

令和4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)

危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価と  
乱用実態把握に関する研究

課題番号：21KC1003

総括研究報告書  
分担研究報告書

令和5年3月

研究代表者：船田正彦

# 目 次

令和4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: 21KC1003)

## 危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価と 乱用実態把握に関する研究

I. 令和4年度 総括研究報告書		
船田正彦 (湘南医療大学 薬学部)	-----	1
II. 令和4年度 分担研究報告書		
研究-1: 新規オピオイド化合物の中樞作用とオピオイド受容体作用の関連性	-----	14
船田正彦 (湘南医療大学 薬学部)		
研究-2: 危険ドラッグと関連代謝物のインシリコによる活性予測法の開発	-----	24
栗原正明 (湘南医療大学 薬学部)		
研究-3: 危険ドラッグおよび関連化合物の有害性発現に関わる		
標的生体分子系の探索研究-2	-----	29
浅沼幹人 (岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科)		
研究-4: フェンタニル類似体の代謝挙動とフッ素位置異性体の		
識別に関する研究	-----	41
北市清幸 (岐阜薬科大学 薬物動態学研究室)		
研究-5: 大麻を乱用する少年における新たな大麻関連製品、		
危険ドラッグの乱用実態に関する研究	-----	54
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	-----	63

総括研究報告書

危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価と  
乱用実態把握に関する研究

研究代表者 船田正彦

(湘南医療大学 薬学部)

【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、その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、近年は大麻含有成分である $\Delta^9$ -THCの誘導体やフェンタニル類縁化合物などのオピオイド化合物の台頭が深刻である。本研究では、オピオイド化合物およびカチノン系化合物について、行動薬理学的特性および細胞毒性とオピオイド $\mu$ 受容体作用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大麻の精神活性物質である $\Delta^9$ -THC、 $\Delta^8$ -THCおよびそれぞれの類縁体についてカンナビノイドCB<sub>1</sub>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、フェンタニル類似化合物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、10代の大麻使用少年を対象に大麻ベープを含む大麻の使用実態および危険ドラッグを含む大麻以外の違法薬物の使用実態に関する疫学調査の立案を試みた。

【研究-1：新規オピオイド化合物の中樞作用とオピオイド受容体作用の関連性】

危険ドラッグ N,N-diethyl-5-nitro-2-[(4-propoxyphenyl)methyl]-1H-benzimidazole-1-ethanamine: propoxynitazene (Protonitazene)、2-[(4-ethoxyphenyl)methyl]-N,N-diethyl-1H-benzimidazole-1-ethanamine: etodesnitazene (Etazene)、2-[(4-ethoxyphenyl)methyl]-5-nitro-1-(2-pyrrolidin-1-ylethyl)-1H-benzimidazole: N-pyrrolidino etonitazene (Etonitazepyne)および 1-{2-methyl-4-[(2E)-3-phenylprop-2-en-1-yl]}butan-1-one (2-Methyl-AP-237)について、オピオイド受容体作用の解析、運動活性に対する影響および精神依存性について検討した。1) オピオイド受容体作用: CHO- $\mu$ 受容体発現細胞を利用して、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 のオピオイド受容体作用を解析した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 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、 $\mu$ 受容体拮抗薬( $\beta$ -FNA)の前処置により完全に抑制された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 は $\mu$ 受容体を介して薬理作用が発現すると考えられる。2) 行動解析: protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 による運動活性に対する影響を検討した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の投与により、運動促進作用が発現した。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬である naloxone 前処置によって有意に抑制された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 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。3) 精神依存性の評価: 薬物の精神依存形成能は、マウスを使用し conditioned place preference (CPP)法により評価した。Protonitazene、

etazene、etonitazepine および 2-methyl-AP-237 の条件付け（1 日 1 回 6 日間、3：薬物、3：溶媒）を行ったところ、protonitazene、etazene、etonitazepine および 2-methyl-AP-237 においてそれぞれ有意な CPP の発現が確認された。Protonitazene、etazene、etonitazepine および 2-methyl-AP-237 の条件付けによって報酬効果の発現が確認されたことから、精神依存形成能を有する危険性が示唆された。

#### [研究-2：危険ドラッグと関連代謝物のインシリコによる活性予測法の開発]

危険ドラッグ及び関連化合物の速やかな規制のために、それらの迅速な評価法開発が求められる。その目的においてインシリコ活性予測法は有効な評価法のひとつになり得ると考えられる。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した。活性既知のカンナビノイド（THC: tetrahydrocannabinol 類縁体）を用いて QSAR（定量的構造活性相関）解析を行った。作成した QSAR 式を用いて活性が未知の THC 類縁体の活性予測を行った。良好な QSAR 式を得ることができた。（ $R^2=0.978$ ）得られた QSAR 式を用いて $\Delta^9$ -THC 類縁体、 $\Delta^8$ -THC 類縁体の活性予測を行った。

#### [研究-3：危険ドラッグおよび関連化合物の有害性発現に関わる標的生体分子系の探索研究-2]

これまでの検討結果から、モノアミントランスポーターへの直接作用が危険ドラッグ/乱用薬物の神経毒性発現の端緒となっている可能性が考えられ、さらに昨年度のモノアミントランスポーター（DAT・SERT）を恒常的に発現している非神経細胞 CHO 細胞を用いた危険ドラッグの細胞毒性の検討から、モノアミンの取り込み、貯蔵、放出ができる機構をもつ培養神経細胞株を用いる必要があると考えられた。そこで、今年度は危険ドラッグ/乱用薬物の DAT への作用の有無を評価するために、ドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞を用いて、アルキン化ドパミン(DAtracer)および危険ドラッグ/乱用薬物を反応させ、固定後クリック反応でドパミンを蛍光標識することで DAT への競合反応の有無を検出するアッセイ系の構築を試みた。また、マウス線条体の粗膜分画から免疫沈降で得られた DAT 蛋白を蛍光標識し、危険ドラッグ/乱用薬物と反応させ、BEACON により蛍光偏光を測定することにより DAT への結合活性の有無を評価する *in vitro* 評価系の確立についても試みた。CATH.a 細胞を用いてアルキン化ドパミン(DAtracer)を反応させ、クリック反応による蛍光標識を行ったところ、DAtracer の DAT への結合と考えられる細胞膜上の蛍光陽性シグナルが、濃度依存的に増加することが確認でき、非標識ドパミンの同時添加により抑制されたことから、DAtracer の DAT への作用に対してドパミンが競合していると考えられ、DAT への競合反応の有無を蛍光顕微鏡で検出するクリックケミストリーのアッセイ系を確立できた。また、methyldone, 4FMP > MDMA > METH, PMMA > PP の順で、DAtracer の蛍光シグナルが同時添加で抑制され、DAT への競合拮抗作用を有していることを評価できた。しかし、検出される蛍光シグナルは強くなく一様の変化を示さないものもあり、蛍光シグナル抑制の判断は容易ではなく、定量性に課題が残る。危険ドラッグの DAT 結合活性の BEACON での *in vitro* 評価系の確立については、免疫沈降では十分な DAT 蛋白量を得ることができなかったため、今後リコンビナント DAT 蛋白を用いて検討する。

#### [研究-4：フェンタニル類似体の代謝挙動とフッ素位置異性体の識別に関する研究]

近年、麻薬であるフェンタニル類似体が危険ドラッグとして海外で流通しており、我が国でもすでに 30 種類以上が規制対象となっている。依然、新規なフェンタニル類似体は合成、流通しており、それらの流通や乱用を防ぐための正確な検出方法の確立が求められている。しかしながら、その位置異性体は製品中における識別や摂取証明が困難である。そこで、本年度は、GC-MS、LC-

MS,LC-MS IT-TOF を用い、フェンタニル類似体である Fluorofranylfentanyl (FFF)をモデルドラッグとしてその位置異性体の測定方法の確立と *in vitro* 代謝実験を実施した。ヒト肝ミクロソームに FFF 位置異性体を添加し、経時的に採取したサンプルを LCMS-IT-TOF にて測定し、代謝物の同定を行った。その結果、親化合物の半減期が 1 時間以内であること、いずれの異性体においても 3 種の第 I 相代謝物 [酸化 N-脱アルキル化体 (M1)、一水酸化体 (M2)、アミド加水分解体 (M3)] の存在することが明らかになった。M1 は主要代謝物であり、3 種の FFF に共通するものであった。一方、M3 は 3 種の位置異性体において分離測定が可能であり、代謝物生成量比でも異性体間で差がみられることが確認された。

#### [研究-5：大麻を乱用する少年における新たな大麻関連製品、危険ドラッグの乱用実態に関する研究]

近年、高濃度に抽出された THC を含有する大麻ベイプ (リキッド、ワックスなど) の使用実態を明らかにすることを目的した。対象は、福岡県の少年用大麻再乱用防止プログラム (以下、F-CAN と表記) に参加した 17 名の大麻使用少年のうち、研究参加の同意が得られた 12 名であった。過去 1 年以内の大麻ベイプの使用率は、全体の 66.7%であった。大麻ベイプ使用群は、対照群 (非使用者) に比べて、大麻使用開始年齢が若く (ベイプ群 13.3 歳、対照群 15.8 歳)、DAST-20 スコアの平均値が高く (ベイプ群 8.6 点、対照群 3.3 点)、それぞれ有意差が認められた。一方、MINI による薬物依存および薬物乱用の診断には有意差が認められなかった。

**結論：**(1) 本研究により、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 は強力な中枢興奮作用と精神依存形成能を有することが明らかになった。4 つのオピオイド化合物について中枢興奮作用の発現並びに精神依存形成には、オピオイド  $\mu$  受容体作用が関与している可能性が示唆された。本研究の解析から、オピオイド化合物による中枢興奮作用および精神依存性の発現強度は、オピオイド  $\mu$  受容体作用強度と相関することが明らかになった。したがって、CHO- $\mu$  細胞による機能解析から、オピオイド化合物の中枢興奮作用や精神依存性などの有害作用を推測できる可能性が示唆された。(2) 活性既知のカンナビノイド (THC: tetrahydrocannabinol 類縁体) を用いて QSAR (定量的構造活性相関) 解析を行った。作成した QSAR 式を用いて活性が未知の THC 類縁体の活性予測を行った。活性が既知のカンナビノイド類縁体のうち側鎖の炭素鎖が異なる化合物 7 個を母集団とし、統合計算化学システム MOE に搭載された AutoQSAR を用いて QSAR 式を作成した。作成した QSAR 式を用いてカンナビノイド類縁体の 12 化合物のマトリックスを作った。これによりカンナビノイド類縁体の総括規制に供するデータとなり得ると考えられる。(3) ドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞を用いて、アルキン化ドパミンおよび危険ドラッグ/乱用薬物を添加・反応させ、蛍光アジドとのクリック反応でドパミンを蛍光標識し、DAT への競合反応の有無を蛍光顕微鏡で検出するクリックケミストリーでのアッセイ系を構築することができた。methylnone, 4FMP > MDMA > METH, PMMA > PP の順で、アルキン化ドパミンの蛍光シグナルが同時添加で抑制され、DAT への競合拮抗作用を有していることを評価できた。DAT 蛋白を蛍光標識し、危険ドラッグ/乱用薬物と反応させ、BEACON (蛍光偏光測定) により DAT への結合活性を評価する *in vitro* 評価系については、今後リコンビナント DAT 蛋白を用いて検討する。(4) 本研究より、フェンタニル類似体である FFF では、LC-MS での分離が不可能であるものの、3 種の FFF 位置異性体の分離が GC-MS で行えることが明らかになった。したがって、製品における親化合物の識別には GC-MS が利用可能であることが明らかになった。一方で、FFF 位置異性体はいずれも半減期が短く、FFF の摂取証明には不適であり、代謝物の情報を活用することが必要であることが示唆された。また、FFF 代謝物の解析結

果より、FFF 摂取のマーカーとしては、FFF 由来のフラン環やアニリン環を持つ FFF に特徴的な主要代謝物である酸化 N-脱アルキル化体の検出が有用であることが示唆された。一方で、3 種の FFF 位置異性体の識別においては 3 つの主要な第 I 相代謝物のうちアミド加水分解体における保持時間の違いと生成量比を活用できることが示された。以上の結果はフェンタニル類似体の識別に資するものであり、国内におけるフェンタニル類似体を含む危険ドラッグの流通の阻止に資すると考えられる。(5) 大麻使用少年の間で、大麻ベイクの使用が着実に広がっている可能性を示唆する結果が得られた。大麻ベイク使用者は、非使用者に比べて、大麻の初回使用年齢が若く、薬物使用関連問題の重症度が高いといった特徴がみられたが、未だ十分なサンプル数が得られておらず、大麻ベイクの使用実態を明らかにするためにはさらなるリクルートが必要である。

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、危険ドラッグおよびその代謝物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。危険ドラッグの代謝物の同定は、危険ドラッグの使用根拠を証明する検出マーカーとして有用性が高く、解析手法の確立は重要であると考えられる。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。実態調査については、危険ドラッグに加え、近年は大麻の乱用拡大が顕著であることから、大麻および濃縮製品についても乱用状況を把握していく予定である。危険ドラッグの流通規制並びに薬物乱用防止の啓発に役立つ情報として利用できるよう取りまとめを行う予定である。

研究代表者：船田正彦  
湘南医療大学 薬学部 教授

分担研究者：栗原正明  
湘南医療大学 薬学部 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

国際的な潮流を見ると、精神作用を示す新しい化合物が新規精神活性物質(New psychoactive substances, NPS)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。NPS については、国内では数年前に、「脱法ハーブの乱用問題」として表面化したことは記憶に新しい。現在は、こうした NPS は、「危険ドラッグ」の呼称に統一されている。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、危険ドラッグの有害作用を迅速に評価することが重要である。

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。本研究は、大麻含有成分であるカンナビノイド (THC: tetrahydrocannabinol 類縁体)、 $\Delta^9$ -THC、 $\Delta^8$ -THC およびそれぞれの類縁体について、QSAR (定量的構造活性相関) 解析によりカンナビノイド CB1 受容体活性予測を行った。

