9)	52 (72.2)	97 (75.2)	
エナジードリンク使用日数 (過去30日)				0.235
0日	45 (78.9)	52 (72.2)	97 (75.2)	
1~2日	8 (14.0)	9 (12.5)	17 (13.2)	
3~5日	1 (1.8)	6 (8.3)	7 (5.4)	
6~9日	0 (0.0)	3 (4.2)	3 (2.3)	
10~19日	2 (3.5)	1 (1.4)	3 (2.3)	
20~29日	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	
毎日	1 (1.8)	0 (0.0)	1 (0.8)	
エナジードリンク使用動機 (複数回答)				
元気になるため	0 (0.0)	5 (6.9)	5 (3.9)	0.042
仕事/勉強のため	5 (8.8)	9 (12.5)	14 (10.9)	0.499
運動パフォーマンスを上げる	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	0.372
遊びのため	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
長時間の運転のため	1 (1.8)	5 (6.9)	6 (4.7)	0.165
その他の目的	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	0.372
いずれも当てはまらない	1 (1.8)	2 (2.8)	3 (2.3)	0.702
エナジードリンク・カクテル使用経験				0.263
あり	4 (7.0)	10 (13.9)	14 (10.9)	
なし	53 (93.0)	62 (86.1)	115 (89.1)	
エナジードリンク・カクテル使用頻度				0.689
一度もない	53 (93.0)	62 (86.1)	115 (89.1)	
1回だけ	1 (1.8)	3 (4.2)	4 (3.1)	
数回	2 (3.5)	5 (6.9)	7 (5.4)	
数えきれないくらい	1 (1.8)	2 (2.8)	3 (2.3)	

表2. 男女別にみた対象者の飲酒・喫煙

	性別			p-value
	女性	男性	合計	
	n=57 n (%)	n=72 n (%)	n=129 n (%)	
飲酒経験 (過去1年)				0.789
あり	49 (86.0)	64 (88.9)	113 (87.6)	
なし	8 (14.0)	8 (11.0)	16 (12.4)	
飲酒経験 (過去30日)				0.694
あり	41 (71.9)	54 (75.0)	95 (73.6)	
なし	16 (28.1)	18 (25.0)	34 (26.4)	
飲酒日数 (過去30日)				0.275
0日	16 (28.1)	18 (25.0)	34 (26.4)	
1~2日	13 (22.8)	9 (12.5)	22 (17.1)	
3~5日	6 (10.5)	9 (12.5)	15 (11.6)	
6~9日	8 (14.0)	10 (13.9)	18 (14.0)	
10~19日	4 (7.0)	16 (22.2)	20 (15.5)	
20~29日	8 (14.0)	8 (11.1)	16 (12.4)	
毎日	2 (3.5)	2 (2.8)	4 (3.1)	
Binge drinking (過去30日)				0.013
あり	22 (38.6)	44 (61.1)	66 (51.2)	
なし	35 (61.4)	28 (38.9)	63 (48.8)	
Binge drinking (過去30日)				0.002
0日	35 (61.4)	28 (38.9)	63 (48.8)	
1~2日	17 (29.8)	19 (26.4)	36 (27.9)	
3~5日	2 (3.5)	16 (22.2)	18 (14.0)	
6~9日	0 (0.0)	5 (6.9)	5 (3.9)	
10~19日	3 (5.3)	3 (4.2)	6 (4.7)	
20~29日	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
毎日	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	
喫煙経験 (過去1年)				0.405
あり	11 (19.3)	19 (26.4)	30 (23.3)	
なし	46 (80.7)	53 (73.6)	99 (76.7)	
喫煙経験 (過去30日)				0.290
あり	10 (17.5)	19 (26.4)	29 (22.5)	
なし	47 (82.5)	53 (73.6)	100 (77.5)	
喫煙日数 (過去30日)				0.431
0日	47 (82.5)	53 (73.6)	100 (77.5)	
1~2日	2 (3.5)	1 (1.4)	3 (2.3)	
3~5日	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	
6~9日	1 (1.8)	1 (1.4)	2 (1.6)	
10~19日	2 (3.5)	1 (1.4)	3 (2.3)	
20~29日	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	
毎日	5 (8.8)	14 (19.4)	19 (14.7)	
使用したタバコ種別 (過去1年)				
いずれもなし	46 (80.7)	53 (73.6)	99 (76.7)	0.405
紙巻きタバコ	8 (14.0)	16 (22.2)	24 (18.6)	0.263
加熱式タバコ	3 (5.3)	8 (11.1)	11 (8.5)	0.345
電子タバコ	1 (1.8)	1 (1.4)	2 (1.6)	1.000
その他	1 (1.8)	1 (1.4)	2 (1.6)	1.000

