

令和2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

令和2年度 総括研究報告書

令和2年度 分担研究報告書

平成30～令和2年度 総合研究報告書

令和3年3月

研究代表者：船田正彦

目 次

平成 30～令和 2 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物の有害作用解析 と乱用実態把握に関する研究

I. 令和 2 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. 令和 2 年度 分担研究報告書		
研究-1 : フェンタニル類縁化合物の行動薬理学的特性と オピオイド受容体活性の関連性	-----	18
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有害性予測法の開発	-----	28
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 ～酸化ストレスマーカーdHEt 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 : 危険ドラッグの生体内挙動とその有害性の相関に関する研究	-----	49
北市清幸 (岐阜薬科大学薬物動態学研究室)		
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	-----	58
嶋根卓也 (国立精神・神経医療研究センター)		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	68

総括研究報告書

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

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】

危険ドラッグは、海外では新規精神活性物質(New psychoactive substances, NPS)と称され流、その通は継続している。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。本研究では、フェンタニル類縁化合物について、行動薬理学的特性並びにオピオイド受容体活性強度の相関性に関する検討を行った。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オピオイド μ 受容体活性予測を行った。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、新規乱用薬物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、危険ドラッグおよび大麻を含む薬物乱用実態に関する疫学調査を実施した。

【研究-1：フェンタニル類縁化合物の行動薬理学的特性とオピオイド受容体活性の関連性】

本研究では、12種類のフェンタニル類縁化合物について運動活性に対する影響およびオピオイド受容体活性化強度の検討を行った。行動解析としてICR系雄性マウスを使用し、12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(1 mg/kg, i.p.)の投与により、著明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(1 mg/kg, i.p.)前処置によって有意に抑制された。12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。次に、オピオイド μ 受容体発現細胞(CHO- μ 細胞)を利用して、オピオイド受容体作用を解析した。12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。12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。フェンタニル類縁化合物による運動促進作用と μ 受容体活性化強度との相関性を検討したところ、有意な相関性が確認された。本研究により、フェンタニル類縁化合物はオピオイド受容体を介して、強力な中枢興奮作用を示すことが確認された。また、CHO- μ 細胞による解析から、フェンタニル類縁化合物の作用発現については、 μ 受容体活性が重要であることが明らかになった。フェンタニル類縁化合物による運動促進作用と μ 受容体活性化強度において有意な相関性が確認されたことから、フェンタニル類縁化合物による中枢興奮作用は μ 受容体活性化強度の解析から予測できると考えられる。本研究から、フェンタニル類縁化合物は中枢興奮作用を示すことから、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

ニル類縁化合物は主にオピオイド 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。

【研究-2：コンピュータシミュレーションによる有害性予測法の開発】

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。本年度はオピオイド μ 受容体を標的にしたドッキングスタディを行い、ドッキングスタディの評価関数と実際の活性値との相関を調べた。活性既知のフェンタニル類縁化合物 8 種類を用いてドッキングスタディを行い、各種計算条件を変更することで活性予測値と実測値の相関向上が見られた。評価関数や結合サイト等の条件を見直すことで相関が向上する傾向が見られた。今後、評価化合物を増やして検討を行うことにより、フェンタニル類縁化合物包括規制への展開が期待される。QSAR 解析とドッキングスタディを適切に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効果的であると考えられる。

【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～酸化ストレスマーカー dHEt を指標にして～】

危険ドラッグおよび覚せい剤などによる神経障害の発現において、酸化ストレスは重要な役割を果たすと考えられる。これまでに、ミトコンドリアでの活性酸素種生成の蛍光指示薬を用いて、危険ドラッグの比較的低濃度の暴露早期において活性酸素種生成を検出できることを報告してきた。本研究では、危険ドラッグ暴露早期の細胞内での酸化ストレスをミトコンドリアに限らず広く評価するために、モノアミン系培養神経細胞系を用いて各種乱用薬物、危険ドラッグ(METH, MDMA, methylone, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 2CT-4, 2C-C, PP, 5MeO-DMT, 5MeO-MIPT, harmaline, harmine)添加による細胞内活性酸素種生成を蛍光物質 dihydroethidine (dHEt)により検出し、その有害性を評価する指標としての可能性について総合的に評価した。モノアミン系セロトニン含有培養神経細胞株 B65 細胞への 3 時間曝露により、13 種いずれの薬剤においても、活性酸素種生成を示す dHEt のシグナルの顕著な増加が認められた。細胞における明らかな dHEt のシグナルの出現濃度は、2CT-4 (50 μ M \sim), 2CT-7 (50 μ M \sim) > 2C-C (50 μ M \sim), harmaline (50 μ M \sim) > harmine (50 μ M \sim) > MDMA (250 μ M) > methylone (500 μ M \sim), PP (500 μ M \sim) > PMMA (500 μ M \sim), 4FMP (500 μ M \sim) > METH (500 μ M \sim), 5MeO-DMT (500 μ M \sim) > 5MeO-MIPT (500 μ M \sim)の順であり、細胞数減少の出現濃度で示される細胞毒性の強度、2C-C (100 μ M \sim), 2CT-4 (100 μ M \sim) > harmaline (100 μ M \sim), harmine (100 μ M \sim) > 2CT-7 (100 μ M \sim) > MDMA (500 μ M \sim) > PP (1 mM \sim), METH (1 mM \sim), PMMA (1 mM \sim), methylone (1 mM \sim), 4FMP (1 mM \sim) > 5MeO-MIPT (2 mM), 5MeO-DMT (2 mM \sim)ときれいに相関しており、さらに dHEt による細胞内活性酸素種生成は細胞死を惹起しない低濃度においても曝露早期から認められることが明らかとなった。各種乱用薬物、危険ドラッグのモノアミン系培養神経細胞への曝露により、細胞内での活性酸素種生成が曝露 3 時間後の早期に低濃度から認められ、その酸化ストレス誘導性と形態的な神経細胞障害性との間に強い相関が認められることを明らかにできた。培養神経細胞株での蛍光物質 dHEt を用いた活性酸素種生成の評価は、鋭敏かつ有用な神経毒性発現の蓋然性のスクリーニング方法となりうると考えられた。

【研究-4：危険ドラッグの生体内挙動とその有害性の相関に関する研究】

合成カンナビノイドである 5F-CUMYL-PINACA および CUMYL-PINACA に関して、ラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行い、糞便中からの代謝物の同定を試みた。合成カンナビノイドはラットに *i.v.*投与され、糞便サンプルは、投与時点から 24, 48, 72 時間経過した段階で採集した。採集した糞便にサンプル処理を行い、測定には LCMS-IT-TOF を使用した。またこれまで、生体内での代謝挙動解明のため、ヒトサンプルに代わるものとしてラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行ってきた。そこで、ヒトとラットの薬物代謝に関する種差を確認するため、ヒト肝ミクロソーム (HLMs) とラット肝ミクロソーム (RLMs) を用いた 5F-CUMYL-PINACA と CUMYL-PINACA の *in vitro* 代謝実験を行い、代謝挙動の解明と比較を試みた。*In vivo* 代謝実験の結果より、両合成カンナビノイドともに胆汁で最も多く検出された代謝物 (一水酸化体) が、糞便からも検出できることが明らかとなった。また、糞便からの代謝物の検出は最長で 48 時間経過サンプルまで可能であり、ヒトにおいても糞便の採取により使用薬物を特定できる可能性が示唆された。HLMs または RLMs を用いた *In vitro* 代謝実験では、各 SCs とともに半減期に違いが確認され、5F-CUMYL-PINACA では $t_{1/2}$ (RLMs) < $t_{1/2}$ (HLMs) であり、CUMYL-PINACA では $t_{1/2}$ (RLMs) > $t_{1/2}$ (HLMs) であった。一方で、代謝物の経時変化の傾向と、その結果より推定される代謝経路の違いは見られず、推定された主要代謝物は HLMs、RLMs とともに同じものであった。*In vivo* 代謝実験と RLMs を用いた *in vitro* 代謝実験の結果の比較について、ラット胆汁中に排出された主要代謝物と、*in vitro* 代謝実験の主要代謝物は共に各合成カンナビノイドの一水酸化体であった。しかし、*vivo* と *vitro* でピーク形状に違いが確認され、さらに、*in vitro* 代謝実験で算出した肝クリアランス (CLH) よりも *in vivo* 代謝実験から算出したクリアランス (CL_{tot}) の方が大きいという結果になった。これまでの研究より、血中と尿中から代謝物が検出されないことが明らかとなっており、クリアランスの差異についてさらなる検討が必要である。以上のことより、5F-CUMYL-PINACA、CUMYL-PINACA について、*in vitro* 代謝実験の結果から *in vivo* サンプルで検出される主要代謝物を特定すること、また、ヒトにおける代謝挙動の推定においてラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行うことが有用であることが示唆された。

【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】

本研究の目的は、薬物使用者が多いレクリエーション・セッティングの一つとして野外フェスティバルの来場者を対象とした調査を通じて、大麻使用者の特徴を明らかにすることである。具体的には、1) 大麻使用とアルコール摂取との関係性を明らかにすること、2) 海外における大麻の合法化 (非犯罪化) が、レクリエーション・セッティングの対象者に与える影響を調べることを目的とした。対象は、関東地方で開催された音楽関連の野外イベント (野外フェスティバル) に参加した 16 歳以上の来場者であった。計 2 回のイベントで、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、計 437 名より有効回答を得た。大麻の使用経験に基づき、大麻使用経験の無い Non-users (n=382)、大麻使用経験はあるが、1 年以内の使用がない Ex-users (n=44)、過去 1 年以内に大麻を使用した Current-users (n=11) の 3 群に分類した。

【結果】

1. 飲酒に関する結果は、過去 1 年間の飲酒率は Non-users (81.4%)、Ex-users (61.4%)、Current-users (100%) であった ($p=0.003$)。過去 30 日間の飲酒率は、Non-users (68.6%)、Ex-users (54.5%)、Current-users (81.8%) であった ($p=0.102$)。過去 30 日間のビンジ飲酒率は、Non-users (42.7%)、Ex-users (38.6%)、Current-users (72.7%) であった ($p=0.113$)。
2. 北米における大麻合法化に対する考えは、Non-users は、「医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対」が 52.4% と最も多かった。Ex-users および Current-users は「どのような目的でも賛成」という回答が最も多かった (Ex-users : 40.9%、Current-users : 90.9%) ($p<0.001$)。

【結論】過去1年以内に大麻の使用経験を有する Current-users の飲酒率（過去1年間）、飲酒率（過去30日間）、ビンジ飲酒率（過去30日間）は、他の群に比べて高いという結果が得られたが、統計学的に有意な差は検出できなかった。本研究のデータからは大麻使用者におけるアルコール関連の問題性は見いだせなかった。国内の大麻使用者の多くが北米における大麻合法化（医療目的、嗜好目的の両方）に賛同していた。大麻使用経験のない者であっても、大麻の医療目的での利用については賛同していた。

結論：

(1) 本研究では、12種類のフェンタニル類縁化合物について運動活性に対する影響およびオピオイド受容体活性化強度の検討を行った。フェンタニル類縁化合物はオピオイド受容体を介して、強力な中枢興奮作用を示すことが確認された。また、CHO- μ 細胞による解析から、フェンタニル類縁化合物の作用発現については、 μ 受容体活性が重要であることが明らかになった。フェンタニル類縁化合物による運動促進作用と μ 受容体活性化強度において有意な相関性が確認されたことから、フェンタニル類縁化合物による中枢興奮作用は μ 受容体活性化強度の解析から予測できると考えられる。本研究から、フェンタニル類縁化合物は中枢興奮作用を示すことから、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主にオピオイド 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。(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フェンタニル類縁化合物の活性予測を行なった。オピオイド μ 受容体を標的にしたドッキングスタディを行い、ドッキングスタディの評価関数と実際の活性値にはある程度の相関を示すことが明らかとなった。活性既知のフェンタニル類縁化合物8種類を用いてオピオイド μ 受容体に対するドッキングスタディを行い、各種計算条件を変更することで活性予測値と実測値の相関向上が見られた。評価関数や結合サイト等の条件を見直すことで相関が向上する傾向が見られた。今後、評価化合物を増やして検討を行うことにより、フェンタニル類縁化合物包括規制への展開が期待される。QSAR解析とドッキングスタディを適切に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効果的であると考えられる。(3) 危険ドラッグ添加による細胞内活性酸素種生成を蛍光物質 dihydroethidine (dHET)により解析した。危険ドラッグのモノアミン系培養神経細胞への曝露により、細胞内での活性酸素種生成が曝露3時間後の早期に低濃度から認められ、その酸化ストレス誘導性と形態的な神経細胞障害性との間に強い相関が認められた。培養神経細胞株での蛍光物質 dHETを用いた活性酸素種生成の評価は、鋭敏かつ有用な神経毒性発現の蓋然性のスクリーニング方法となりうると考えられた。(4) 合成カンナビノイドの代謝プロファイルの解析と異性体を含む合成カンナビノイドの解析法の確立に関する研究を行った。測定には LCMS-IT-TOF を使用した。ラットを用いた *in vivo* 代謝実験より、5F-CUMYL-PINACA、CUMYL-PINACA とともに胆汁から検出された主要代謝物が、糞便でも検出できることが明らかとなった。また、糞便からの代謝物検出は最長で48時間経過サンプルまで可能であり、ヒトでも、糞便の採取により使用薬物を特定できる可能性が示唆された。*In vitro* 代謝実験より、ラット肝ミクロソームとヒト肝ミクロソームともに、主要代謝経路と主要代謝物は同じであった。ヒトにおける代謝挙動の推定においてラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行うことが有用であることが示唆された。今後同法を応用し、合成カンナビノイドの摂取マーカーとなりうる代謝物を特定することで、新規合成カンナビノイドの素早い法的規制に貢献することが期待される。(5) 本研究では、大麻使用者の特徴を明らかにすることを目的として、レクリエショナル・セッティングの一つとして音楽関連の野外イベント（野外フェスティバル）の来場者を対象とした実態調査を実施し、次の知見を得た。(a) 過去1年以内に大麻の使用経験を有する

Current-users の飲酒率（過去 1 年間）、飲酒率（過去 30 日間）、ビンジ飲酒率（過去 30 日間）は、他の群に比べて高いという結果が得られたが、統計学的に有意な差は検出できなかった。本研究のデータからは大麻使用者におけるアルコール関連の問題性は見いだせなかった。(b) 国内の大麻使用者の多くが北米における大麻合法化（医療目的、嗜好目的の両方）に賛同していた。大麻使用経験のない者であっても、大麻の医療目的での利用については賛同していた。本研究のデータからは大麻使用者におけるアルコール関連の問題性は見いだせなかった。国内の大麻使用者の多くが北米における大麻合法化（医療目的、嗜好目的の両方）に賛同していた。また、大麻使用経験のない者であっても、大麻の医療目的での利用については賛同していた。

本研究結果から、危険ドラッグの行動解析および細胞や化学計算による機能評価を含む評価システムは、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。また、危険ドラッグ同定の手法についても、機器条件や生体成分からの抽出法などの解析が進んだ。今後は、評価システムおよび検出システムともに、危険ドラッグの種類を増やし更なる検討が必要である。実態調査からは、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。

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

分担研究者： 栗原正明
国際医療福祉大学 教授

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

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

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

A. 研究目的

中枢作用を示す化学物質が「危険ドラッグ」として流通しており、その乱用が大きな社会問題となっている。国内では流通規制が功を奏し、流通は減少しているが、海外では新規精神活性物質(New psychoactive substances, NPS)と称され流通は継続している。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。特に、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。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、今後は包括範囲の再評価と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、合成カンナビノイド、カチノン系化合物について行動特性もしくは細胞毒性の解析を行い、評価法の妥当性について検討した。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。昨年度は、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。本年度は、オピオイド μ 受容体を標的にしたドッキングスタディを行った。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 である HMGB1 に着目し、モノアミン系培養神経細胞

系を用いて各種乱用薬物、危険ドラッグ添加による HMGB1 の発現動態の変化について検討した。

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について、行動薬理学的特性並びにオピオイド受容体活性強度の相関性に関する検討を行った。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オピオイド μ 受容体活性予測を行った。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、新規乱用薬物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、危険ドラッグおよび大麻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行動薬理学的特性とオピオイド受容体活性の関連性]

船田正彦

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

本研究では、12種類のフェンタニル類縁化合物について運動活性に対する影響およびオピオイド受容体活性化強度の検討を行った。行動解析として ICR 系雄性マウスを使用し、12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 (1 mg/kg, i.p.) の投与により、著明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 (1 mg/kg, i.p.) 前処置によって有意に抑制された。12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。次に、オピオイド μ 受容体発現細胞 (CHO- μ 細胞) を利用して、オピオイド受容体作用を解析した。12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。12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。フェンタニル類縁化合物による運動促進作用と μ 受容体活性化強度との相関性を検討したところ、有意な相関性が確認された。本研究により、フェンタニル類縁化合物はオピオイド受容体を介して、強力な中枢興奮作用を示すことが確認された。また、CHO- μ 細胞による解析から、フェンタニル類縁化合物の作用発現については、 μ 受容体活性が重要であることが明らかになった。フェンタニル類縁化合物による運動促進作用と μ 受容体活性化強度において有意な相関性が確認されたことから、フェンタニル類縁化合物による中枢興奮作用は μ 受容体活性化強度の解析から予測できると考えられる。本研究から、フェンタニル類縁化合物は中枢興奮作用を示すことから、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主にオピオイド 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。

[研究-2: コンピュータシミュレーションによる有害性予測法の開発]

栗原正明

国際医療福祉大学 教授

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。本年度はオピオイド μ 受容体を標的にしたドッキングスタディを行い、ドッキングスタディの評価関数と実際の活性値との相関を調べた。ドッキングスタディの評価関数と実際の活性値にはある程度の相関を示すことが明らかとなった。また、活性既知のフェンタニル類縁化合物8種類を用いてドッキングスタディを行ったところ、各種計算条件を変更することで活性予測値と実測値の相関向上が見られた。評価関数や結合サイト等の条件を見直すことで相関が向上する傾向が見られた。今後、評価化合物を増やして検討を行うことにより、フェンタニル類縁化合物包括規制への布石とすることができると考えられる。

[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～酸化ストレスマーカー-dHet 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活性酸素種生成など酸化ストレスは重要な役割を果たすと考えられる。これまでに、ミトコンドリアでの活性酸

素種生成の蛍光指示薬を用いて、2C-C, 2CT-4 を除くいくつかの危険ドラッグについては形態変化がほとんどみられない比較的低濃度の暴露早期において活性酸素種生成を検出できることを報告してきた。本研究では、危険ドラッグ曝露早期の細胞内での酸化ストレスをミトコンドリアに限らず広く評価するために、モノアミン系培養神経細胞系を用いて各種乱用薬物、危険ドラッグ添加による細胞内活性酸素種生成を蛍光物質 dihydroethidine (dHEt) により検出し、その有害性を評価する指標としての可能性について総合的に評価した。モノアミン系セロトニン含有培養神経細胞株 B65 細胞への 3 時間曝露により、13 種いずれの薬剤においても、活性酸素種生成を示す dHEt のシグナルの顕著な増加が認められた。細胞における明らかな dHEt のシグナルの出現濃度は、2CT-4 (50 μM), 2CT-7 (50 μM) > 2C-C (50 μM), harmaline (50 μM) > harmine (50 μM) > MDMA (250 μM) > methylone (500 μM), PP (500 μM) > PMMA (500 μM), 4FMP (500 μM) > METH (500 μM), 5MeO-DMT (500 μM) > 5MeO-MIPT (500 μM) の順であり、細胞数減少の出現濃度で示される細胞毒性の強度、2C-C (100 μM), 2CT-4 (100 μM) > harmaline (100 μM), harmine (100 μM) > 2CT-7 (100 μM) > MDMA (500 μM) > PP (1 mM), METH (1 mM), PMMA (1 mM), methylone (1 mM), 4FMP (1 mM) > 5MeO-MIPT (2 mM), 5MeO-DMT (2 mM) ときれいに相関しており、さらに dHEt による細胞内活性酸素種生成は細胞死を惹起しない低濃度においても曝露早期から認められることが明らかとなった。

[研究-4: 危険ドラッグの生体内挙動とその有害性の相関に関する研究]

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、この手法で合成された SCs を用い各種の検討を行った。昨年度、ラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行い、5F-CUMYL-PINACA および CUMYL-PINACA の代謝物が胆汁中に排出されたことを受け、今年度は糞便中からの代謝物の同定を試みた。各 SCs はラットに *i.v.* 投与され、糞便サンプルは、各 SCs 投与時点から 24, 48, 72 時間経過した段階で採集した。採集した糞便にサンプル処理を行い、測定には LCMS-IT-TOF を使用した。またこれまで、生体内での代謝挙動解明のため、ヒトサンプルに代わるものとしてラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行ってきた。そこで、ヒトとラットの薬物代謝に関する種差を確認するため、ヒト肝ミクロソーム (HLMs) とラット肝ミクロソーム (RLMs) を用いた 5F-CUMYL-PINACA と CUMYL-PINACA の *in vitro* 代謝実験を行い、代謝挙動の解明と比較を試みた。*In vivo* 代謝実験の結果より、両 SCs ともに胆汁で最も多く検出された代謝物 (一水酸化体) が、糞便からも検出できることが明らかとなった。また、糞便からの代謝物の検出は最長で 48 時間経過サンプルまで可能であり、ヒトにおいても糞便の採取により使用薬物を特定できる可能性が示唆された。HLMs または RLMs を用いた *In vitro* 代謝実験では、各 SCs ともに半減期に違いが確認され、5F-CUMYL-PINACA では $t_{1/2}$ (RLMs) < $t_{1/2}$ (HLMs) であり、CUMYL-PINACA では $t_{1/2}$ (RLMs) > $t_{1/2}$ (HLMs) であった。一方で、代謝物の経時変化の傾向と、その結果より推定される代謝経路の違いは見られず、推定された主要代謝物は HLMs, RLMs ともに同じものであった。*In vivo* 代謝実験と RLMs を用いた *in vitro* 代謝実験の結果の比較について、ラット胆汁中に排出された主要代謝物と、*in vitro* 代謝実験の主要代謝物は共に各 SCs の一水酸化体であった。しかし、*vivo* と *vitro* でピーク形状に違いが確認され、さらに、*in vitro* 代謝実験で算出した肝クリアランス (CL_H) よりも *in vivo* 代謝実験から算出したクリアランス (CL_{tot}) の方が大きいという結果になった。これまでの研究より、血中と尿中から代謝物が検出されないことが明らかとなっており、クリアランスの差異についてさらなる検討が必要である。以上のことより、5F-

CUMYL-PINACA、CUMYL-PINACA について、*in vitro* 代謝実験の結果から *in vivo* サンプルで検出される主要代謝物を特定すること、また、ヒトにおける代謝挙動の推定においてラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行うことが有用であることが示唆された。

[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。本研究の目的は、薬物使用者が多いレクリエーション・セッティングの一つとして野外フェスティバルの来場者を対象とした調査を通じて、大麻使用者の特徴を明らかにすることである。具体的には、1) 大麻使用とアルコール摂取との関係性を明らかにすること、2) 海外における大麻の合法化（非犯罪化）が、レクリエーション・セッティングの対象者に与える影響を調べることを目的とした。

【方法】対象は、関東地方で開催された音楽関連の野外イベント（野外フェスティバル）に参加した 16 歳以上の来場者であった。計 2 回のイベントで、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、計 437 名より有効回答を得た。大麻の使用経験に基づき、大麻使用経験の無い Non-users (n=382)、大麻使用経験はあるが、1 年以内の使用がない Ex-users (n=44)、過去 1 年以内に大麻を使用した Current-users (n=11) の 3 群に分類した。

【結果】

- a. 飲酒に関する結果は、過去 1 年間の飲酒率は Non-users (81.4%)、Ex-users (61.4%)、Current-users (100%) であった ($p=0.003$)。過去 30 日間の飲酒率は、Non-users (68.6%)、Ex-users (54.5%)、Current-users (81.8%) であった ($p=0.102$)。過去 30 日間のビンジ飲酒率は、Non-users (42.7%)、Ex-users (38.6%)、Current-users (72.7%) であった ($p=0.113$)。
- b. 北米における大麻合法化に対する考えは、Non-users は、「医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対」が 52.4% と最も多かった。Ex-users および Current-users は「どのような目的でも賛成」という回答が最も多かった (Ex-users : 40.9%、Current-users : 90.9%) ($p<0.001$)。

過去 1 年以内に大麻の使用経験を有する Current-users の飲酒率 (過去 1 年間)、飲酒率 (過去 30 日間)、ビンジ飲酒率 (過去 30 日間) は、他の群に比べて高いという結果が得られたが、統計学的に有意な差は検出できなかった。本研究のデータからは大麻使用者におけるアルコール関連の問題性は見いだせなかった。国内の大麻使用者の多くが北米における大麻合法化（医療目的、嗜好目的の両方）に賛同していた。大麻使用経験のない者であっても、大麻の医療目的での利用については賛同していた。

C. 考 察

1. フェンタニル類縁化合物の行動薬理学的特性とオピオイド受容体活性の関連性

本研究では、12 種類のフェンタニル類縁化合物による運動促進作用と、CHO- μ 細胞実験で得られた μ 受容体活性化強度（蛍光強度）の相関性について検討した。その結果、フェンタニル類縁化合物による運動量と μ 受容体活性化強度には有意な相関性 $R^2=0.83$ が認められた。したがって、CHO- μ 細胞の蛍光発光強度の解析から、フェンタニル類縁化合物の運動促進作用すなわち中枢興奮作用を推測できる可能性が示唆

された。本研究の解析から、フェンタニル類縁化合物による中枢興奮作用の発現強度は、CHO- μ 細胞の蛍光発光強度と相関することが明らかになった。したがって、CHO- μ 細胞の蛍光発光強度の解析から、フェンタニル類縁化合物の有害作用を推測できる可能性が示唆された。本研究の評価結果より、12種類のフェンタニル類縁化合物は著明な中枢興奮作用を有することが確認された事から、より厳格な法規制を施す必要があると考えられる。

2. コンピュータシミュレーションによる有害性予測法の開発

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実現を目的とする。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。本年度はオピオイド μ 受容体を標的にしたドッキングスタディを行い、ドッキングスタディの評価関数と実際の活性値との相関を調べた。活性既知のフェンタニル類縁化合物8種類を用いてドッキングスタディを行ったところ、各種計算条件を変更することで活性予測値と実測値の相関向上が見られた。評価関数や結合サイト等の条件を見直すことで相関が向上する傾向が見られた。今後、評価化合物を増やして検討を行うことにより、フェンタニル類縁化合物包括規制への布石とすることができると考えられる。

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～酸化ストレスマーカーdHEtを指標にして～

モノアミン系培養神経細胞系を用いて 13 種

の乱用薬物、危険ドラッグ(METH, MDMA, methylon, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 2CT-4, 2C-C, PP, 5MeO-DMT, 5MeO-MIPT, harmaline, harmine)添加による細胞内酸化ストレスの変化についてスーパーオキシドなど活性酸素種生成を検出する蛍光物質 dHEt を用いた検討を行い、細胞内での活性酸素種生成が曝露 3 時間後の早期に低濃度から認められ、その酸化ストレス誘導性と形態的な神経細胞障害性との間に強い相関が認められることを明らかにできた。培養神経細胞株での蛍光物質 dHEt を用いた活性酸素種生成の評価は、鋭敏かつ有用な神経毒性発現の蓋然性のスクリーニング方法となりうると考えられた。乱用薬物、危険ドラッグの有害性のスクリーニングでは、培養神経細胞系における細胞内酸化ストレスをあらゆる活性酸素種生成、神経炎症をあらゆる HMGB1 の核外移行など複数の早期の神経障害指標を用いて評価することが望ましいと考えられた。