一方、オピオイド化合物やカチノン系化合物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の作用点 (薬物受容体等) 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。そこで、本研究では、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毒性発現動態について検討した。オピオイド化合物については、オピオイド  $\mu$  受容体発現細胞による作用強度について検討した。同様に、カチノン系化合物に関してはドパミントランスポーター (DAT) を発現している神経細胞を用いて、DAT への作用を標的とした危険ドラッグの有害性スクリーニングの可能性について検討した。

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、フェンタニル類縁化合物に着目し、摂取した危険ドラッグおよびその代謝物の検出法について検討した。一方、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、カチノン系化合物について、行動薬理学的特性および細胞毒性とモノアミントランスポーター阻害作用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半合成カンナビノイドのカンナビノイド CB1 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、GC-MS、LC-MS, LC-MS IT-TOF を用いて、フェンタニル類似化合物の *in vitro* 代謝実験を実施し、代謝物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、10代の大麻使用少年を対象に大麻バンプを含む大麻の使用実態および危険ドラッグを含む大麻以外の違法薬物の使用実態に関する疫学調査を試みた。

## B. 各研究の目的、方法、結果

### [研究-1: 新規オピオイド化合物の中枢作用とオピオイド受容体作用の関連性]

船田正彦

湘南医療大学 薬学部 教授

近年、フェンタニルやフェンタニル類縁化合物とは構造が異なる新規オピオイド化合物の流通が拡大しており、乱用に基づく健康被害は大きな社会問題となっている。しかしながら、危険ドラッグとして流通している新規オピオイド化合物については、その薬理作用や有害作用について、不明な点が多い。本研究では protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の薬理学的特性及び中枢作用を明確にする目的で、1) オピオイド受容体作用、2) 運動活性に対する影響、3) 報酬効果について検討を行った。1) オピオイド受容体作用: CHO- $\mu$  受容体発現細胞を利用して、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 のオピオイド受容体作用を解析

した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 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、 $\mu$  受容体拮抗薬 ( $\beta$ -FNA) の前処置により完全に抑制された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 は  $\mu$  受容体を介して薬理作用が発現すると考えられる。2) 行動解析：protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 による運動活性に対する影響を検討した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の投与により、運動促進作用が発現した。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬である naloxone 前処置によって有意に抑制された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 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。3) 精神依存性の評価：薬物の精神依存形成能は、マウスを使用し conditioned place preference (CPP)法により評価した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の条件付け (1日1回6日間、3:薬物、3:溶媒) を行ったところ、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 においてそれぞれ有意な CPP の発現が確認された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の条件付けによって報酬効果の発現が確認されたことから、精神依存形成能を有する危険性が示唆された。

#### [研究-2: 危険ドラッグと関連代謝物のインシリコによる活性予測法の開発]

栗原正明

湘南医療大学 薬学部 教授

危険ドラッグの速やかな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した。カンナビノイド (THC: tetrahydrocannabinol 類縁体) の包括規制を見据えた、カンナビノイド類縁体の QSAR (定量的構造活性相関) 解析を行うことを目的とした。文献既知のカンナビノイド類縁体<sup>1)</sup>のうち側鎖の炭素鎖が異なる化合物7個を母集団とし、統合計算化学システム MOE に搭載された AutoQSAR を用いて QSAR 式を作成した。

MOE を用いて作成した良好な QSAR 式を下に示した。

$$\begin{aligned} \text{pKi} = & \\ & -3.593867 \\ & +0.009454 * \text{PEOE\_VSA-0} \\ & +0.016227 * \text{PEOE\_VSA-1} \end{aligned}$$

$$R^2 = 0.978$$

PEOE\_VSA-0、PEOE\_VSA-1 は MOE の記述子である。この QSAR 式を用いて、活性未知のカンナビノイド類縁体 ( $\Delta^9$ -THCB,  $\Delta^9$ -THCH,  $\Delta^9$ -THCP,  $\Delta^9$ -THCjd,  $\Delta^8$ -THCV) の活性を予測した。

#### [研究-3: 危険ドラッグおよび関連化合物の有害性発現に関わる標的生体分子系の探索研究-2]

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

今年度は危険ドラッグ/類似関連化合物の DAT への作用の有無を評価するために、DAT 恒常発現 CHO-DAT 細胞に加えて、ドパミンの取り込み、貯蔵、放出機構をもっているドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞を用いて、アルキン化ドパミンおよび危険ドラッグ/乱用薬物を細胞に添加・反応させた後に固定し、蛍光アジドとのクリック反応でドパミンを蛍光標識し、標識ドパミンと危険ドラッグ/乱用薬物の DAT への競合反応の有無を検出するクリックケミスト



リーでのアッセイ系の構築を試みた。CHO-DAT細胞にアルキン化ドパミン(DAtracer)を添加・反応させた後に固定し、蛍光アジドとのクリック反応でドパミンを蛍光標識したところ、アルキン化ドパミンの蛍光は観察できなかった。CATH.a細胞を用いて、DAtracerを反応させ固定後、蛍光アジドとのクリック反応によりドパミンを蛍光標識するクリックケミストリーを行った。DAtracerの濃度依存的にDATへの結合と考えられる細胞膜上の蛍光陽性シグナルが検出され、DAtracer(最終濃度 50  $\mu$ M)において最大強度を示した。このDAtracer(50  $\mu$ M)での蛍光シグナルは、50  $\mu$ M非標識ドパミン添加により抑制されていた。さらに、DAtracer(50  $\mu$ M)のDATへの結合作用に対する10種の乱用薬物/危険ドラッグ(各 500  $\mu$ M, 1 mM)添加の影響を調べた。2CT-7, harmalineでは著明な神経細胞死のためにDAtracerの蛍光シグナルが全く観察できなかった。高用量での神経細胞死とともに、methylnone, 4FMP > MDMA > METH, PMMA > PPの順で、DAtracer(50  $\mu$ M)の蛍光シグナルが抑制されていた。また、インドールアルカロイド系の5MeO-DMTと5MeO-MIPTについては、高用量での神経細胞死はみられるものの、DAtracerの蛍光シグナルは一樣の変化はなく、明らかな減退はみられなかった。

なお、このクリック反応によるDATに結合したDAtracerの蛍光シグナルは、蛍光顕微鏡では検出できるものの、蛍光マイクロプレートリーダーによる蛍光強度測定で測定できるほど強いものではなかった。

また、培養細胞や動物などを用いないin vitro評価系を確立することを目指して、マウス線条体の粗膜分画からDAT抗体による免疫沈降で得られたDAT蛋白を蛍光標識し、危険ドラッグあるいは類似関連化合物と反応させ、BEACONにより蛍光偏光を測定することによりDATへの結合活性の有無を評価するin vitro評価系の確立についても試みた。しかし、線条体粗膜分画から得られたDAT蛋白は非常に少なくアッセイ系を確立することはできなかった。

[研究-4: フェンタニル類似体の代謝挙動とフッ素位置異性体の識別に関する研究]

北市清幸

岐阜薬科大学

薬物動態学研究室 教授

危険ドラッグおよび代謝物の測定にはTRACE 1310 GC/ISQ LT (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)、LCMS-8045 triple quadrupole mass spectrometer (Shimadzu, Kyoto)、LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto)を使用した。フェンタニル類似体FFFの異性体であるo-fluorofuranylfentanyl (o-FFF)、p-fluorofuranylfentanyl (p-FFF)、m-fluorofuranylfentanyl (m-FFF)は岐阜県保健環境研究所で合成され、NMRにてその純度がほぼ100%であるものを使用した。

ヒト肝マイクロソーム(HLMs)を用いた代謝実験はFFFを添加し、経時的にサンプルを採取して行った。得られた代謝物は上記の機器(主にLCMS-IT-TOF)で測定を行った。その結果、FFF位置異性体の識別はLC-MS/MSでは各種カラムを使用しても困難であったが、GC-MSでは3種の位置異性体が識別可能であることが明らかになった。HLMsを用いたin vitro代謝実験では親化合物の半減期が1時間以内であることいずれの異性体においても3種の第I相代謝物[酸化的N-脱アルキル化体(M1)、一水酸化体(M2)、アミド加水分解体(M3)]が存在すること、M1は主要代謝物であり、3種のFFFに共通するものであること、M3は3種の位置異性体において分離測定が可能であり、代謝物生成量比でも異性体間で差がみられることが確認された。

[研究-5: 大麻を乱用する少年における新たな大麻関連製品、危険ドラッグの乱用実態に関する研究]

嶋根卓也

国立精神・神経医療研究センター

精神保健研究所薬物依存研究部

心理社会研究室 室長

本研究で、研究対象となるのは、福岡県保健医療介護部薬務課（以下、福岡県薬務課と表記）の事業であり、福岡県警少年サポートセンターが実施協力している少年用大麻再乱用防止プログラム（以下、F-CAN と表記）に参加する大麻使用少年である。2021 年 9 月から 2023 年 1 月までの間に、計 17 名の大麻使用少年が F-CAN への参加申込みを行った。このうち、選択基準を満たす 12 名より研究参加の同意を得た（同意取得率 70.6%）。本研究ではこの 12 名を分析対象者とした。

過去 1 年以内の大麻ベイクの使用歴に基づき、対象者をベイク群と対照群に分類した。基本属性、大麻使用に関連する項目、大麻以外の薬物使用、薬物依存に関連する項目について群間比較を行った。カテゴリカル変数についてはフィッシャーの正確確率法で、連続変数については t-検定にて有意差を検定した。

過去 1 年以内の大麻ベイクの使用率は、全体の 66.7%であった。大麻ベイク使用群は、対照群（非使用者）に比べて、大麻使用開始年齢が若く（ベイク群 13.3 歳、対照群 15.8 歳）、DAST-20 スコアの平均値が高く（ベイク群 8.6 点、対照群 3.3 点）、それぞれ有意差が認められた。一方、MINI による薬物依存および薬物乱用の診断には有意差が認められなかった。

## C. 考 察

### 1. 新規オピオイド化合物の中枢作用とオピオイド受容体作用の関連性

本研究により、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 は強力な中枢興奮作用と精神依存形成能を有することが明らかになった。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の中枢興奮作用の発現並びに精神依存形成には、オピオイド  $\mu$  受容体作用が関与している可能性が示唆された。本研究の解析から、オピオイド化合物による中枢興奮作用および精神依存性の発現

強度は、オピオイド  $\mu$  受容体作用強度と相関することが明らかになった。したがって、CHO- $\mu$  細胞による機能解析から、オピオイド化合物の中枢興奮作用や精神依存性などの有害作用を推測できる可能性が示唆された。したがって、本研究で確認された動物実験と細胞による総合的な有害作用評価システムは、オピオイド化合物包括指定範囲の確定のために貢献できる解析手法であると考えられる。

### 2. 危険ドラッグと関連代謝物のインシリコによる活性予測法の開発

本研究では、記述子を 2 つ用いた良好な QSAR 式を得ることができた。 $(R^2 = 0.978)$  得られた QSAR 式を用いて  $\Delta^9$ -THC 類縁体、 $\Delta^8$ -THC 類縁体の活性予測を行った。これにより  $n = 3 \sim 8$  の  $\Delta^8$ -THC、 $\Delta^9$ -THC の化合物 12 個のマトリックスを完成することができた。今後、評価化合物を増やして検討を行うことにより、合成カンナビノイド包括規制への展開が期待される。

### 3. 危険ドラッグおよび関連化合物の有害性発現に関わる標的生体分子系の探索研究-2

危険ドラッグ/類似関連化合物の DAT への作用の有無を評価するにあたり、ドパミンの DAT への作用を非 RI により可視化する方法として、蛍光標識ドパミンを細胞膜上の DAT に作用させ方法が考えられるが、分子量の大きい蛍光物質によりドパミンの DAT への結合、取り込みが阻害されてしまう可能性が高い。そこで、CATH.a 細胞を用いて、アルキン化ドパミン(DAtracer)を生細胞に反応させ DAT に結合、取り込みさせた後に固定し、蛍光アジドとのクリック反応によりドパミンを蛍光標識するクリックケミストリーの手法を用いた。DAtracer の DAT への結合と考えられる細胞膜上の蛍光陽性シグナルが、濃度依存的に増加することが確認でき、さらに非標識ドパミンあるいはフェネチルアミン系、ピペラジン系

のドラッグの同時添加により抑制されたことから、アルキン化ドパミン(DAtracer)の DAT への作用に対してこれらの乱用薬物/危険ドラッグが競合拮抗作用を有していると考えられ、DAT への競合反応の有無を蛍光顕微鏡で検出するクリックケミストリーのアッセイ系を確立できたと考えた。この方法では蛍光強度測定ができるほどの強い蛍光がみられるわけではなく、蛍光シグナル抑制の判断は必ずしも容易ではないことから、定量性に問題があるといわざるを得ない。

DAT 蛋白を蛍光標識し、危険ドラッグ/乱用薬物と反応させ、BEACON (蛍光偏光測定) により DAT への結合活性を評価する *in vitro* 評価系については、十分な DAT 蛋白量を得るために今後リコンビナント DAT 蛋白を用いて検討する。

#### 4. フェンタニル類似体の代謝挙動とフッ素位置異性体の識別に関する研究

本研究結果より、製品における 3 種の FFF 位置異性体の親化合物の識別には GC-MS の利用可能であることが明らかになった。一方で、FFF 位置異性体はいずれも半減期が短く、FFF の摂取証明には親化合物ではなく、代謝物の情報を活用することが必要であることが示唆された。さらに、FFF 代謝物の解析結果より、FFF 摂取のマーカーとしては、FFF 由来のフラン環やアニリン環を持つ FFF に特徴的な主要代謝物である M1 の検出が有用であること、3 種の FFF 位置異性体の識別においては M3 の保持時間の違いと生成量比を活用できることが示唆された。

#### 5. 大麻を乱用する少年における新たな大麻関連製品、危険ドラッグの乱用実態に関する研究

若年の大麻使用者の多くが、友人や仲間との付き合いの中で、大麻使用を開始していることが、これまで繰り返し指摘されてきた。低年齢で大麻に曝露されることは、そういった大麻を使う仲間との交流機会がより増えることにも

つながる。大麻を使う仲間との交流の中で、大麻パイプを使う機会も一緒に増えた可能性がある。また、大麻パイプ使用群が抱えている問題は、精神医学的な依存症の問題というよりも、それ以外の大麻使用に伴う友人関係や家族関係、あるいは学校関係といった心理社会的な問題の方が中心となっている可能性が示唆された。