表3. 男女別にみた対象者の薬物使用

	性別		合計 n=129 n (%)	p-value
	女性 n=57 n (%)	男性 n=72 n (%)		
	薬物使用 (生涯)			
大麻	8 (14.0)	13 (18.1)	21 (16.3)	0.634
危険ドラッグ	3 (5.3)	2 (2.8)	5 (3.9)	0.654
有機溶剤	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	1.000
覚せい剤	1 (1.8)	3 (4.2)	4 (3.1)	0.629
MDMA	2 (3.5)	2 (2.8)	4 (3.1)	1.000
LSD	2 (3.5)	2 (2.8)	4 (3.1)	1.000
コカイン	1 (1.8)	1 (1.4)	2 (1.6)	1.000
ヘロイン	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	1.000
その他	1 (1.8)	0 (0.0)	1 (0.8)	0.442
薬物使用 (過去1年)				
大麻	4 (7.0)	3 (4.2)	7 (5.4)	0.699
危険ドラッグ	1 (1.8)	1 (1.4)	2 (2.6)	1.000
有機溶剤	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	1.000
覚せい剤	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
MDMA	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	1.000
LSD	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	1.000
コカイン	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
ヘロイン	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
その他	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	1.000
大麻使用回数				0.753
一度もない	49 (86.0)	59 (81.9)	108 (83.7)	
1回だけ	1 (1.8)	3 (4.2)	4 (3.1)	
数回	3 (5.3)	6 (8.3)	9 (7.0)	
数えきれないくらい	4 (7.0)	4 (5.6)	8 (6.2)	
CBD製品 (大麻草から抽出されるオイルや粉末)の使用経験				0.352
ない	51 (89.5)	64 (88.9)	115 (89.1)	
ある	3 (5.3)	1 (1.4)	4 (3.1)	
わからない	3 (5.3)	7 (9.7)	10 (7.8)	
使用した大麻の種別				
乾燥大麻	7 (12.3)	11 (15.3)	18 (14.0)	0.626
大麻樹脂 (チョコ)	4 (7.0)	5 (6.9)	9 (7.0)	0.987
大麻ワックス	1 (1.8)	1 (1.4)	2 (1.6)	0.867
大麻リキッド (電子タバコ)	2 (3.5)	1 (1.4)	3 (2.3)	0.428
大麻クッキーなどの加工品	2 (3.5)	2 (2.8)	4 (3.1)	0.812
その他	0 (0.0)	2 (2.8)	2 (1.6)	0.205

表4. 男女別にみた対象者の依存症に関する意識・考え

	性別		合計 n=129 n (%)	p-value
	女性 n=57 n (%)	男性 n=72 n (%)		
	薬物使用に対する考え			
違法・合法に関わらず薬物は規制すべき	32 (56.1)	40 (55.6)	72 (55.8)	0.709
合法なものは個人の判断に任せるべき	16 (28.1)	16 (22.2)	32 (24.8)	0.357
違法・合法に関わらず個人の判断に任せるべき	1 (1.8)	3 (4.2)	4 (3.1)	0.459
大麻など植物由来のものは規制すべきではない	8 (14.0)	9 (12.5)	17 (13.2)	0.688
大麻など植物由来のものであっても規制すべき	9 (15.8)	12 (16.7)	21 (16.3)	0.708
薬物に対する日本の取り締まりは厳しすぎる	2 (3.5)	6 (8.3)	8 (6.2)	0.282
薬物に対する日本の取り締まりは甘すぎる	16 (28.1)	11 (15.3)	27 (20.9)	0.063
いずれも当てはまらない	4 (7.0)	7 (9.7)	11 (8.5)	0.525
北米における大麻合法化に関する考え				0.753
どのような目的でも反対	11 (19.3)	18 (25.0)	29 (22.5)	
医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対	28 (49.1)	28 (38.9)	56 (43.4)	
医療目的は反対だが、嗜好目的は賛成	0 (0.0)	1 (1.4)	1 (0.8)	
どのような目的でも賛成	10 (0.0)	14 (19.4)	24 (18.6)	
いずれも当てはまらない・わからない	6 (10.5)	10 (13.9)	16 (12.4)	
ギャンブル依存の周知				0.154
知っている	48 (84.2)	67 (93.1)	115 (89.1)	
知らない	9 (15.8)	5 (6.9)	14 (10.9)	
インターネット・ゲーム障害の周知				0.373
知っている	50 (87.7)	65 (90.3)	115 (89.1)	
知らない	5 (8.8)	7 (9.7)	12 (9.3)	
周知している支援団体				
依存症専門病院	21 (36.8)	20 (27.8)	41 (31.8)	0.342
精神保健福祉センター	12 (21.1)	10 (13.9)	22 (17.1)	0.348
回復支援施設 (ダルクなど)	17 (29.8)	19 (26.4)	36 (27.9)	0.696
自助グループ (NA,AA など)	2 (3.5)	6 (8.3)	8 (6.2)	0.301
いずれも知らない	27 (47.4)	41 (56.9)	68 (52.7)	0.293
依存症の支援を必要としている人の存在				0.482
いない	42 (73.7)	54 (75.0)	96 (74.4)	
1名いる	1 (1.8)	4 (5.6)	5 (3.9)	
2名以上いる	1 (1.8)	3 (4.2)	4 (3.1)	
わからない	13 (22.8)	11 (15.3)	24 (18.6)	