4. 危険ドラッグの生体内挙動とその有害性の相関に関する研究

合成カンナビノイドの代謝プロファイルの解析と異性体を含む合成カンナビノイドの解析法の確立に関する研究を行った。糞便サンプルについて、胆汁で多く検出された代謝物(一水酸化体)は糞便抽出液からも検出可能であることが明らかとなった。しかし、糞便サンプル処理に関して、採集の時間間隔が 24 時間と長く、その間に代謝物が減衰している恐れや、抽出が足りない恐れ等があるため、今後検討を行っていく必要がある。一方で、最長 48 時間サンプルまで検出可能であったことから、ヒトにおいても薬物摂取から 48 時間後まで摂取薬物の特定ができる可能性が示唆された。

In vitro 代謝実験による種差の確認について、ヒト肝ミクロソーム (HLMs) とラット肝ミクロソーム (RLMs) を用いた 5F-CUMYL-PINACA と CUMYL-PINACA の *in vitro* 代謝実験を行い、代謝挙動の解明と比較を試みた。HLMs と RLMs で主要代謝経路に違いは見られず、また主要代謝物についても、5F-CUMYL-

PINACA では一水酸化体、CUMYL-PINACA では一水酸化に続いて形成されるカルボキシ体であり、違いは確認されなかった。これらのことより、ラットを用いた *in vivo* 代謝実験の結果から代謝経路と主要代謝物を推定し、それをヒトに外挿できる可能性が示唆された。ラットの血中と尿中から代謝物がほとんど検出されないこと、胆汁から代謝物が検出されたことから、肝代謝が主要であると考えられた。

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

本研究では、レクリエーション・セッティングの一つとして音楽関連の野外イベント（野外フェスティバル）の来場者を対象とした実態調査を通じて、大麻使用者の特徴を明らかにすることを目的とした。

第一の目的であった大麻使用とアルコール摂取との関係性については、飲酒率（過去1年間）、飲酒率（過去30日間）、ビンジ飲酒率（過去30日間）のいずれも、3群の中で Current-users の経験率が最も高いという結果が得られたが、統計学的に有意な差は検出できなかった。したがって、本研究のデータからは、大麻使用者は非使用者に比べて、飲酒頻度が高かったり、ビンジ飲酒などリスクの高いアルコール摂取をしたりといったアルコール関連の問題性は見いだせなかった。先行研究において、ビンジ飲酒は、危険運転に関連することが報告されている。また、大麻とアルコールとの併用は、運転への影響を悪化させることが指摘されている。さらには、米国アリゾナ州の受傷者を対象とした調査によれば、16～20歳の若年受傷者の約4人に1人が、アルコール、THC、あるいはその両者の物質に陽性反応がみられたことが報告されている。このように大麻使用とアルコール摂取の間には関連性があり、今後も国内データを使って、両者の関係性を調べていくことが必要である。

第二の目的であった海外における大麻の合法化（非犯罪化）が、レクリエーション・セ

ティングの対象者に与える影響であるが、大麻使用経験のある Ex-users および Current-users は、医療目的であっても、嗜好目的であっても大麻を合法化しているカナダやアメリカの動きに賛同する割合が Non-users よりも有意に高いという結果が得られた。これは自らの大麻の使用経験を報告している対象者としては当然の結果といえる。一方、大麻の使用経験のない Non-users においては、「医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対」という回答が最も多いという結果が得られた。本研究の結果は、大麻使用経験のない者であっても、大麻を医薬品として活用していくことに対しては半数以上が賛成していることを意味する。もちろん、本研究はレクリエーション・セッティングにおける一部の来場者のみを対象とした調査であり、対象者に代表性はない。今後は、一般住民調査など代表性のある集団において同様の調査をしていくことが必要と考えられる。

D. 結 論

本研究の解析から、フェンタニル類縁化合物による中枢興奮作用の発現強度は、CHO- μ 細胞の蛍光発光強度と相関することが明らかになった。したがって、CHO- μ 細胞の蛍光発光強度の解析から、フェンタニル類縁化合物の有害作用を推測できる可能性が示唆された。

コンピュータを用いた化学計算による有害作用予測法に関する研究としては、オピオイド μ 受容体を標的にしたドッキングスタディを行い、ドッキングスタディの評価関数と実際の活性値との相関を調べた。ドッキングスタディの評価関数と実際の活性値にはある程度の相関を示すことが明らかとなった。昨年度の QSAR モデルでの解析と比較すると、予測に関する確度は QSAR 解析 > ドッキングスタディと考えられた。現時点では、QSAR 解析を適切に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効果的であると考えられる。

毒性評価に関する研究として、モノアミン系

培養神経細胞系を用いて 13 種の乱用薬物、危険ドラッグ (METH, MDMA, methylene, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 2CT-4, 2C-C, PP, 5MeO-DMT, 5MeO-MIPT, harmaline, harmine) 添加による細胞内酸化ストレスの変化についてスーパーオキシドなど活性酸素種生成を検出する蛍光物質 dHEt を用いた検討を行い、細胞内での活性酸素種生成が曝露 3 時間後の早期に低濃度から認められ、その酸化ストレス誘導性と形態的な神経細胞障害性との間に強い相関が認められることを明らかにできた。培養神経細胞株での蛍光物質 dHEt を用いた活性酸素種生成の評価は、鋭敏かつ有用な神経毒性発現の蓋然性のスクリーニング方法となりうると考えられた。

合成カンナビノイドの代謝プロファイルの解析と異性体を含む合成カンナビノイドの解析法の確立に関する研究を行った。ラットを用いた *in vivo* 代謝実験より、5F-CUMYL-PINACA、CUMYL-PINACA とともに胆汁から検出された主要代謝物が、糞便でも検出できることが明らかとなった。また、糞便からの代謝物検出は最長で 48 時間経過サンプルまで可能であり、ヒトでも、糞便の採取により使用薬物を特定できる可能性が示唆された。*In vitro* 代謝実験より、ラット肝ミクロソームとヒト肝ミクロソームともに、主要代謝経路と主要代謝物は同じであった。*In vitro* 代謝実験の結果から *in vivo* サンプルで検出される主要代謝物を特定すること、また、ヒトにおける代謝挙動の推定においてラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行うことが有用であることが示唆された。今後同法を応用し、合成カンナビノイドの摂取マーカーとなりうる代謝物を特定することで、新規合成カンナビノイドの素早い法的規制に貢献することが期待される。

本研究では、大麻使用者の特徴を明らかにすることを目的として、レクリエーション・セッティングの一つとして音楽関連の野外イベント (野外フェスティバル) の来場者を対象とした実態調査を実施し、次の知見を得た。

1) 過去 1 年以内に大麻の使用経験を有する Current-users の飲酒率 (過去 1 年間)、飲酒率 (過去 30 日間)、ビンジ飲酒率 (過去 30 日間) は、

他の群に比べて高いという結果が得られたが、統計学的に有意な差は検出できなかった。本研究のデータからは大麻使用者におけるアルコール関連の問題性は見いだせなかった。

2) 国内の大麻使用者の多くが北米における大麻合法化 (医療目的、嗜好目的の両方) に賛同していた。大麻使用経験のない者であっても、大麻の医療目的での利用については賛同していた。

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) Tomiyama KI, Funada M. Synthetic cannabinoid CP-55,940 induces apoptosis in a human skeletal muscle model via regulation of CB1 receptors and L-type Ca²⁺ channels. Arch Toxicol. 95(2):617-630, (2021).
- 2) Funada M, Takebayashi-Ohsawa M, Tomiyama KI. Synthetic cannabinoids enhanced ethanol-induced motor impairments through reduction of central glutamate neurotransmission. Toxicol Appl Pharmacol. (2020) Dec 1;408:115283. doi: 10.1016/j.taap.2020.115283. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33068620.
- 3) Myose T, Shirakawa A, Irie K, Yamashita Y, Nakano T, Takase Y, Matsuo K, Satho T, Tuchihashi R, Kinjo J, Tanaka H, Morimoto S, Funada M, Sano K, Mishima K. Δ9-Tetrahydrocannabinol elicited 22-kHz ultrasonic vocalization changes after air puff stimulus through CB1 receptor in adult rats. Neurosci Lett. 701:132-135, (2019).
- 4) Yuyama M, Ito T, Arai Y, Kadowaki Y, Iiyama, N, Keino A, Hiraoka Y, Kanaya T, Momose Y,

- Kurihara M: Risk Prediction Method for Anticholinergic Action Using Auto-quantitative Structure–Activity Relationship and Docking Study with Molecular Operating Environment. *Chem Pharm Bull*, 2020, 68(8), 773-778
- 5) 高橋祐次, 小島肇夫, 栗原正明, 笠原利彦, 若栗 忍, 萩野滋延, 本山径子: 急性経口毒性を予測するための in vitro 細胞毒性試験. *AATEX-JaCVAM*, 9(1), 1-34, 2020
 - 6) Shoda T, Ohoka N, Tsuji G, Fujisato T, Inoue H, Demizu Y, Naito M, Kurihara M.: Targeted Protein Degradation by Chimeric Compounds using Hydrophobic E3 Ligands and Adamantane Moiety. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020, 13(3). pii: E34. doi: 10.3390/ph13030034.
 - 7) Asanuma, M., Miyazaki, I. and Funada, M.: The neurotoxicity of psychoactive phenethylamines "2C series" in cultured monoaminergic neuronal cell lines. *Forensic Toxicol.*, 38: 394-408, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11419-020-00527-w>
 - 8) Isooka, N., Miyazaki, I., Kikuoka, R., Wada, K., Nakayama, E., Shin, K., Yamamoto, D., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Dopaminergic neuroprotective effects of rotigotine via 5-HT1A receptors: possibly involvement of metallothionein expression in astrocytes. *Neurochem. Int.*, 132: 104608, 2020. doi: 10.1016/j.neuint.2019.104608
 - 9) Miyazaki, I., Kikuoka, R., Isooka, N., Takeshima, M., Sonobe, K., Arai, R., Funakoshi, H., Quin, K.E., Smart, J., Zensho, K. and Asanuma, M.: Effects of maternal bisphenol A diglycidyl ether exposure during gestation and lactation on behavior and brain development of the offspring. *Food Chem. Toxicol.*, 138: 111235, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111235>
 - 10) Miyazaki, I., Isooka, N., Imafuku, F., Sun, J., Kikuoka, R., Furukawa, C. and Asanuma, M.: Chronic systemic exposure to low-dose rotenone induced central and peripheral neuropathology and motor deficits in mice: reproducible animal model of Parkinson's disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(9): 3254, 2020. doi:10.3390/ijms21093254
 - 11) Kidani, N., Hishikawa, T., Hiramatsu, M., Nishihiro, S., Kin, K., Takahashi, Y., Murai, S., Sugi, K., Yasuhara, T., Miyazaki, I., Asanuma, M. and Date, I.: Cerebellar blood flow and gene expression in crossed cerebellar diaschisis after transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(11): 4137, 2020. doi: 10.3390/ijms21114137
 - 12) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: The rotenone models reproducing central and peripheral features of Parkinson's disease. *NeuroSci*, 1(1): 1-14, 2020. doi: 10.3390/neurosci1010001
 - 13) Kikuoka, R., Miyazaki, I., Kubota, N., Maeda, M., Kagawa, D., Moriyama, M., Sato, A., Murakami, S., Kitamura, Y., Sendo, T. and Asanuma, M.: Mirtazapine exerts astrocyte-mediated dopaminergic neuroprotection. *Sci. Rep.*, 10(1): 20698, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77652-4>
 - 14) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Neuron-Astrocyte Interactions in Parkinson's Disease. *Cells*, 9(12): 2623, 2020. doi.org/10.3390/cells9122623
 - 15) Kitamura, Y., Ushio S., Sumiyoshi, Y., Wada, Y., Miyazaki, I., Asanuma, M. and Sendo, T.: N-acetylcysteine attenuates the anxiety-like behavior and spatial cognition impairment induced by doxorubicin and cyclophosphamide combination treatment in rats. *Pharmacology*, 2020, Dec 22: 1-8. doi: 10.1159/000512117 (Online ahead of print)
 - 16) Shimaoka, S., Hamaoka, H., Inoue, J., Asanuma, M., Tooyama, I. and Kondo, Y.: Lactoferrin-like immunoreactivity in distinct neuronal populations in the mouse central nervous system. *Acta Med. Okayama*, in press.
 - 17) 浅沼幹人, 宮崎育子: パーキンソン病での神経保護標的としてのアストロサイトの

- 抗酸化分子. 日本薬理学雑誌, 2021, 156: 14-20.
- 18) 浅沼幹人, 宮崎育子: パーキンソン病と亜鉛結合蛋白, 城 宜嗣, 津本浩平監修, 古川良明, 神戸大朋編, 生命金属ダイナミクス 生体内における金属の挙動と制御, エヌ・ティー・エス, 東京, 2021, pp304-309.
- 19) 宮崎育子, 浅沼幹人: アストロサイトの亜鉛関連分子を標的としたパーキンソン病治療戦略. 日本薬理学雑誌, in press.
- 20) Kadomura N, Ito T, Kawashima H, Matsuhisa T, Kinoshita T, Soda M, Kohyama E, Iwaki T, Nagai H, Kitaichi K. In vitro metabolic profiles of adamantyl positional isomers of synthetic cannabinoids. *Forensic Toxicology* 39:26-44, 2021
- 21) Shimane T, Takahashi M, Kobayashi M, Takagishi Y, Takeshita Y, Kondo A, Omiya S, Takano Y, Yamaki M, Matsumoto T. Gender differences in the relationship between methamphetamine use and high-risk sexual behavior among prisoners: A nationwide, cross-sectional survey in Japan. *Journal of Psychoactive Drugs*, 2021. (in press)
- 22) Kondo A, Shimane T, Takahashi M, Takeshita Y, Kobayashi M, Takagishi Y, Omiya S, Takano Y, Yamaki M, Matsumoto T. Gender Differences in Triggers of Stimulant Use Based on the National Survey of Prisoners in Japan. *Subst Use Misuse*. 2021;56 (1) :54-60. doi: 10.1080/10826084.2020.1833930. Epub 2020 Oct 24. PMID: 33100112.
- 23) Inoura S, Shimane T, Kitagaki K, Wada K, Matsumoto T. Parental drinking according to parental composition and adolescent binge drinking: findings from a nationwide high school survey in Japan. *BMC Public Health*. 2020;20 (1) :1878. <http://doi.org/10.1186/s12889-020-09969-8>.
- 24) Yamada R, Shimane T, Kondo A, Yonezawa M, Matsumoto T. The relationship between severity of drug problems and perceived interdependence of drug use and sexual intercourse among adult males in drug addiction rehabilitation centers in Japan. *Subst Abuse Treat Prev Policy*. 2021 Jan 7;16 (1) :5. doi: 10.1186/s13011-020-00339-6. PMID: 33413509; PMCID: PMC7791778.
- 25) Matsumoto T, Kawabata T, Okita K, Tanibuchi Y, Funada D, Murakami M, Usami T, Yokoyama R, Naruse N, Aikawa Y, Furukawa A, Komatsuzaki C, Hashimoto N, Fujita O, Umemoto A, Kagaya A, Shimane T. Risk factors for the onset of dependence and chronic psychosis due to cannabis use: Survey of patients with cannabis-related psychiatric disorders. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2020 Dec;40 (4) :332-341. doi: 10.1002/npr2.12133. Epub 2020 Sep 7. PMID: 32896111; PMCID: PMC7722680.
- 26) Takeshima M, Otsubo T, Funada D, Murakami M, Usami T, Maeda Y, Yamamoto T, Matsumoto T, Shimane T, Aoki Y, Otowa T, Tani M, Yamanaka G, Sakai Y, Murao T, Inada K, Yamada H, Kikuchi T, Sasaki T, Watanabe N, Mishima K, Takaesu Y. Does cognitive behavioral therapy for anxiety disorders assist the discontinuation of benzodiazepines among patients with anxiety disorders? A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2021 Jan 15. doi: 10.1111/pcn.13195. Epub ahead of print. PMID: 33448517.
- 27) 嶋根卓也, 邱 冬梅, 和田 清: 日本における大麻使用の現状: 薬物使用に関する全国住民調査 2017 より, *YAKUGAKU ZASSHI*, 140 (2) ,173-178, 2020.
- 28) 嶋根卓也. 薬物乱用状況のアップデート: 薬物使用に関する全国住民調査 2019 より. *Newsletter KNOW (麻薬・覚せい剤乱用防止センター)*, 第 103 号, p2-5,2020.
- 29) 嶋根卓也: 薬物依存症者の理解とサポート, *法律のひろば* 74 (1) , 57-66, 2021.
- 30) 嶋根卓也: 薬物乱用防止のために地域の薬

- 局ができること、調剤と情報 27 (1) , 89-96, 2021.
- 31) 嶋根卓也: 第 8 章 性的マイノリティ・HIV 感染者の理解と支援. 物質使用障害の治療 多様なニーズに応える治療 回復支援 (松本俊彦編著), 金剛出版, 東京, pp141-155, 2020.
 - 32) 嶋根卓也: 第 12 章 薬物乱用防止教育とスティグマ. アディクション・スタディーズ 薬物依存症を捉えなおす 13 章 (松本俊彦編), 日本評論社, pp201-214, 2020.
 - 33) 山田理沙, 嶋根卓也, 船田正彦: レクリエーショナル・セッティングにおける危険ドラッグ使用パターンの男女別検討, 日本アルコール・薬物医学会雑誌 54 (6) , 272-285, 2020.
 - 34) 谷真如, 高野洋一, 高宮英輔, 嶋根卓也: 覚せい剤取締法違反により刑事施設に入所した刑の一部執行猶予者の心理・社会的特徴, 犯罪心理学研究, 57 (2) , 1-15, 2020.
2. 学会発表
- 1) Funada M., Tomiyama, K: Effects of cannabinoids on neuronal activity in mouse cerebellar cultures assessed using microelectrode array techniques. CPDD 81th Annual Scientific Meeting, San Antonio, Texas, U.S.A., 2019. June 15-19.
 - 2) Funada M., Tomiyama, K: Synthetic cannabinoid AM2201 induces epileptic seizures by enhancing glutamatergic transmission in the hippocampus. CPDD 80th Annual Scientific Meeting, San Diego, California, U.S.A., 2018. June 8-12.
 - 3) 船田正彦: 大麻を巡る国際社会の動向とわが国の現状. 「シンポジウム: 激動するわが国の薬物乱用・依存問題: 最近のトピックス」. 第 116 回日本精神神経学会学術総会, 宮城 (Web 開催), 2020 年 9 月 29 日.
 - 4) 船田正彦: 大麻の有害性: 細胞を利用した有害作用の評価. 「シンポジウム: 大麻についての基礎から臨床まで」. 第 55 回日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 福岡 (Web 開催), 2020 年 11 月 23 日.
 - 5) 湯山円晴, 門脇有希, 荒井裕美子, 阿久津友規, 玉澤宏仁, 金谷貴行, 船田正彦, 栗原正明: QSAR 及びドッキングスタディによるオピオイド μ 受容体リガンドの活性評価. 日本薬学会第 140 年会 (2020/03/26-28, 京都)
 - 6) 門脇有希, 湯山円晴, 荒井裕美子, 阿久津友規, 玉澤宏仁, 飯山夏海, 慶野綾子, 平岡優里奈, 伊藤 岳, 金谷貴行, 百瀬泰行, 栗原正明: 定量的構造活性相関 (QSAR) を用いた抗コリン作用のリスク予測法の構築. 日本薬学会第 140 年会 (2020/03/26-28, 京都)
 - 7) 湯山円晴, 伊東岳, 門脇有希, 荒井裕美子, 飯山夏海, 慶野綾子, 平岡優里奈, 金谷貴行, 百瀬泰行, 栗原正明: QSAR 及びドッキングスタディによる抗コリン作用のリスク予測法構築. 第 64 回日本薬学会関東支部大会 (2020/09/19, 東京)
 - 8) 湯山円晴, 伊東岳, 荒井裕美子, 金谷貴行, 百瀬泰行, 栗原正明: QSAR 及びドッキングスタディを用いた抗コリン作用による LUTS のリスク予測. 第 48 回構造活性相関シンポジウム (2020/12/10, オンライン) .
 - 9) 浅沼幹人: Glutathione in astrocytes as a target of neuroprotection. シンポジウム: 中枢神経における GSH 産生促進を介する神経保護機構, 第 93 回日本薬理学会年会, 横浜, 2020.3.16. (誌上開催)
 - 10) 宮崎育子, 浅沼幹人, 村上真樹, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久: 農薬ロテノン曝露によるアストロサイトの部位特異的反応性の差異と神経細胞に及ぼす影響. 第 125 回日本解剖学会総会, 宇部, 2020.3.27. (誌上開催)
 - 11) Miyazaki, I., Kikuoka, R., Isooka, N., Sogawa, C., Sogawa, N., Kitamura, Y., Asanuma, M.: Region-specific glial dysfunction promotes rotenone neurotoxicity. 第 61 回日本神経学会学術大会, 岡山, 2020.8.31-9.2 (誌上发表)

- 12) 浅沼幹人: パーキンソン病と生体金属, 金属結合蛋白. シンポジウム: 生命金属で切り開く神経疾患の解明, 第 61 回日本神経学会学術大会, 岡山, 2020.9.2. (Web 動画配信)
- 13) 宮崎育子, 村上真樹, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久, 浅沼幹人: ロテノン誘発ドパミン神経障害におけるアストロサイト-ミクログリア関連. メタルバイオサイエンス研究会 2020, 千葉, 2020.11.6-7 (オンライン発表)
- 14) 今福史智, Jin Sun, 磯岡奈未, 上舞 直, 清水崇司, 豊田俊明, 岡本裕成, 菊岡 亮, 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杜仲抽出物のメタロチオネイン発現誘導および神経保護効果. メタルバイオサイエンス研究会 2020, 千葉, 2020.11.6-7 (オンライン発表)
- 15) 今福史智, Jin Sun, 磯岡奈未, 上舞 直, 清水崇司, 豊田俊明, 岡本裕成, 菊岡 亮, 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杜仲抽出物のメタロチオネイン発現誘導および神経保護効果. 第 34 回創薬・薬理フォーラム, 岡山, 2020.12.26 (オンライン発表)
- 16) 宮崎育子, 磯岡奈未, 菊岡 亮, 北村佳久, 浅沼幹人: 5-HT1A アゴニストによるアストロサイトのメタロチオネイン発現誘導とドパミン神経保護. 第 14 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres (MDSJ), 福岡, 2021.2.22-24 (Web 動画配信)
- 17) Kinoshita T, Matsuhisa T, Morikawa M, Ito K, Soda M, Tsukamoto K, Iwaki T, Tanaka H, Ito T, Kitaichi K. Evaluation of *in vitro* metabolism and extrapolation approaches between different species for synthetic cannabinoids. CINP 2021 VIRTUAL WORLD CONGRESS, 2021 年 2 月 26 日-2 月 28 日
- 18) Yamada, R., Shimane, T., Kondo, A., Yonezawa, M. and Matsumoto, T. The relationship between the perception of “drugs–sex connection” with unprotected sex behavior in rehabilitation centers for drug addiction in Japan. the CINP 2021 Virtual World Congress, 26-28 February, 2021.
- 19) 嶋根卓也, 小林美智子, 高橋哲, 竹下賀子, 高岸百合子, 大宮 宗一郎, 近藤あゆみ, 高野洋一, 山木麻由子, 松本俊彦: ミニセッション S5「覚せい剤事犯者の理解とサポート: 性差に着目した分析、覚せい剤事犯者における薬物依存症の重症度と再犯との関連: 性差に着目した分析. 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
- 20) 嶋根卓也: シンポジウム 4「オピオイド鎮痛薬、乱用のその先」, 仲間と共に回復する薬物依存-ダルク追っかけ調査より-. 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
- 21) 嶋根卓也: シンポジウム 6「HIV 感染症と薬物使用 (依存) の予防」, Understanding and supporting drug users with HIV infection in Japan. 第 34 回日本エイズ学会学術集会, Web, 2020.11.27-29.
- 22) 児玉知子, 大澤絵里, 浅見真理, 戸次香奈江, 松岡佐織, 嶋根卓也, 松本俊彦, 三浦宏子, 樺田尚樹, 横山徹爾: 日本における Universal Health Converge の達成状況と課題. 第 35 回日本国際保健医療学会学術大会日本国際保健医療学会, Web 2020.11.1-3.
- 23) 高岸百合子, 嶋根卓也, 小林美智子, 高橋哲, 竹下賀子, 大宮 宗一郎, 近藤あゆみ, 高野洋一, 山木麻由子, 松本俊彦: ミニセッション S5「覚せい剤事犯者の理解とサポート: 性差に着目した分析、覚せい剤事犯者が自覚している薬物使用の引き金とメリット・デメリットとの関連. 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
- 24) 近藤あゆみ, 嶋根卓也, 高橋哲, 小林美智子, 高岸百合子, 大宮 宗一郎, 高野洋一, 山木麻由子, 松本俊彦: ミニセッション S5「覚せい剤事犯者の理解とサポート: 性差に着目した分析、覚せい剤事犯女性の出所

後の薬物依存症治療. 第55回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.

- 25) 引土絵未、嶋根卓也、小高真美、ほか：薬物依存症者の就労に関する研究：特例子会社を対象とした依存症者の就労に関する意識調査, 第55回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
- 26) 大宮宗一郎、嶋根卓也、近藤あゆみ、高岸百合子、小林美智子、酒谷徳二、服部真人、喜多村真紀、伴恵理子：薬物関連問題と飲酒問題を有する覚せい剤事犯者の特徴：信頼感に注目した分析から. 第55回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 福岡, 2020.11.21-22.
- 27) 小林美智子、服部真人、酒谷徳二、嶋根卓也、谷真如、高橋哲、大宮宗一郎：薬物依存、アルコール依存、ギャンブル障害の各問題から見た覚醒剤事犯受刑者の特徴, 第55回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
- 28) 猪浦智史、加藤隆、嶋根卓也：薬物依存症回復支援施設における生活習慣病予防教室の試み. 第55回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
- 29) 服部真人、小林美智子、嶋根卓也、高橋哲、高岸百合子、大宮宗一郎、谷真如：薬物依存と他の依存（アルコール・ギャンブル）の併存が疑われる薬物事犯者の特徴. 第58回日本犯罪心理学会, Web, 2020.11.21-22.
- 30) 山田理沙、嶋根卓也、近藤あゆみ、米澤雅子、松本俊彦：薬物依存症者を対象とした薬物使用の影響によるコンドームを使用しない性交渉に関連する研究. 第34回日本エイズ学会学術集会, Web, 2020.11.27-29.