#### D. 結論

本研究の解析から、オピオイド化合物による中枢興奮作用および精神依存性の発現強度は、オピオイド  $\mu$  受容体作用強度と相関することが明らかになった。したがって、CHO- $\mu$  細胞による機能解析から、オピオイド化合物の中枢興奮作用や精神依存性などの有害作用を推測できることが示唆された。本研究の行動解析および細胞解析データパターンを拡大することで、オピオイド化合物の包括指定が可能であると考えられる。

コンピュータを用いた化学計算による危険ドラッグの作用強度予測法に関する研究には、QSAR (定量的構造活性相関) を使用した。活性が既知のカンナビノイド類縁体のうち側鎖の炭素鎖が異なる化合物 7 個を母集団とし、MOE に搭載された AutoQSAR を用いて QSAR 式を作成した。作成した QSAR 式を用いてカンナビノイド類縁体の 12 化合物のマトリックスを作った。これによりカンナビノイド類縁体の総括規制に供するデータとなると考えている。

ドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞を用いて、アルキン化ドパミンおよび危険ドラッグ/乱用薬物を添加・反応させ、蛍光アジドとのクリック反応でドパミンを蛍光標識し、DAT への競合反応の有無を蛍光顕微鏡で検出するクリックケミストリーでのアッセイ系を構築することができた。methylone, 4FMP > MDMA > METH, PMMA > PP の順で、アルキン化ドパミンの蛍光シグナルが同時添加で抑制され、DAT への競合拮抗作用を有していることを評価できた。しかし、検出される蛍光シグナルは強くなく一様の

変化を示さないものもあり、蛍光シグナル抑制の判断は容易ではなく、定量性に課題が残る。

線条体の粗膜分画から免疫沈降で得られた DAT 蛋白を蛍光標識し、危険ドラッグ/乱用薬物と反応させ、BEACON（蛍光偏光測定）により DAT への結合活性を評価する *in vitro* 評価系の確立も試みたが、蛍光を検出できるほどの DAT 蛋白量を得ることができなかった。今後リコンビナント DAT 蛋白を用いた BEACON アッセイ系の確立を検討する。

危険ドラッグの代謝プロファイルに関する研究では、フェンタニル類似体の厳密な識別の基盤となる有用な情報を得ることができた。本データは、我が国におけるフェンタニル類似体を含む危険ドラッグの規制によるまん延防止に貢献すると考えられる。

大麻使用少年の間で、大麻パイプの使用が着実に広がっている可能性を示唆する結果が得られた。大麻パイプ使用者は、非使用者に比べて、大麻の初回使用年齢が若く、薬物使用関連問題の重症度が高いといった特徴がみられた。未だ十分なサンプル数が得られておらず、大麻パイプの使用実態を明らかにするためにはさらなるリクルートが必要である。

本研究成果から、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、危険ドラッグおよびその代謝物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。特に代謝物の同定は、危険ドラッグの使用根拠を証明するマーカーとして有用性が高いと考えられる。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。実態調査については、危険ドラッグに加え、近年は大麻の乱用拡大が顕著であることから、大麻および濃縮製品についても乱用状況を把握していく予定である。危険ドラッグの流通規制並びに薬物乱用防止の啓発に役立つ情報として利用できるよう取り

まとめを行う予定である。

## E. 健康危険情報

本研究は、危険ドラッグ及び大麻の中枢作用、毒性および乱用実態把握に関する研究であり、結果はすべて健康危険情報に該当する。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 船田正彦:危険ドラッグの依存性. 精神科, 41: 239-247, 2022.
- 2) 船田正彦: 海外の大麻規制変遷から考える国内の大麻規制再構築の意義. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 54: 36-42, 2023.
- 3) Moriya S, Yoneta Y, Kuwata K, Imamura Y, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T: PreQ1 Facilitates DNA Strand Invasion by PNA: *Peptide Science* 2021, 2022, 111-112
- 4) Yuyama M, Misawa T, Demizu Y, Kanaya T, Kurihara M.: Design and synthesis of novel estrogen receptor antagonists with acetal containing biphenylmethane skeleton: *Results in Chemistry*, 3, 2021, 100124
- 5) Moriya S, Shibasaki H, Kohara M, Kuwata K, Imamura, Y, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T: Synthesis and characterization of PNA oligomers containing preQ1 as a positively charged guanine analogue: *Bioorg Med Chem Lett.* 2021, 39, 127850
- 6) Imafuku, F., Miyazaki, I., Sun, J., Kamimai, S., Shimizu, T., Toyota, T., Okamoto, Y., Isooka, N., Kikuoka, R., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Central and enteric neuroprotective effects by *Eucommia ulmoides* extracts on neurodegeneration in rotenone-induced parkinsonian mouse. *Acta Med. Okayama*, 2022, 76(4): 373-383. doi: 10.18926/AMO/63889
- 7) Takahashi M, Yamaki M, Kondo A, Hattori M, Kobayashi M, Shimane T: Prevalence of adverse childhood experiences and their

- association with suicidal ideation and non-suicidal self-injury among incarcerated methamphetamine users in Japan. *Child Abuse & Neglect* 131: 105763-105763, 2022.
- 8) 服部真人, 小林美智子, 高橋哲, 高岸百合子, 大宮宗一郎, 谷真如, 嶋根卓也: 覚醒剤使用の引き金に関する実証的研究—薬物依存と他のアディクションの併存に焦点を当てて—. *日本アルコール・薬物医学会誌* 57(3):127-142 2022.
  - 9) 山田理沙, 嶋根卓也, 近藤あゆみ, 米澤雅子, 松本俊彦: 薬物依存症回復支援施設の利用者を対象とした物質使用とHIV感染リスクの高い性行動に関する研究. *日本エイズ学会誌* 24(3): 89-97, 2022.
  - 10) 服部真人, 小林美智子, 高橋哲, 高岸百合子, 大宮宗一郎, 谷真如, 嶋根卓也: 薬物依存と他のアディクションが併存する覚醒剤事犯者の特徴. *犯罪心学研究* 60(1): 1-15, 2022.
  - 11) 新田慎一郎, 嶋根卓也, 猪浦智史, 近藤あゆみ, 米澤雅子, 松本俊彦: 覚醒剤使用に問題を抱えるゲイ・バイセクシュアル男性の特徴 —ヘテロセクシュアル男性との比較から—. *日本アルコール・薬物医学会雑誌* 57(5): 182-192, 2022.
  - 12) 嶋根卓也: 市販薬乱用とセルフメディケーション. *精神科治療学* 37(7) :793-797, 2022.
  - 13) 嶋根卓也: コロナ禍における薬物使用の動向: 薬物使用に関する全国住民調査 2021 より. *Newsletter KNOW (麻薬・覚せい剤乱用防止センター)* 第 107 号: 2-6, 2022.
  - 14) 嶋根卓也: OTC 薬乱用の現状と対応—最も身近な医薬品の意外な落とし穴. *日本医事新報* No.5133 : 18-34, 2022.
  - 15) 嶋根卓也: 「助けて」という気持ちをクスリと一緒に飲み込んでしまう. *こころの科学* 226 : 71-75, 2022.
  - 16) 嶋根卓也: 若年者における薬物乱用の理解と課題. ダメ、ゼッターで終わらせない薬物乱用防止教育. 令和 4 年度全国学校保健・安全研究大会 課題別研究協議会:114-117, 2022.
  - 17) 嶋根卓也: 20.物質使用障害. 医療者のためのLGBTQ 講座 (総編集: 吉田絵理子), 南山堂, 東京, 2022.
2. 学会発表
    - 1) 舩田正彦: 危険ドラッグの最新海外事情, 第 20 回日本旅行医学会, Web 開催, 2022 年 5 月 21 日.
    - 2) 富澤宰菊, 菊川俊太郎, 有田浩暢, 中村佳代, 牧野宏章, 田畑英嗣, 忍足鉄太, 夏莉英昭, 舩田正彦, 高橋 秀依: フェンタニル誘導体の構造活性相関, *日本薬学会* 第 140 年会, 札幌, 2022 年 3 月 25 日.
    - 3) 湯山円晴, 市丸 嘉, 荒井裕美子, 金谷貴行, 佐藤忠章, 舩田正彦, 栗原正明: ドッキングスタディによる CB1 受容体リガンドの活性予測: *日本薬学会* 第 142 年会 2022/03/28) オンライン開催
    - 4) 湯山円晴, 三澤隆史, 出水庸介, 金谷貴行, 佐藤忠章, 栗原正明: ジフェニルメタン骨格を持つ新規ER $\alpha$ アンタゴニストの創製: *日本薬学会*第142年会 (2022/03/28)
    - 5) 栗原正明 (招待講演): 核内受容体に作用する薬物分子の創製: 第50回構造活性相関シンポジウム (2022/11/10-11, 名古屋)
    - 6) 荒井裕美子, 湯山円晴, 市丸嘉, 佐藤忠章, 栗原正明: QSARによる危険ドラッグのインシリコ活性予測: 第50回構造活性相関シンポジウム (2022/11/10-11, 名古屋)
    - 7) 正井加織, 中山裕太, 宮崎育子, 浅沼幹人: ストレプトゾトシン脳室内投与による孤発性アルツハイマー病モデルマウスの行動学的・組織学的検討. 第 31 回神経行動薬理若手研究者の集い, 福岡 (オンライン), 2022.3.6.
    - 8) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 村上真樹, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久, 浅沼幹人: 部位特異的アストロサイト-ミクログリア連関がもたらすロテノン誘発ドパミン神

- 経障害. 第 95 回日本薬理学会年会, 博多 (オンライン), 2022.3.7.
- 9) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 村上真樹, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久, 浅沼幹人: 農薬ロテノン曝露による部位特異的アストロサイト-ミクログリア相互連関とドパミン神経細胞への影響. 第 127 回日本解剖学会総会・全国学術集会, オンライン, 2022.3.28.
  - 10) Miyazaki, I., Kikuoka, R., Isooka, N., Murakami, S., Sogawa, C., Sogawa, N., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Region-specific astrocyte-microglia interaction promotes rotenone-induced dopaminergic neurotoxicity, 第 63 回本神経学会学術大会, 東京, 2022.5.18.
  - 11) 宮崎育子, 西山千春, 菊岡 亮, 名越 武, Kyle Quin, 禅正和真, 浅沼幹人: 妊娠・授乳期エポキシ樹脂 BADGE 曝露による新生仔マウス脳発達異常におけるエストロゲン受容体  $\beta$  の関与. 第 49 回日本毒性学会学術年会, 札幌, 2022. 7. 1.
  - 12) 浅沼幹人, 宮崎育子, 都 明希, 小林壯太郎, 津田光希, 小野鈴香, 正井加織: 農薬ロテノン慢性皮下投与パーキンソン病モデルマウスにおける腸管細胞環境の変化. 第 49 回日本毒性学会学術年会, 札幌, 2022. 7. 2.
  - 13) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Targeting zinc-binding protein metallothionein in astrocytes for dopaminergic neuroprotection. The 8th International Symposium on Metallomics, Kanazawa, Japan, 2022.7.12.
  - 14) 宮崎育子, 小林壯太郎, 津田光希, 都 明希, 小野鈴香, 正井加織, 浅沼幹人: パーキンソン病の脳腸病態を再現しうるモデル動物における腸管神経障害機構の検討. 第 16 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres (MDSJ), 東京, 2022. 7. 22.
  - 15) 宮崎育子, 正井加織, 進 浩太郎, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久, 浅沼幹人: パーキンソン病の脳腸病態を再現しうるモデル動物におけるメタロチオネイン発現変化. メタルバイオサイエンス研究会 2022, 京都, 2022. 10. 19.
  - 16) 西田優花, 嶋田勝光, 十川千春, 宮崎育子, 富田美穂子, 靨島弘之, 浅沼幹人, 村上 聡, 十川紀夫: 抜歯後組織修復におけるメタロチオネインの関与. メタルバイオサイエンス研究会 2022, 京都, 2022. 10. 20.
  - 17) 浅沼幹人, 宮崎育子, 進 浩太郎, 都 明希, 正井加織, 小林壯太郎, 津田光希, 小野鈴香: パーキンソン病の脳・腸神経変性を再現できるロテノン曝露モデルマウスにおける腸管細胞環境の変化. 第 96 回日本薬理学会年会, 横浜, 2022. 12. 2.
  - 18) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久, 浅沼幹人: パーキンソン病モデルにおける $\alpha$ シヌクレイン発現と神経変性へのグリア細胞部位特異性の関与. 第96回日本薬理学会年会, 横浜, 2022. 12. 2.
  - 19) 森川美空: フェンタニル類似体 Fluorofuranylfentanyl の異性体識別と代謝物の同定に関する研究. 日本薬学会第 142 年会. 名古屋/ハイブリッド, 2022年3月25-28日
  - 20) 北市 清幸, 松尾 桃花, 山崎里桜, 森理人, 伊藤秀, 田外秀俊, 曾田翠, 兒玉幸修, 佐々木均. 乱用抵抗性製剤開発ガイドライン案の作成に向けた各種製剤学的in vitro試験法の実施. 2022年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会. 仙台/ハイブリッド, 2022年9月8-10日.
  - 21) 伊藤宏輔: フェンタニル類似体の摂取証明に向けた識別法の開発に関する研究. BPCNP/PPP4学会合同年会. 東京, 2022年11月4-6日
  - 22) Y. Oida, M. Morikawa, K. Itoh, K. Iwai, T. Iwaki, M. Soda, H. Shimizu, H. Tanaka, N. Shinoda, K. Kitaichi. The establishment of the method to differentially identify the isomers of a fentanyl analogue, fluorofuranylfentanyl. CINP 2023. Montreal, May 6-10, 2023.
  - 23) Shimane T., Funada M, Tomiyama K,

- Matsumoto T: Increase in Abuse of Over-the-counter Drugs Including Opioids Such as Dihydrocodeine in Japan. The 2nd International Forum on Drug Policy, Shanghai, China, 2022. 8.4. (Best Paper Award)
- 24) Shimane T: Current Situation and Response to Over-the-Counter Drug Abuse in Japan. International symposium on prevention and counseling of drug abuse for juveniles. National Chung Cheng University, Taiwan, 2022.11.2.
- 25) Shimane T: Understanding and support for marijuana using youth in Japan. 2022 Drug Control Cross-network Innovation as Scientific and Technological Intelligence Drug Prevention Achievements Publication and International Symposium, Taiwan, 2022.11.4.
- 26) 嶋根卓也：法務総合研究所との共同研究による支援者向けの小冊子の作成：覚醒剤事犯者の理解とサポート 2021. シンポジウム 10 覚醒剤事犯者の理解とサポート(3). 2022 年度日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，宮城，2022.9.9.
- 27) 嶋根卓也：高校生における大麻使用状況と大麻使用少年の心理社会的特徴：薬物使用と生活に関する全国高校生調査 2018 より. シンポジウム 13 大麻使用少年の理解とサポート(1). 2022 年度日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，宮城，2022.9.10.
- 28) 嶋根卓也：覚醒剤使用者における危険な性行動：覚醒剤事犯者を対象とする全国調査より. シンポジウム 15 物質使用と性感染症・性行動・セクシュアリティ(1). 2022 年度日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，宮城，2022.9.10.
- 29) 引土絵未，嶋根卓也，小高真美，秋元恵一郎，大吉 努，加藤 隆，栗坪千明，山村りつ，吉野美樹，松本俊彦：薬物依存症者の就労支援のあり方に関する研究：インタビュー調査から. 2022 年度日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，宮城（オンライン），2022.9.9.
- 30) 中島美鈴，児玉臨，森治美，嶋根卓也：身近な人とのコミュニケーションスキルに焦点づけた少年用大麻再乱用防止プログラムの作成(1)．第 22 回認知療法・認知行動療法学会，東京，2022.11.12.