表5. 大麻使用別にみた対象者の基本属性・エナジードリンク使用状況

	大麻使用		p-value
	あり	なし	
	n=21 n (%)	n=108 n (%)	
平均年齢	40.4	41.9	0.640
年齢階級			0.233
10代	0 (0.0)	7 (6.5)	
20代	3 (14.3)	14 (13.0)	
30代	10 (47.6)	27 (25.0)	
40代	2 (9.5)	29 (26.9)	
50代	5 (23.8)	21 (19.4)	
60代以上	1 (4.8)	10 (9.3)	
性別			0.634
女性	8 (38.1)	49 (45.4)	
男性	13 (61.9)	59 (54.6)	
イベント参加			0.165
初回	14 (66.7)	86 (79.6)	
2回目	1 (4.8)	9 (8.3)	
3回以上	6 (28.6)	13 (12.0)	
国籍			0.434
日本	20 (95.2)	102 (94.4)	
日本以外	0 (0.0)	5 (4.6)	
エナジードリンク使用 (過去30日)			0.052
あり	9 (42.9)	23 (21.3)	
なし	12 (57.1)	85 (78.7)	
エナジードリンク使用日数 (過去30日)			0.046
0日	12 (57.1)	85 (78.7)	
1~2日	3 (14.3)	14 (13.0)	
3~5日	3 (14.3)	4 (3.7)	
6~9日	1 (4.8)	2 (1.9)	
10~19日	2 (9.5)	1 (0.9)	
20~29日	0 (0.0)	1 (0.9)	
毎日	0 (0.0)	1 (0.9)	
エナジードリンク使用動機			
元気になるため	0 (0.0)	5 (4.6)	0.315
仕事/勉強のため	4 (19.0)	10 (9.3)	0.187
運動パフォーマンスを上げる	0 (0.0)	1 (0.9)	0.658
遊びのため	0 (0.0)	0 (0.0)	-
長時間の運転のため	2 (9.5)	4 (3.7)	0.247
その他の目的	1 (4.8)	0 (0.0)	0.023
いずれも当てはまらない	0 (0.0)	3 (2.8)	0.440
エナジードリンク・カクテル使用経験			0.002
あり	7 (33.3)	7 (6.5)	
なし	14 (66.7)	101 (93.5)	
エナジードリンク・カクテル使用頻度			0.001
一度もない	14 (66.7)	101 (93.5)	
1回だけ	1 (4.8)	3 (2.8)	
数回	3 (14.3)	4 (3.7)	
数えきれないくらい	3 (14.3)	0 (0.0)	