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行動薬理学的特性と
オピオイド受容体活性の関連性

分担研究者：船田正彦（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 薬物依存研究部）
研究協力者：富山健一（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 阿久根陽子（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）

【研究要旨】

本研究では、12種類のフェンタニル類縁化合物について運動活性に対する影響およびオピオイド受容体活性化強度の検討を行った。

1) 行動解析：実験には、ICR系雄性マウスを使用し、12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（1 mg/kg, i.p.）の投与により、著明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（1 mg/kg, i.p.）前処置によって有意に抑制された。12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。2) オピオイド受容体作用：オピオイド μ 受容体発現細胞（CHO- μ 細胞）を利用して、オピオイド受容体作用を解析した。12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。12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。3) オピオイド受容体活性強度と中枢神経作用予測：12種類のフェンタニル類縁化合物による運動促進作用と、CHO- μ 細胞実験で得られた μ 受容体活性化強度の相関性を検討した。フェンタニル類縁化合物による運動促進作用と μ 受容体活性化強度との相関性を検討したところ、有意な相関性が確認された。

本研究により、フェンタニル類縁化合物はオピオイド受容体を介して、強力な中枢興奮作用を示すことが確認された。また、CHO- μ 細胞による解析から、フェンタニル類縁化合物の作用発現については、 μ 受容体活性が重要であることが明らかになった。フェンタニル類縁化合物による運動促進作用と μ 受容体活性化強度において有意な相関性が確認されたことから、フェンタニル類縁化合物による中枢興奮作用は μ 受容体活性化強度の解析から予測できると考えられる。本研究から、フェンタニル類縁化合物は中枢興奮作用を示すことから、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主にオピオイド 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。

A. 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。新精神活性物質（New Psychoactive Substances, NPS）として、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世界的な社会問題となっている^{1,2)}。2015

年以降、米国や欧州では、フェンタニル類縁化合物である acrylfentanyl、furanylfentanyl、tetrahydrofuranylfentanyl などの新規精神活性物質による死亡例が報告されている^{3,4)}。米国でのフェンタニル類縁化合物などの合成オピオイドの過剰摂取による死亡例については、2010年に14.3%であったが2016年は45.9%へ増加していることが明らかになっている。わが国でも危険ドラッグとして、フェンタニル類縁化合物が流通しており、今後も新規の危険ドラッグの登場が危惧されている^{5,6)}。新規のフェンタニル類縁化合物において、その薬理作用や有害作用については不明な点が多い。フェンタニル類縁化合物に関して、中枢作用を中心とした乱用危険性予測に関する研究が必要である。

本研究では、United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC, 国連薬物犯罪事務所)⁶⁾が注意を要する新規合成オピオイドとしてリストしている12種類のフェンタニル類縁化合物について、中枢作用および薬理学的特性に関する検討を行った。1) 中枢作用については、マウスの運動活性に対する影響、2) 薬理学的特性については、オピオイド μ 受容体発現細胞を使用したオピオイド μ 受容体活性化強度について検討を行った。また、12種類のフェンタニル類縁化合物による運動促進作用と、 μ 受容体活性化強度の相関性について合わせて検討した。

B. 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. 2-Fluorobutyrfentanyl
2. 2-Methoxyfuranylfentanyl
3. 3-Fluorofentanyl
4. 3-Phenylpropanoylfentanyl
5. 4-Methoxyfentanyl
6. Benzodioxolefentanyl
7. Crotonylfentanyl(麻薬)

8. Cyclohexyl Fentanyl
 9. meta-Methylfentanyl
 10. ortho-methyl methoxy acetyl fentanyl
 11. Tetramethylcyclopropanefentanyl
 12. 2-Methylfentanyl
- を使用した(化学構造: Fig.1)。

1. 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60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。

2. 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、 μ 受容体発現安定細胞株 (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。CHO- μ 細胞のオピオイド受容体選択性の評価においては、オピオイド μ 受容体作用薬: [D-Ala², N-Me-Phe⁴, Gly⁵-ol]enkephalin (DAMGO)、オピオイド δ 受容体作用薬: [D-Pen², D-Pen⁵]enkephalin (DPDPE)、オピオイド κ 受容体作用薬: U-50,488H を使用した。

3. 相関性解析

12種類のフェンタニル類縁化合物による運動促進作用と、CHO- μ 細胞実験で得られた μ 受容体活性化強度の相関性について検討した。相

関性の解析は、Prism 7 for Mac OS X、Linear Regression により行った。

C. 結果

1. フェンタニル類縁化合物の行動薬理学的特性

12 種類のフェンタニル類縁化合物 (1 mg/kg, i.p.)によって、運動促進作用が発現し、中枢興奮作用を有することが明らかになった(Fig. 2)。これらの運動促進作用の発現は、オピオイド受容体拮抗薬であるナロキソン(5 mg/kg)の前処置によって有意に抑制された。

2. フェンタニル類縁化合物のオピオイド受容体作用

作出した CHO- μ 細胞について、フェンタニル(FN)、オピオイド μ 受容体作用薬 DAMGO、オピオイド δ 受容体作用薬 DPDPE およびオピオイド κ 受容体作用薬 U-50,488H 添加による影響を検討したところ、FN、DAMGO において、濃度依存的な蛍光量(relative fluorescence unit: RFU)の増加が確認された(Fig. 3)。作出した CHO- μ 細胞は、オピオイド μ 受容体の選択的な機能評価が可能であることが確認された。そこで、CHO- μ 細胞を利用して、12 種類のフェンタニル類縁化合物のオピオイド 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、濃度依存的な蛍光量の増加が確認された(Fig. 4)。これら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, 0.1 μ M) の前処置により完全に抑制された。フェンタニル類縁化合物はオピオイド μ 受容体を介して薬理作用を示すことが明らかになった。

3. 相関性解析

12 種類のフェンタニル類縁化合物による運動促進作用と、CHO- μ 細胞実験で得られた μ 受容体活性化強度 (蛍光強度) の相関性について検討した(Fig. 5)。フェンタニル類縁化合物 (1 mg/kg, i.p.) による運動量 (60 分間の総カウント)

と μ 受容体活性化強度 (0.001 μ M) との相関性を検討したところ、有意な相関性 $R^2=0.83$ ($Y=46.3X+347$, Slope: $F(1,10)=49.21$, $P<0.0001$) が認められた。

D. 考察

本研究では、12 種類のフェンタニル類縁化合物の中枢作用およびオピオイド受容体作用に関する評価を行った。

フェンタニル類縁化合物の行動薬理学特性を解析した。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、中枢興奮作用を有することが明らかになった。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬ナロキソンによって抑制されることから、フェンタニル類縁化合物の中枢興奮作用は、オピオイド受容体を介して発現することが確認された。フェンタニル類縁化合物による中枢興奮作用の発現強度と、化学構造との関連性を見ると、フェンタニルのカルボン酸アミドの置換基の差異により調整を受けている可能性が示唆された。特にカルボニル基に直接結合する置換基の総炭素数の増加により、中枢興奮作用の発現強度が低下する可能性が示唆された⁷⁾。

次に、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。CHO- μ 細胞に、フェンタニルおよび選択的オピオイド μ 受容体作用薬 DAMGO を添加すると、濃度依存的な蛍光発光が確認された。一方、オピオイド δ 受容体作用薬 DPDPE およびオピオイド κ 受容体作用薬 U-50,488H では著明な蛍光発光は確認されなかった。したがって、樹立した CHO- μ 細胞は、オピオイド μ 受容体機能について選択的に解析が可能であると考えられる。CHO- μ 細胞に、12 種類のフェンタニル類縁化合物を添加すると、濃度依存的な蛍光発光が確認された。12 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。

12 種類のフェンタニル類縁化合物による運

動促進作用と、CHO- μ 細胞実験で得られた μ 受容体活性化強度（蛍光強度）の相関性について検討した。その結果、フェンタニル類縁化合物による運動量と μ 受容体活性化強度には有意な相関性 $R^2=0.83$ が認められた。したがって、CHO- μ 細胞の蛍光発光強度の解析から、フェンタニル類縁化合物の運動促進作用すなわち中枢興奮作用を推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^{8,9)}。フェンタニル類縁化合物による中枢興奮作用の発現および精神依存形成には、側坐核におけるドパミン遊離量の増加が関与していると考えられる。

本研究の解析から、フェンタニル類縁化合物による中枢興奮作用の発現強度は、CHO- μ 細胞の蛍光発光強度と相関することが明らかになった。したがって、CHO- μ 細胞の蛍光発光強度の解析から、フェンタニル類縁化合物の有害作用を推測できる可能性が示唆された。

本研究の評価結果より、12 種類のフェンタニル類縁化合物は著明な中枢興奮作用を有することが確認されたことから、より厳格な法規制を施す必要があると考えられる。

E. 結 論

本研究から、12 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主にオピオイド 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、依存性および細胞毒性などの有害作用の発現予測に利用できる可能性が示唆された。

F. 参考文献

- 1) Giorgetti A, Centola C, Giorgetti R. Fentanyl novel derivative-related deaths. *Hum Psychopharmacol*. 2017 May;32(3). doi: 10.1002/hup.2605. Epub 2017 Jun 21. PMID: 28635020.
- 2) Young, M. M., Pirie, T., Buxton, J. A., Hosein, S. F.: The Rise of Overdose Deaths Involving Fentanyl and the Value of Early Warning. *Canadian Journal of Addiction*, 6(3), 13-17, (2015).
- 3) Drummer OH. Fatalities caused by novel opioids: a review. *Forensic Sci Res*. 2018 May 7;4(2):95-110. doi: 10.1080/20961790.2018.1460063. PMID: 31304441; PMCID: PMC6609322.
- 4) Jones CM, Einstein EB, Compton WM. Changes in Synthetic Opioid Involvement in Drug Overdose Deaths in the United States, 2010-2016. *JAMA*. 2018 May 1;319(17):1819-1821. doi: 10.1001/jama.2018.2844. PMID: 29715347; PMCID: PMC6583033.
- 5) 中嶋 順一, 鈴木仁, 牛山慶子, 坂本美穂, 吉田正雄, 市川瑤子, 高橋美佐子, 鈴木淳子, 齋藤友里, 清水聖子, 植村望美, 小林一絵, 内本勝也, 長嶋真知子, 清水雅子, 浦出朋子, 守安貴子, 栗田雅行: 危険ドラッグから検出された薬物に関する理化学試験結果(平成 26 年度). 東京健安研セ年報, 66, 103-115, 2015.
- 6) Current NPS Threats: Vol. III, October. 2020. United Nations Office on Drugs and Crime(UNODC).
- 7) Casy AF, Huckstep MR. Structure-activity studies of fentanyl. *J Pharm Pharmacol*. 1988 Sep;40(9):605-8. doi: 10.1111/j.2042-7158.1988.tb05318.x. PMID: 2907025.
- 8) 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).

- 9) 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) Tomiyama KI, Funada M. Synthetic cannabinoid CP-55,940 induces apoptosis in a human skeletal muscle model via regulation of CB1 receptors and L-type Ca²⁺ channels. *Arch Toxicol.* 95(2):617-630, (2021).
- 2) Funada M., Takebayashi-Ohsawa M, Tomiyama KI. Synthetic cannabinoids enhanced ethanol-induced motor impairments through reduction of central glutamate neurotransmission. *Toxicol Appl Pharmacol.* (2020) Dec 1;408:115283. doi: 10.1016/j.taap.2020.115283. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33068620.
- 3) Myose T, Shirakawa A, Irie K, Yamashita Y, Nakano T, Takase Y, Matsuo K, Satho T, Tuchihashi R, Kinjo J, Tanaka H, Morimoto S, Funada M. Sano K, Mishima K. Δ9-Tetrahydrocannabinol elicited 22-kHz ultrasonic vocalization changes after air puff stimulus through CB1 receptor in adult rats. *Neurosci Lett.* 701:132-135, (2019).

2. 学会発表

- 1) Funada M., Tomiyama, K: Effects of cannabinoids on neuronal activity in mouse cerebellar cultures assessed using microelectrode array techniques. CPDD 81th Annual Scientific Meeting, San Antonio, Texas, U.S.A., 2019. June 15-19.
- 2) Funada M., Tomiyama, K: Synthetic cannabinoid AM2201 induces epileptic seizures

by enhancing glutamatergic transmission in the hippocampus. CPDD 80th Annual Scientific Meeting, San Diego, California, U.S.A., 2018. June 8-12.

- 3) 船田正彦: 大麻を巡る国際社会の動向とわが国の現状. 「シンポジウム: 激動するわが国の薬物乱用・依存問題: 最近のトピックス」. 第116回日本精神神経学会学術総会, 宮城 (Web開催), 2020年9月29日.
- 4) 船田正彦: 大麻の有害性: 細胞を利用した有害作用の評価. 「シンポジウム: 大麻についての基礎から臨床まで」. 第55回日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 福岡(Web開催), 2020年11月23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

健康危険情報

本事業成果は、指定薬物の精神依存性および細胞毒性に関する評価解析であり、結果はすべて健康危険情報に該当する。

No.	Common Substance Name	構造式	INCB	WHO-ID
1	2-fluoro butyrfentanyl		N-(2-fluorophenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)butyramide	2
2	2-methoxy furanyl fentanyl		2-Furanylfentanyl ortho-2-isopropylphenyl analogue N-(2-methoxyphenyl)-N-[1-(2-phenylethyl)-4-piperidinyl]-2-furancarboxamide; 2-Furanylfentanyl ortho-2-methoxyphenyl analogue; ortho-methoxy	5
3	3-fluorofentanyl		meta-fluorofentanyl; N-(3-fluorophenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)propionamide; N-(3-fluorophenyl)-N-[1-(2-phenylethyl)-4-piperidinyl]propanamide	9
4	3-phenylpropanoylfentanyl		N-phenyl-N-[1-(2-phenylethyl)-4-piperidinyl]-benzenepropanamide; N-phenyl-N-[1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl]-3-phenylpropanamide; N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)-N,3-diphenylpropanamide; β' -phenylfentanyl	12
5	4'-methoxy fentanyl		p-methoxy fentanyl; N-(4-Methoxyphenyl)-N-(1-phenethyl-4-piperidinyl)propanamide	15
6	benzodioxole fentanyl		N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)-N-phenylbenzo[d][1,3]dioxole-5-carboxamide	23
7	crotonyl fentanyl		(2E)-N-phenyl-N-[1-(2-phenylethyl)-4-piperidinyl]-2-butenamide; (E)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)-N-phenylbut-2-enamide	32
8	cyclohexyl fentanyl		N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)-N-phenylcyclohexanecarboxamine	33
9	meta-methylfentanyl		N-(3-methylphenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)propanamide; N-(3-Methylphenyl)-N-[1-(2-phenylethyl)-4-piperidinyl]propanamide; fentanyl meta-tolyl analogue	41
10	ortho-methyl methoxyacetyl fentanyl		2-methoxy-N-(o-tolyl)-N-[1-(2-phenylethyl)-4-piperidinyl]-acetamide; o-methyl methoxyacetyl fentanyl; 2-Methyl Methoxyacetyl fentanyl	63
11	tetramethylcyclopropanefentanyl		N-phenyl-N-[1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl]-2,2,3,3-tetramethylcyclopropane-1-carboxamide; Tetramethylcyclopropane-F	64
12	2-methyl fentanyl		N-[2-methyl-1-(2-phenethyl)piperidin-4-yl]-N-phenylpropanamide	71

Fig. 1. Chemical structures of fentanyl analogues.

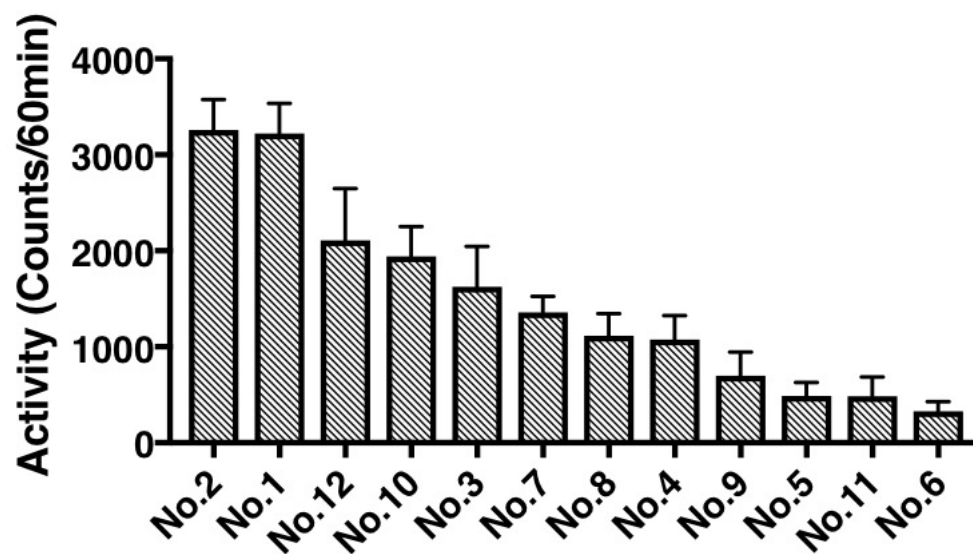


Fig. 2. Effect of acute treatment with fentanyl analogues on the locomotor activity in mice. Total locomotor activity counts after acute administration of fentanyl analogues (No.1 to No.12, 1 mg/kg)-treated in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 60 min (n=8).

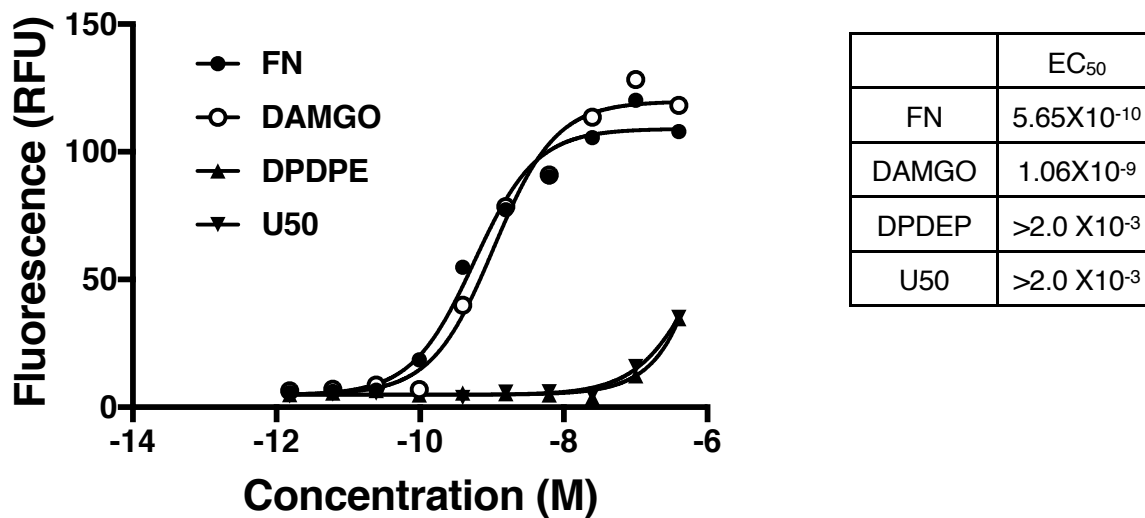


Fig. 3. Effects of opioid agonists on intracellular Ca²⁺ in CHO-μ cells. (A) Changes in intracellular Ca²⁺ levels were detected as changes in fluorescence (relative fluorescence unit, RFU) in the FlexStation II. Fluorescence measurements corresponding to increases in intracellular Ca²⁺ levels following simultaneous activation by fentanyl (FN), [D-Ala², N-Me-Phe⁴, Gly⁵-ol]enkephalin (DAMGO), [D-Pen²,D-Pen⁵]enkephalin (DPDPE) or U-50488H (U50). Each point represents the mean with S.E.M. of three independent experiments.

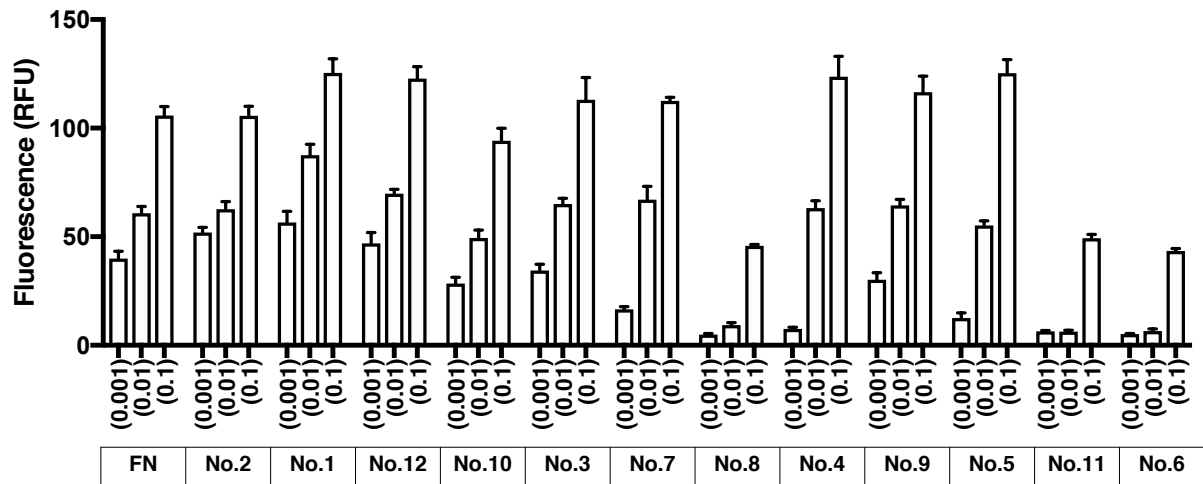


Fig. 4. Effects of 12 fentanyl analogues on intracellular Ca^{2+} in CHO- μ cells. (A) Changes in intracellular Ca^{2+} levels were detected as changes in fluorescence (relative fluorescence unit, RFU) in the FlexStation II. Fluorescence measurements corresponding to increases in intracellular Ca^{2+} levels following simultaneous activation by fentanyl (FN) and 12 fentanyl analogues (0.001-0.1 μ M). Each point represents the mean with S.E.M. of three independent experiments.

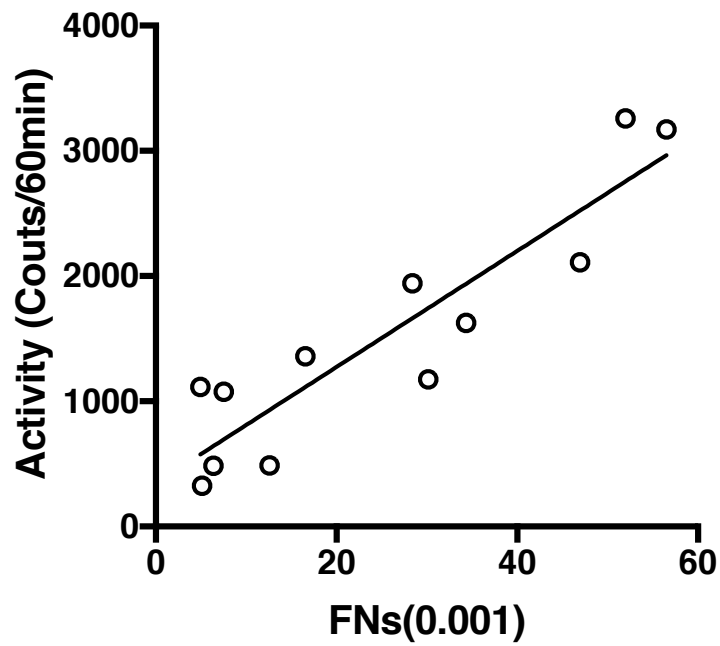


Fig. 4. Relationship between fentanyl analogues-induced locomotor activity and fentanyl analogues-induced elevation of intracellular Ca^{2+} levels in CHO- μ cells. fentanyl analogues (FNs, 0.001 μM)-induced changes in intracellular Ca^{2+} levels were detected as changes in fluorescence (relative fluorescence unit, RFU) in the FlexStation II. Normalized data of fentanyl analogues-induced locomotor activity and elevation of intracellular Ca^{2+} levels in CHO- μ cells by a regression line using Prism 7. $R^2=0.83$ [$Y=46.3X+347$, Slope: $F(1,10)=49.21$, $P<0.0001$.]

分担研究報告書

コンピュータシミュレーションによる有害性予測法の開発

分担研究者：栗原正明 (国際医療福祉大学 薬学部)

研究協力者：湯山円晴 (国際医療福祉大学 薬学部)

【研究要旨】

[緒言] 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開発が重要である。有効な評価法の一つとしてインシリコ活性予測法が挙げられる。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。

[結果] 活性既知のフェンタニル類縁化合物8種類を用いてドッキングスタディを行った。各種計算条件を変更することで活性予測値と実測値の相関向上が見られた。

[考察] 評価関数や結合サイト等の条件を見直すことで相関が向上する傾向が見られた。今後、評価化合物を増やして検討を行うことにより、フェンタニル類縁化合物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

違法ドラッグが依然として大きな社会問題となっている。それに伴い、違法ドラッグの速やか規制が求められており、そのための迅速な評価法開発が急務となっている。迅速な評価法構築を支援するツールとして、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ドッキングスタディについて検討した。

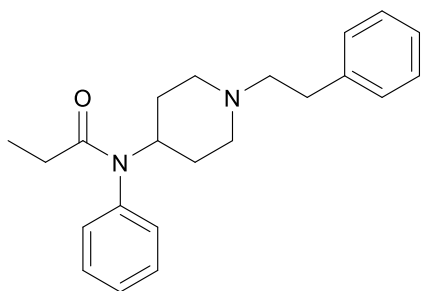


Fig.1. Fentanyl

B. 研究方法

- MOE を用いてドッキングスタディを行った。
- リガンドとして、活性既知のフェンタニル類縁化合物8種類を用いた。(Table 1)
- 標的タンパク質オピオイド μ 受容体として、PDBの6DDEを使用した。(Fig. 2a, b)
- 今回、スコアリング関数は affinity、Alpha

- HB、GB/VI、None、London dG の 5 種類を使用した。
- リガンド結合部位として Dummy site を設定した。

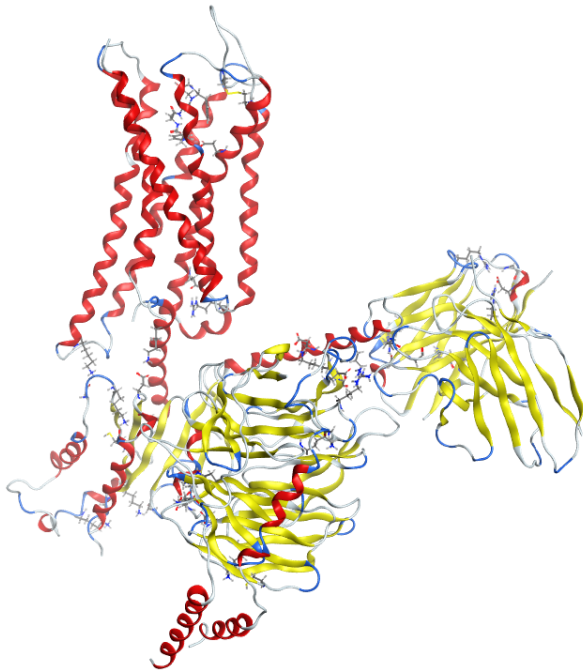


Fig. 2a オピオイド μ 受容体 (6DDE)

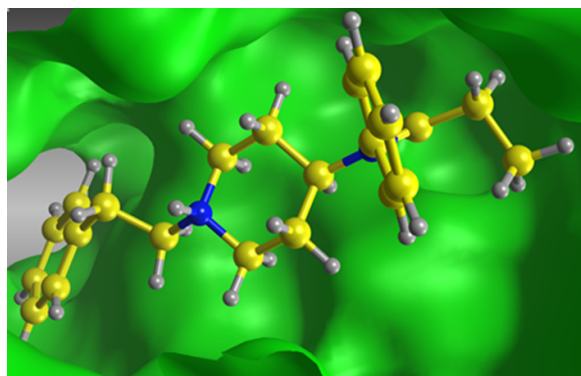


Fig. 2b リガンドと 6DDE のドッキング

C. 研究結果

- MOE を用いてドッキングスタディを行い、評価関数-S を算出した。-S と活性値をプロットした。(Fig. 3)

- Alpha HB を使用した場合、最も実測活性値との相関が高くなった。

D. 考察

本研究では、活性既知のフェンタニル類縁化合物を用いてドッキングスタディを行い、評価関数と実際の活性値との相関を検討した。評価関数や結合サイト等の条件を見直すことで相関が向上する傾向が見られた。今後、評価化合物を増やして検討を行うことにより、フェンタニル類縁化合物包括規制への展開が期待される。

E. 結論

本年度は、ドッキングを行い評価関数と実際の活性値との相関を調べた。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

G. 研究発表

- 論文発表
 - Yuyama M, Ito T, Arai Y, Kadowaki Y, Iiyama, N, Keino A, Hiraoka Y, Kanaya T, Momose Y, Kurihara M.
Risk Prediction Method for Anticholinergic Action Using Auto-quantitative Structure-Activity Relationship and Docking Study with Molecular Operating Environment
Chem Pharm Bull, 2020, 68(8), 773-778
 - 高橋祐次, 小島肇夫, 栗原正明, 笠原利彦, 若栗 忍, 萩野滋延, 本山径子
急性経口毒性を予測するための in vitro 細胞毒性試験
AATEX-JaCVAM, 9(1), 1-34, 2020
 - Shoda T, Ohoka N, Tsuji G, Fujisato T, Inoue H, Demizu Y, Naito M, Kurihara M.
Targeted Protein Degradation by Chimeric Compounds using Hydrophobic E3 Ligands

and Adamantane Moiety.
Pharmaceuticals (Basel). 2020, 13(3). pii: E34.
doi: 10.3390/ph13030034.