#### 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

新規オピオイド化合物の中枢作用とオピオイド受容体作用の関連性

分担研究者：船田正彦（湘南医療大学 薬学部 薬理学研究室）

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）

---

【研究要旨】

[ 緒言 ] 危険ドラッグ N,N-diethyl-5-nitro-2-[(4-propoxyphenyl)methyl]-1H-benzimidazole-1-ethanamine: propoxynitazene (Protonitazene)、2-[(4-ethoxyphenyl)methyl]-N,N-diethyl-1H-benzimidazole-1-ethanamine: etodesnitazene (Etazene)、2-[(4-ethoxyphenyl)methyl]-5-nitro-1-(2-pyrrolidin-1-ylethyl)-1H-benzimidazole: N-pyrrolidino etonitazene (Etonitazepyne) および 1-{2-methyl-4-[(2E)-3-phenylprop-2-en-1-yl]butan-1-one (2-Methyl-AP-237) について、オピオイド受容体作用の解析、運動活性に対する影響および精神依存性について検討した。1) オピオイド受容体作用：CHO- $\mu$  受容体発現細胞を利用して、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 のオピオイド受容体作用を解析した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 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、 $\mu$  受容体拮抗薬 ( $\beta$ -FNA) の前処置により完全に抑制された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 は  $\mu$  受容体を介して薬理作用が発現すると考えられる。2) 行動解析：protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 による運動活性に対する影響を検討した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の投与により、運動促進作用が発現した。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬である naloxone 前処置によって有意に抑制された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 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。3) 精神依存性の評価：薬物の精神依存形成能は、マウスを使用し conditioned place preference (CPP) 法により評価した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の条件付け (1日1回6日間、3:薬物、3:溶媒) を行ったところ、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 においてそれぞれ有意な CPP の発現が確認された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の条件付けによって報酬効果の発現が確認されたことから、精神依存形成能を有する危険性が示唆された。

本研究により、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 は強力な中枢興奮作用と精神依存形成能を有することが明らかになった。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の中枢興奮作用の発現並びに精神依存形成には、オピオイド  $\mu$  受容体作用が関与している可能性が示唆された。本研究の解析から、オピオイド化合物による中枢興奮作用および精神依存性の発現強度は、オピオイド  $\mu$  受容体作用強度と相関することが明らかになった。したがって、CHO- $\mu$  細胞による機能解析から、オピオイド化合物の中枢興奮作用や精神依存性などの有害作用を推測できる可能性が示唆された。

---



## A. 研究目的

ヘロインを始めとするオピオイド系薬物の乱用は過量摂取による死亡など、重篤な健康被害を及ぼす<sup>1,2)</sup>。近年、フェンタニルやフェンタニル類縁化合物とは構造が異なる新規オピオイド化合物の流通が拡大しており、乱用に基づく健康被害は大きな社会問題となっている<sup>3,4,5)</sup>。しかしながら、危険ドラッグとして流通している新規オピオイド化合物については、その薬理作用や有害作用について、不明な点が多い。

本研究では protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の薬理学的特性及び中枢作用を明確にする目的で、1) オピオイド受容体作用、2) 運動活性に対する影響、3) 報酬効果について検討を行った。

本研究では、オピオイド化合物の行動薬理学的特性と作用点であるオピオイド $\mu$ 受容体に対する作用について検討し、行動薬理学的特性の発現とオピオイド $\mu$ 受容体作用との関連性について検討した。また、本研究から得られる動物実験と細胞による実験からのデータの関係性を解析することで、危険ドラッグが示す中枢作用予測法の妥当性について考察した。

## B. 研究方法

使用動物:すべての行動薬理実験には、ICR 系雄性マウス (Jcl、25-30g、日本クレア) を使用した。

使用薬物: Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 を使用した(Fig.1)。

選択的 $\mu$ オピオイド受容体拮抗薬(E)-4-[[5 $\alpha$ ,6 $\beta$ ]-17-Cyclopropylmethyl]-4,5-epoxy-3,14-dihydroxymorphinan-6-yl]amino]-4-oxo-2-butenic acid methyl ester hydrochloride ( $\beta$ -FNA, Tocris Bioscience)、オピオイド受容体拮抗薬 naloxone (Sigma) を使用した。

### 1. 新規オピオイド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 $\mu$ 受容体をトランスフェクションし、発現安定細胞株 CHO- $\mu$  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 (Greiner)に  $5 \times 10^4$  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、新規オピオイド化合物 protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 添加による蛍光強度の変化を、Flexstation II により測定した。データは蛍光強度 (Relative Fluorescence Units, RFU)として解析した。

### 2. 新規オピオイド化合物による運動活性への影響

Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 により誘発される運動活性を、自発運動量測定装置 (ACTIMO-100, バイオリサーチセンター社) を用いて測定した。3 時間の環境適応後、薬物投与から 120 分間にわたって運動量を測定した。

また、Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 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 naloxone 前処置 (薬物投与の 30 分前投与)の効果を検討した。

### 3. 新規オピオイド化合物の精神依存性評価

精神依存形成の評価には、conditioned place preference (CPP) 法を用いた。白黒 2 区画の CPP 装置 (ENS-CPP, Neuroscience 社) を用いて、1 日に 1 回条件付けを 6 日間にわたって行った。初日に Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 または溶媒である生理食塩液 (SAL) を投与し、30 分間装置内に閉じ込めた。翌日は、薬物と溶媒である SAL の組み合わせを入れ替え、薬物もしくは SAL を投与し、30 分間装置内に閉じ込めた (Table 1)。

7 日目はテストセッションとして、薬物および溶媒ともに投与せず、15 分間の白区画および黒区画の滞在時間を測定した。

Table 1. 薬物条件付けスケジュール

DAY	1	2	3	4	5	6	7
白 or 黒 (午前)	◎	○	◎	○	◎	○	T
白 or 黒 (午後)	○	◎	○	◎	○	◎	T

◎：薬物、○：溶媒、T：テスト（薬物、溶媒ともに処置せず）

#### 4. 統計解析

全てのデータは、Prism 7 for Mac OS X により解析した。行動薬理的データおよび細胞による解析データは一元配置分散分析(one-way ANOVA)を行い、ポストホックテストとして Dunnett's multiple comparison test により比較した。

### C. 研究結果

#### 1. 新規オピオイド化合物のオピオイド受容体作用

CHO- $\mu$  細胞を利用して、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の  $\mu$  受容体作用を解析した。CHO- $\mu$  細胞において protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の刺激により有意な蛍光量の増加が確認された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の  $EC_{50}$  はそれぞれ  $7.0 \times 10^{-11}$  M、 $9.9 \times 10^{-12}$  M、 $6.8 \times 10^{-13}$  M および  $4.6 \times 10^{-8}$  M であった (Fig.2A)。Protonitazene (0.01  $\mu$ M)、etazene (0.01  $\mu$ M)、etonitazepyne (0.01  $\mu$ M) および 2-methyl-AP-237 (0.1  $\mu$ M) による蛍光強度の増加作用は、選択的  $\mu$  オピオイド受容体拮抗薬  $\beta$ -FNA (25  $\mu$ M) の前処置により完全に抑制された (Fig.2B)。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 はオピオイド  $\mu$  受容体を介して薬理作用を示すことが明らかになった。

#### 2. 新規オピオイド化合物の運動活性への影響

Protonitazene (0.1 mg/kg)、etazene (1 mg/kg)、etonitazepyne (0.04 mg/kg) および 2-methyl-AP-237 (20 mg/kg) の腹腔内投与によって、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. 3)。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬である naloxone (3 mg/kg) の前処置により抑制された (Fig. 4)。

### 3. 新規オピオイド化合物の精神依存性評価

マウスを使用し conditioned place preference (CPP) 法による精神依存性の評価を行った。Protonitazene (0.1 mg/kg, i.p.)、Etazene (1 mg/kg, i.p.)、Etonitazepyne (0.01 mg/kg, i.p.) および 2-Methyl-AP-237 (20 mg/kg, i.p.) の条件付けによって CPP の発現、すなわち報酬効果の発現が認められた (Table 1)。

### D. 考察

本研究では、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 のオピオイド受容体作用、中枢作用、精神依存性に関する評価を行った。

細胞実験では、オピオイド  $\mu$  受容体をトランスフェクションし、発現安定細胞株 CHO- $\mu$  細胞を樹立し、薬理的解析に利用した。蛍光発現の検出により、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 は、オピオイド  $\mu$  受容体作用薬であることを確認した。

次に、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の行動薬理学特性を解析した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の投与により、運動促進作用が発現し、中枢作用を有することが明らかになった。この効果は、オピオイド受容体拮抗薬 naloxone によって抑制されることから、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の中枢作用は、オピオイド受容体を介して発現することが確認された。

Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の精神依存形成能に関しては、conditioned place preference (CPP) 法により評価した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の条件付けにより、有意な報酬効果の発現が確認された。したがって、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-

methyl-AP-237 は精神依存形成能を有することが示唆された。

依存性薬物による精神依存形成および中枢興奮作用の発現には中脳辺縁系ドパミン神経系の関与が示唆されている。現在までに、フェンタニルはオピオイド  $\mu$  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<sup>67)</sup>。こうした薬理学的特性に基づいて、側坐核においてドパミン遊離量の増加が発現したことで、中枢興奮作用および精神依存が発現したものと考えられる。

これまでの報告では、オーストラリアにおいて etazene の使用によって呼吸抑制と低血圧による意識消失が報告されている<sup>8)</sup>。また、Etonitazepyne は、フェンタニルやモルヒネよりも強力な  $\mu$  受容体に対するアゴニスト活性を有しており、米国やカナダなどで死亡例も報告されている<sup>9, 10)</sup>。2-Methyl-AP-237 についても、 $\mu$  受容体に対するアゴニスト活性が認められ、2020年2月から2021年4月の間で4件の死亡事故が報告されている<sup>11)</sup>。本研究結果においても、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 は強力な中枢作用と精神依存形成能を有することから、その乱用の拡大には特に注意を要すると考えられる。

本研究の解析から、オピオイド化合物による中枢興奮作用および精神依存性の発現強度は、オピオイド  $\mu$  受容体作用強度と相関することが明らかになった。したがって、CHO- $\mu$  細胞による機能解析から、オピオイド化合物の中枢興奮作用や精神依存性などの有害作用を推測できることが示唆された。本研究の行動解析および細胞解析データパターンを拡大することで、オピオイド化合物の包括指定が可能であると考えられる。

本研究で確認された動物実験とオピオイド受容体発現細胞による機能解析法は、総合的な有害作用評価システムとして、評価の迅速化のために有用な手法であると考えられる。さらに、オピオイド化合物における包括指定導入へ寄与する解析手法であると期待される。

## E. 結論

本研究の解析から、オピオイド化合物による中枢興奮作用および精神依存性の発現強度は、オピオイド  $\mu$  受容体作用強度と相関することが明らかになった。したがって、CHO- $\mu$  細胞による機能解析から、オピオイド化合物の中枢興奮作用や精神依存性などの有害作用を推測できることが示唆された。本研究の行動解析および細胞解析データパターンを拡大することで、オピオイド化合物の包括指定が可能であると考えられる。

## F. 参考文献

- 1) Rudd RA, Puja S, Felicita D, Scholl L. Increases in drug and opioid- involved overdose deaths - United States, 2010-2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 65: 1445-1452, 2016.
- 2) Young MM, Pirie T, Buxton JA, Hosein SF. The Rise of Overdose Deaths Involving Fentanyl and the Value of Early Warning. *Canadian Journal of Addiction.* 6: 13-17, 2015.
- 3) Krotulski AJ, Papsun DM, Walton SE, Logan BK. Metonitazene in the United States-Forensic toxicology assessment of a potent new synthetic opioid using liquid chromatography mass spectrometry. *Drug Test Anal.* 13: 1697-1711, 2021.
- 4) Verougstraete N, Vandeputte MM, Lyphout C, Cannart A, Hulpia F, Van Calenbergh S, Verstraete AG, Stove C. First Report on Brorphine: The Next Opioid on the Deadly New Psychoactive Substance Horizon? *J Anal Toxicol.* 44: 937-946, 2021.