表6. 大麻使用別にみた対象者の飲酒・喫煙

	大麻使用		p-value
	あり	なし	
	n=21 n (%)	n=108 n (%)	
飲酒経験 過去1年)			0.073
あり	21 (100.0)	92 (85.2)	
なし	0 (0.0)	16.0 (14.8)	
飲酒経験 過去30日)			1.000
あり	16 (76.2)	79 (73.1)	
なし	5 (23.8)	29 (26.9)	
飲酒日数 過去30日)			0.527
0日	5 (23.8)	29 (26.9)	
1~2日	2 (9.5)	20 (18.5)	
3~5日	2 (9.5)	13 (12.0)	
6~9日	6 (28.6)	12 (11.1)	
10~19日	3 (14.3)	17 (15.7)	
20~29日	2 (9.5)	14 (13.0)	
毎日	1 (4.8)	3 (2.8)	
Binge drinking 過去30日)			1.000
あり	11 (52.4)	55 (50.9)	
なし	10 (47.6)	53 (49.1)	
Binge drinking 過去30日)			0.903
0日	10 (47.6)	53 (49.1)	
1~2日	7 (33.3)	29 (26.9)	
3~5日	3 (14.3)	15 (13.9)	
6~9日	1 (4.8)	4 (3.7)	
10~19日	0 (0.0)	6 (5.6)	
毎日	0 (0.0)	1 (0.9)	
喫煙経験 過去1年)			<0.001
あり	12 (57.1)	18 (16.7)	
なし	9 (42.9)	90 (83.3)	
喫煙経験 過去30日)			<0.001
あり	12 (57.1)	17 (15.7)	
なし	9 (42.9)	91 (84.3)	
喫煙日数 過去30日)			<0.001
0日	9 (42.9)	91 (84.3)	
1~2日	2 (9.5)	1 (0.9)	
3~5日	0 (0.0)	1 (0.9)	
6~9日	1 (4.8)	1 (0.9)	
10~19日	2 (9.5)	1 (0.9)	
20~29日	1 (4.8)	0 (0.0)	
毎日	6 (28.6)	13 (12.0)	
使用したタバコ種別 過去1年)			
いずれもなし	9 (42.9)	90 (83.3)	<0.001
紙巻きタバコ	10 (47.6)	14 (13.0)	0.001
加熱式タバコ	5 (23.8)	6 (5.6)	0.017
電子タバコ	2 (9.5)	0 (0.0)	0.025
その他	1 (4.8)	1 (0.9)	0.300

表7. 大麻使用別にみた対象者の薬物使用

	大麻使用		p-value
	あり	なし	
	n=21 n (%)	n=108 n (%)	
薬物使用 (生涯)			
危険ドラッグ	3 (14.3)	2 (1.9)	0.030
吸入剤	1 (4.8)	0 (0.0)	0.163
覚せい剤	4 (19.0)	0 (0.0)	0.001
MDMA	4 (19.0)	0 (0.0)	0.001
LSD	4 (19.0)	0 (0.0)	0.001
コカイン	2 (9.5)	0 (0.0)	0.025
ヘロイン	1 (4.8)	0 (0.0)	0.163
その他	1 (4.8)	0 (0.0)	0.163
薬物使用 (過去1年)			
危険ドラッグ	1 (4.8)	1 (0.9)	0.300
有機溶剤	1 (4.8)	0 (0.0)	0.163
覚せい剤	0 (0.0)	0 (0.0)	-
MDMA	1 (4.8)	0 (0.0)	0.163
LSD	1 (4.8)	0 (0.0)	0.163
その他	1 (4.8)	0 (0.0)	0.163
CBD製品 (大麻草から抽出されるオイルや粉末)の使用経験			<0.001
ない	13 (61.9)	102 (94.4)	
ある	3 (14.3)	1 (0.9)	
わからない	5 (23.8)	5 (4.6)	

表8. 大麻使用別にみた対象者の依存症に関する意識・考え

	大麻使用		p-value
	あり	なし	
	n=21 n (%)	n=108 n (%)	
薬物使用に対する考え			
違法・合法に関わらず薬物は規制すべき	4 (19.0)	68 (63.0)	<0.001
合法なものは個人の判断に任せるべき	7 (33.3)	25 (23.1)	0.505
違法・合法に関わらず個人の判断に任せるべき	1 (4.8)	3 (2.8)	0.595
大麻など植物由来のものは規制すべきではない	10 (47.6)	7 (6.5)	<0.001
大麻など植物由来のものであっても規制すべき	2 (9.5)	19 (17.6)	0.601
薬物に対する日本の取り締まりは厳しすぎる	3 (14.3)	5 (4.6)	0.266
薬物に対する日本の取り締まりは甘すぎる	3 (14.3)	24 (22.2)	0.633
いずれも当てはまらない	3 (14.3)	8 (7.4)	0.487
北米における大麻合法化に関する考え			<0.001
どのような目的でも反対	1 (4.8)	28 (25.9)	
医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対	5 (23.8)	51 (47.2)	
医療目的は反対だが、嗜好目的は賛成	1 (4.8)	0 (0.0)	
どのような目的でも賛成	12 (57.1)	12 (11.1)	
いずれも当てはまらない・わからない	2 (9.5)	14 (13.0)	
ギャンブル依存の周知			0.243
知っている	17 (81.0)	98 (90.7)	
知らない	4 (19.0)	10 (9.3)	
インターネット・ゲーム障害の周知			0.051
知っている	16 (76.2)	99 (91.7)	
知らない	5 (23.8)	7 (6.5)	
周知している支援団体			
依存症専門病院	3 (14.3)	38 (35.2)	0.074
精神保健福祉センター	2 (9.5)	20 (18.5)	0.526
回復支援施設 (ダルクなど)	10 (47.6)	26 (24.1)	0.035
自助グループ (NA,AAなど)	1 (4.8)	7 (6.5)	1.000
いずれも知らない	11 (52.4)	57 (52.8)	1.000
依存症の支援を必要としている人の存在			0.674
いない	16 (76.2)	80 (74.1)	
1名いる	1 (4.8)	4 (3.7)	
2名以上いる	1 (4.8)	3 (2.8)	
わからない	3 (14.3)	21 (19.4)	