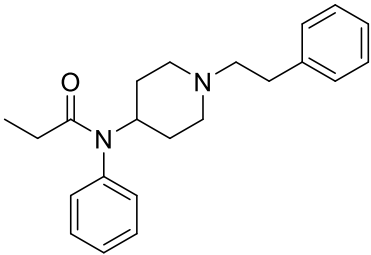
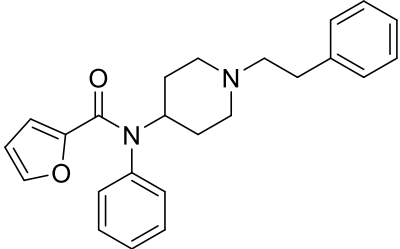
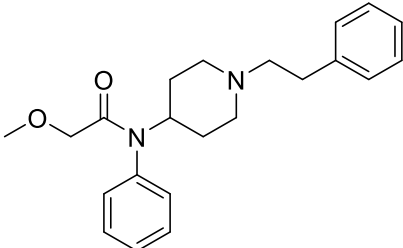
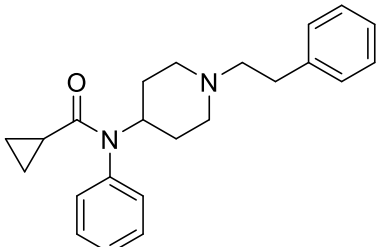
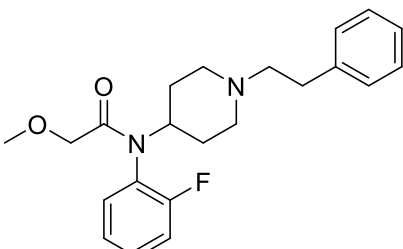
2. 学会発表

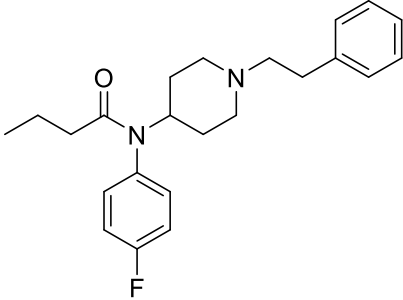
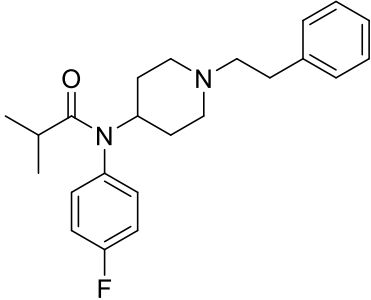
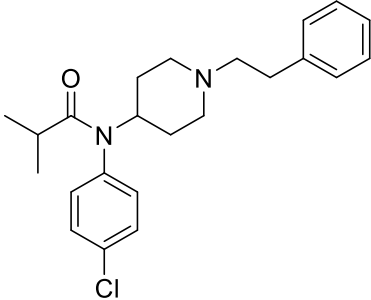
- 1) 湯山円晴, 門脇有希, 荒井裕美子, 阿久津友規, 玉澤宏仁, 金谷貴行, 船田正彦, 栗原正明
QSAR 及びドッキングスタディによるオピオイド μ 受容体リガンドの活性評価
日本薬学会第140年会 (2020/03/26-28, 京都)
- 2) 門脇有希, 湯山円晴, 荒井裕美子, 阿久津友規, 玉澤宏仁, 飯山夏海, 慶野綾子, 平岡優里奈, 伊藤 岳, 金谷貴行, 百瀬泰行, 栗原正明
定量的構造活性相関 (QSAR) を用いた抗コリン作用のリスク予測法の構築
日本薬学会第140年会 (2020/03/26-28, 京都)
- 3) 湯山円晴, 伊東岳, 門脇有希, 荒井裕美子, 飯山夏海, 慶野綾子, 平岡優里奈, 金谷貴行, 百瀬泰行, 栗原正明
QSAR 及びドッキングスタディによる抗コリン作用のリスク予測法構築
第 64 回日本薬学会関東支部大会 (2020/09/19, 東京)
- 4) 湯山円晴, 伊東岳, 荒井裕美子, 金谷貴行, 百瀬泰行, 栗原正明
QSAR 及びドッキングスタディを用いた抗コリン作用による LUTS のリスク予測
第 48 回構造活性相関シンポジウム (2020/12/10, オンライン)

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

Table 1

	化合物名	構造	pEC ₅₀
1	Fentanyl		7.5406
2	N-phenyl-N-(1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl)furan-2-carboxamide		9.1904
3	2-methoxy-N-(1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl)-N-phenylacetamide		7.7423
4	N-(1-phenethylpiperizin-4-yl)-N-phenylcyclopropanecarboxamide		8.9101
5	N-(2-Fluorophenyl)2-methoxy-N-(1-(2-phenylethyl)piperidin-4-yl)acetamide		8.752

6	N-(4-fluorophenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)butyramide		8.2426
7	N-(4-fluorophenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)isobutyramide		8.1918
8	N-(4-chlorophenyl)-N-(1-phenethylpiperidin-4-yl)isobutyramide		7.3344

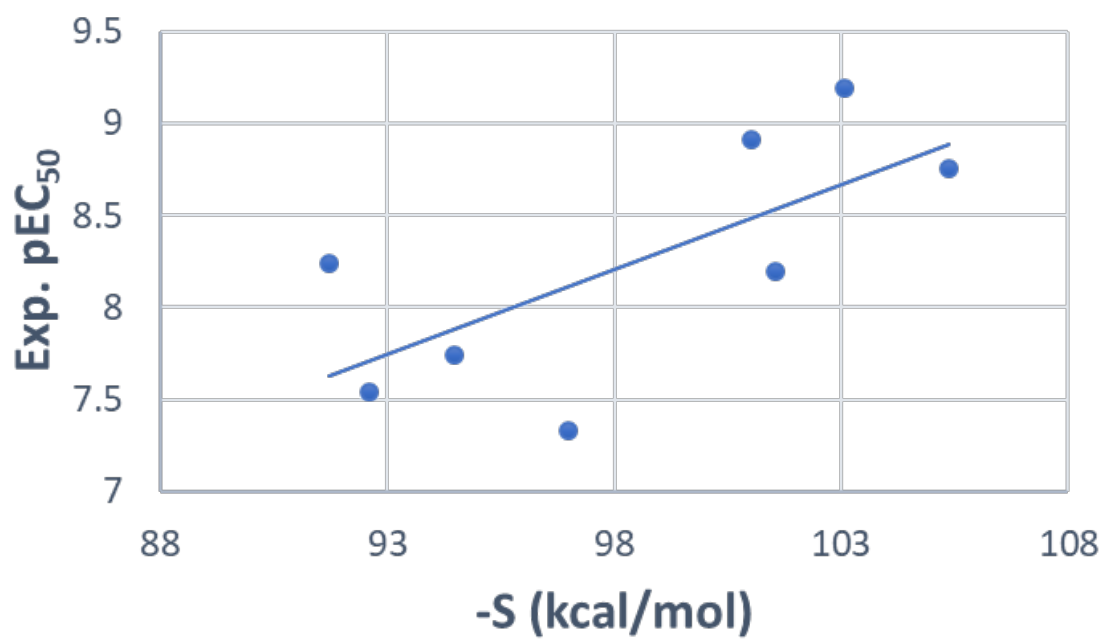


Fig. 3. フェンタニル類縁化合物ドッキング結果： 縦軸：実測値, 横軸：-S

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
～酸化ストレスマーカーdHEt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 講師）

【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活性酸素種生成など酸化ストレスは重要な役割を果たすと考えられる。これまでに、ミトコンドリアでの活性酸素種生成の蛍光指示薬を用いて、2C-C, 2CT-4 を除くいくつかの危険ドラッグについては形態変化がほとんどみられない比較的低濃度の暴露早期において活性酸素種生成を検出できることを報告してきた。本研究では、危険ドラッグ暴露早期の細胞内での酸化ストレスをミトコンドリアに限らず広く評価するために、モノアミン系培養神経細胞系を用いて各種乱用薬物、危険ドラッグ (METH, MDMA, methylone, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 2CT-4, 2C-C, PP, 5MeO-DMT, 5MeO-MIPT, harmaline, harmine) 添加による細胞内活性酸素種生成を蛍光物質 dihydroethidine (dHEt) により検出し、その有害性を評価する指標としての可能性について総合的に評価した。

[結果] モノアミン系セロトニン含有培養神経細胞株 B65 細胞への3時間曝露により、13種いずれの薬剤においても、活性酸素種生成を示す dHEt のシグナルの顕著な増加が認められた。細胞における明らかな dHEt のシグナルの出現濃度は、2CT-4 (50 μM) > 2CT-7 (50 μM) > 2C-C (50 μM), harmaline (50 μM) > harmine (50 μM) > MDMA (250 μM) > methylone (500 μM), PP (500 μM) > PMMA (500 μM), 4FMP (500 μM) > METH (500 μM), 5MeO-DMT (500 μM) > 5MeO-MIPT (500 μM) の順であり、細胞数減少の出現濃度で示される細胞毒性の強度、2C-C (100 μM), 2CT-4 (100 μM) > harmaline (100 μM), harmine (100 μM) > 2CT-7 (100 μM) > MDMA (500 μM) > PP (1 mM), METH (1 mM), PMMA (1 mM), methylone (1 mM), 4FMP (1 mM) > 5MeO-MIPT (2 mM), 5MeO-DMT (2 mM) ときれいに相関しており、さらに dHEt による細胞内活性酸素種生成は細胞死を惹起しない低濃度においても曝露早期から認められることが明らかとなった。

[考察] 各種乱用薬物、危険ドラッグのモノアミン系培養神経細胞への曝露により、細胞内での活性酸素種生成が曝露3時間後の早期に低濃度から認められ、その酸化ストレス誘導性と形態的な神経細胞障害性との間に強い相関が認められることを明らかにできた。培養神経細胞株での蛍光物質 dHEt を用いた活性酸素種生成の評価は、鋭敏かつ有用な神経毒性発現の蓋然性のスクリーニング方法となりうると考えられた。

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⁾⁴⁾。

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 20 年度から平成 26 年度の各種危険ドラッグのモノアミン系神経細胞への障害性の検討において、蛍光指示薬によるミトコンドリアでの活性酸素種生成の検出法は、形態変化がほとんどみられない比較的低濃度の危険ドラッグ暴露早期において細胞内での活性酸素種生成を検出できることから、迅速かつ感度良く、しかも軽微な細胞障害性を評価できる方法として、乱用薬物の神経障害性の評価に有用であることを明らかにした⁷⁻¹⁴⁾。

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モノアミン酸化酵素 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¹⁵⁻¹⁷⁾。

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 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¹⁸⁾⁻²⁰⁾。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²¹⁾。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、一昨年度平成 30 年度は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モノアミン神経毒性に対する抗 HMGB1 抗体の効果について検討した。METH 投与により、惹起されるドパミン(DA)系神経障害に関連する高体温、DA トランスポーター(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、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 神経終末の脱落が有意に抑制できることを明らかにし、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を示した²²⁾。昨年度令和元年度は、モノアミン系セロトニン含有培養神経細胞系を用いて各種乱用薬物、危険ドラッグ添加による HMGB1 の発現動態の変化について検討し、各種乱用薬物、危険ドラッグのモノアミン系培養神経細胞への曝露早期における HMGB1 の核外移行への作用と神経細胞障害性が、2CT-7 を除いて相関しており、HMGB1 の発現および核外移行は神経障害、特に神経炎症の鋭敏な指標となりうることを明らかにし、神経炎症をあらゆる HMGB1 の核外移行、酸化ストレスをあらゆるミトコンドリアでの活性酸素種生成など複数の早期神経障害指標を用いて評価することが望ましいことを提唱した²³⁾。

今年度は、モノアミン系セロトニン含有培養神経細胞系を用いて各種乱用薬物、危険ドラッグ曝露早期の細胞内酸化ストレスを広く評価するために、とくにミトコンドリアに限

らず細胞内でのスーパーオキシドなど活性酸素種生成を検出する蛍光物質 dihydroethidine (dHEt)を用いて検討した。また、炎症反応の起点となる HMGB1 の核外移行と神経細胞死と併せて検討し、その有害性指標としての可能性について総合的に評価した。

B. 研究方法

1. モノアミン系培養神経細胞への危険ドラッグ暴露と活性酸素種生成の評価

ラットモノアミン系セロトニン含有神経細胞株 B65 細胞を継代して 96 ウェル培養プレートに播種して (3×10^4 cells/cm²)、48 時間後に、13 種の乱用薬物あるいは危険ドラッグである METH (最終濃度 500 μ M-2 mM), MDMA (250 μ M-1 mM), methylone (500 μ M-2 mM), 4-fluoroamphetamine (4FMP: 500 μ M-2 mM), 4-methoxymethamphetamine (PMMA: 500 μ M-2 mM), 2,5-dimethoxy-4-propylthio-phenethylamine (2CT-7: 50 -250 μ M), 2,5-dimethoxy-4-isopropylthiophenethylamine (2CT-4: 50 -250 μ M), 2,5-dimethoxy-4-chloro-phenethylamine (2C-C: 50 -250 μ M), phenylpiperazine (PP: 500 μ M-2 mM), 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine (5MeO-DMT: 500 μ M-2 mM), N-isopropyl-5-methoxy-N-methyltryptamine (5MeO-MIPT: 500 μ M-2 mM), harmaline (50 -250 μ M)および harmine (50 -250 μ M)を添加し、3 時間培養し、細胞質における活性酸素種生成を活性酸素種 (主にスーパーオキシドに対する蛍光指示薬である dihydroethidium (dHEt)を用いて検出した。

2. モノアミン系培養神経細胞への乱用薬物、危険ドラッグ暴露による HMGB1 発現変化の評価

乱用薬物あるいは危険ドラッグ METH, MDMA, methylone, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 2CT-4, 2C-C, PP, 5MeO-DMT, 5MeO-MIPT, harmaline, harmine (最終濃度 50 μ M-2 mM) を 3 時間曝露し、4% paraformaldehyde による固定を行っ

た。B65 細胞における HMGB1 発現を抗 HMGB1 抗体を用いた蛍光免疫組織化学法で評価した。

細胞膜浸透処理のため 0.1% Triton X-100 加 PBS (PBS-T)を用い、抗体に対しての非特異的反応を防ぐために、1%正常ヤギ血清で 20 分間ブロッキング処理を行った。PBS-T で希釈した 1 次抗体、ウサギ抗 HMGB1 ポリクローナル抗体(Abcam: ab18256, 500 倍希釈)と 4°C で 1 晩反応させた。PBS で 10 分間 3 回洗浄し、500 倍希釈した二次抗体、ヤギ抗ウサギ IgG Alexa Fluor488 抗体(Alexa: A-11034)と室温で 1.5 時間 incubate した。PBS で 10 分間の洗浄を 3 回行い、Hoechst33342 (Thermo Fisher)による核染色を行った。PBS での洗浄後、スライドガラスを DAKO Fluorescence Mounting Medium を用いて封入した。

HMGB1 陽性シグナルの蛍光強度ならびに Hoechst33342 染色による形態学的な生存細胞数を cellSens ソフトウェア(Olympas)によって測定した。

C. 研究結果

1. モノアミン系培養神経細胞への乱用薬物、危険ドラッグ暴露による曝露早期における活性酸素種生成

各種乱用薬物あるいは危険ドラッグのモノアミン系セロトニン含有神経細胞株 B65 細胞への 3 時間曝露により、いずれの薬剤においても、活性酸素種生成を示す dHEt のシグナルの顕著な増加が認められた (Figs. 1~6)。細胞における明らかな dHEt のシグナルの出現濃度は、2CT-4 (50 μ M~), 2CT-7 (50 μ M~) > 2C-C (50 μ M~), harmaline (50 μ M~) > harmine (50 μ M~) > MDMA (250 μ M) > methylone (500 μ M~), PP (500 μ M~) > PMMA (500 μ M~), 4FMP (500 μ M~) > METH (500 μ M~), 5MeO-DMT (500 μ M~) > 5MeO-MIPT (500 μ M~)の順であった。なお、高濃度で著明な細胞死が認められる薬剤 (2CT-7, 2CT-4, 2C-C, harmaline, harmine) の場合、低濃度で著明な dHEt シグナ

ルの増加すなわち活性酸素種生成がみられるが、高濃度では細胞数の著減によりシグナルはむしろ減少していた。

2. モノアミン系培養神経細胞への乱用薬物、危険ドラッグ暴露による曝露早期における HMGB1 発現変化

今回の検討で用いた乱用薬物あるいは危険ドラッグの培養 B65 細胞への 3 時間曝露により、4FMP, 2CT-7, 5MeO-DMT を除く薬剤では、核内の HMGB1 シグナル強度の有意な減少が認められた (Figs. 1~6)。HMGB1 の核外移行・細胞外放出を示す核内 HMGB1 シグナル強度の有意な減少の出現濃度は、2CT-4 (50 μM ~), 2C-C (50 μM ~) > harmaline (50 μM ~) > harmine (100 μM ~) > PP (500 μM ~) > METH (500 μM ~), PMMA (1 mM~) > MDMA (1 mM), methylone (1 mM~) > 5MeO-MIPT (1 mM) >> 4FMP, 5MeO-DMT (傾向のみ) > 2CT-7 の順であった。

3. モノアミン系培養神経細胞への乱用薬物、危険ドラッグ暴露による曝露早期における形態変化と細胞死

乱用薬物あるいは危険ドラッグの培養 B65 細胞への 3 時間曝露により、曝露早期であっても著明な形態変化と細胞数の減少 (細胞死) が観察され、明らかな細胞数減少の出現濃度については、2C-C (100 μM ~), 2CT-4 (100 μM ~) > harmaline (100 μM ~), harmine (100 μM ~) > 2CT-7 (100 μM ~) > MDMA (500 μM ~) > PP (1 mM~), METH (1 mM~), PMMA (1 mM~), methylone (1 mM~), 4FMP (1 mM~) > 5MeO-MIPT (2 mM), 5MeO-DMT (2 mM~) の順であった (Figs. 1~6)。

D. 考察

一昨年度は、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、DAT の減少、DA 神経終末の脱落とともに、起炎物質 DAMPs のひとつの 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²²⁾。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²²⁾。これらの結果は、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。

昨年度は、培養細胞系での HMGB1 の発現動態の評価が危険ドラッグ等の有害性のスクリーニング指標になる可能性を探るべく、モノアミン系セロトニン含有培養神経細胞系を用いて各種乱用薬物、危険ドラッグ添加による細胞障害ならびに HMGB1 の発現動態の変化について検討し、曝露 3 時間後の早期から 2CT-7 を除く多くの薬剤で HMGB1 の核外移行・細胞外放出を示す核内 HMGB1 シグナル強度の減少が認められ、神経細胞障害性と相関することを明らかにした²³⁾。これは、HMGB1 の発現および核外移行が神経障害、特に神経炎症の鋭敏な指標となりうることを示している。

一方これまでに、危険ドラッグ等のもたらす酸化ストレスの評価については、ミトコンドリアでの活性酸素種生成の蛍光指示薬である MitoTracker CM-H₂XRos による検出法を用いて、形態変化がほとんどみられない比較的低濃度の危険ドラッグ曝露早期において活性酸素種生成を検出できることから、迅速かつ感度良く、しかも軽微な細胞障害性を評価できる方法として有用であることを示してきた^{7,8,10,14)}。しかし、2C-C, 2CT-4 では有意なミトコンドリアでの活性酸素種生成はみられなかった^{7,8,10,14)}。したがって今年度は、危険ドラッグ添加による曝露早期の細胞内での酸化ストレスを広く評価するために、ミトコンドリアに限らず細胞内でのスーパーオキシドなど活性酸素種生成を検出する蛍光物質

dihydroethidine (dHEt)を用いた検討を行った。また、昨年度検討した炎症反応の起点となる HMGB1 の核外移行と神経細胞死も曝露早期に併せて検討し、その有害性を評価する指標としての可能性について総合的に評価した。

13 種いずれの乱用薬物あるいは危険ドラッグにおいても曝露早期 (3 時間) における細胞内での明らかな活性酸素種生成を示す dHEt のシグナル増加が認められ、そのシグナル増加の出現濃度は、2CT-4 (50 μ M \sim), 2CT-7 (50 μ M \sim) > 2C-C (50 μ M \sim), harmaline (50 μ M \sim) > harmine (50 μ M \sim) > MDMA (250 μ M) > methylone (500 μ M \sim), PP (500 μ M \sim) > PMMA (500 μ M \sim), 4FMP (500 μ M \sim) > METH (500 μ M \sim), 5MeO-DMT (500 μ M \sim) > 5MeO-MIPT (500 μ M \sim) の順であり、細胞数減少の出現濃度で示される細胞毒性の強度、2C-C (100 μ M \sim), 2CT-4 (100 μ M \sim) > harmaline (100 μ M \sim), harmine (100 μ M \sim) > 2CT-7 (100 μ M \sim) > MDMA (500 μ M \sim) > PP (1 mM \sim), METH (1 mM \sim), PMMA (1 mM \sim), methylone (1 mM \sim), 4FMP (1 mM \sim) > 5MeO-MIPT (2 mM), 5MeO-DMT (2 mM \sim) ときれいに相関しており、さらに dHEt による細胞内活性酸素種生成は細胞死を惹起しない低濃度においても曝露早期から認められることが明らかとなった。また、ミトコンドリアでの活性酸素種生成の蛍光指示薬である MitoTracker CM-H₂XRos による検出法では活性酸素種生成が見られなかった 2C-C, 2CT-4 についても、今回用いた dHEt では細胞内の著明な活性酸素種生成が低濃度から検出できた。細胞内での活性酸素種生成源は、ミトコンドリアの電子伝達系からの漏出のみならず、モノアミン酸化酵素、Cu/Zn-スーパーオキシドジスムターゼ、フェントン反応、金属触媒ハーバースト反応などがあり、広く活性酸素種の発生を評価するためには、dHEt や DCFDA など汎活性酸素種蛍光指示薬により評価することが望ましい。

昨年度検討した起炎物質 HMGB1 の核外移行・細胞外放出を示す核内 HMGB1 シグナル強度の減少も低濃度から認められ、曝露早期

の神経炎症の鋭敏な指標となりうると考えられるが、2CT-7 の核内 HMGB1 に関しては有意な変化が見られず神経細胞死との乖離があった。今回の dHEt での細胞内活性酸素種生成は、HMGB1 の核外移行よりもより低濃度から認められ、また形態的な細胞障害性とより強く相関することから、感度の高い早期の酸化ストレス、神経障害の指標となりうると考えられる。

したがって、乱用薬物、危険ドラッグの有害性のスクリーニングでは、培養神経細胞系における細胞内酸化ストレスをあらゆる活性酸素種生成、神経炎症をあらゆる HMGB1 の核外移行など複数の早期の神経障害指標を用いて評価することが望ましいと考えられた。

E. 結論

モノアミン系培養神経細胞系を用いて 13 種の乱用薬物、危険ドラッグ(METH, MDMA, methylone, 4FMP, PMMA, 2CT-7, 2CT-4, 2C-C, PP, 5MeO-DMT, 5MeO-MIPT, harmaline, harmine) 添加による細胞内酸化ストレスの変化についてスーパーオキシドなど活性酸素種生成を検出する蛍光物質 dHEt を用いた検討を行い、細胞内での活性酸素種生成が曝露 3 時間後の早期に低濃度から認められ、その酸化ストレス誘導性と形態的な神経細胞障害性との間に強い相関が認められることを明らかにできた。培養神経細胞株での蛍光物質 dHEt を用いた活性酸素種生成の評価は、鋭敏かつ有用な神経毒性発現の蓋然性のスクリーニング方法となりうると考えられた。

F. 参考文献

- 1) 浅沼幹人, 宮崎育子: MDMA および 5-MeO-DIPT の神経毒性発現に関する研究. 平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金 (厚生労働科学特別研究事業) 「MDMA 及び脱法ドラッグの神経毒性ならびに精神依存発現メカニズムの解明」 研究報告書 (主