- 5) SE Walton, AJ Krotulski, BK Logan. A Forward-Thinking Approach to Addressing the New Synthetic Opioid 2-Benzylbenzimidazole Nitazene Analogs by Liquid Chromatography-Tandem Quadrupole Mass Spectrometry (LC-QQQ-MS). *J Anal Toxicol.* 246: 221-231, 2022.
- 6) 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: 1357-1365, 1999.
- 7) 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: 1067-1080, 1988.
- 8) Schumann JL, Syrjanen R, Alford K, Mashetty S, Castle JW, Rotella J, Maplesden J, Greene SL. Intoxications in an Australian Emergency Department Involving 'Nitazene' Benzylbenzimidazole Synthetic Opioids (Etodesnitazene, Butonitazene and Protonitazene). *J Anal Toxicol.* 2022 Aug 19:bkac062. doi: 10.1093/jat/bkac062.
- 9) Vandeputte MM, Krotulski AJ, Walther D, Glatfelter GC, Papsun D, Walton SE, Logan BK, Baumann MH, Stove CP. Pharmacological evaluation and forensic case series of N-pyrrolidino etonitazene (etonitazepyne), a newly emerging 2-benzylbenzimidazole 'nitazene' synthetic opioid. *Arch Toxicol.* 96:1845-1863. 2022.
- 10) Montanari E, Madeo G, Pichini S, Busardò FP, Carlier J. Acute Intoxications and Fatalities Associated With Benzimidazole Opioid (Nitazene Analog) Use: A Systematic Review. *Ther Drug Monit.* 44: 494-510, 2022.
- 11) Fogarty MF, Vandeputte MM, Krotulski AJ, Papsun D, Walton SE, Stove CP, Logan BK. Toxicological and pharmacological characterization of novel cinnamylpiperazine synthetic opioids in humans and in vitro including 2-methyl AP-237 and AP-238. *Arch Toxicol.* 96: 1701-1710, 2020.

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

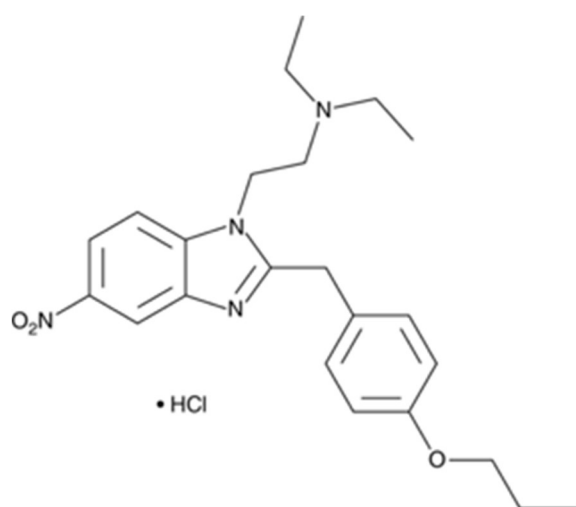
- 1) 船田正彦: 危険ドラッグの依存性. *精神科*, 41: 239-247, 2022.
- 2) 船田正彦: 海外の大麻規制変遷から考える国内の大麻規制再構築の意義. *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*, 54: 36-42, 2023.

#### 2. 学会発表

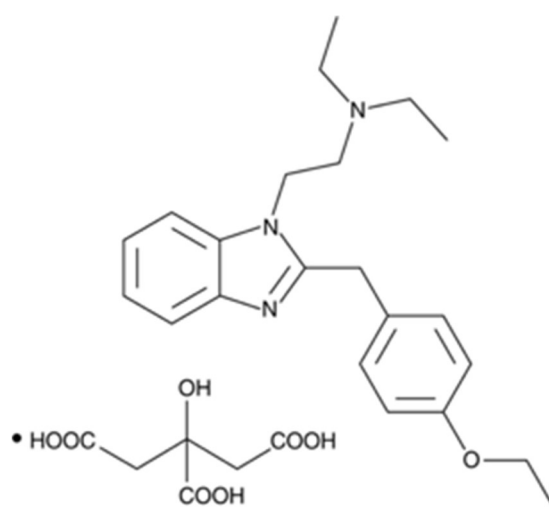
- 1) 船田正彦: 危険ドラッグの最新海外事情, 第20回日本旅行医学会, Web開催, 2022年5月21日.
- 2) 富澤幸菊、菊川俊太郎、有田浩暢、中村佳代、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、船田正彦、高橋 秀依: フェンタニル誘導体の構造活性相関, 日本薬学会 第140年会, 札幌, 2022年3月25日.

### H. 知的財産権の出願・登録状況

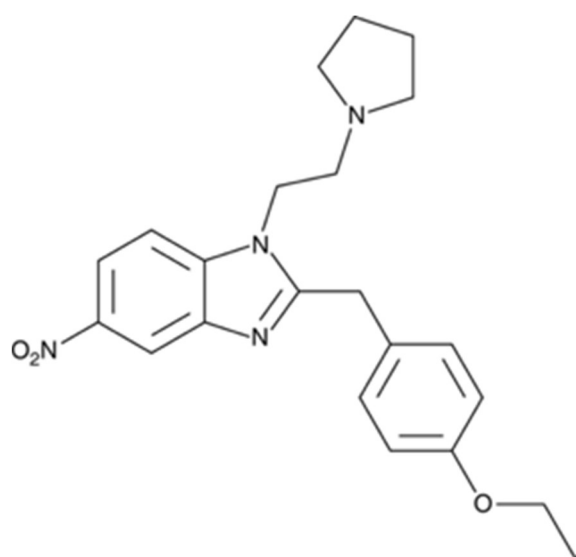
特許取得、実用新案登録、その他  
特になし



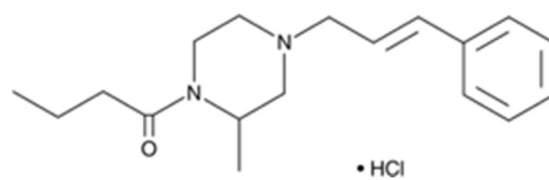
Protonitazene



Etazene



Etonitazepyne



2-Methyl-AP-237

Fig. 1. (薬物の化学構造)

Chemical structures of protonitazene, etazene, etonitazepyne or 2-Methyl-AP-237.

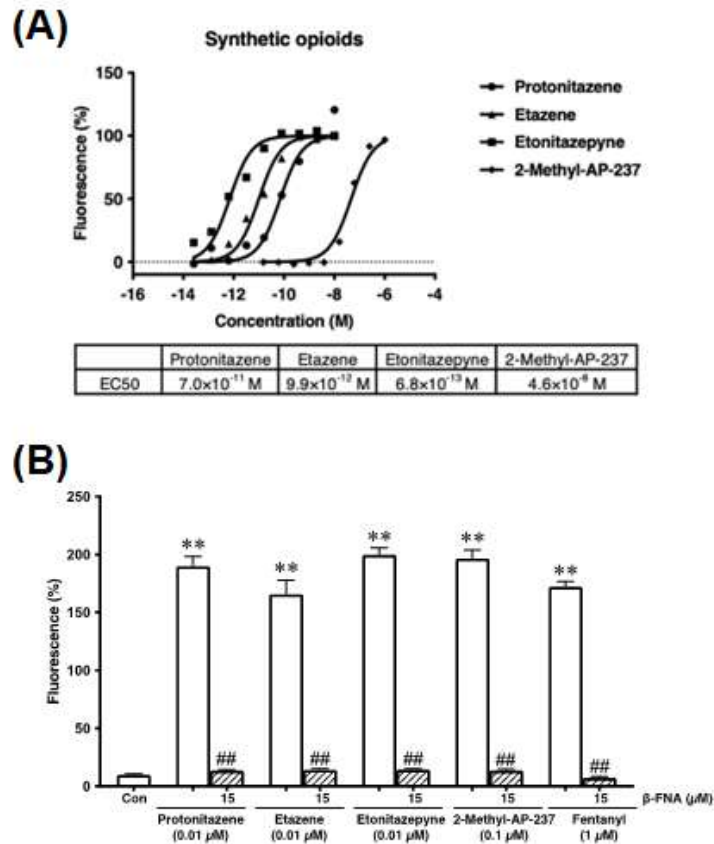


Fig. 2. Effect of treatment with Protonitazene, Etazene, Etonitazepyne or 2-methyl-AP-237 on calcium signal in cloned human  $\mu$  opioid receptors expressed CHO cells. (A) Changes in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  levels were detected as changes in fluorescence in the Flexstation II. Each plot represents the mean with S.E.M. of three independent experiments. The effective concentration 50% ( $\text{EC}_{50}$ ) values calculated using GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA). (B) Effect of pretreatment with  $\mu$  opioid receptor antagonist  $\beta$ -funaltrexamine ( $\beta$ -FNA) on protonitazene, etazene, etonitazepyne or 2-methyl-AP-237-induced elevation of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  levels in CHO- $\mu$  cells. Changes in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  levels were detected as changes in fluorescence in the Flexstation II. Each column represents the mean with S.E.M. of three independent experiments. Results were expressed in relative fluorescence units (RFU). \*\* $p$ <0.01 vs. control. ### $p$ <0.01 vs. protonitazene-treated groups, etazene-treated groups, etonitazepyne-treated groups or 2-methyl-AP-237-treated groups.

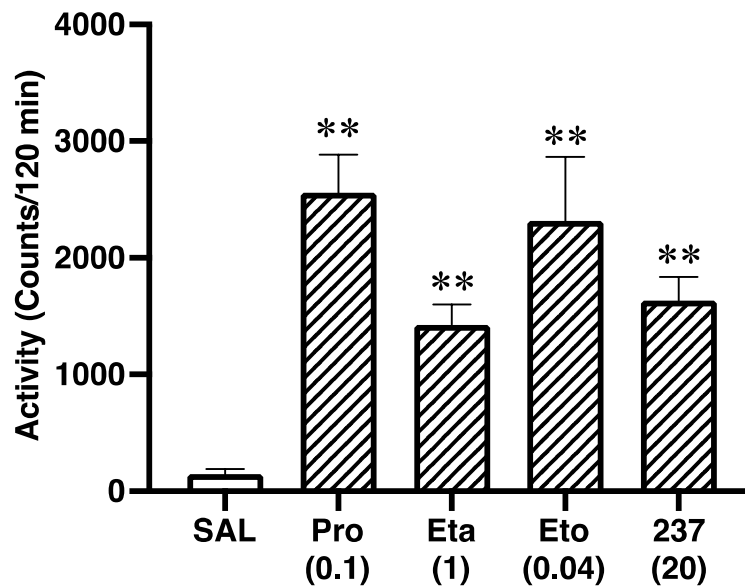


Fig. 3. Effect of acute treatment with protonitazene on the locomotor activity in mice. Total locomotor activity changes after acute administration of protonitazene (Pro, 0.1 mg/kg), Etazene (Eta, 1 mg/kg), Etonitazepyne (Eto, 0.04 mg/kg) or 2-Methyl-AP-237 (237, 20 mg/kg)-treated in mice. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 120 min (n=16). Dunnet's posttest was also applied on each graph. \*\* $p < 0.01$  vs. SAL-treated group.

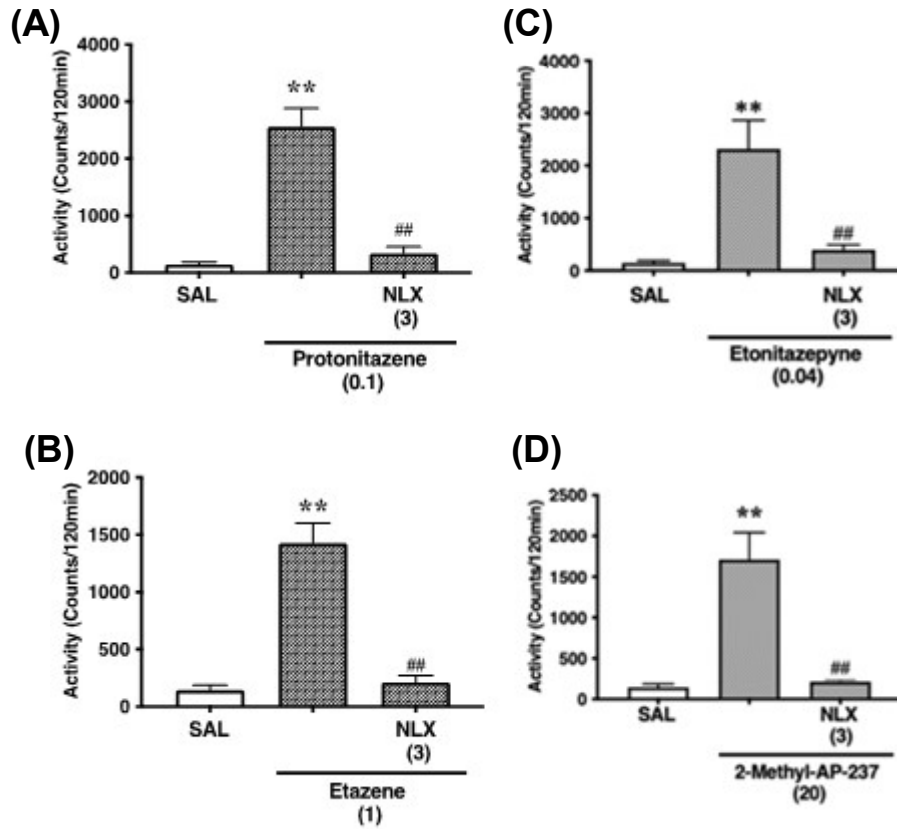


Fig. 4. Role of opioid receptor on the synthetic opioid-induced hyperlocomotion in mice. Effect of pretreatment with the opioid receptor antagonist naloxone (NLX, 3 mg/kg, pre 30 min) on the acute administration of protonitazene (0.1 mg/kg), Etazene (1 mg/kg), Etonitazepyne (0.04 mg/kg) or 2-Methyl-AP-237 (20 mg/kg)-induced hyperlocomotion were examined. Each column represents the mean total locomotor activity counts with S.E.M. for 10 min (n=16). Dunnet's posttest was also applied on each graph. \*\* $p < 0.01$  vs. SAL-treated group. ## $p < 0.01$  vs. opioid-treated group.



Table 1 Effects of the synthetic opioids on place conditioning in mice.