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Funada, M., Takebayashi-Ohsawa, M.,	Synthetic cannabinoid AM2201 induces seizures: Involvement of cannabinoid CB1 receptors and glutamatergic transmission.	Toxicology and applied pharmacology	338	1-8	2018
船田正彦	薬物依存の分子機構.	Clinical Neuroscience,	36	1437-1440	2018
船田正彦	米国の大麻規制と薬物乱用防止.	日本薬剤師会雑誌.	71(2)	75	2019
栗原正明 2018.1.31, 261-267	in silico 計算毒性評価のための QSAR 手法の活用法	in silico創薬におけるスクリーニングの高速化・高精度化技術, 技術情報協会,	1.31	261-267	2018
Eto R, Misawa T, Noguchi-Yachide T, Ohoka N, Kurihara M, Naito M, Tanaka M, Demizu Y.	Design and synthesis of estrogen receptor ligands with a 4-heterocycle-4-phenylheptane skeleton.	Bioorg Med Chem	26	30060-9	2018
K. Okitsu, T. Hattori, T. Misawa, T. Shoda, M. Kurihara, M. Naito, Y. Demizu	Development of a small hybrid molecule that mediates degradation of His-tag fused proteins	J Med Chem	61	576-582	2018
Tsuji G, Hattori T, Kato M, Hakamata W, Inoue H, Naito M, Kurihara M, Demizu Y, Shoda T.	Design and synthesis of cell-permeable fluorescent nitrilotriacetic acid derivatives.	Bioorg Med Chem	26	5494-5498	2018
Misawa T, Tsuji G, Takahashi T, Ochiai E, Takagi KI, Horie K, Kakuda S, Takimoto-Kamimura M, Kurihara M, Demizu Y.;	Structural development of non-secosteroidal vitamin D receptor (VDR) ligands without any asymmetric	Bioorg Med Chem	26	6146-6152	2018

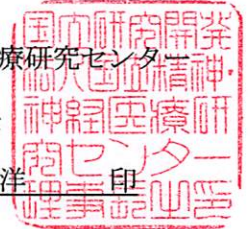
	carbon.				
Murakami, S., Miyazaki, I., and <u>Asanuma, M.</u>	Neuroprotective effect of fermented papaya preparation by activation of Nrf2 pathway in astrocytes.	Nutr. Neurosci.	21 (3)	176-184	2018
Tanaka, K., Yagi, T., Nanba, T. and <u>Asanuma, M.</u>	Application of single prolonged stress induces post-traumatic stress disorder-like characteristics in mice.	Acta Med. Okayama	72 (5)	479-485	2018
Nakamura, Y., Kitamura, Y., Sumiyoshi, Y., Naito, N., Kan, S., Ushio, S., Miyazaki, I., <u>Asanuma, M.</u> and Sendo, T.	Involvement of 5-HT2A receptor hyperfunction in the anxiety-like behavior induced by doxorubicin and cyclophosphamide combination treatment in rats.	J. Pharmacol. Sci.	138 (3)	192-197	2018
<u>Asanuma, M.</u> , Okumura-Torigoe, N., Miyazaki, I., Murakami, S., Kitamura, Y. and Sendo, T.	Region-specific neuroprotective features of astrocytes against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine.	Int. J. Mol. Sci.	20 (3)	598	2019
Takao CHIKUMOTO, Ryoichi FURUKAWA, Erina KOHYAMA, Koichi SUENAMI, Hiroyuki NAGAI, Hiroyuki TADA, Hidenobu KAWASHIMA, Natsuki KADOMURA, Midori SODA, Kiyoyuki KITAICHI, Tetsuro ITO.	Liquid chromatography–mass spectrometry studies on the isomeric 1-fluorobenzyl-3-naphthoyl-indoles: FUB-JWH-018 and five isomers.	Forensic Toxicology DOI: 10.1007/s11419-018-0442-9, 2018.			2018
Tanibuchi Y, Matsumoto T, Funada D, Shimane T	The influence of tightening regulations on patients with new psychoactive substance-related disorders in Japan.	Neuropsychopharmacol Rep	38(4)	189-196	2018
嶋根卓也, 今村顕史, 池田和子, 山本政弘, 辻麻理子, 長与由紀子, 松本俊彦	薬物使用経験のある HIV 陽性者において危険ドラッグ使用が服薬アドヒアランスに与える影響	日本エイズ学会雑誌	20(1)	32-40	2018