- 任研究者：船田正彦). P15-24, 2004.
- 2) 浅沼幹人, 宮崎育子: 植物由来催幻覚成分の神経細胞毒性発現に関する研究. 平成16年度厚生労働科学研究費補助金(厚生労働科学特別研究事業)「植物由来催幻覚成分の薬物依存性および細胞毒性の評価」研究報告書(主任研究者：船田正彦). P21-42, 2005.
 - 3) 船田正彦, 竹林美佳, 宮崎育子, 浅沼幹人, 青尾直也, 和田 清: ハルミンの薬物依存性ならびに細胞毒性の評価：植物由来催幻覚成分の有害作用について. 精神保健研究, 61(28): 61-72, 2015.
 - 4) 船田正彦, 竹林美佳, 宮崎育子, 浅沼幹人, 青尾直也, 和田 清: ハルミンの薬物依存性ならびに細胞毒性の評価：植物由来催幻覚成分の有害作用について. 精神保健研究, 61(28): 61-72, 2015.
 - 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.
 - 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.
 - 7) 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.
 - 8) 浅沼幹人, 宮崎育子:違法ドラッグによる神経・細胞毒性の発現機序に関する多角的検討. 平成21年度厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「違法ドラッグの精神依存並びに精神障害の発現機序と乱用実態把握に関する研究」研究報告書(主任研究者：船田正彦). P38-55, 2010.
 - 9) 浅沼幹人, 宮崎育子:フェネチルアミン系違法ドラッグによる神経細胞毒性の検討. 平成22年度厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「違法ドラッグの精神依存並びに精神障害の発現機序と乱用実態把握に関する研究」研究報告書(主任研究者：船田正彦). P42-57, 2011.
 - 10) 浅沼幹人, 宮崎育子: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.
 - 11) 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.
 - 12) 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.
 - 13) 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.
- 14) Asanuma, M., Miyazaki, I. and Funada, M.: The neurotoxicity of psychoactive phenethylamines "2C series" in cultured monoaminergic neuronal cell lines. *Forensic Toxicol.*, 38: 394-408, 2020.
<https://doi.org/10.1007/s11419-020-00527-w>
- 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～. 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.
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) 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.: HMGB1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 285 (5425): 248-251, 1999.
- 19) 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.
- 20) Andersson, U., Tracey, K.J.: HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection. *Annu. Rev. Immunol.*, 29: 139-162, 2011.
- 21) 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.
- 22) 浅沼幹人, 宮崎育子: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～. 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物の有害作用解析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）. 2019.
- 23) 浅沼幹人, 宮崎育子: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2～. 令和元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物の有害作用解析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）. 2020.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Asanuma, M., Miyazaki, I. and Funada, M.: The neurotoxicity of psychoactive phenethylamines "2C series" in cultured monoaminergic neuronal cell lines. *Forensic Toxicol.*, 38: 394-408, 2020.
<https://doi.org/10.1007/s11419-020-00527-w>
- 2) Isooka, N., Miyazaki, I., Kikuoka, R., Wada, K., Nakayama, E., Shin, K., Yamamoto, D., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Dopaminergic neuroprotective effects of rotigotine via 5-HT1A receptors: possibly involvement of metallothionein expression in astrocytes. *Neurochem. Int.*, 132: 104608, 2020. doi: 10.1016/j.neuint.2019.104608
- 3) Miyazaki, I., Kikuoka, R., Isooka, N., Takeshima, M., Sonobe, K., Arai, R., Funakoshi, H., Quin, K.E., Smart, J., Zensho, K. and Asanuma, M.: Effects of maternal bisphenol A diglycidyl ether exposure during gestation and lactation on behavior and brain development of the offspring. *Food Chem. Toxicol.*, 138: 111235, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111235>
- 4) Miyazaki, I., Isooka, N., Imafuku, F., Sun, J., Kikuoka, R., Furukawa, C. and Asanuma, M.: Chronic systemic exposure to low-dose rotenone induced central and peripheral neuropathology and motor deficits in mice: reproducible animal model of Parkinson's disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(9): 3254, 2020. doi:10.3390/ijms21093254
- 5) Kidani, N., Hishikawa, T., Hiramatsu, M., Nishihiro, S., Kin, K., Takahashi, Y., Murai, S., Sugiu, K., Yasuhara, T., Miyazaki, I., Asanuma, M. and Date, I.: Cerebellar blood flow and gene expression in crossed cerebellar diaschisis after transient middle cerebral artery occlusion in rats. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(11): 4137, 2020. doi: 10.3390/ijms21114137
- 6) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: The rotenone models reproducing central and peripheral features of Parkinson's disease. *NeuroSci*, 1(1): 1-14, 2020. doi: 10.3390/neurosci1010001
- 7) Kikuoka, R., Miyazaki, I., Kubota, N., Maeda, M., Kagawa, D., Moriyama, M., Sato, A., Murakami, S., Kitamura, Y., Sendo, T. and Asanuma, M.: Mirtazapine exerts astrocyte-mediated dopaminergic neuroprotection. *Sci. Rep.*, 10(1): 20698, 2020.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-77652-4>
- 8) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Neuron-Astrocyte Interactions in Parkinson's Disease. *Cells*, 9(12): 2623, 2020.
doi.org/10.3390/cells9122623
- 9) Kitamura, Y., Ushio S., Sumiyoshi, Y., Wada, Y., Miyazaki, I., Asanuma, M. and Sendo, T.: N-acetylcysteine attenuates the anxiety-like behavior and spatial cognition impairment induced by doxorubicin and cyclophosphamide combination treatment in rats. *Pharmacology*, 2020, Dec 22: 1-8. doi: 10.1159/000512117 (Online ahead of print)
- 10) Shimaoka, S., Hamaoka, H., Inoue, J., Asanuma, M., Tooyama, I. and Kondo, Y.: Lactoferrin-like immunoreactivity in distinct neuronal populations in the mouse central nervous system. *Acta Med. Okayama*, in press.
- 11) 浅沼幹人, 宮崎育子: パーキンソン病での神経保護標的としてのアストロサイトの抗酸化分子. 日本薬理学雑誌, 2021, 156: 14-20.
- 12) 浅沼幹人, 宮崎育子: パーキンソン病と亜鉛結合蛋白, 城 宜嗣, 津本浩平監修, 古川良明, 神戸大朋編, 生命金属ダイナミクス 生体内における金属の挙動と制御, エヌ・ティー・エス, 東京, 2021, pp304-309.
- 13) 宮崎育子, 浅沼幹人: アストロサイトの亜鉛関連分子を標的としたパーキンソン病治療戦略. 日本薬理学雑誌, in press.

2. 学会発表

- 1) 浅沼幹人: Glutathione in astrocytes as a target of neuroprotection. シンポジウム: 中枢神経における GSH 産生促進を介する神経保護機構, 第 93 回日本薬理学会年会, 横浜, 2020.3.16. (誌上開催)
- 2) 宮崎育子, 浅沼幹人, 村上真樹, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久: 農薬ロテノン曝露によるアストロサイトの部位特異的反応性の差異と神経細胞に及ぼす影響. 第 125 回日本解剖学会総会, 宇部, 2020.3.27. (誌上開催)
- 3) Miyazaki, I., Kikuoka, R., Isooka, N., Sogawa, C., Sogawa, N., Kitamura, Y., Asanuma, M.: Region-specific glial dysfunction promotes rotenone neurotoxicity. 第 61 回日本神経学会学術大会, 岡山, 2020.8.31-9.2 (誌上発表)
- 4) 浅沼幹人: パーキンソン病と生体金属, 金属結合蛋白. シンポジウム: 生命金属で切り開く神経疾患の解明, 第 61 回日本神経学会学術大会, 岡山, 2020.9.2. (Web 動画配信)
- 5) 宮崎育子, 村上真樹, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久, 浅沼幹人: ロテノン誘発ドパミン神経障害におけるアストロサイト-ミクログリア連関. メタルバイオサイエンス研究会 2020, 千葉, 2020.11.6-7 (オンライン発表)
- 6) 今福史智, Jin Sun, 磯岡奈未, 上舞 直, 清水崇司, 豊田俊明, 岡本裕成, 菊岡 亮, 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杜仲抽出物のメタロチオネイン発現誘導および神経保護効果. メタルバイオサイエンス研究会 2020, 千葉, 2020.11.6-7 (オンライン発表)
- 7) 今福史智, Jin Sun, 磯岡奈未, 上舞 直, 清水崇司, 豊田俊明, 岡本裕成, 菊岡 亮, 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杜仲抽出物のメタロチオネイン発現誘導および神経保護効果. 第 34 回創薬・薬理フォーラム, 岡山, 2020.12.26 (オンライン発表)

- 8) 宮崎育子, 磯岡奈未, 菊岡 亮, 北村佳久, 浅沼幹人: 5-HT1A アゴニストによるアストロサイトのメタロチオネイン発現誘導とドパミン神経保護. 第 14 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres (MDSJ), 福岡, 2021.2.22-24 (Web 動画配信)

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

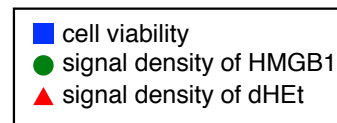
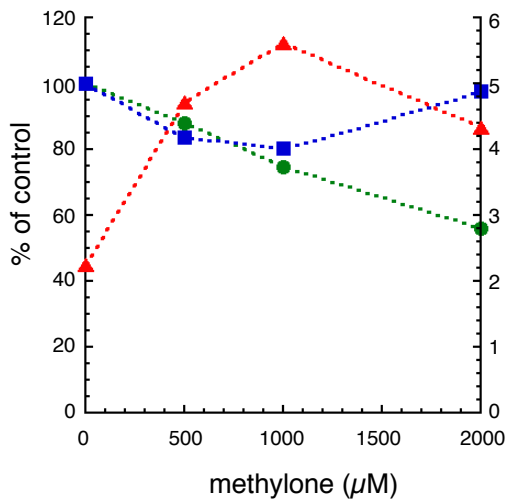
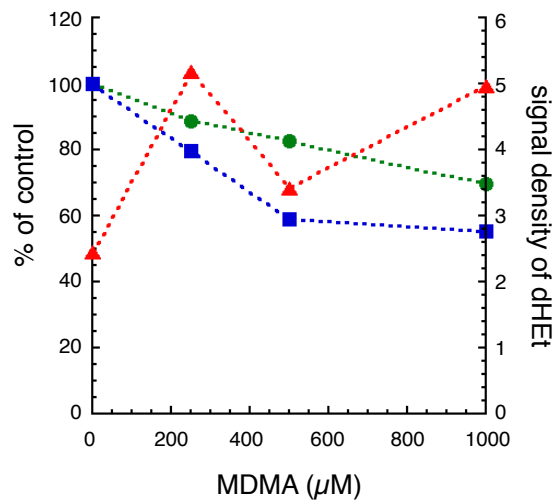
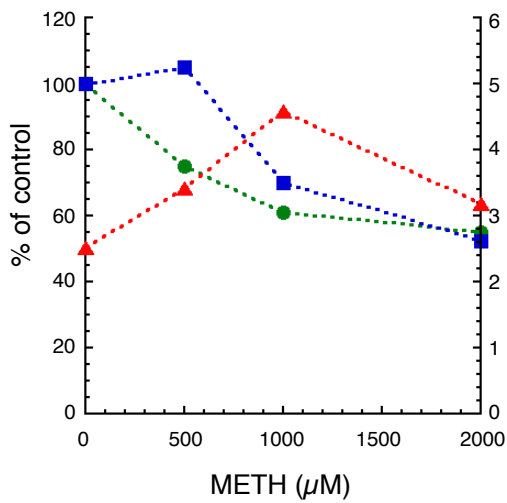
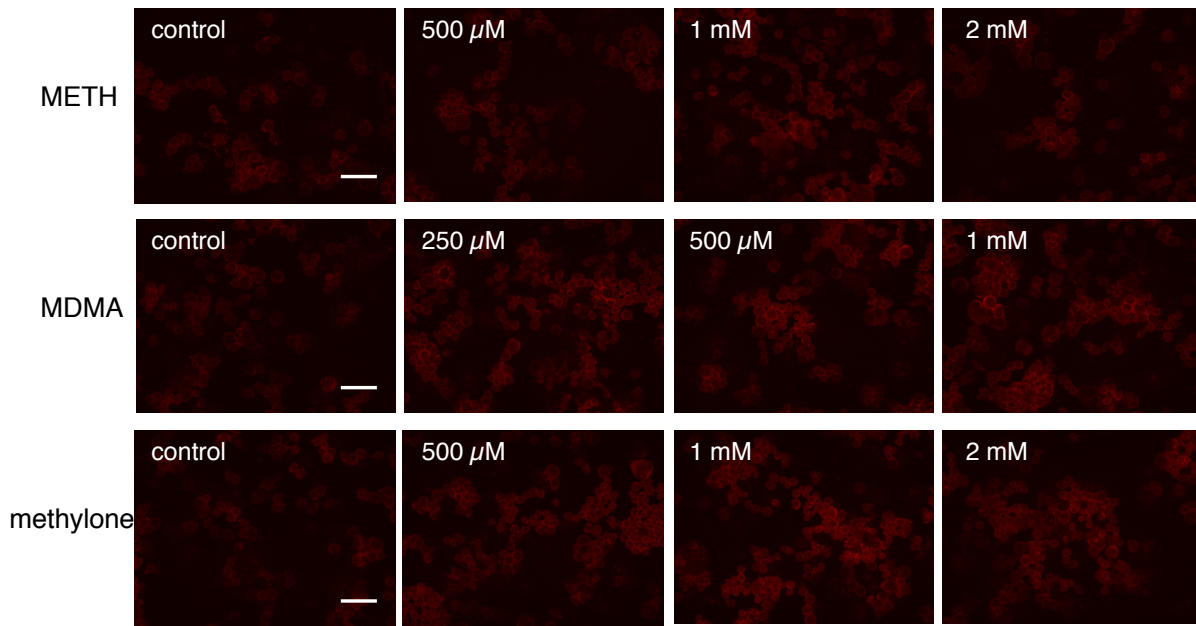


Fig. 1. Changes in superoxide production, HMGB1 release from nuclei, and cell viability in B65 cells exposed to METH, methylone (final concentration: 0, 500 μ M, 1 mM, 2 mM), or MDMA (final concentration: 0, 250 μ M, 500 μ M, 1 mM) for 3 hrs. Top: representative photos of dihydroethidium (dHET) staining (red). Scale bar = 100 μ m. Bottom: Combination graphs of cell viability, nuclear HMGB1 signals, and dHET signal density. Cell viability and HMGB1 signal density were expressed as percentage of control.

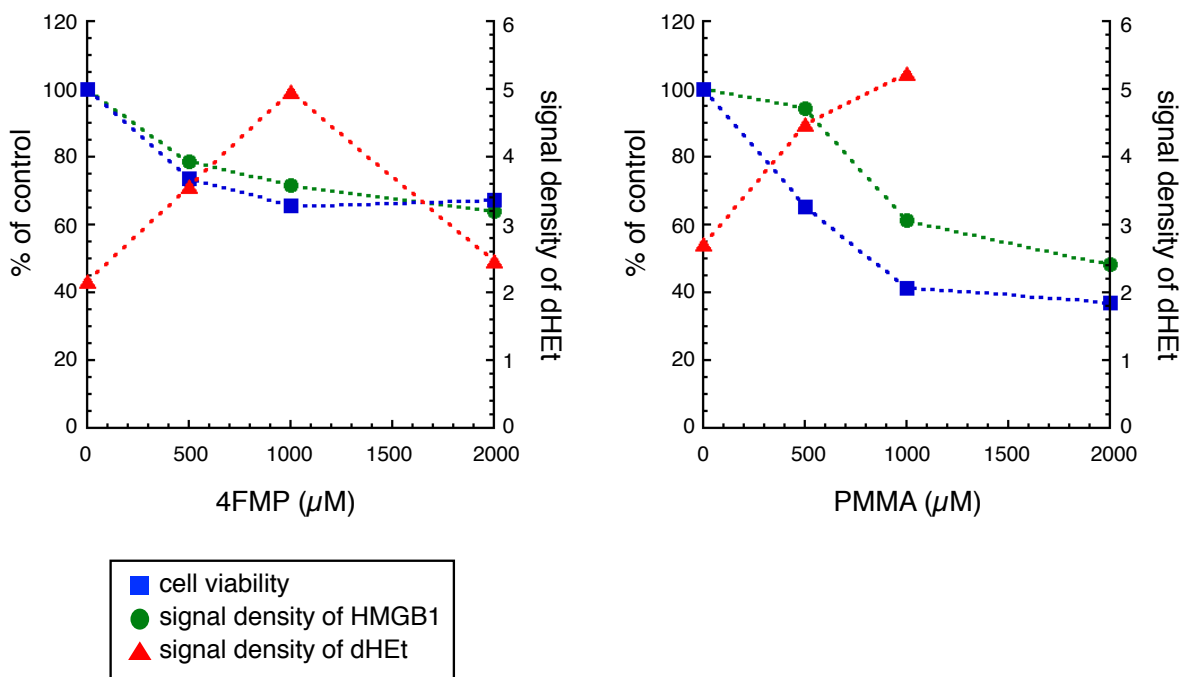
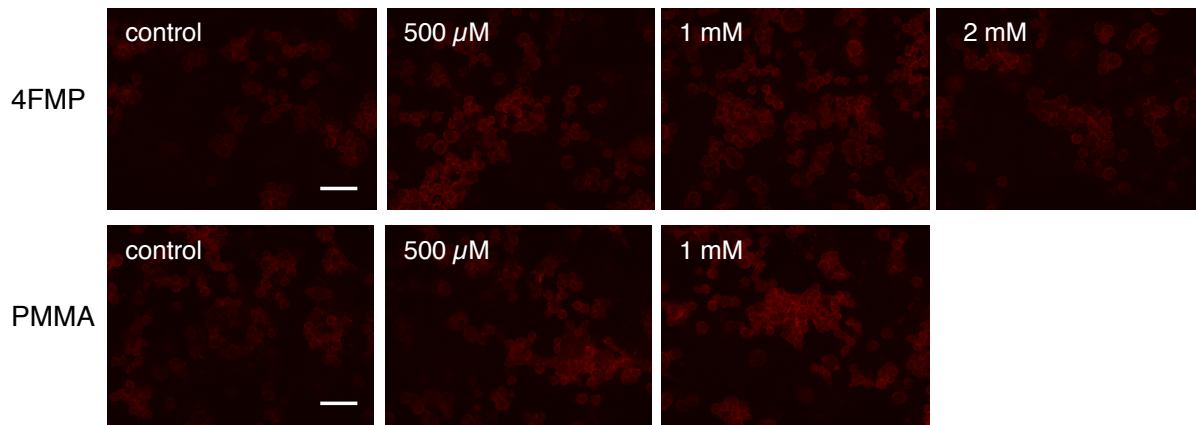


Fig. 2. Changes in superoxide production, HMGB1 release from nuclei, and cell viability in B65 cells exposed to 4FMP or PMMA (final concentration: 0, 500 μ M, 1 mM, 2 mM) for 3 hrs. Top: representative photos of dihydroethidium (dHEt) staining (red). Scale bar = 100 μ m. Bottom: Combination graphs of cell viability, nuclear HMGB1 signals, and dHEt signal density. Cell viability and HMGB1 signal density were expressed as percentage of control.

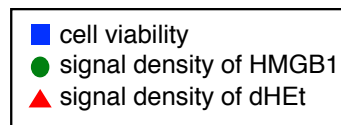
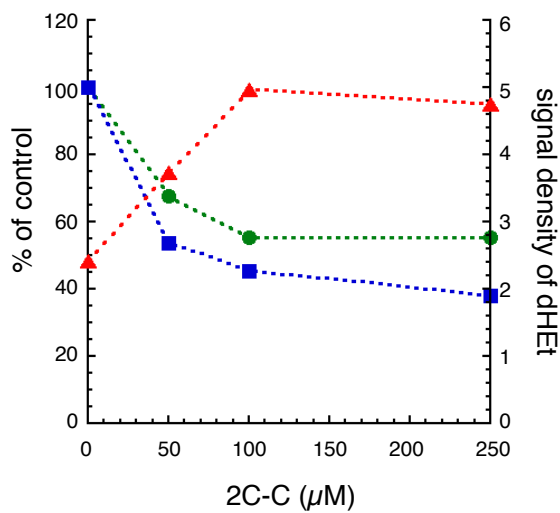
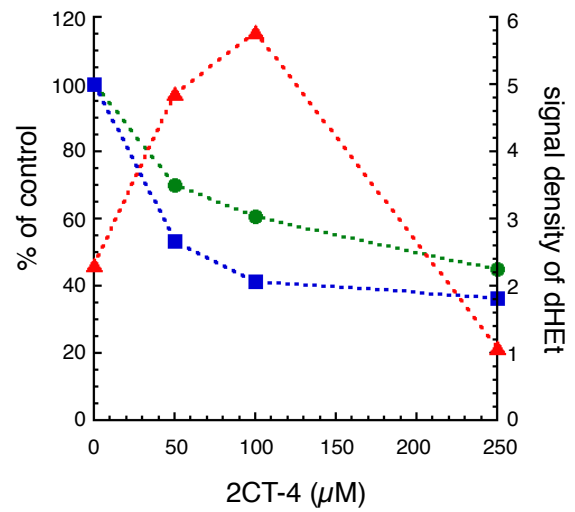
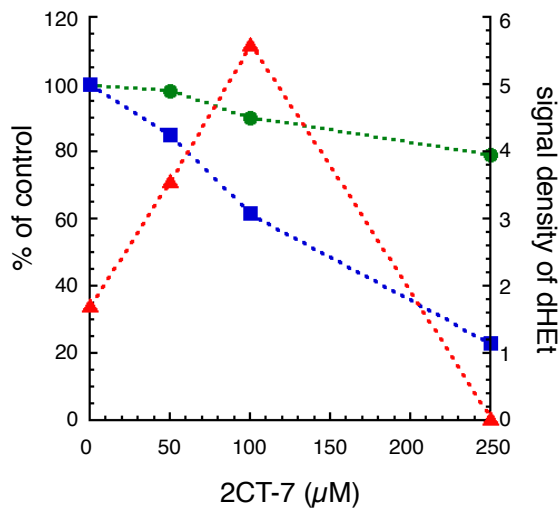
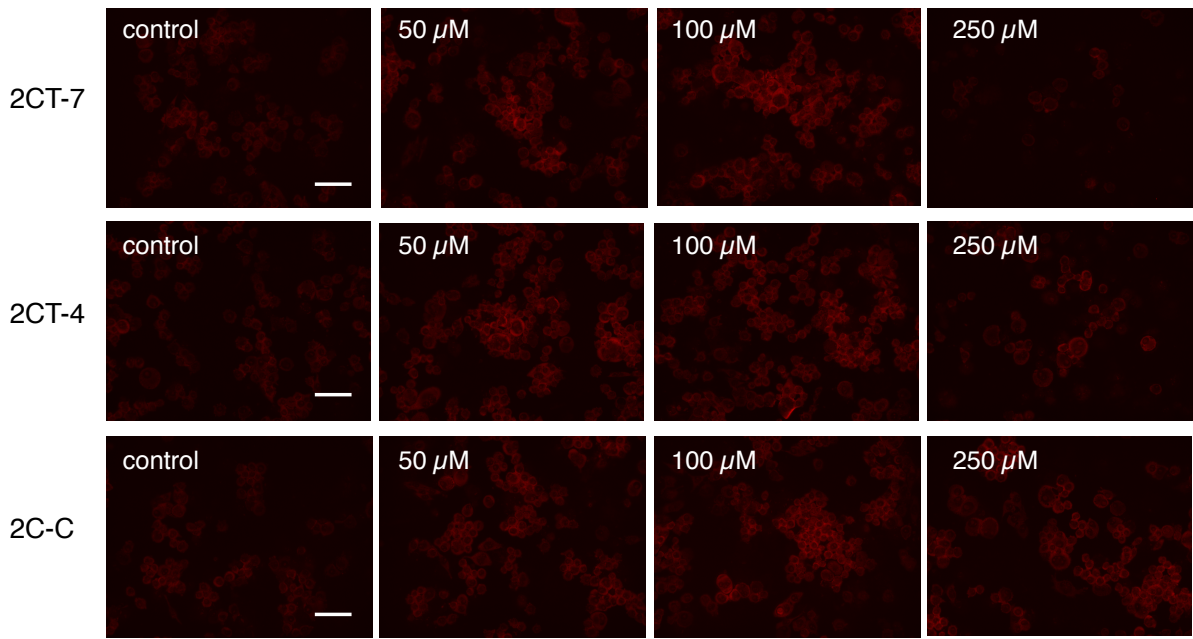


Fig. 3. Changes in superoxide production, HMGB1 release from nuclei, and cell viability in B65 cells exposed to 2CT-7, 2CT-4, or 2C-C (final concentration: 0, 50, 100, 250 μM) for 3 hrs. Top: representative photos of dihydroethidium (dHEt) staining (red). Scale bar = 100 μm. Bottom: Combination graphs of cell viability, nuclear HMGB1 signals, and dHEt signal density. Cell viability and HMGB1 signal density were expressed as percentage of control.

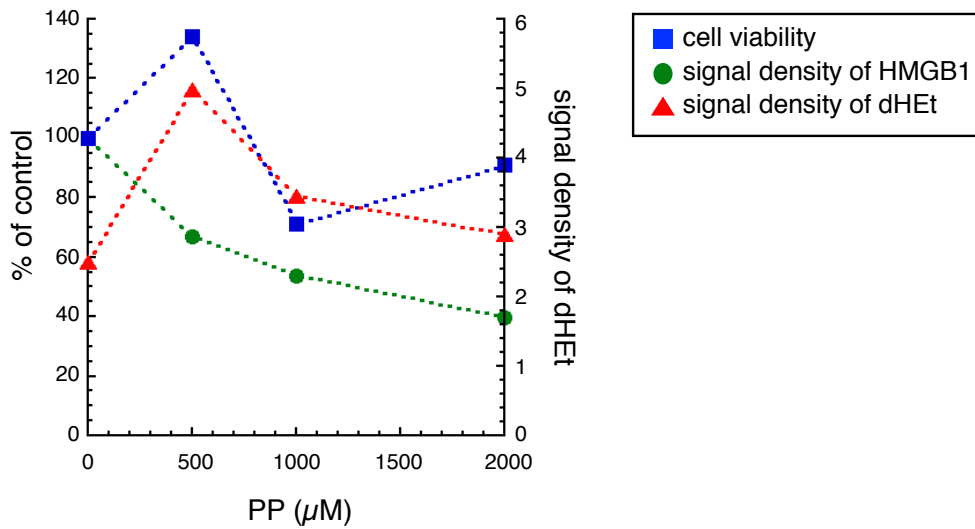
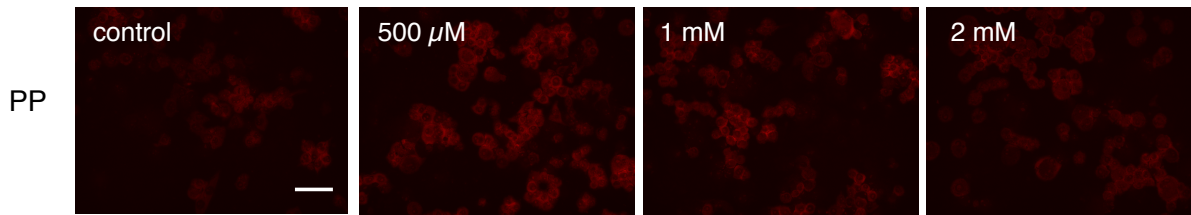


Fig. 4. Changes in superoxide production, HMGB1 release from nuclei, and cell viability in B65 cells exposed to PP (final concentration: 0, 500 μM , 1 mM, 2 mM) for 3 hrs. Top: representative photos of dihydroethidium (dHEt) staining (red). Scale bar = 100 μm . Bottom: Combination graphs of cell viability, nuclear HMGB1 signals, and dHEt signal density. Cell viability and HMGB1 signal density were expressed as percentage of control.