CPP score					
Dunnett's multiple comparisons test	SAL	Protonitazene (0.1)	Etodesnitazene (1)	Etonitazepyne (0.01)	2-Methyl-AP-237 (20)
Mean	7.32	104.4	59.7	94.82	71.27
SEM	±10.79	±14.56	±13.12	±13.02	±21.73
<i>p</i> value summary (vs SAL)		<i>p</i> <0.01	<i>p</i> <0.05	<i>p</i> <0.01	<i>p</i> <0.05

Effects of new psychoactive substances on place conditioning in mice. Place conditioning produced by Protonitazene (0.1 mg/kg), Etazene (1 mg/kg), Etonitazepyne (0.04 mg/kg) or 2-Methyl-AP-237 (20 mg/kg). Conditioning sessions (3 for drug; 3 for saline) were conducted. On day 7, test of conditioning was performed. Conditioning scores (CPP score) represent the time spent in the drug-paired place minus the time spent in the saline-paired place. Each column represents the mean with S.E.M. of 12 animals. *p*<0.05, *p*<0.01 vs. saline (SAL)-treated group.

分担研究報告書

危険ドラッグと関連代謝物のインシリコによる活性予測法の開発

分担研究者：栗原正明 (湘南医療大学 薬学部)

協力研究者：市丸 嘉 (湘南医療大学 薬学部)

【研究要旨】

[緒言] 危険ドラッグ及び関連化合物の速やかな規制のために、それらの迅速な評価法開発が求められる。その目的においてインシリコ活性予測法は有効な評価法のひとつになり得ると考えられる。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] 活性既知のカンナビノイド (THC: tetrahydrocannabinol 類縁体) を用いて QSAR (定量的構造活性相関) 解析を行った。作成した QSAR 式を用いて活性が未知の THC 類縁体の活性予測を行った。

[考察] 良好な QSAR 式を得ることができた。(R<sup>2</sup>=0.978) 得られた QSAR 式を用いてΔ<sup>9</sup>-THC 類縁体、Δ<sup>8</sup>-THC 類縁体の活性予測を行った。

A. 研究目的

危険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、危険ドラッグの速やかな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。カンナビノイド (THC: tetrahydrocannabinol 類縁体) の包括規制を見据えた、カンナビノイド類縁体 (Fig. 1) の QSAR (定量的構造活性相関) 解析を行うことを目的とした。

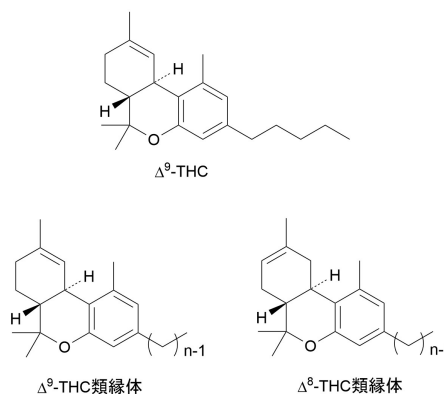


Fig. 1

B. 研究方法

文献既知のカンナビノイド類縁体<sup>1)</sup>のうち側鎖の炭素鎖が異なる化合物7個 (Table 1) を母集団とし、統合計算化学システム MOE に搭載

された AutoQSAR を用いて QSAR 式を作成した。

### C. 研究結果

MOE を用いて作成した良好な QSAR 式を下に示した。

$$\begin{aligned} \text{pKi} = & \\ & -3.593867 \\ & +0.009454 * \text{PEOE\_VSA-0} \\ & +0.016227 * \text{PEOE\_VSA-1} \end{aligned}$$

$$R^2 = 0.978$$

PEOE\_VSA-0、PEOE\_VSA-1 は MOE の記述子である。式のグラフを Fig. 2 に示した。この QSAR 式を用いて、活性未知のカンナビノイド類縁体 ( $\Delta^9$ -THCB,  $\Delta^9$ -THCH,  $\Delta^9$ -THCP,  $\Delta^9$ -THCjd,  $\Delta^8$ -THCV) の活性を予測した。(Table 2 に赤字で表記した)

### D. 考察

記述子を 2 つ用いた良好な QSAR 式を得ることができた。(R<sup>2</sup> = 0.978)  
得られた QSAR 式を用いて  $\Delta^9$ -THC 類縁体、 $\Delta^8$ -THC 類縁体の活性予測を行った。これにより n = 3~8 の  $\Delta^8$ 、 $\Delta^9$ -THC の化合物 12 個のマトリックスを完成することができた。(Table 2)

### E. 結論

活性が既知のカンナビノイド類縁体のうち側鎖の炭素鎖が異なる化合物 7 個を母集団とし、MOE に搭載された AutoQSAR を用いて QSAR 式を作成した。作成した QSAR 式を用いてカンナビノイド類縁体の 12 化合物のマトリックスを作った。これによりカンナビノイド類縁体の総括規制に供するデータとなると考えている。

### F. 参考文献

- 1) Eric W. Bow, John M. Rimoldi; The Structure-Function Relationships of Classical Cannabinoids: CB1/CB2 Modulation; Perspectives in Medicinal Chemistry, 2016, 17-39.

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Moriya S, Yoneta Y, Kuwata K, Imamura Y, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T:  
2) PreQ1 Facilitates DNA Strand Invasion by PNA: *Peptide Science 2021*, 2022, 111-112
- 3) Yuyama M, Misawa T, Demizu Y, Kanaya T, Kurihara M.: Design and synthesis of novel estrogen receptor antagonists with acetal containing biphenylmethane skeleton: *Results in Chemistry*, 3, 2021, 100124
- 4) Moriya S, Shibasaki H, Kohara M, Kuwata K, Imamura, Y, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T: Synthesis and characterization of PNA oligomers containing preQ1 as a positively charged guanine analogue: *Bioorg Med Chem Lett.* 2021, 39, 127850

#### 2. 学会発表

- 1) 湯山円晴, 市丸 嘉, 荒井裕美子, 金谷貴行, 佐藤忠章, 船田正彦, 栗原正明: ドッキングスタディによる CB1 受容体リガンドの活性予測: 日本薬学会第 142 年会 (2022/03/28) オンライン開催
- 2) 湯山円晴, 三澤隆史, 出水庸介, 金谷貴行, 佐藤忠章, 栗原正明: ジフェニルメタン骨格を持つ新規 ER $\alpha$  アンタゴニストの創製: 日本薬学会第 142 年会 (2022/03/28)
- 3) 栗原正明 (招待講演): 核内受容体に作用する薬物分子の創製: 第 50 回構造活性相

関シンポジウム（2022/11/10-11, 名古屋）

- 4) 荒井裕美子, 湯山円晴, 市丸嘉, 佐藤忠章, 栗原正明: QSARによる危険ドラッグのインシリコ活性予測: 第50回構造活性相関シンポジウム（2022/11/10-11, 名古屋）

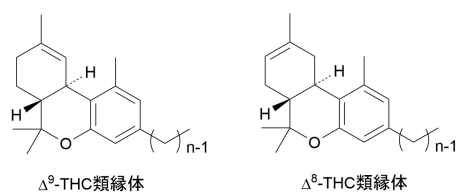
#### I. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録、その他  
特になし

Table 1

THC 類縁体	Ki (nM)	pKi
	75.4	-1.8774
	40	-1.6021
	65	-1.8129
	45	-1.6532
	41	-1.6128
	22	-1.3424
	8.5	-0.9294

Table 2



Ki (nM)	n = 3 C3 (THCV)	n = 4 C4 (THCB)	n = 5 C5 (THC)	n = 6 C6 (THCH)	n = 7 C7 (THCP)	n = 8 C8 (THCjd)
Δ <sup>9</sup> -THC	75.4	63.2	40	33.0	23.8	17.2
Δ <sup>8</sup> -THC	76.3	65	45	41	22	8.5

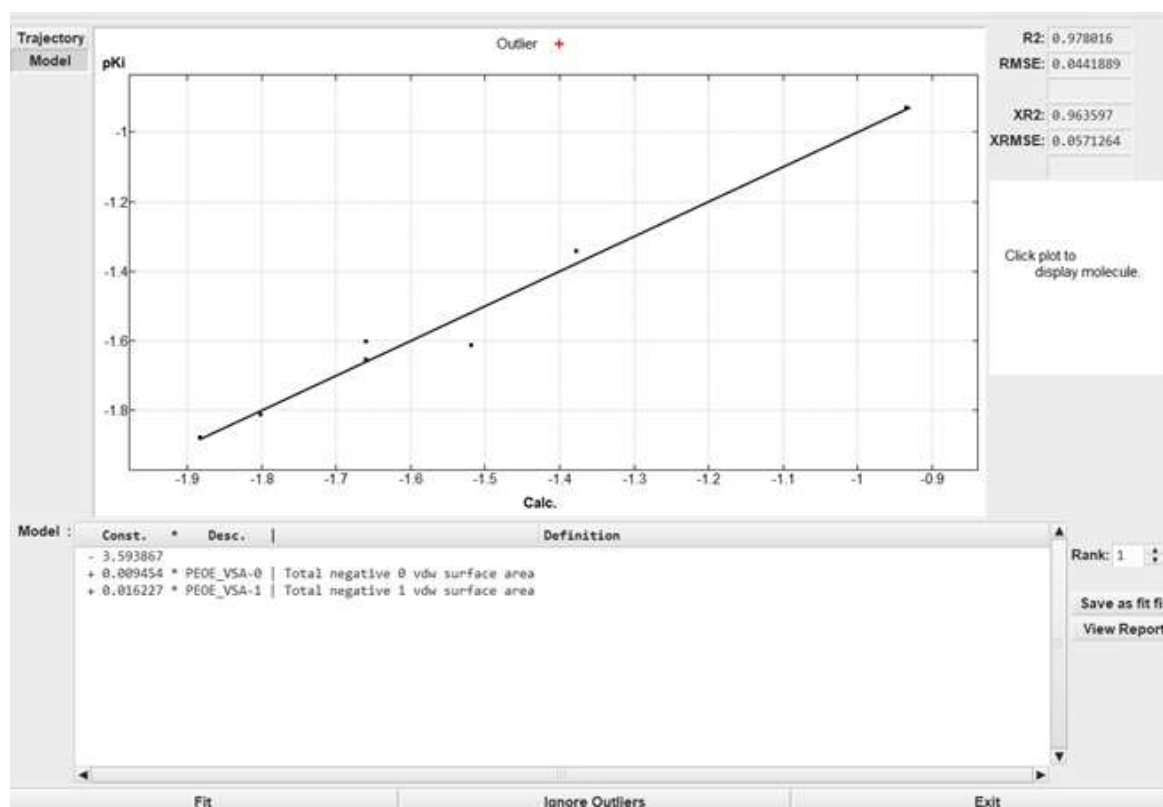


Fig. 2

令和4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)  
危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価と乱用実態把握に関する研究(21KC1003)

分担研究報告書

## 危険ドラッグおよび関連化合物の有害性発現に関わる

### 標的生体分子系の探索研究-2

#### ～モノアミントランスポーターを標的とした

#### 有害性スクリーニングの検討2～

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機構学 講師）

---

#### 【研究要旨】

[緒言] これまでの検討結果から、モノアミントランスポーターへの直接作用が危険ドラッグ/乱用薬物の神経毒性発現の端緒となっている可能性が考えられたので、昨年度はドパミン・セロトニントランスポーター(DAT・SERT)を恒常的に発現している CHO-DAT 細胞、CHO-SERT 細胞を用いて危険ドラッグの細胞毒性を検討したが、神経毒性が比較的軽度であり、モノアミンの取り込み、貯蔵、放出ができる機構をもつ培養神経細胞株を用いる必要があると考えられた。そこで、今年度は危険ドラッグ/乱用薬物の DAT への作用の有無を評価するために、CHO-DAT 細胞に加えてドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞を用いて、アルキン化ドパミン(DAtracer)および危険ドラッグ/乱用薬物を反応させ、固定後クリック反応でドパミンを蛍光標識することで DAT への競合反応の有無を検出するアッセイ系の構築を試みた。また、マウス線条体の粗膜分画から免疫沈降で得られた DAT 蛋白を蛍光標識し、危険ドラッグ/乱用薬物と反応させ、BEACONにより蛍光偏光を測定することにより DAT への結合活性の有無を評価する *in vitro* 評価系の確立についても試みた。[結果と考察] 非神経細胞 CHO-DAT 細胞でのクリック反応では、アルキン化ドパミンの蛍光は観察できなかった。次に、CATH.a 細胞を用いてアルキン化ドパミン(DAtracer)を反応させ、クリック反応による蛍光標識を行ったところ、DAtracer の DAT への結合と考えられる細胞膜上の蛍光陽性シグナルが、濃度依存的に増加することが確認でき、非標識ドパミンの同時添加により抑制されたことから、DAtracer の DAT への作用に対してドパミンが競合していると考えられ、DAT への競合反応の有無を蛍光顕微鏡で検出するクリックケミストリーのアッセイ系を確立できた。また、methyone, 4FMP > MDMA > METH, PMMA > PP の順で、DAtracer の蛍光シグナルが同時添加で抑制され、DAT への競合拮抗作用を有していることを評価できた。しかし、検出される蛍光シグナルは強くなく、一様の変化を示さないものもあり、蛍光シグナル抑制の判断は容易ではなく定量性に課題が残る。危険ドラッグの結合活性の BEACON での *in vitro* 評価系の確立については、免疫沈降では十分な DAT 蛋白量を得ることができなかったため、今後リコンビナント DAT 蛋白を用いて検討する予定にしている。

---

## A. 研究目的

これまでに、培養神経細胞を用いて、危険（違法、脱法）ドラッグの神経細胞毒性に関する検討を行い、毒性発現のプロファイルならびに構造毒性相関を明らかにしてきた<sup>1)14)</sup>。これらの知見は、一定の構造を有する薬剤を指定薬物にすることで包括的に規制することの必要性、重要性を示すものである。しかし、次々に別の類似構造をもつ化学物質が製造され、流通・乱用されていることから、危険ドラッグおよび類似化学物質の危険性および精神・神経毒性を予測する技術、すなわち精神・神経毒性発現の蓋然性の指標となる生体分子への作用を簡便に迅速に評価できるスクリーニング法の確立が求められている。