佐々木真人, 堀岡広稔, 村岡謙行, 長崎大武, 田村昌士, 西村直祐, 長田良和, 戸田憲, 宮田祥一, 西森康夫, 嶋根卓也	薬局薬剤師を対象としたゲートキーパー研修会が知識・自己効力感・臨床行動に与える影響	日本薬剤師会雑誌	70(7)	849-857	2018
嶋根卓也	日本における薬物乱用のモニタリング調査と回復支援プログラムについて	龍谷法学	50(3)	1805-1812	2018
嶋根卓也	【IV. 知っておきたい!生活サポート&性教育】40 薬物乱用	小児科	50(5)	774-780	2018
嶋根卓也	薬物乱用防止の最前線: 薬剤師に知ってほしいこと	Excellent Pharmacy	5月1日号	11-13	2018
嶋根卓也	薬物乱用防止における薬剤師の役割	ファルマシア	54(6)	541-543	2018
嶋根卓也	「NO」と言えない子どもたちー酒・タバコ・クスリと援助希求.	こころの科学	202	47-51	2018
嶋根卓也	薬物使用の最新動向: 大麻からエナジードリンクまで	KNOW NEWS LETTER	99	2-5	2018
嶋根卓也	過量服薬に対する薬剤師の役割	臨床精神薬理	22(3)	印刷中	2019

平成 3 / 年 2 月 28 日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立精神・神経医療研究センター
所属研究機関長 職名 理事長
氏名 水澤 英洋



次の職員の平成 30 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 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
- 2. 研究課題名 危険ドラッグ及び関連代謝物の有害作用解析と乱用実態把握に関する研究
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター・室長
(氏名・フリガナ) 船田 正彦・フナダ マサヒコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター	<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成31年3月8日

厚生労働大臣 殿

機関名 国際医療福祉大学

所属研究機関長 職名 学 長
氏名 大 友 邦



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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
2. 研究課題名 危険ドラッグ及び関連代謝物の有害作用解析と乱用実態把握に関する研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 国際医療福祉大学 薬学部
(氏名・フリガナ) 栗原正明 (クリハラマサアキ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成31年 2月28日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立大学法人岡山大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 榎野 博史 印



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 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
- 2. 研究課題名 危険ドラッグ及び関連代謝物の有害作用解析と乱用実態把握に関する研究
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 大学院医歯薬学総合研究科・教授
(氏名・フリガナ) 浅沼 幹人 ・ アサヌマ マサト

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 岐阜薬科大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 稲垣 隆司



次の職員の平成30年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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
2. 研究課題名 危険ドラッグ及び関連代謝物の有害作用解析と乱用実態把握に関する研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 薬物動態学研究室 教授
(氏名・フリガナ) 北市 清幸 ・キタイチ キヨユキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

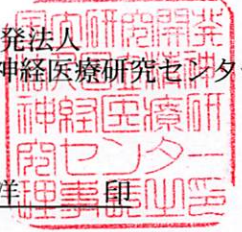
当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

平成 31 年 2 月 28 日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター
所属研究機関長 職 名 理事長
氏 名 水澤 英洋



次の職員の平成 30 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 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
- 研究課題名 危険ドラッグ及び関連代謝物の有害作用解析と乱用実態把握に関する研究
(H30-医薬-一般-004)
- 研究者名 (所属部局・職名) 薬物依存研究部 心理社会研究室長
(氏名・フリガナ) 嶋根 卓也 ・ シマネ タクヤ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立精神・神経医療センター	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。