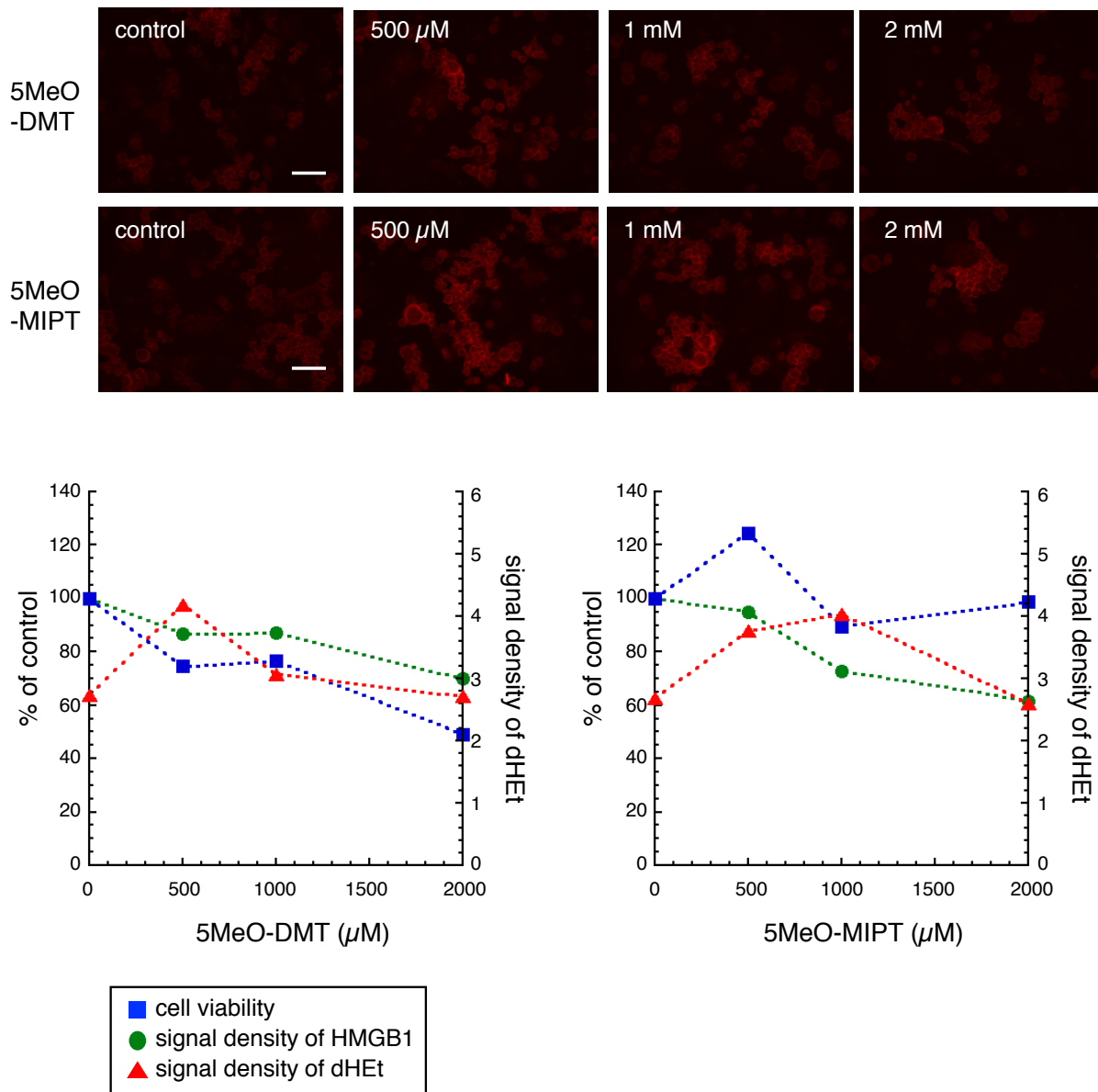


Fig. 5. Changes in superoxide production, HMGB1 release from nuclei, and cell viability in B65 cells exposed to 5MeO-DMT or 5MeO-MIPT (final concentration: 0, 500 μ M, 1 mM, 2 mM) for 3 hrs. Top: representative photos of dihydroethidium (dHEt) staining (red). Scale bar = 100 μ m. Bottom: Combination graphs of cell viability, nuclear HMGB1 signals, and dHEt signal density. Cell viability and HMGB1 signal density were expressed as percentage of control.

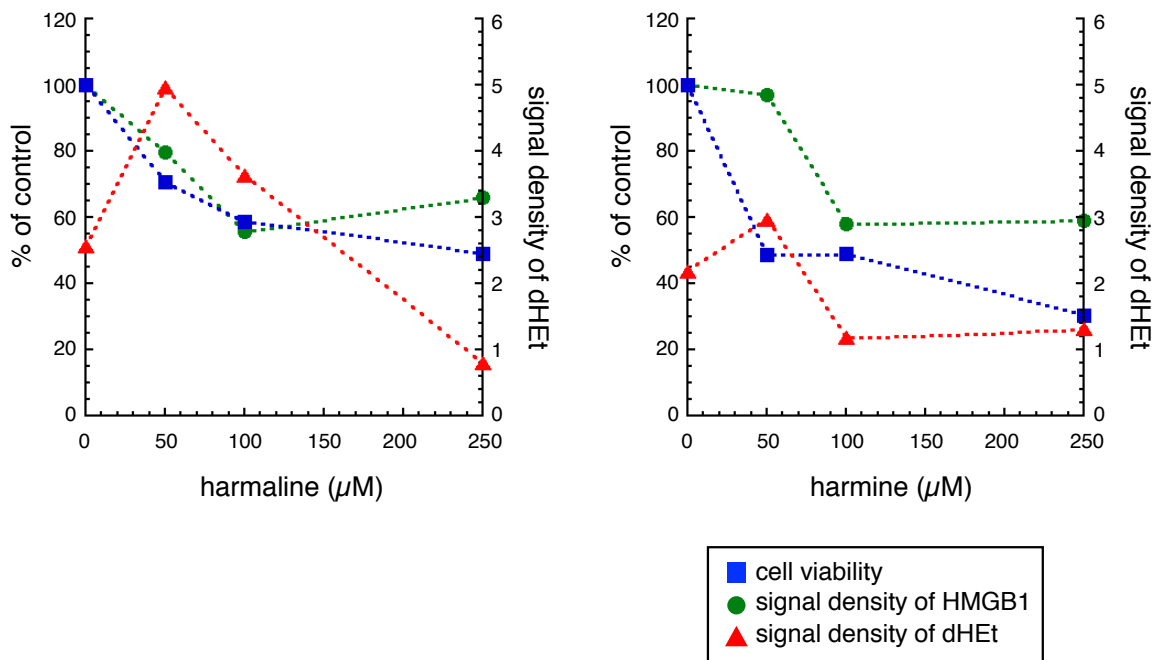
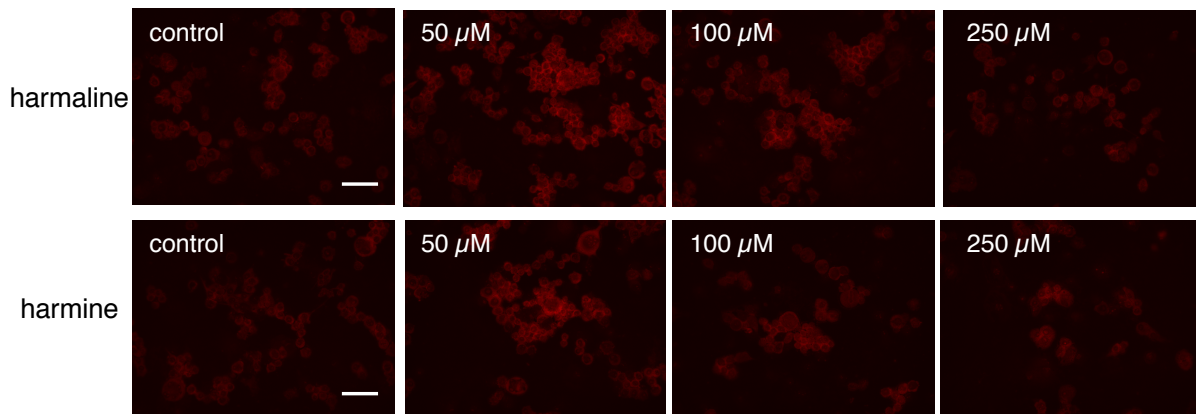


Fig. 6. Changes in superoxide production, HMGB1 release from nuclei, and cell viability in B65 cells exposed to harmaline or harmine (final concentration: 0, 50, 100, 250 μM) for 3 hrs. Top: representative photos of dihydroethidium (dHEt) staining (red). Scale bar = 100 μm . Bottom: Combination graphs of cell viability, nuclear HMGB1 signals, and dHEt signal density. Cell viability and HMGB1 signal density were expressed as percentage of control.

令和2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)
総括研究報告書 (H30-医薬-一般-004)
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

分担研究報告書

危険ドラッグの生体内挙動とその有害性の相関に関する研究

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： 田中宏幸 (岐阜県保健環境研究所 生活科学部)
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： 木下智絵 (岐阜薬科大学 薬物動態学研究室)
研究協力者： 伊藤宏輔 (岐阜薬科大学 薬物動態学研究室)
研究協力者： 森川美空 (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)

*現所属：岐阜医療科学大学 生薬学研究室

【研究要旨】

昨年度、ラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行い、5F-CUMYL-PINACA および CUMYL-PINACA の代謝物が胆汁中に排出されたことを受け、今年度は糞便中からの代謝物の同定を試みた。各 SCs はラットに i.v.投与され、糞便サンプルは、各 SCs 投与時点から 24, 48, 72 時間経過した段階で採集した。採集した糞便にサンプル処理を行い、測定には LCMS-IT-TOF を使用した。

またこれまで、生体内での代謝挙動解明のため、ヒトサンプルに代わるものとしてラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行ってきた。そこで、ヒトとラットの薬物代謝に関する種差を確認するため、ヒト肝ミクロソーム (HLMs) とラット肝ミクロソーム (RLMs) を用いた 5F-CUMYL-PINACA と CUMYL-PINACA の *in vitro* 代謝実験を行い、代謝挙動の解明と比較を試みた。

In vivo 代謝実験の結果より、両 SCs とともに胆汁で最も多く検出された代謝物 (一水酸化体) が、糞便からも検出できることが明らかとなった。また、糞便からの代謝物の検出は最長で 48 時間経過サンプルまで可能であり、ヒトにおいても糞便の採取により使用薬物を特定できる可能性が示唆された。

HLMs または RLMs を用いた *In vitro* 代謝実験では、各 SCs とともに半減期に違いが確認され、5F-CUMYL-PINACA では $t_{1/2}(\text{RLMs}) < t_{1/2}(\text{HLMs})$ であり、CUMYL-PINACA では $t_{1/2}(\text{RLMs}) > t_{1/2}(\text{HLMs})$ であった。一方で、代謝物の経時変化の傾向と、その結果より推定される代謝経路の違いは見られず、推定された主要代謝物は HLMs、RLMs とともに同じものであった。

In vivo 代謝実験と RLMs を用いた *in vitro* 代謝実験の結果の比較について、ラット胆汁中に排出された主要代謝物と、*in vitro* 代謝実験の主要代謝物は共に各 SCs の一水酸化体であった。しかし、*vivo* と *vitro* でピーク形状に違いが確認され、さらに、*in vitro* 代謝実験で算出した肝クリアランス (CL_H) よりも *in vivo* 代謝実験から算出したクリアランス (CL_{tot}) の方が大きいという結果になった。これまでの研究より、血中と尿中から代謝物が検出されないことが明らかとなっており、クリアランスの差異についてさらなる検討が必要である。

以上のことより、5F-CUMYL-PINACA、CUMYL-PINACA について、*in vitro* 代謝実験の結果から *in vivo* サンプルで検出される主要代謝物を特定すること、また、ヒトにおける代謝挙動の推定においてラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行うことが有用であることが示唆された。

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”の状況が続いてきた¹⁾。また、SCs 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おり²⁾、既報の SCs 代謝実験において、*in vitro* 代謝と *in vivo* 代謝の結果は完全には一致しないことも指摘されている³⁾。従って、*in vivo* 動物実験モデルは、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る。そして、両者の実験における代謝物を明らかにし、そ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 SCs の中で、5F-CUMYL-PINACA とその構造類似物質 CUMYL-PINACA を用いた *in vivo* 代謝実験における、未変化体および代謝物の検出技術の確立並びに、ヒト肝ミクロソーム (HLMs) とラット肝ミクロソーム (RLMs) を用いた *in vitro* 代謝実験によるヒトとラットの代謝挙動の違いについての解明を試みた。

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ィー質量分析装置 (LC/MS) を用い、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. ラットを用いた *in vivo* 代謝実験

糞便採取について、頸静脈をカテーテル処理した 10 週齢の雄の Wistar/ST ラット (SLC、日本) を用い、薬物投与直後から頸静脈カニューレより採血を行った (time point : 0, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240 min)。その後は個別にガラスゲージに入れ、自由摂食下で 3 日間飼育し、薬物投与後 24, 48, 72 時間に糞便を採集した。

胆汁採取について、頸静脈と胆管をカテーテル処理した 10 週齢の雄の Wistar/ST ラット (SLC、日本) を用いた。採血は前述の通りに行い、胆汁は薬物投与から 1 時間ごとにエッペンチューブを交換した。サンプル採取は薬物投与 4 時間後まで行った。

1-1. *in vivo* サンプルの作製

胆汁は、薬物投与前 10 分間のサンプルを収集し、ブランクサンプルとした。

胆汁サンプルの処理について、胆汁 300 μ L に対して、 β -グルクロニダーゼ 52.8 μ L を加え、加水分解処理を行った。その後、アセトニトリル 1200 μ L を加えて除タンパクし、遠心 (12000 rpm, 10 min) したのち、上清を QuEChERS 処理した⁴⁾。処理後、遠心分離 (12000 rpm, 10 min) し、上清を 45°C で遠心乾固した。測定前に 50%アセトニトリルで再溶解しフィルターろ過したものを測定に用いた。

糞便サンプルの処理について、糞便 0.25 \pm 0.01 g に対して 80%アセトニトリル 1800 μ L を添加し、24 時間室温で放置して抽出を行った⁵⁾。抽出物はろ過し、ろ液を遠心分離 (12000 rpm, 10 min) した後、上清 900 μ L を遠心乾固した。乾固したのちに対して、100 mM リン酸 buffer (pH 7.40) 300 μ L と β -グルクロニダーゼ 52.8 μ L を添加し、加水分解処理を行った。その後、アセトニトリル 1200 μ L を加えて除タンパクし、遠心 (12000 rpm, 10 min) したのち、上清を QuEChERS 処理した。処理後、遠心分離 (12000 rpm, 10 min) し、上清を 45°C で遠心乾固した。測定前に 50%アセトニトリルで再溶解しフィルターろ過したものを測定に用いた。

2. 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 らの方法⁶⁾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 または RLMs 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°C の水浴で 3 時間までインキュベートを行った。

2-1. 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°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 1100 μ L を 45°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、フィルター濾過したものを測定に用いた。

3. 代謝実験からの PK パラメーター算出と比較

ミクロソーム固有クリアランス ($CL_{int,micr}$) と半減期は *in vitro* 代謝実験の経時変化の結果をもとに算出した。予測肝固有クリアランス (CL_{int}) は $CL_{int,micr}$ を用いて算出した。肝血流量と算出した CL_{int} を用い、肝クリアランス (CL_H) を算出した。計算は Kevin らの方法³⁾と Baranczewski らの方法⁷⁾を参考に行い、使用した公式については Table. 1 に記載した。

In vivo 代謝実験について、各 SCs の血中濃度は検量線を作成して測定した。その後、PK 解析ソフトを用い、2-コンパートメントモデルに当てはめて PK パラメーターを算出した。胆汁クリアランス (CL_{bile}) は検量線を作成して胆汁中排出量を算出し、血中薬物濃度の AUC_{0-240} で除すことで求めた。

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 5 μ L として測定を行った。LCMS-IT-TOF は、イオン化法として positive electrospray ionization (ESI) 法を用い、測定範囲を m/z 100-700 として測定を行った。なお、イオン蓄積時間は 40 msec. とした。また、各プリカーサー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

代謝物と考えられる溶出ピークから得られた MS² スペクトルのデータより、その構造を推定した。また、代謝物は溶出時間の早いものから順に命名した。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 範囲内である。
- 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。

C. 研究結果

1. *in vivo* 代謝実験における代謝挙動の解析

以前までの報告で胆汁サンプルより数種類の代謝物が検出されることが分かっている (Fig. 1 and Table. 2)。この結果と糞便サンプルから検出された代謝物を比較すると、胆汁で多く検出されていた代謝物 (各 SCs の一水酸化体) を確認することができた。これらの代謝物は最大で薬物投与後 48 時間まで検出することが可能であった。

2. HLMs と RLMs を用いた *in vitro* 代謝実験における代謝挙動の解析

ヒトとラットの代謝挙動の種差を確認するた

め、HLMs または RLMs を用いた *in vitro* 代謝実験を行い代謝挙動の比較を行った。

5F-CUMYL-PINACA について、代謝物の経時変化より推定される代謝経路に種差は確認されず、主要代謝経路は一水酸化体形成と酸化的脱フッ素に続くカルボキシ体形成であった。しかし、各タイムポイントにおける代謝物量に違いが確認された(Figs. 2)。また、確認された代謝物ピークの数にも違いが確認された (Fig. 3 and Table. 4)。

CUMYL-PINACA について、代謝物の経時変化より推定される代謝経路に種差は確認されず、主要代謝経路は一水酸化に続く抱合化またはカルボキシ体形成であった。しかし、各タイムポイントにおける代謝物量に違いが確認された(Figs. 4)。HLMs と RLMs で確認されたピークに違いは見られなかった (Fig. 3 and Table. 4)。

3. PK パラメーター算出と比較

算出した PK パラメーターについては Table. 5 に記載した。半減期 ($t_{1/2}$) について RLMs と HLMs の比較を行うと、5F-CUMYL-PINACA では $t_{1/2}$ (RLMs) < $t_{1/2}$ (HLMs) であり、CUMYL-PINACA では $t_{1/2}$ (RLMs) > $t_{1/2}$ (HLMs) であった。5F-CUMYL-PINACA と CUMYL-PINACA の比較では HLMs・RLMs とともに、5F-CUMYL-PINACA の半減期が長く、代謝抵抗性を示している可能性がある。

In vitro 代謝実験と *in vivo* 代謝実験の比較では、 CL_H が CL_{tot} よりも小さな値となった。胆汁クリアランスの値は CL_{tot} に比して小さく、胆汁中に代謝物が排出されるものの、その割合は全体として低いことが明らかとなった。

D. 考 察

糞便サンプルについて、胆汁で多く検出された代謝物 (一水酸化体) は糞便抽出液からも検出可能であることが明らかとなった。しかし、糞便サンプル処理に関して、採集の時間間隔が 24 時間と長く、その間に代謝物が減衰している恐れや、抽出が足りない恐れ等があるため、今後検討を行っていく必要がある。一方で、最長 48 時間サンプルまで検出可能であったことから、ヒトにおいても薬物摂取から 48 時間後まで摂取薬物の特定ができる可能性が示唆された。

In vitro 代謝実験による種差の確認について、HLMs と RLMs で主要代謝経路の違いは見られず、また主要代謝物についても、5F-CUMYL-PINACA では一水酸化体、CUMYL-PINACA では一水酸化に続いて形成されるカルボキシ体であり、違いは確認されなかった。これらのことより、ラットを用いた *in vivo* 代謝実験の結果から代謝経路と主要代謝物を推定し、それをヒトに外挿できる可能性が示唆された。

一方で、各タイムポイントにおける代謝物量について違いが確認された (Figs. 2 and 4)。この要因として、RLMs と HLMs における酵素活性の違いが考えられる。強く影響が考えられるのは、5F-CUMYL-PINACA では酸化的脱フッ素からケトン体形成時と、未変化体から一水酸化体形成時であり、CUMYL-PINACA では一水酸化体からケトン体形成時である。ラットにおいて、前述の代謝反応がヒトよりも進みやすいと考えられ、この種差によって、RLMs と HLMs の半減期についても違いが生じたと考えられる (Table. 5)。これらの代謝反応に関わる酵素種の特異性については、今後さらなる検討が必要である。

PK パラメーターの比較について *in vitro* 代謝実験 (RLMs) と *in vivo* 代謝実験で、クリアランスの違いが確認された。以前までの研究より、ラットの血中と尿中から代謝物がほとんど検出されないこと、胆汁から代謝物が検出されたことから、肝代謝が主要であると考えられた。また、今回使用した SCs は組織移行性があり、2-コンパートメントモデルに従って血中から薬物が排出されると考えられている。今回行ったクリアランスの比較では、*in vitro* 代謝実験から算出した CL_H と、PK 解析ソフトにより算出された CL_{tot} の比較を行い、 CL_H が CL_{tot} よりも小さい値を示すことが明らかとなった。今回、 CL_H の算出の際に血中薬物遊離率 (f_u) を 1 として算出し、血中タンパク質との結合や脂溶性を考慮していないため、このような差異が生じたと考えられる。

E. 結 論

In vivo 代謝実験より、5F-CUMYL-PINACA、CUMYL-PINACA とともに胆汁から検出された主要代謝物が、糞便でも検出できることが明らかとな

った。また、糞便からの代謝物検出は最長で48時間経過サンプルまで可能であり、ヒトでも、糞便の採取により使用薬物を特定できる可能性が示唆された。

In vitro 代謝実験より、ラット肝ミクロソームとヒト肝ミクロソームともに、主要代謝経路と主要代謝物は同じであった。*In vivo* クリアランスは *in vitro* 予測クリアランスよりも大きな値を示し、これは *in vitro* からクリアランスを算出する際に、血中タンパク結合や脂溶性を考慮しなかったためであると考えられる。*In vitro* 代謝実験の結果から *in vivo* サンプルで検出される主要代謝物を特定すること、また、ヒトにおける代謝挙動の推定においてラットを用いた *in vivo* 代謝実験を行うことが有用であることが示唆された。

F. 参考文献

- 1) Kikura-hanajiri R 危険ドラッグの法規制と流通実態変化. 日本薬理学雑誌 150:129–134, 2017
- 2) Diao X, Huestis MA New synthetic cannabinoids metabolism and strategies to best identify optimal marker metabolites. Front Chem 7:1–15, 2019
- 3) Kevin RC, Lefever TW, Snyder RW, et al In vitro and in vivo pharmacokinetics and metabolism of synthetic cannabinoids CUMYL-PICA and 5F-CUMYL-PICA. Forensic Toxicol 35:333–347, 2017
- 4) Hasegawa K, Minakata K, Gonmori K, et al Identification and quantification of predominant metabolites of synthetic cannabinoid MAB-CHMINACA in an authentic human urine specimen. Drug Test Anal 10:365–371, 2018
- 5) Gray TR, Huestis MA Effect of hydrolysis on identifying prenatal cannabis exposure. 397:2335–2347, 2011
- 6) Erratico C, Negreira N, Norouzizadeh H, et al In vitro and in vivo human metabolism of the synthetic cannabinoid AB-CHMINACA. Drug Test Anal 7:866–876, 2015
- 7) Baranczewski P, Stańczak A, Sundberg K, et al Introduction to in vitro estimation of metabolic stability and drug interactions of new chemical entities in drug discovery and development. Pharmacol Reports 58:453–472, 2006

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kadomura N, Ito T, Kawashima H, Matsuhisa T, Kinoshita T, Soda M, Kohyama E, Iwaki T, Nagai H, Kitaichi K. *In vitro* metabolic profiles of adamantyl positional isomers of synthetic cannabinoids. Forensic Toxicology 39:26-44, 2021

2. 学会発表

- 1) Kinoshita T, Matsuhisa T, Morikawa M, Ito K, Soda M, Tsukamoto K, Iwaki T, Tanaka H, Ito T, Kitaichi K. Evaluation of *in vitro* metabolism and extrapolation approaches between different species for synthetic cannabinoids. CINP 2021 VIRTUAL WORLD CONGRESS, 2021年2月26日-2月28日

H. 知的財産権の出願・登録状況

$t_{1/2} = \ln 2/k$	$t_{1/2} : \text{in vitro half-life}$
$CL_{\text{int.micr}} = k(\text{min}^{-1}) \times \frac{[V]_{\text{incubation}}(\mu\text{L})}{[P]_{\text{incubation}}(\text{mg})} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}(\text{min})} \times \frac{[V]_{\text{incubation}}(\mu\text{L})}{[P]_{\text{incubation}}(\text{mg})}$	$k : \text{elimination rate constant}$
$CL_{\text{int}} = k(\text{min}^{-1}) \times \frac{[V]_{\text{incubation}}(\mu\text{L})}{[P]_{\text{incubation}}(\text{mg})} \times \frac{[Liver](\text{g})}{[BW](\text{kg})} \times SF(\text{mg/g})$	$[V]_{\text{incubation}} : \text{incubation volume}$
$CL_{\text{H}} = \frac{Q \times f_u \times CL_{\text{int}}}{Q + (f_u \times CL_{\text{int}})}$	$[P]_{\text{incubation}} : \text{amount of microsomal protein in the incubation}$
$ER = \frac{CL_{\text{H}}}{Q}$	$[Liver] : \text{liver size}$
	$[BW] : \text{body size}$
	$SF : \text{scaling factor}$
	$Q : \text{hepatic blood flow}$
	$f_u : \text{free fraction in blood}$

Table. 1 Equations to calculate pharmacokinetic parameters in vitro

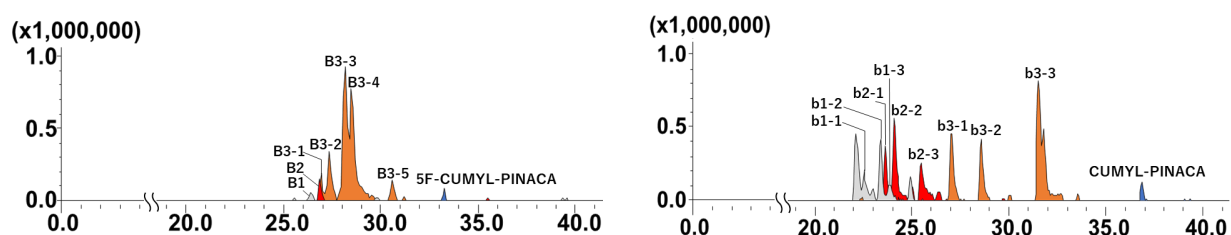


Fig. 1 Combined extracted ion chromatograms of metabolites of 5F-CUMYL-PINACA and CUMYL-PINACA detected from rat bile