平成15年度から平成26年度まで、ドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞ならびにモノアミン系セロトニン含有神経細胞 B65 細胞を用いて、のちに麻薬指定されたものも含む以下の危険ドラッグの神経毒性および毒性構造相関について検討してきた<sup>1)14)</sup>。植物由来催幻覚物質：harmaline, harmine, インドールアルカロイド系：5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5MeO-DIPT), N-isopropyl-5-methoxy-N-methyltryptamine (5MeO-MIPT), 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine (5MeO-DMT), 5-methoxy-N,N-diallyltryptamine (5MeO-DALT), フェネチルアミン系：methyldone (メチロン), 4-fluoroamphetamine (4FMP), 4-methoxymethamphetamine (PMMA), 「2C シリーズ」 2,5-dimethoxy-4-propyl thiophenethylamine (2CT-7), 2,5-dimethoxy-4-isopropylthiophenethylamine (2CT-4), 2,5-dimethoxy-4-ethylthiophenethylamine (2CT-2), 2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2C-I), 2,5-dimethoxy-4-chlorophenethylamine (2C-C), trichloro-2C-H (T-2C-H), ピペラジン系：phenylpiperazine (PP), 1-(2-chlorophenyl)-piperazine (2CPP), 1-(4-chlorophenyl)-piperazine (4CPP), 1-(4-methoxyphenyl)-piperazine (4MPP),

カチノン系：ethcathinone (エトカチノン), 2-fluorocathinone (2-FCAT), 3-fluorocathinone (3-FCAT), 4-fluorocathinone (4-FCAT)。その結果、harmaline, harmine が比較的低濃度でアポトーシス様細胞死を惹起しうること<sup>2,3)</sup>、MDMA や覚せい剤 methamphetamine (METH)の構造類似体の methyldone, 4FMP, PMMA が、低濃度からMDMA もしくは METH との同時併用により、ドパミン系神経細胞ならびにセロトニン含有神経細胞に対して強い細胞毒性を惹起すること<sup>3,4,6)</sup>、ピペラジン系 PP, 2CPP, 4CPP, 4MPP は、ドパミン系神経細胞ならびにセロトニン含有神経細胞に対して、極めて強い神経毒性を惹起することを明らかにした<sup>7)</sup>。フェネチルアミン系「2C シリーズ」2CT-7, 2CT-4, 2CT-2, 2C-I, 2C-C, T-2C-H が単独でドパミン系神経細胞ならびにセロトニン含有神経細胞においてMDMA やMETH よりもはるかに強い神経毒性をもたらすことを示し、「2C シリーズ」の共通骨格が、単独でドパミン系神経細胞ならびにセロトニン含有神経細胞に対して強い細胞毒性を示すこと、2,5 位に dimethoxy 基を有する共通骨格によりドパミン系・セロトニン系神経細胞に対して、規制薬物のMDMA、メチロンやMETH よりもはるかに強い毒性を発揮することを明らかにした<sup>5,8-10,13,14)</sup>。5MeO-DIPT のインドール骨格に加え側鎖の diisopropyl 基が強い神経細胞毒性を惹起する可能性があることを示し<sup>1,11)</sup>、カチノン骨格の神経毒性は弱い、そのベンゼン環の修飾はさらにドパミン神経細胞毒性を低下させることも明らかにした<sup>11,12)</sup>。

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<sup>7-14)</sup>。

平成 27 年度から平成 29 年度には、危険ドラッグの精神・神経毒性発現の蓋然性を示す共通の作用点となりうると考えられるモノアミン酸化酵素 monoamine oxidase (MAO)の阻害活性について、発光性 MAO 基質による MAO 活性の発光検出システムを用いて検討し、フェネチルアミン系、ピペラジン系、インドールアルカロイド系などの粉末・顆粒状乱用ドラッグの水溶液およびアロマオイルに混じた乱用ドラッグの MAO 阻害活性を高感度で検出できること、小型キット化すれば簡便なスクリーニング法になりうることを明らかにした<sup>15)-17)</sup>。

平成 30 年度、令和元年度は、組織損傷に応じて細胞外へ放出され炎症惹起に働く damage-associated molecular patterns (DAMPs)であり、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発現が誘導され、中和抗体投与により神経障害が有意に抑制される<sup>18)</sup>ことが報告されている核内 DNA 結合タンパク質 High mobility group box-1 (HMGB1)に着目し、METH 急性投与神経毒性モデルマウスでの HMGB1 血中濃度の上昇と神経細胞での核外移行、高体温、ドパミン神経終末の脱落が、抗 HMGB1 抗体の静脈内投与により有意に抑制できること<sup>19)</sup>、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)のモノアミン系培養神経細胞への曝露早期における HMGB1 の核外移行と神経細胞障害性が、2CT-7を除いて相関しており、HMGB1 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<sup>20)</sup>を明らかにした。さらに令和 2 年度には、HMGB1 の核外移行だけでなく、細胞内でのスーパーオキシドなど活性酸素種生成など複数の早期神経障害指標を用いて神経毒性発現の蓋然性をスクリーニングすることが望ましいことを提唱した<sup>21)</sup>。

このようなドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞ならびにモノアミン系セロトニン含有神経細胞

B65 細胞を用いた危険ドラッグおよび類似関連化合物の神経毒性および毒性構造相関、神経炎症や酸化ストレスの誘導性についての検討結果<sup>1)-14)</sup>から、神経細胞のモノアミントランスポーター、すなわちドパミントランスポーター(DAT)あるいはセロトニントランスポーター(SERT)への直接作用が神経毒性発現の端緒となっている可能性が考えられた。そこで、モノアミントランスポーターの DAT や SERT を強制発現している細胞を用いることで、より鋭敏に感度よく細胞障害性を評価できないかと考え、昨年度令和 3 年度は DAT, SERT を恒常的に発現している chinese hamster ovary (CHO)細胞(CHO-DAT, CHO-SERT)を用いて各種乱用薬物、危険ドラッグ曝露による細胞毒性および形態変化について検討したところ、2CT-7, 2CT-4, 2C-C, harmaline, 5MeO-DMT, 5MeO-MIPT, PP で細胞死およびアポトーシス様の形態変化が認められたが、CATH.a 細胞、B65 細胞に比べ軽度であり、特に METH, MDMA, methylone, 4FMP, PMMA などのフェネチルアミン系ドラッグの細胞毒性は、CATH.a 細胞や B65 細胞では顕著であるのに比べ、CHO-DAT 細胞、CHO-SERT 細胞では全く認められなかった<sup>22)</sup>。これらより、危険ドラッグの細胞毒性発現には神経伝達物質の存在および放出が必要であり、細胞毒性を評価指標にするにはモノアミンの取り込み、貯蔵、放出機構をもっている培養神経細胞株を用いる必要があると考えられた<sup>22)</sup>。

そこで、今年度は危険ドラッグ/類似関連化合物の DAT への作用の有無を評価するために、DAT 恒常発現 CHO-DAT 細胞に加えて、ドパミンの取り込み、貯蔵、放出機構をもっているドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞を用いて、アルキン化ドパミンおよび危険ドラッグ/乱用薬物を細胞に添加・反応させた後に固定し、蛍光アジドとのクリック反応でドパミンを蛍光標識し、標識ドパミンと危険ドラッグ/乱用薬物の DAT への競合反応の有無を検出するクリックケミストリーでのアッセイ系の構築を試みた。また、マウス線条体の粗膜分画から DAT 抗体に

よる免疫沈降で得られた DAT 蛋白を蛍光標識し、危険ドラッグあるいは類似関連化合物と反応させ、BEACON により蛍光偏光を測定することにより DAT への結合活性の有無を評価する in vitro 評価系の確立についても試みた。

## B. 研究方法

### 1. クリック反応でのアルキン化ドパミン標識法を用いた DAT 恒常発現 CHO 細胞およびドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞における危険ドラッグの DAT への作用の評価

ラット DAT の遺伝子導入により作成された DAT 恒常発現細胞株である CHO-DAT 細胞 (十川千春先生より分譲) を用いた<sup>23)</sup>。親株の CHO 細胞も対照として用いた。CHO-DAT 細胞、CHO 細胞を継代して 96 ウェル培養プレートに播種して ( $1.0 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup>)、48 時間後に、1-100  $\mu$ M アルキン化ドパミン (DAtracer) および危険ドラッグあるいは類似関連化合物を細胞に添加し、37°C で 30 分間反応させる。4% paraformaldehyde で固定した後、Cu<sup>+</sup>触媒下で蛍光アジド (2.5  $\mu$ M Azide fluor 488) とのクリック反応 (室温、30 分間) により細胞膜上の DAT に結合あるいは取り込まれたドパミンを蛍光標識する。PBS による洗浄の後、蛍光強度を測定することで、標識ドパミンと危険ドラッグ/類似関連化合物との DAT への競合反応の有無を検出する。

また、ドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞を継代して 96 ウェル培養プレートに播種して ( $5.0 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup>)、48 時間後に、10 種の乱用薬物/危険ドラッグ: METH (最終濃度 2 mM), MDMA (1 mM), methyline (2 mM), 4-fluoroamphetamine (4FMP: 2 mM), 4-methoxymethamphetamine (PMMA: 2 mM), phenylpiperazine (PP: 2 mM), 2,5-dimethoxy-4-propylthio-phenethylamine (2CT-7: 250  $\mu$ M), 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine (5MeO-DMT: 2 mM), N-isopropyl-5-methoxy-N-methyltryptamine (5MeO-MIPT: 2 mM) および harmaline (250  $\mu$ M) あるいはドパミン (50  $\mu$ M) を添加し、次いで 1-

100  $\mu$ M アルキン化ドパミン (DAtracer) を添加し、37°C で 30 分間反応させる。固定後、上述の蛍光アジド (2.5  $\mu$ M Azide fluor 488) とのクリック反応 (室温、30 分間) により細胞膜上の DAT に結合あるいは取り込まれたドパミンを蛍光標識して、蛍光強度の測定および蛍光顕微鏡による蛍光シグナルの観察を行い、標識ドパミンと危険ドラッグ/類似関連化合物との DAT への競合反応の有無を評価する。

### 2. 線条体粗膜分画からの DAT 蛋白に対する危険ドラッグの結合活性の in vitro 評価系

マウス線条体組織 (約 15 mg) を protease inhibitor 入りの PBS 200  $\mu$ l でホモジナイズし、12,000 rpm, 20 分間遠沈し粗膜分画を得る。線条体粗膜分画から DAT 抗体による免疫沈降 (Dynabeads Protein G IP kit) で得られた DAT 蛋白を抽出する。DAT 蛋白を Alexa Fluor 488 labeling kit を用い蛍光標識し、蛍光標識 DAT 蛋白と危険ドラッグあるいは類似関連化合物と反応させ、BEACON により蛍光偏光を測定し、DAT への結合活性の有無を評価する。

## C. 研究結果

### 1. クリック反応でのアルキン化ドパミン標識法を用いた DAT 恒常発現 CHO 細胞およびドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞における危険ドラッグの DAT への作用の評価

DAT 恒常発現 CHO-DAT 細胞にアルキン化ドパミン (DAtracer) を添加・反応させた後に固定し、蛍光アジドとのクリック反応でドパミンを蛍光標識したところ、アルキン化ドパミンの蛍光は観察できなかった。

次に、ドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞を用いて、アルキン化ドパミン (DAtracer) を反応させ固定後、蛍光アジドとのクリック反応によりドパミンを蛍光標識するクリックケミストリーを行った。DAtracer の濃度依存的に DAT への結合と考えられる細胞膜上の蛍光陽性シグナルが検出され、DAtracer (最終濃度 50  $\mu$ M) において最大強度を示した (Fig. 1)。この

DAtracer (50  $\mu$ M)での蛍光シグナルは、50  $\mu$ M 非標識ドパミン添加により抑制されていた(Fig. 1)。さらに、DAtracer (50  $\mu$ M)の DAT への結合作用に対する 10 種の乱用薬物/危険ドラッグ (各 500  $\mu$ M, 1 mM)添加の影響を調べた。2CT-7, harmaline では著明な神経細胞死のために DAtracer の蛍光シグナルが全く観察できなかった。高用量での神経細胞死とともに、methylone, 4FMP > MDMA > METH, PMMA > PP の順で、DAtracer (50  $\mu$ M)の蛍光シグナルが抑制されていた(Fig. 2a-c)。また、インドールアルカロイド系の 5MeO-DMT と 5MeO-MIPT については、高用量での神経細胞死はみられるものの、DAtracer の蛍光シグナルは一様の変化はなく、明らかな減退はみられなかった。

なお、このクリック反応による DAT に結合したアルキン化ドパミン(DAtracer)の蛍光シグナルは、蛍光顕微鏡では検出できるものの、蛍光マイクロプレートリーダーによる蛍光強度測定で測定できるほど強いものではなかった。

## 2. 線条体粗膜分画からの DAT 蛋白に対する危険ドラッグの結合活性の in vitro 評価系

培養細胞や動物などを用いない in vitro 評価系を確立することを目指して、線条体粗膜分画から DAT 抗体を抽出し、蛍光標識して危険ドラッグと反応させ BEACON による蛍光偏光の変化により DAT 結合活性を評価することを試みた。しかし、線条体粗膜分画から得られた DAT 蛋白は非常に少なくアッセイ系を確立することはできなかった。

## D. 考察

これまでのドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞ならびにセロトニン含有神経細胞 B65 細胞を用いた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、毒性発現のプロファイルならびに構造毒性相関に関する検討結果<sup>11-14)</sup>から、それぞれの薬剤のモノアミントランスポーター(DAT, SERT)への直接作用が神

経毒性発現の端緒となっている可能性が考えられたので、DAT を標的とした危険ドラッグの有害性スクリーニング方法の確立を試みた。

## 1. クリック反応でのアルキン化ドパミン標識法を用いた DAT 恒常発現 CHO 細胞およびドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞における危険ドラッグの DAT への作用の評価