Parent compound and Metabolites	Proposed metabolic pathway	Precursor ion		Product ions	bile	feces
		Measured m/z [M+H] ⁺	RT(min)	Measured m/z [M+H] ⁺		
B1	Defluorination+Monohydroxylation + ketone formation	380.1988	26.409	244 262	✓	
B2	Defluorination+Monohydroxylation	366.2166	26.827	248	✓	
B3-1	Monohydroxylation	384.2090	26.931	266	✓	
B3-2	Monohydroxylation	384.2075	27.348	249 266	✓	
B3-3	Monohydroxylation	384.2075	28.184	233 250	✓	✓
B3-4	Monohydroxylation	384.2069	28.497	233 250	✓	
B3-5	Monohydroxylation	384.2086	30.584	266	✓	
5F-CUMYL-PINACA	Parent	368.2142	33.194	233 250	✓	

Parent compound and Metabolites	Proposed metabolic pathway	Precursor ion		Product ions	bile	feces
		Measured m/z [M+H] ⁺	RT(min)	Measured m/z [M+H] ⁺		
b1-1	Dihydroxylation	382.2120	22.529	248	✓	
b1-2	Dihydroxylation	382.2122	23.402	231 248	✓	
b1-3	Dihydroxylation	382.2120	23.838	248	✓	
b2-1	Monohydroxylation + ketone formation	380.1953	23.620	229 246	✓	
b2-2	Monohydroxylation + ketone formation	380.1968	24.057	229 246	✓	
b2-3	Monohydroxylation + ketone formation	380.1985	25.475	246 262	✓	
b3-1	Monohydroxylation	366.2176	27.002	248	✓	
b3-2	Monohydroxylation	366.2166	28.584	248	✓	
b3-3	Monohydroxylation	366.2182	31.530	215 232	✓	✓
CUMYL-PINACA	Parent	350.2218	36.876	232	✓	

Table. 2 Metabolites of 5F-CUMYL-PINACA and CUMYL-PINACA detected from rat bile and their presence in rat bile and feces

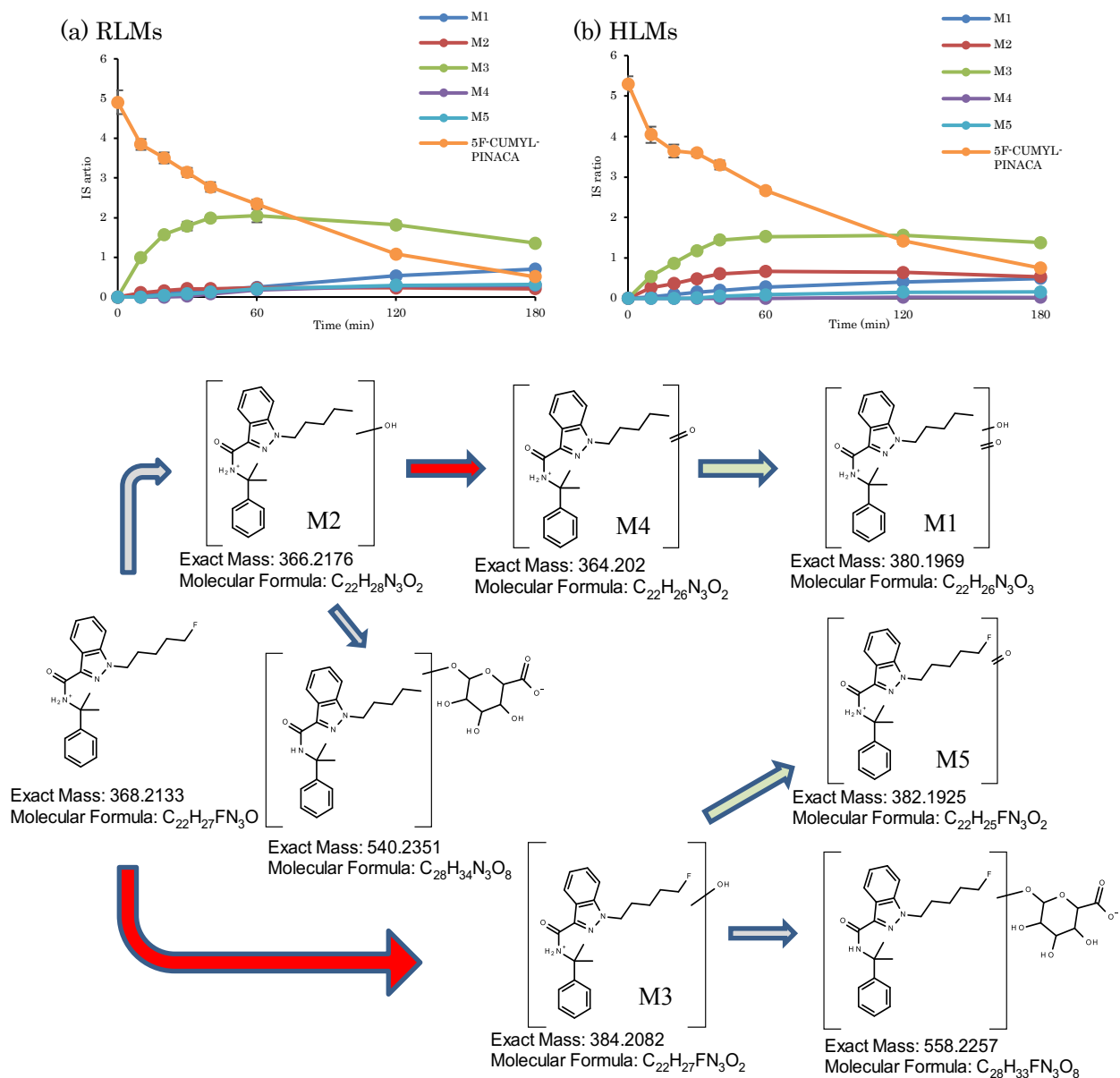


Fig. 2 Production of the metabolites of 5F-CUMYL-PINACA (a: using rat liver microsomes, b: using human liver microsomes) and proposed metabolic pathways

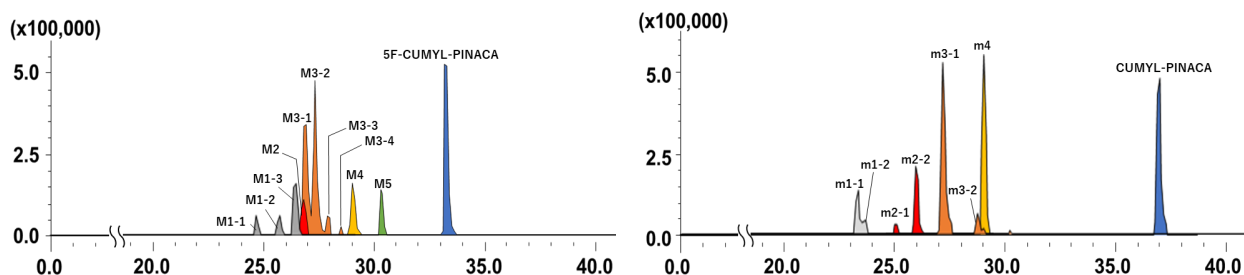


Fig. 3 Combined extracted ion chromatograms of metabolites of 5F-CUMYL-PINACA and CUMYL-PINACA after 4-h incubation with rat liver microsomes

Parent compound and Metabolites	Proposed metabolic pathway	Precursor ion		Product ions	rat liver microsomes	human liver microsomes
		Measured m/z [M+H] ⁺	RT(min)	Measured m/z [M+H] ⁺		
M1-1	Defluorination+Monohydroxylation + ketone formation	380.1966	24.634	262	✓	
M1-2	Defluorination+Monohydroxylation + ketone formation	380.1960	25.678	262	✓	
M1-3	Defluorination+Monohydroxylation + ketone formation	380.1973	26.409	244 262 324	✓	✓
M2	Defluorination+Monohydroxylation	366.2184	26.827	248	✓	✓
M3-1	Monohydroxylation	384.2071	26.931	249 266	✓	✓
M3-2	Monohydroxylation	384.2064	27.348	249 266	✓	✓
M3-3	Monohydroxylation	384.2097	27.870	266	✓	✓
M3-4	Monohydroxylation	384.2077	28.497	250	✓	✓
M4	Defluorination+ketone formation	364.2013	30.271	246	✓	✓
M5	Defluorination+Dihydroxylation	382.1926	29.019	264	✓	✓
5F-CUMYL-PINACA	Parent	368.2117	33.194	233 250	✓	✓

Parent compound and Metabolites	Proposed metabolic pathway	Precursor ion		Product ions	rat liver microsomes	human liver microsomes
		Measured m/z [M+H] ⁺	RT(min)	Measured m/z [M+H] ⁺		
m1-1	Dihydroxylation	382.2141	23.103	264	✓	✓
m1-2	Dihydroxylation	382.2128	23.474	264	✓	✓
m2-1	Monohydroxylation + ketone formation	380.1970	25.052	245 262	✓	✓
m2-2	Monohydroxylation + ketone formation	380.1979	25.887	245 262	✓	✓
m3-1	Monohydroxylation	366.2165	27.186	248	✓	✓
m3-2	Monohydroxylation	366.2167	28.763	248	✓	✓
m4	Ketone formation	364.2003	29.041	229 246	✓	✓
CUMYL-PINACA	Parent	350.2210	37.021	215 232	✓	✓

Table. 4 Metabolites of 5F-CUMYL-PINACA and CUMYL-PINACA following incubation with rat and human liver microsomes

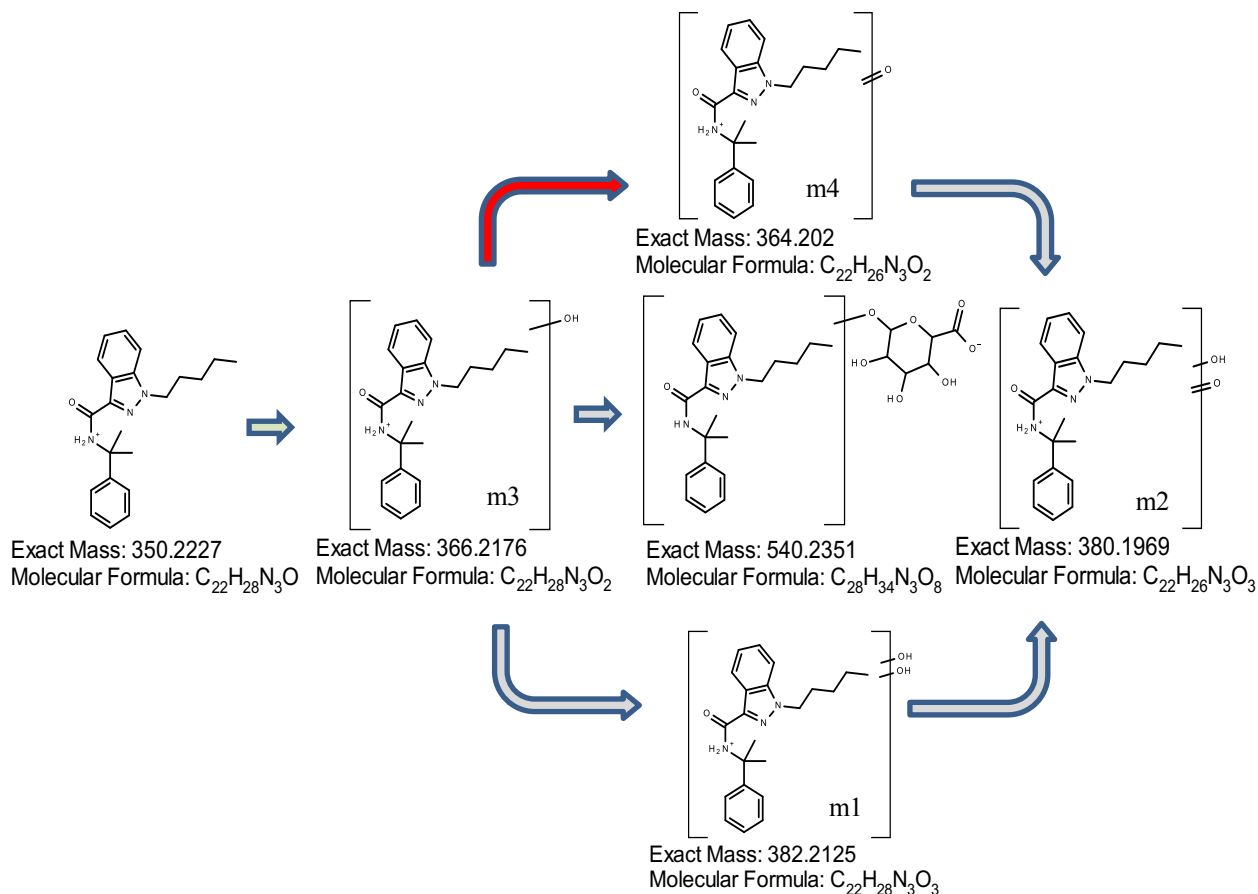
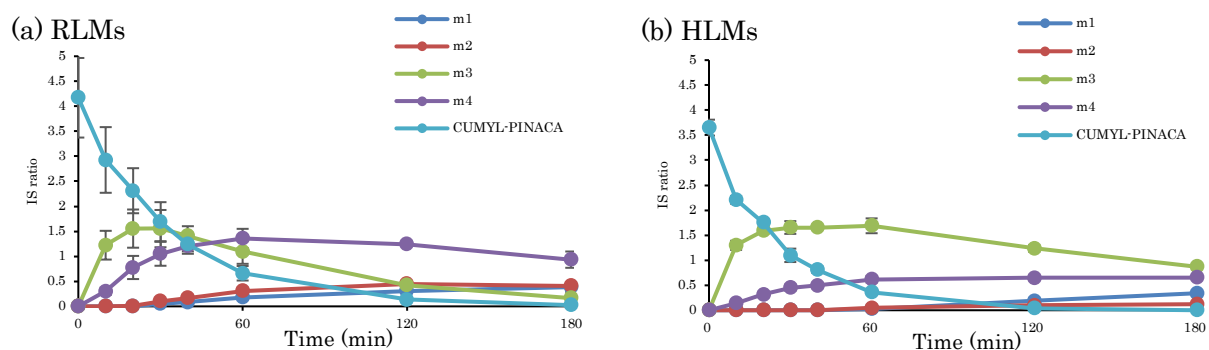


Fig. 4 Production of the metabolites of CUMYL-PINACA (a: using rat liver microsomes, b: using human liver microsomes) and proposed metabolic pathways

Pharmacokinetic parameter	rat liver microsomes	human liver microsomes
5F-CUMYL-PINACA		
Half-life (min)	56.82	67.30
CL_{int} (mL/min/kg body wt.)	19036.70	16071.97
CL_H (mL/min/kg body wt.)	19.98	19.98
CUMYL-PINACA		
Half-life (min)	24.41	18.39
CL_{int} (mL/min/kg body wt.)	44314.94	58826.53
CL_H (mL/min/kg body wt.)	19.99	19.99

Pharmacokinetic parameter	5F-CUMYL-PINACA	CUMYL-PINACA
Rat plasma		
Alpha Half-life (min)	3.88	4.40
Beta Half-life (min)	78.68	79.96
CL_{tot} (mL/min/kg body wt.)	73.61	33.23
$AUC_{0-\infty}$ (min*ng/mL)	7148.76	9774.95
AUC_{0-240} (min*ng/mL)	6292.17	8708.03
Rat bile		
CL_{bile} (mL/min/kg body wt.)	0.92	0.56

Table. 5 Pharmacokinetic parameters of 5F-CUMYL-PINACA and CUMYL-PINACA incubated in rat and human liver microsomes in vitro and rat plasma in vivo

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：猪浦 智史（国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部）
山田 理沙（国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部）

【研究要旨】

【目的】本研究の目的は、薬物使用者が多いレクリエーション・セッティングの一つとして野外フェスティバルの来場者を対象とした調査を通じて、大麻使用者の特徴を明らかにすることである。具体的には、1) 大麻使用とアルコール摂取との関係性を明らかにすること、2) 海外における大麻の合法化（非犯罪化）が、レクリエーション・セッティングの対象者に与える影響を調べることを目的とした。

【方法】対象は、関東地方で開催された音楽関連の野外イベント（野外フェスティバル）に参加した16歳以上の来場者であった。計2回のイベントで、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、計437名より有効回答を得た。大麻の使用経験に基づき、大麻使用経験の無いNon-users (n=382)、大麻使用経験はあるが、1年以内の使用がないEx-users (n=44)、過去1年以内に大麻を使用したCurrent-users (n=11)の3群に分類した。

【結果】

3. 飲酒に関する結果は、過去1年間の飲酒率はNon-users (81.4%)、Ex-users (61.4%)、Current-users (100%)であった ($p=0.003$)。過去30日間の飲酒率は、Non-users (68.6%)、Ex-users (54.5%)、Current-users (81.8%)であった ($p=0.102$)。過去30日間のビンジ飲酒率は、Non-users (42.7%)、Ex-users (38.6%)、Current-users (72.7%)であった ($p=0.113$)。
4. 北米における大麻合法化に対する考えは、Non-usersは、「医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対」が52.4%と最も多かった。Ex-usersおよびCurrent-usersは「どのような目的でも賛成」という回答が最も多かった (Ex-users : 40.9%、Current-users : 90.9%) ($p<0.001$)。

【結論】過去1年以内に大麻の使用経験を有するCurrent-usersの飲酒率（過去1年間）、飲酒率（過去30日間）、ビンジ飲酒率（過去30日間）は、他の群に比べて高いという結果が得られたが、統計学的に有意な差は検出できなかった。本研究のデータからは大麻使用者におけるアルコール関連の問題性は見いだせなかった。国内の大麻使用者の多くが北米における大麻合法化（医療目的、嗜好目的の両方）に賛同していた。大麻使用経験のない者であっても、大麻の医療目的での利用については賛同していた。

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。2019

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、大麻使用の生涯経験率は1.8%（推計値）であり、これは調査が開始された1995年以降で最も高い数字となった¹⁾。調査対象とな

った 15～64 歳の人口に換算すると、生涯経験者数は全国で約 160 万人に該当する。全国住民調査を通じて得られる各種情報は、わが国の薬物使用の動向を把握する上での基礎資料として活用できるが、調査項目が飲酒・喫煙・医薬品の使用状況も含め多岐に渡るため、大麻や危険ドラッグに関して得られる情報は相対的に少ない。

本研究では薬物乱用の実態把握のための効果的な調査手法として、一般住民に比べて薬物使用率が高いことが報告されているレクリエーション・セティングに着目した。先行研究においては、ナイトクラブの来場者を対象とした調査により、MDMA に関する乱用実態を報告した²⁾。近年では音楽系の野外フェスティバルの来場者を対象とした調査により危険ドラッグの乱用実態を報告した³⁾。

本研究の目的は、野外フェスティバルの来場者を対象とした調査を通じて、大麻使用者の特徴を明らかにすることである。しかしながら、新型コロナウイルス感染拡大に伴い、今年度は多くの野外フェスティバルが開催中止となり、新たな情報を収集することができなかった。そこで、今年度は 2018 年度および 2019 年度に取得したデータを再分析し、大麻使用実態に関する新たな知見を得ることを目的とした。

第一の目的は、大麻使用とアルコール摂取との関係性を明らかにすることである。大麻は、高頻度でアルコールと一緒に使われることがある⁴⁾。米国の若年層を対象とした調査によれば、19～30 歳の飲酒者のうち、約 20-30%が過去 1 年以内に大麻との同時使用 (simultaneous alcohol and marijuana use) を経験していることが報告されている⁵⁾。若年期に大麻とアルコールを同時に使うことは、成年期において薬物依存と診断されるリスクが上昇し、高校を退学するリスクが上昇するなどのネガティブな結果につながる事が報告されている⁶⁻¹⁰⁾。そこで、本研究では飲酒経験のみならず、アルコール急性中毒や違法薬物使用との関連が指摘されているビンジ飲酒 (Binge drinking)^{11,12)} や、飲酒衝動が高まる事が指摘されているエナジー

ドリンクとアルコールとのカクテル (alcohol mixed with energy drinks :AmED)¹³⁾ についても調査し、大麻使用との関係を調べる。

第二の目的は、海外における大麻の合法化 (非犯罪化) が、レクリエーション・セティングの対象者に与える影響を調べることである。大麻は国際条約 (麻薬に関する単一条約) で規制されている薬物であるが、各国の規制状況はまちまちである。医療用大麻としての利用を認めている国もあれば、カナダのように嗜好目的での使用を認めている国もある。わが国の一般住民調査では、若年層を中心に、「大麻を使うことは個人の自由である」のように大麻使用を肯定する考えを持つ者が増加している¹⁾。一方、大麻の単純所持により検挙された者を対象とした調査によれば、「大麻が合法的な国がある」ことが大麻の危険性を軽視する理由で最も多いことが報告されている¹⁴⁾。そこで本研究では、北米における大麻合法化 (医療目的、嗜好目的の両面) に対する考えについて、大麻使用者と非使用者を比較することを目的とした。

B. 研究方法

1. 対象者

対象は、関東地方で開催された音楽関連の野外イベント (野外フェスティバル) に参加した 16 歳以上の来場者 437 名である。調査は、2018 年 9 月および 2019 年 9 月の 2 回実施した。なお、調査を実施したイベントの開催場所や内容は異なる。

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を求めた。

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提示した回答者には、謝礼品(音楽 CD や野外イベントに関するグッズ)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した。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し、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した。また、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

1) 大麻使用

大麻使用に関する情報は、生涯経験(一度も使ったことがない、1 回使用、数回使用、数え切れないくらい使用の 4 段階)、過去 1 年経験(あり、なし)を尋ねた。2 つの変数を合成し、計 437 名の対象者を大麻使用経験の無い Non-users (n=382)、大麻使用経験はあるが、1 年以

内の使用がない Ex-users (n=44)、過去 1 年以内に大麻を使用した Current-users (n=11) の 3 群に分類した。

2) アルコール使用

アルコール使用に関する情報は、過去 1 年飲酒経験 (あり、なし)、過去 30 日間の飲酒頻度 (0 日、1~2 日、3~5 日、6~9 日、10~19 日、20~29 日、毎日の 7 段階)、過去 30 日間のビンジ飲酒の頻度 (0 日、1~2 日、3~5 日、6~9 日、10~19 日、20~29 日、毎日の 7 段階)、エナジードリンクとアルコールを混ぜたカクテル (以降、エナジーカクテルと表記) の生涯使用経験 (一度もない、1 回、数回、数え切れないの 4 段階) を尋ねた。

なお、ビンジ飲酒については、米国の薬物乱用・精神衛生管理庁 (Substance Abuse and Mental Health Services Administration) によって、Binge drinking を「一回の飲酒機会 (例えば、2 時間くらいの飲み会で) に、多くのお酒 (男性の場合は 5 杯以上、女性の場合は、4 杯以上) を飲むこと」と定義されており、この定義を採用した。

3) 大麻の合法化に対する考え

大麻の合法化に対する考えについては、「アメリカの一部の州や、カナダでは、大麻の医療目的での使用や、嗜好目的 (レクリエーション) での使用が合法化される動きがあります。これについて、あなたはどのように考えますか?」という質問をした。回答は、「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」から 1 つを選択する形式をとった。

4) その他

その他、基本属性として、性別、年齢、関連項目として、喫煙経験 (過去 1 年、過去 30 日)、エナジードリンク使用 (過去 30 日)、CBD 製品の使用経験について尋ねた。

5. 統計解析

大麻の合法化に対する考えを除くカテゴリカル変数については、回答を「あり」「なし・不明」の二値に再分類した。不明回答や無効回答は「なし」に含めた。

すべての変数について、大麻使用群 (Non-users、Ex-users、Current-users) とクロス集計を行った。群間の有意差検定は、量的変数については t 検定を、カテゴリカル変数についてはフィッシャーの直接確率法を用いた。さらに、各項目の調整済み残差を計算し、絶対値 1.96 を基準に有意差を判定した。

C. 研究結果

1. 記述統計の結果

対象者の基本属性について、平均年齢は、Non-users (41.9 歳)、Ex-users (42.1 歳)、Current-users (38.6 歳) であった。性別は、男性が占める割合が Non-users (43.5%)、Ex-users (84.1%)、Current-users (63.6%) であった。

飲酒に関する結果は、過去 1 年間の飲酒率は Non-users (81.4%)、Ex-users (61.4%)、Current-users (100%) であった。過去 30 日間の飲酒率は、Non-users (68.6%)、Ex-users (54.5%)、Current-users (81.8%) であった。過去 30 日間のビンジ飲酒率は、Non-users (42.7%)、Ex-users (38.6%)、Current-users (72.7%) であった。

喫煙に関する結果は、過去 1 年間の喫煙率は Non-users (20.9%)、Ex-users (56.8%)、Current-users (90.9%) であった。過去 30 日間の喫煙率は、Non-users (19.1%)、Ex-users (54.5%)、Current-users (81.8%) であった。

エナジードリンクに関する結果は、過去 30 日間のエナジードリンク使用率は、Non-users (24.6%)、Ex-users (34.1%)、Current-users (18.2%) であった。エナジーカクテルの使用率 (生涯) は、Non-users (5.5%)、Ex-users (20.5%)、Current-users (18.2%) であった。

CBD 製品の使用率は、Non-users (2.4%)、Ex-users (27.3%)、Current-users (36.4%) であった。北米における大麻合法化に対する考えは、Non-

users においては、「医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対」が 52.4%と最も多かった。Ex-users および Current-users は「どのような目的でも賛成」という回答が最も多かった (Ex-users : 40.9%、Current-users : 90.9%)。

2. 群間比較の結果

フィッシャーの直接確率法により、性別 ($p<0.001$)、過去 1 年間の飲酒率 ($p=0.003$)、過去 1 年間の喫煙率 ($p<0.001$)、過去 30 日間の喫煙率 ($p<0.001$)、エナジーカクテルの使用率 ($p=0.001$)、CBD 製品の使用率 ($p<0.001$)、北米における大麻合法化に対する考え ($p<0.001$) の 7 項目について有意差が認められた。一方、過去 30 日間の飲酒率 ($p=0.102$)、過去 30 日間のビンジ飲酒率 ($p=0.113$)、過去 30 日間のエナジードリンク使用率 ($p=0.350$) については群間に有意差は認められなかった。

次に、残差分析による群間比較を行ったところ、男性の比率は、Non-users が有意に低く、Ex-users が有意に高かった。過去 1 年間の飲酒率は、Non-users が有意に高く、Ex-users が有意に低かった。

喫煙率は、過去 1 年間および過去 30 日間のいずれも、Non-users が有意に低く、Ex-users および Current-users が有意に高かった。

エナジーカクテルの使用率は、Non-users が有意に低く、Ex-users が有意に高かった。

CBD 製品の使用率は、Non-users が有意に低く、Ex-users および Current-users が有意に高かった。北米における大麻合法化に対する考えは、Non-users 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」が有意に多く、Ex-users は「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」が有意に多く、Current-users は「どのような目的でも賛成」が有意に多かった。

D. 考察

本研究では、レクリエーション・セッティングの一つとして音楽関連の野外イベント（野

外フェスティバル）の来場者を対象とした実態調査を通じて、大麻使用者の特徴を明らかにすることを目的とした。

第一の目的であった大麻使用とアルコール摂取との関係性については、飲酒率（過去 1 年間）、飲酒率（過去 30 日間）、ビンジ飲酒率（過去 30 日間）のいずれも、3 群の中で Current-users の経験率が最も高いという結果が得られたが、統計学的に有意な差は検出できなかった。したがって、本研究のデータからは、大麻使用者は非使用者に比べて、飲酒頻度が高かったり、ビンジ飲酒などリスクの高いアルコール摂取をしたりといったアルコール関連の問題性は見いだせなかった。群間の有意差を検出できなかった背景として、Current-users のサンプルサイズが小さいことが影響していると考えられる。今後の研究としては、Current-users の対象者数をさらに増やした上で改めて分析を行うなどの検討を要する。

エナジーカクテルの摂取については、Current-users、Ex-users の両群が Non-users に比べ高いという結果が得られている。ただし、エナジーカクテルの摂取については生涯経験を尋ねており、必ずしも直近の経験を反映しておらず、横断的に得られたデータで、大麻使用との関係性を説明することは難しい。

先行研究において、ビンジ飲酒は、危険運転に関連することが報告されている¹⁵⁾。また、大麻とアルコールとの併用は、運転への影響を悪化させることが指摘されている¹⁶⁾。さらには、米国アリゾナ州の受傷者を対象とした調査によれば、16~20 歳の若年受傷者の約 4 人に 1 人が、アルコール、THC、あるいはその両者の物質に陽性反応がみられたことが報告¹⁷⁾されている。このように大麻使用とアルコール摂取の間には関連性があり、今後も国内データを使って、両者の関係性を調べていくことが必要である。

第二の目的であった海外における大麻の合法化（非犯罪化）が、レクリエーション・セッティングの対象者に与える影響であるが、大麻使用経験のある Ex-users および Current-users

は、医療目的であっても、嗜好目的であっても大麻を合法化しているカナダやアメリカの動きに賛同する割合が Non-users よりも有意に高いという結果が得られた。これは自らの大麻の使用経験を報告している対象者としては当然の結果といえる。一方、大麻の使用経験のない Non-users においては、「医療目的は賛成だが、嗜好目的は反対」という回答が最も多いという結果が得られた。近年、海外では大麻由来の医薬品として、Sativex®、Epidiolex®といった医薬品が承認されている。本研究の結果は、大麻使用経験のない者であっても、大麻を医薬品として活用していくことに対しては半数以上が賛成していることを意味する。もちろん、本研究はレクリエーション・セッティングにおける一部の来場者のみを対象とした調査であり、対象者に代表性はない。今後は、一般住民調査など代表性のある集団において同様の調査をしていくことが必要と考えられる。

E. 結論

本研究では、大麻使用者の特徴を明らかにすることを目的として、レクリエーション・セッティングの一つとして音楽関連の野外イベント（野外フェスティバル）の来場者を対象とした実態調査を実施し、次の知見を得た。

- 1) 過去 1 年以内に大麻の使用経験を有する Current-users の飲酒率（過去 1 年間）、飲酒率（過去 30 日間）、ビンジ飲酒率（過去 30 日間）は、他の群に比べて高いという結果が得られたが、統計学的に有意な差は検出できなかった。本研究のデータからは大麻使用者におけるアルコール関連の問題性は見いだせなかった。
- 2) 国内の大麻使用者の多くが北米における大麻合法化（医療目的、嗜好目的の両方）に賛同していた。大麻使用経験のない者であっても、大麻の医療目的での利用については賛同していた。

F. 参考文献

- 1) 嶋根卓也, 猪浦智史, 邱冬梅, 和田清: 薬物使用に関する全国住民調査 (2019 年) . 令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金医薬品・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・依存状況の実態把握と薬物依存症者の社会復帰に向けた支援に関する研究 (研究代表者: 嶋根 卓也)」分担研究報告書, pp19-120, 2020.
- 2) Shimane T, Hidaka Y, Wada K, Funada M: Ecstasy (3, 4-methylenedioxymethamphetamine) use among Japanese rave population, *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 67:12-19,2013.
- 3) 山田理沙, 嶋根卓也, 船田正彦: レクリエーション・セッティングにおける危険ドラッグ使用パターンの男女別検討、*日本アルコール・薬物医学会雑誌* 54 (6) ,272-285, 2020.
- 4) Subbaraman MS, Kerr WC. Simultaneous versus concurrent use of alcohol and cannabis in the National Alcohol Survey. *Alcohol Clin Exp Res*. 2015 May;39 (5) :872-9. doi: 10.1111/acer.12698. PMID: 25872596; PMCID: PMC4399000.
- 5) Terry-McElrath YM, Patrick ME. Simultaneous Alcohol and Marijuana Use Among Young Adult Drinkers: Age-Specific Changes in Prevalence from 1977 to 2016. *Alcohol Clin Exp Res*. 2018 Nov;42 (11) :2224-2233. doi: 10.1111/acer.13879. Epub 2018 Sep 14. PMID: 30277588; PMCID: PMC6214706.
- 6) Green KM, Musci RJ, Johnson RM, Matson PA, Reboussin BA, Ialongo NS. Outcomes associated with adolescent marijuana and alcohol use among urban young adults: A prospective study. *Addict Behav*. 2016 Feb;53:155-60. doi: 10.1016/j.addbeh.2015.10.014. Epub 2015 Oct 23. PMID: 26517712; PMCID: PMC4679455.
- 7) Lee CM, Patrick ME, Fleming CB, Cadigan JM, Abdallah DA, Fairlie AM, Larimer ME. A

- Daily Study Comparing Alcohol-Related Positive and Negative Consequences for Days With Only Alcohol Use Versus Days With Simultaneous Alcohol and Marijuana Use in a Community Sample of Young Adults. *Alcohol Clin Exp Res.* 2020 Mar;44 (3) :689-696. doi: 10.1111/acer.14279. Epub 2020 Feb 5. PMID: 32022945; PMCID: PMC7306057.
- 8) Midanik LT, Tam TW, Weisner C. Concurrent and simultaneous drug and alcohol use: results of the 2000 National Alcohol Survey. *Drug Alcohol Depend.* 2007 Sep 6;90 (1) :72-80. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2007.02.024. Epub 2007 Apr 18. PMID: 17446013; PMCID: PMC2043125.
- 9) Shillington AM, Clapp JD. Substance use problems reported by college students: combined marijuana and alcohol use versus alcohol-only use. *Subst Use Misuse.* 2001 Apr;36(5) :663-72. doi: 10.1081/ja-100103566. PMID: 11419493.
- 10) Stein MD, Caviness CM, Anderson BJ. Alcohol use potentiates marijuana problem severity in young adult women. *Womens Health Issues.* 2014 Jan-Feb;24 (1) :e77-82. doi: 10.1016/j.whi.2013.10.005. PMID: 24439950; PMCID: PMC3896888.
- 11) Loheswaran G, Barr MS, Rajji TK, Blumberger DM, Le Foll B, Daskalakis ZJ. Alcohol Intoxication by Binge Drinking Impairs Neuroplasticity. *Brain Stimul.* 2016 Jan-Feb;9 (1) :27-32. doi: 10.1016/j.brs.2015.08.011. Epub 2015 Aug 28. PMID: 26433610.
- 12) Raposo JCDS, Costa ACQ, Valença PAM, Zarzar PM, Diniz ADS, Colares V, Franca CD. Binge drinking and illicit drug use among adolescent students. *Rev Saude Publica.* 2017 Sep 4;51:83. doi: 10.11606/S1518-8787.2017051006863. PMID: 28876411; PMCID: PMC5574466.
- 13) McKetin R, Coen A. The effect of energy drinks on the urge to drink alcohol in young adults. *Alcohol Clin Exp Res.* 2014 Aug;38 (8) :2279-85. doi: 10.1111/acer.12498. Epub 2014 Jul 17. PMID: 25041069.
- 14) 警察庁：大麻乱用者の実態に関する調査結果. NEWS LETTER KNOW, 麻薬・覚醒剤乱用防止センター、2020.
- 15) Vaca FE, Li K, Luk JW, Hingson RW, Haynie DL, Simons-Morton BG. Longitudinal Associations of 12th-Grade Binge Drinking With Risky Driving and High-Risk Drinking. *Pediatrics.* 2020 Feb;145 (2) :e20184095. doi: 10.1542/peds.2018-4095. Epub 2020 Jan 6. PMID: 31907291; PMCID: PMC6993274.
- 16) Hartman RL, Huestis MA. Cannabis effects on driving skills. *Clin Chem.* 2013 Mar;59 (3) :478-92. doi: 10.1373/clinchem.2012.194381. Epub 2012 Dec 7. PMID: 23220273; PMCID: PMC3836260.
- 17) Shults RA, Jones JM, Komatsu KK, Sauber-Schatz EK. Alcohol and marijuana use among young injured drivers in Arizona, 2008-2014. *Traffic Inj Prev.* 2019;20 (1) :9-14. doi: 10.1080/15389588.2018.1527032. Epub 2019 Jan 25. PMID: 30681899; PMCID: PMC7042953.

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shimane T, Takahashi M, Kobayashi M, Takagishi Y, Takeshita Y, Kondo A, Omiya S, Takano Y, Yamaki M, Matsumoto T. Gender differences in the relationship between methamphetamine use and high-risk sexual behavior among prisoners: A nationwide, cross-sectional survey in Japan. *Journal of Psychoactive Drugs*, 2021. (in press)
2. Kondo A, Shimane T, Takahashi M, Takeshita Y, Kobayashi M, Takagishi Y, Omiya S, Takano Y, Yamaki M, Matsumoto T. Gender Differences in Triggers of Stimulant Use Based on the National

- Survey of Prisoners in Japan. *Subst Use Misuse*. 2021;56 (1) :54-60. doi: 10.1080/10826084.2020.1833930. Epub 2020 Oct 24. PMID: 33100112.
3. Inoura S, Shimane T, Kitagaki K, Wada K, Matsumoto T. Parental drinking according to parental composition and adolescent binge drinking: findings from a nationwide high school survey in Japan. *BMC Public Health*. 2020;20 (1) :1878. <http://doi.org/10.1186/s12889-020-09969-8>.
 4. Yamada R, Shimane T, Kondo A, Yonezawa M, Matsumoto T. The relationship between severity of drug problems and perceived interdependence of drug use and sexual intercourse among adult males in drug addiction rehabilitation centers in Japan. *Subst Abuse Treat Prev Policy*. 2021 Jan 7;16 (1) :5. doi: 10.1186/s13011-020-00339-6. PMID: 33413509; PMCID: PMC7791778.
 5. Matsumoto T, Kawabata T, Okita K, Tanibuchi Y, Funada D, Murakami M, Usami T, Yokoyama R, Naruse N, Aikawa Y, Furukawa A, Komatsuzaki C, Hashimoto N, Fujita O, Umemoto A, Kagaya A, Shimane T. Risk factors for the onset of dependence and chronic psychosis due to cannabis use: Survey of patients with cannabis-related psychiatric disorders. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2020 Dec;40 (4) :332-341. doi: 10.1002/npr2.12133. Epub 2020 Sep 7. PMID: 32896111; PMCID: PMC7722680.
 6. Takeshima M, Otsubo T, Funada D, Murakami M, Usami T, Maeda Y, Yamamoto T, Matsumoto T, Shimane T, Aoki Y, Otowa T, Tani M, Yamanaka G, Sakai Y, Murao T, Inada K, Yamada H, Kikuchi T, Sasaki T, Watanabe N, Mishima K, Takaesu Y. Does cognitive behavioral therapy for anxiety disorders assist the discontinuation of benzodiazepines among patients with anxiety disorders? A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2021 Jan 15. doi: 10.1111/pcn.13195. Epub ahead of print. PMID: 33448517.
 7. 嶋根卓也, 邱 冬梅, 和田 清: 日本における大麻使用の現状: 薬物使用に関する全国住民調査 2017 より, *YAKUGAKU ZASSHI*, 140 (2) ,173-178, 2020.
 8. 嶋根卓也. 薬物乱用状況のアップデート: 薬物使用に関する全国住民調査 2019 より. *Newsletter KNOW (麻薬・覚せい剤乱用防止センター)*, 第 103 号、p2-5,2020.
 9. 嶋根卓也: 薬物依存症者の理解とサポート、*法律のひろば* 74 (1) , 57-66, 2021.
 10. 嶋根卓也: 薬物乱用防止のために地域の薬局ができること、*調剤と情報* 27 (1) , 89-96,2021.
 11. 嶋根卓也: 第 8 章 性的マイノリティ・HIV 感染者の理解と支援. 物質使用障害の治療 多様なニーズに応える治療 回復支援 (松本俊彦編著), 金剛出版, 東京, pp141-155, 2020.
 12. 嶋根卓也: 第 12 章 薬物乱用防止教育とステイグマ. *アディクション・スタディーズ* 薬物依存症を捉えなおす 13 章 (松本俊彦編), 日本評論社, pp201-214, 2020.
 13. 山田理沙, 嶋根卓也, 船田正彦: レクリエーション・セッティングにおける危険ドラッグ使用パターンの男女別検討, *日本アルコール・薬物医学会雑誌* 54 (6) , 272-285, 2020.
 14. 谷真如, 高野洋一, 高宮英輔, 嶋根卓也: 覚せい剤取締法違反により刑事施設に入所した刑の一部執行猶予者の心理・社会的特徴, *犯罪心理学研究*, 57 (2) , 1-15, 2020.
2. 学会発表
 1. Yamada, R., Shimane T, Kondo, A., Yonezawa, M. and Matsumoto, T. The relationship between the perception of “drugs–sex connection” with unprotected sex behavior in rehabilitation centers for drug addiction in Japan. the CINP 2021 Virtual World Congress, 26-28 February,2021.
 2. 嶋根卓也、小林美智子、高橋哲、竹下賀子、

- 高岸百合子、大宮 宗一郎、近藤あゆみ、高野洋一、山木麻由子、松本俊彦：ミニセッション S5「覚せい剤事犯者の理解とサポート：性差に着目した分析、覚せい剤事犯者における薬物依存症の重症度と再犯との関連：性差に着目した分析. 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
3. 嶋根卓也：シンポジウム 4「オピオイド鎮痛薬、乱用のその先」、仲間と共に回復する薬物依存-ダルク追っかけ調査より-. 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
 4. 嶋根卓也：シンポジウム 6「HIV 感染症と薬物使用（依存）の予防」, Understanding and supporting drug users with HIV infection in Japan. 第 34 回日本エイズ学会学術集会, Web, 2020.11.27-29.
 5. 児玉知子, 大澤絵里, 浅見真理, 戸次香奈江, 松岡佐織, 嶋根卓也, 松本俊彦, 三浦宏子, 樺田尚樹, 横山徹爾：日本における Universal Health Converge の達成状況と課題. 第 35 回日本国際保健医療学会学術大会日本国際保健医療学会, Web 2020.11.1-3.
 6. 高岸百合子、嶋根卓也、小林美智子、高橋哲、竹下賀子、大宮 宗一郎、近藤あゆみ、高野洋一、山木麻由子、松本俊彦：ミニセッション S5「覚せい剤事犯者の理解とサポート：性差に着目した分析、覚せい剤事犯者が自覚している薬物使用の引き金とメリット・デメリットとの関連. 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
 7. 近藤あゆみ、嶋根卓也、高橋哲、小林美智子、高岸百合子、大宮 宗一郎、高野洋一、山木麻由子、松本俊彦：ミニセッション S5「覚せい剤事犯者の理解とサポート：性差に着目した分析、覚せい剤事犯女性の出所後の薬物依存症治療. 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
 8. 引土絵未、嶋根卓也、小高真美、ほか：薬物依存症者の就労に関する研究：特例子会社を対象とした依存症者の就労に関する意識調査, 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
 9. 大宮宗一郎, 嶋根卓也, 近藤あゆみ, 高岸百合子, 小林美智子, 酒谷徳二, 服部真人, 喜多村真紀, 伴恵理子：薬物関連問題と飲酒問題を有する覚せい剤事犯者の特徴: 信頼感に注目した分析から. 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, 福岡, 2020.11.21-22.
 10. 小林美智子、服部真人、酒谷徳二、嶋根卓也、谷真如、高橋哲、大宮宗一郎：薬物依存、アルコール依存、ギャンブル障害の各問題から見た覚醒剤事犯受刑者の特徴, 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
 11. 猪浦智史、加藤隆、嶋根卓也：薬物依存症回復支援施設における生活習慣病予防教室の試み. 第 55 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会, Web, 2020.11-22-23.
 12. 服部真人、小林美智子、嶋根卓也、高橋哲、高岸百合子、大宮宗一郎、谷真如：薬物依存と他の依存（アルコール・ギャンブル）の併存が疑われる薬物事犯者の特徴. 第 58 回日本犯罪心理学会, Web, 2020.11.21-22.
 13. 山田理沙、嶋根卓也、近藤あゆみ、米澤雅子、松本俊彦：薬物依存症者を対象とした薬物使用の影響によるコンドームを使用しない性交渉に関連する研究. 第 34 回日本エイズ学会学術集会, Web, 2020.11.27-29.
- 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。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
浅沼幹人、 宮崎育子	パーキンソン病と亜鉛結合蛋白	城 宜嗣, 津本浩平監修, 古川良明, 神戸大朋編	生命金属ダイナミクス 生体内における金属の挙動と制御	エヌ・ティー・エス	東京	2021	304-309
嶋根卓也	第8章 性的マイノリティ・HIV感染者の理解と支援	松本俊彦	物質使用障害の治療 多様なニーズに応える治療・回復支援	金剛出版	東京	2020	pp141-155
嶋根卓也	第12章 薬物乱用防止教育とスティグマ	松本俊彦	アディクション・スタディーズ 薬物依存症を捉えなおす13章	日本評論社	東京	2020	pp201-214

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
船田正彦, 三島健一	薬物乱用のトレンド：ポスト危険ドラッグとして的大麻問題を考える.	YAKUGAKU ZASSHI	140(2)	171-172,	2020
富山健一, 船田正彦	米国における大麻規制の現状：医療用途と嗜好品	YAKUGAKU ZASSHI	140(2)	179-192	2020
船田正彦, 富山健一	大麻成分の依存性と細胞毒性.	YAKUGAKU ZASSHI	140(2)	205-214	2020
Asanuma, M., Miyazaki, I. and Funada, M.	The neurotoxicity of psychoactive phenethylamines "2C series" in cultured monoaminergic neuronal cell lines.	Forensic Toxicol. https://doi.org/10.1007/s11419-020-00527-w			2020
Funada M, Takebayashi-Ohsawa M, Tomiyama KI.	Synthetic cannabinoids enhanced ethanol-induced motor impairments through reduction of central glutamate neurotransmission.	Toxicol Appl Pharmacol. Dec 1;408:115283 . doi: 10.1016/j.taap.2020.115283. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33068620.			2020
Tomiyama KI, Funada M.	Synthetic cannabinoid CP-55,940 induces apoptosis in a human skeletal muscle model via regulation of CB1 receptors and L-type Ca ²⁺ channels.	Arch Toxicol.	95(2)	617-630	2021
Yuyama M, Ito T, Arai Y, Kadowaki Y, Iiyama, N, Keino A, Hiraoka Y, Kanaya T, Momose Y, <u>Kurihara M.</u>	Risk Prediction Method for Anticholinergic Action Using Auto-quantitative Structure-Activity Relationship and Docking Study with Molecular Operating Environment	<i>Chem Pharm Bull,</i>	68	773-778	2020
高橋祐次, 小島肇夫, 栗原正明, 笠原利彦, 若栗	急性経口毒性を予測するためのin vitro 細胞毒性試験	<i>AATEX-JaCVAM</i>	9	1-34	2020

忍, 萩野滋延, 本山径子					
Shoda T, Ohoka N, Tsuji G, Fujisato T, Inoue H, Demizu Y, Naito M, <u>Kurihara M.</u>	Targeted Protein Degradation by Chimeric Compounds using Hydrophobic E3 Ligands and Adamantane Moiety.	<i>Pharmaceuticals</i> (Basel).	13	pii: E34. doi: 10.3390/ph13030034	2020
<u>Asanuma, M.</u> , Miyazaki, I. and Funada, M.	The neurotoxicity of psychoactive phenethylamines "2C series" in cultured monoaminergic neuronal cell lines.	Forensic Toxicol.	38	394-408	2020
Isooka, N., Miyazaki, I., Kikuoka, R., Wada, K., Nakayama, E., Shin, K., Yamamoto, D., Kitamura, Y. and <u>Asanuma, M.</u>	Dopaminergic neuroprotective effects of rotigotine via 5-HT1A receptors: possibly involvement of metallothionein expression in astrocytes.	Neurochem. Int.	132	104608	2020
Miyazaki, I., Kikuoka, R., Isooka, N., Takeshima, M., Sonobe, K., Arai, R., Funakoshi, H., Quin, K.E., Smart, J., Zensho, K. and <u>Asanuma, M.</u>	Effects of maternal bisphenol A diglycidyl ether exposure during gestation and lactation on behavior and brain development of the offspring.	Food Chem. Toxicol.	138	111235	2020
Miyazaki, I., Isooka, N., Imafuku, F., Sun, J., Kikuoka, R., Furukawa, C. and <u>Asanuma, M.</u>	Chronic systemic exposure to low-dose rotenone induced central and peripheral neuropathology and motor deficits in mice: reproducible animal model of Parkinson's disease.	Int. J. Mol. Sci.	21 (9)	3254	2020
Kidani, N., Hishikawa, T., Hiramatsu, M., Nishihiro, S., Kin, K., Takahashi, Y., Murai, S., Sugi, K., Yasuhara, T., Miyazaki, I., <u>Asanuma, M.</u> and Date, I.	Cerebellar blood flow and gene expression in crossed cerebellar diaschisis after transient middle cerebral artery occlusion in rats.	Int. J. Mol. Sci.	21 (11)	4137	2020
Miyazaki, I. and <u>Asanuma, M.</u>	The rotenone models reproducing central and peripheral features of Parkinson's disease.	NeuroSci	1 (1)	1-14	2020

Kikuoka, R., Miyazaki, I., Kubota, N., Maeda, M., Kagawa, D., Moriyama, M., Sato, A., Murakami, S., Kitamura, Y., Sendo, T. and <u>Asanuma, M.</u>	Mirtazapine exerts astrocyte-mediated dopaminergic neuroprotection.	Sci. Rep.	10 (1)	20698	2020
Miyazaki, I. and <u>Asanuma, M.</u>	Neuron-Astrocyte Interactions in Parkinson's Disease.	Cells	9 (12)	2623	2020
Kitamura, Y., Ushio S., Sumiyoshi, Y., Wada, Y., Miyazaki, I., <u>Asanuma, M.</u> and Sendo, T.	N-acetylcysteine attenuates the anxiety-like behavior and spatial cognition impairment induced by doxorubicin and cyclophosphamide combination treatment in rats.	Pharmacology	Dec 22	1-8	2020
Shimaoka, S., Hamaoka, H., Inoue, J., <u>Asanuma, M.</u> , Tooyama, I. and Kondo, Y.	Lactoferrin-like immunoreactivity in distinct neuronal populations in the mouse central nervous system.	Acta Med. Okayama			In press
<u>浅沼幹人</u> , 宮崎育子	パーキンソン病での神経保護標的としてのアストロサイトの抗酸化分子.	日本薬理学雑誌	156	14-20	2021
Kadomura N, Ito T, Kawashima H, Matsuhisa T, Kinoshita T, Soda M, Kohyama E, Iwaki T, Nagai H, <u>Kitaichi K</u>	In vitro metabolic profiles of adamantly positional isomers of synthetic cannabinoids	Forensic Toxicology	39	26-44	2021
<u>Shimane T</u> , Takahashi M, Kobayashi M, Takagishi Y, Takeshita Y, Kondo A, Omiya S, Takano Y, Yamaki M, Matsumoto T.	Gender differences in the relationship between methamphetamine use and high-risk sexual behavior among prisoners: A nationwide, cross-sectional survey in Japan	Journal of Psychoactive Drugs		In press	2021
Kondo A, <u>Shimane T</u> , Takahashi M, Takeshita Y, Kobayashi M, Takagishi Y, Omiya S, Takano Y, Yamaki M, Matsumoto T.	Gender Differences in Triggers of Stimulant Use Based on the National Survey of Prisoners in Japan.	Subst Use Misuse	56 (1)	54-60.	2021
Inoura S, <u>Shimane T</u> , Kitagaki K, Wada K, Matsumoto T.	Parental drinking according to parental composition and adolescent binge drinking:	BMC Public Health.	20 (1)	1878	2020

	findings from a nationwide high school survey in Japan.				
Yamada R, <u>Shimane T</u> , Kondo A, Yonezawa M, Matsumoto T.	The relationship between severity of drug problems and perceived interdependence of drug use and sexual intercourse among adult males in drug addiction rehabilitation centers in Japan.	Subst Abuse Treat Prev Policy	16 (1)		2021
Matsumoto T, Kawabata T, Okita K, Tanibuchi Y, Funada D, Murakami M, Usami T, Yokoyama R, Naruse N, Aikawa Y, Furukawa A, Komatsuzaki C, Hashimoto N, Fujita O, Umemoto A, Kagaya A, <u>Shimane T</u> .	Risk factors for the onset of dependence and chronic psychosis due to cannabis use: Survey of patients with cannabis-related psychiatric disorders.	Neuropsychopharmacol Rep.	40 (4)	332-341.	2020
Takeshima M, Otsubo T, Funada D, Murakami M, Usami T, Maeda Y, Yamamoto T, Matsumoto T, <u>Shimane T</u> , Aoki Y, Otowa T, Tani M, Yamanaka G, Sakai Y, Murao T, Inada K, Yamada H, Kikuchi T, Sasaki T, Watanabe N, Mishima K, Takaesu Y.	Does cognitive behavioral therapy for anxiety disorders assist the discontinuation of benzodiazepines among patients with anxiety disorders? A systematic review and meta-analysis.	Psychiatry Clin Neurosci.		In press	2021
<u>嶋根卓也</u> , 邱 冬梅, 和田清	日本における大麻使用の現状：薬物使用に関する全国住民調査 2017 より	YAKUGAKU ZASSHI,	140 (2)	173-178	2020
<u>嶋根卓也</u>	薬物乱用状況のアップデート：薬物使用に関する全国住民調査 2019 より。	Newsletter KNOW (麻薬・覚せい剤乱用防止センター)	103	2-5	2020
<u>嶋根卓也</u>	薬物依存症者の理解とサポート	法律のひろば	74 (1)	57-66	2021

嶋根卓也	薬物乱用防止のために地域の薬局ができること	調剤と情報	27 (1)	89-96	2021
山田理沙, 嶋根卓也, 船田正彦	レクリエーション・セッティングにおける危険ドラッグ使用パターンの男女別検討	日本アルコール・薬物医学会雑誌	54 (6)	272-285	2020
谷真如, 高野洋一, 高宮英輔, 嶋根卓也	覚せい剤取締法違反により刑事施設に入所した刑の一部執行猶予者の心理・社会的特徴	犯罪心理学研究,	57 (2)	1-15	2020

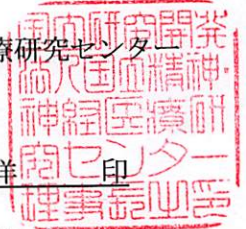
令和 3 年 3 月 5 日

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



次の職員の令和 2 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。

令和3年 3月 | 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



次の職員の令和2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 教授
(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。

厚生労働大臣 殿

令和 3年 2月 15日

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



次の職員の令和2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
- 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



次の職員の令和2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) 岐阜薬科大学・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。

令和 3 年 3 月 5 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



次の職員の令和2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
- 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・神経医療研究センター	<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。