危険ドラッグ/類似関連化合物の DAT への作用の有無を評価するにあたり、ドパミンの DAT への作用を非 RI により可視化する方法として、蛍光標識ドパミンを細胞膜上の DAT に作用させ方法が考えられるが、分子量の大きい蛍光物質によりドパミンの DAT への結合、取り込みが阻害されてしまう可能性が高い。そこで、アルキン化ドパミンを生細胞に反応させ DAT に結合、取り込みさせた後に固定し、蛍光アジドとのクリック反応によりドパミンを蛍光標識するクリックケミストリーの手法を用いた。まず、CHO-DAT 細胞にアルキン化ドパミン(DAtracer)を添加・反応させた後に固定し、クリック反応により蛍光アジドでドパミンの蛍光標識を試みたところ、蛍光シグナルは観察できなかった。昨年度の細胞毒性に関する検討では、CHO-DAT 細胞では危険ドラッグ/類似関連化合物の細胞毒性が比較的軽度であった<sup>22)</sup>。今回のアルキン化ドパミンによる DAT への作用が CHO-DAT 細胞ではみられなかったことから、危険ドラッグ/類似関連化合物のモノアミントランスポーターへの作用を検討するには、モノアミンの取り込み、貯蔵、放出の機構をもつ培養神経細胞株を用いる必要性が考えられた。

そこで次に、ドパミンの取り込み、貯蔵、放出機構をもっているドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞を用いて、アルキン化ドパミンを反応させ、固定後クリック反応による蛍光標識を行ったところ、アルキン化ドパミン(DAtracer)の DAT への結合と考えられる細胞膜上の蛍光陽性シグナルが、濃度依存的に増加することが確認でき、非標識ドパミンの同時

添加により抑制されたことから、アルキン化ドパミン(DAtracer)の DAT への作用に対して非標識ドパミンが競合していると考えられ、DAT への競合反応の有無を蛍光顕微鏡で検出するクリックケミストリーのアッセイ系を確立できた(Fig. 1)。この CATH.a 細胞におけるクリック反応でのアルキン化ドパミン標識法を用いて乱用薬物/危険ドラッグの DAT への作用の評価を行ったところ、主にフェネチルアミン系、ピペラジン系のドラッグ、methylone, 4FMP > MDMA > METH, PMMA > PP の順で、アルキン化ドパミンの蛍光シグナルが同時添加で抑制されており、DAT への競合拮抗作用を有していることが認められた(Fig. 2a-c)。2CT-7, harmaline については用いた用量では神経細胞死、細胞脱落が著明なためにアルキン化ドパミンの蛍光シグナルが全く観察できなかった。これらの結果から、クリック反応でのアルキン化ドパミン標識法を用いて乱用薬物/危険ドラッグにより蛍光シグナルの抑制、減弱あるいは消失が認められた場合には、DAT への競合拮抗作用ないしは強力な細胞毒性を有していると評価できる。インドールアルカロイド系の 5MeO-DMT と 5MeO-MIPT では、高用量での神経細胞死はみられるものの、アルキン化ドパミンの蛍光シグナルは一部減退がみられるが一様の変化はみられなかったことから、インドールアルカロイド系危険ドラッグの DAT への作用はほとんどみられないのかもしれない。なお、この方法では蛍光強度測定ができるほどの強い蛍光がみられるわけではなく、蛍光顕微鏡での観察によることから強い抑制があれば DAT への作用を判断できるが、蛍光シグナル抑制の判断は必ずしも容易ではなく定量性に問題があるといわざるを得ない。

## 2. 線条体粗膜分画からの DAT 蛋白に対する危険ドラッグの結合活性の in vitro 評価系

迅速に危険ドラッグおよび類似関連化合物の DAT への結合、取り込み活性を評価するためには、培養細胞や動物などを用いない in

vitro 評価系が有用であると考えられる。そこで、線条体粗膜分画から DAT 抗体を用いた免疫沈降により抽出した DAT 蛋白を蛍光標識して、危険ドラッグと反応させ BEACON による蛍光偏光の変化により DAT 結合活性を評価することを試みたが、線条体粗膜分画から得られる DAT 蛋白量が BEACON アッセイを行うに十分でなくアッセイ系を確立することはできなかった。次年度は、高価ではあるが、ヒトリコンビナント DAT 蛋白を用いて、蛍光標識し BEACON アッセイ系の確立を目指したい。

## E. 結論

ドパミン系神経細胞 CATH.a 細胞を用いて、アルキン化ドパミンおよび危険ドラッグ/乱用薬物を添加・反応させ、蛍光アジドとのクリック反応でドパミンを蛍光標識し、DAT への競合反応の有無を蛍光顕微鏡で検出するクリックケミストリーでのアッセイ系を構築することができた。methylone, 4FMP > MDMA > METH, PMMA > PP の順で、アルキン化ドパミンの蛍光シグナルが同時添加で抑制され、DAT への競合拮抗作用を有していることを評価できた。しかし、検出される蛍光シグナルは強くなく一様の変化を示さないものもあり、蛍光シグナル抑制の判断は容易ではなく、定量性に課題が残る。

線条体の粗膜分画から免疫沈降で得られた DAT 蛋白を蛍光標識し、危険ドラッグ/乱用薬物と反応させ、BEACON (蛍光偏光測定) により DAT への結合活性を評価する in vitro 評価系の確立も試みたが、蛍光を検出できるほどの DAT 蛋白量を得ることができなかった。今後リコンビナント DAT 蛋白を用いた BEACON アッセイ系の確立を検討する。

## F. 参考文献

- 1) 浅沼幹人, 宮崎育子: MDMA および 5-MeO-DIPT の神経毒性発現に関する研究.

- 平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金  
（厚生労働科学特別研究事業）「MDMA 及  
び脱法ドラッグの神経毒性ならびに精神依  
存発現メカニズムの解明」研究報告書（主  
任研究者：船田正彦）。P15-24, 2004.
- 2) 浅沼幹人, 宮崎育子: 植物由来催幻覚成分  
の神経細胞毒性発現に関する研究. 平成  
16 年度厚生労働科学研究費補助金（厚生  
労働科学特別研究事業）「植物由来催幻覚  
成分の薬物依存性および細胞毒性の評価」  
研究報告書（主任研究者：船田正彦）.  
P21-42, 2005.
  - 3) 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) 浅沼幹人, 宮崎育子: 脱法ドラッグ（違法  
ドラッグ）の構造修飾に基づく神経毒性発  
現の研究. 平成 17 年度厚生労働科学研究  
費補助金（厚生労働科学特別研究事業）  
「脱法ドラッグの構造修飾特性とその依存  
性および神経毒性発現の関連性」研究報告  
書（主任研究者：船田正彦）。P22-33,  
2006.
  - 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) 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.
- 19) 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.
- 20) 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.
- 21) 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～酸化ストレスマーカー dHEt を指標にして～. 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」研究報告書(主任研究者:船田正彦). 2021.
- 22) 浅沼幹人, 宮崎育子: 危険ドラッグおよび関連化合物の有害性発現に関わる標的生体分子系の探索研究～モノアミントランスポーターを標的とした有害性スクリーニングの検討～. 令和 3 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）「危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価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）. 2022.

- 23) Sogawa, C., Sogawa, N., Ohyama, K., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y., Sora, I. and Kitayama, S.: Methylone and monoamine transporters: correlation with toxicity. *Curr. Neuropharmacol.*, 9: 58-62, 2011.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Imafuku, F., Miyazaki, I., Sun, J., Kamimai, S., Shimizu, T., Toyota, T., Okamoto, Y., Isooka, N., Kikuoka, R., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Central and enteric neuroprotective effects by *Eucommia ulmoides* extracts on neurodegeneration in rotenone-induced parkinsonian mouse. *Acta Med. Okayama*, 2022, 76(4): 373-383. doi: 10.18926/AMO/63889

### 2. 学会発表

- 1) 正井加織, 中山裕太, 宮崎育子, 浅沼幹人: ストレプトゾトシン脳室内投与による孤発性アルツハイマー病モデルマウスの行動学的・組織学的検討. 第31回神経行動薬理若手研究者の集い, 福岡 (オンライン), 2022.3.6.
- 2) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 村上真樹, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久, 浅沼幹人: 部位特異的アストロサイト-ミクログリア連関がもたらすロテノン誘発ドパミン神経障害. 第95回日本薬理学会年会, 博多 (オンライン), 2022.3.7.
- 3) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 村上真樹, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久, 浅沼幹人: 農薬ロテノン曝露による部位特異的アストロサイト-ミクログリア相互連関と

ドパミン神経細胞への影響. 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会, オンライン, 2022.3.28.

- 4) Miyazaki, I., Kikuoka, R., Isooka, N., Murakami, S., Sogawa, C., Sogawa, N., Kitamura, Y. and Asanuma, M.: Region-specific astrocyte-microglia interaction promotes rotenone-induced dopaminergic neurotoxicity, 第63回本神経学会学術大会, 東京, 2022.5.18.
- 5) 宮崎育子, 西山千春, 菊岡 亮, 名越武, Kyle Quin, 禅正和真, 浅沼幹人: 妊娠・授乳期エポキシ樹脂 BADGE 曝露による新生仔マウス脳発達異常におけるエストロゲン受容体βの関与. 第49回日本毒性学会学術年会, 札幌, 2022. 7. 1.
- 6) 浅沼幹人, 宮崎育子, 都 明希, 小林壯太郎, 津田光希, 小野鈴香, 正井加織: 農薬ロテノン慢性皮下投与パーキンソン病モデルマウスにおける腸管細胞環境の変化. 第49回日本毒性学会学術年会, 札幌, 2022. 7. 2.
- 7) Miyazaki, I. and Asanuma, M.: Targeting zinc-binding protein metallothionein in astrocytes for dopaminergic neuroprotection. The 8th International Symposium on Metallomics, Kanazawa, Japan, 2022.7.12.
- 8) 宮崎育子, 小林壯太郎, 津田光希, 都 明希, 小野鈴香, 正井加織, 浅沼幹人: パーキンソン病の脳腸病態を再現しうるモデル動物における腸管神経障害機構の検討. 第16回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres (MDSJ), 東京, 2022. 7. 22.
- 9) 宮崎育子, 正井加織, 進 浩太郎, 十川千春, 十川紀夫, 北村佳久, 浅沼幹人: パーキンソン病の脳腸病態を再現しうるモデル動物におけるメタロチオネイン発現変化. メタルバイオサイエンス研究会 2022, 京都, 2022. 10. 19.
- 10) 西田優花, 嶋田勝光, 十川千春, 宮崎育子, 富田美穂子, 靄島弘之, 浅沼幹人, 村上 聡, 十川紀夫: 抜歯後組織修復に

におけるメタロチオネインの関与. メタル  
バイオサイエンス研究会 2022, 京都, 2022.  
10. 20.

- 11) 浅沼幹人, 宮崎育子, 進 浩太郎, 都 明  
希, 正井加織, 小林壯太郎, 津田光希,  
小野鈴香: パーキンソン病の脳・腸神経  
変性を再現できるロテノン曝露モデルマ  
ウスにおける腸管細胞環境の変化. 第 96  
回日本薬理学会年会, 横浜, 2022. 12. 2.
- 12) 宮崎育子, 菊岡 亮, 磯岡奈未, 十川千  
春, 十川紀夫, 北村佳久, 浅沼幹人: パ  
ーキンソン病モデルにおける  $\alpha$  シヌクレ  
イン発現と神経変性へのグリア細胞部位  
特異性の関与. 第 96 回日本薬理学会年会,  
横浜, 2022. 12. 2.

#### 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



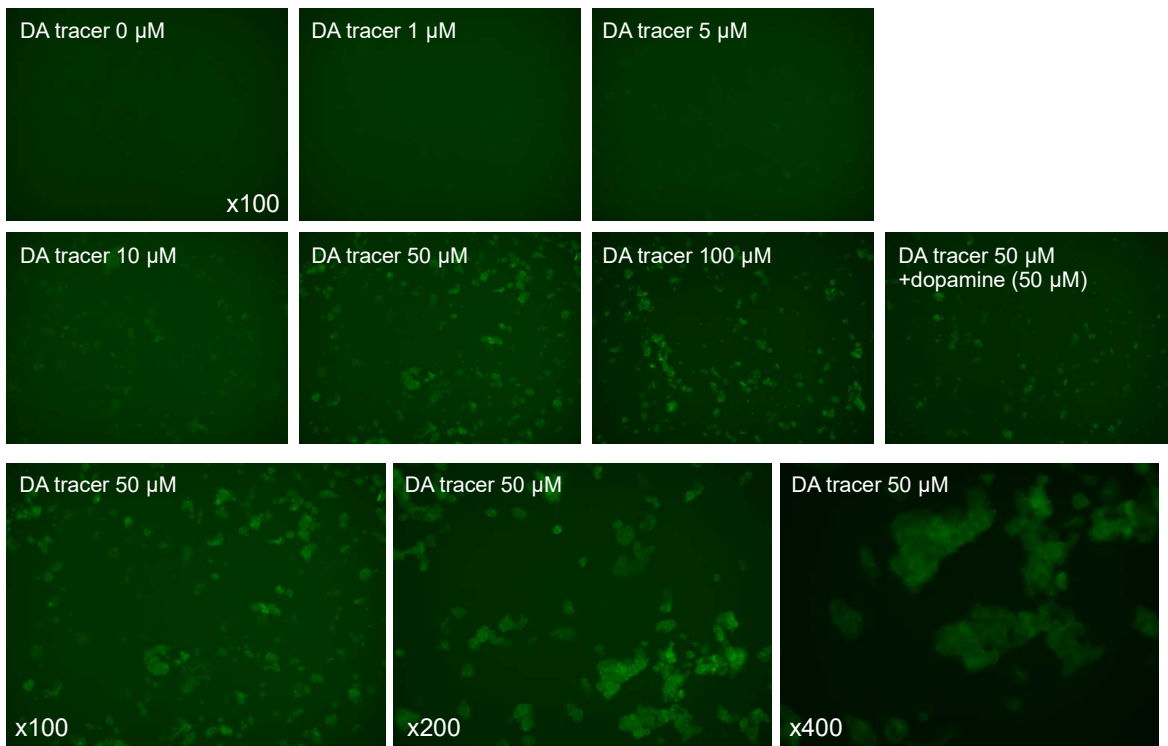


Fig. 1. アルキン化ドパミン(DAtracer)の蛍光アジドとのクリック反応による蛍光標識法を用いたDATへの作用の可視化とそれに対する非標識ドパミンの競合拮抗作用

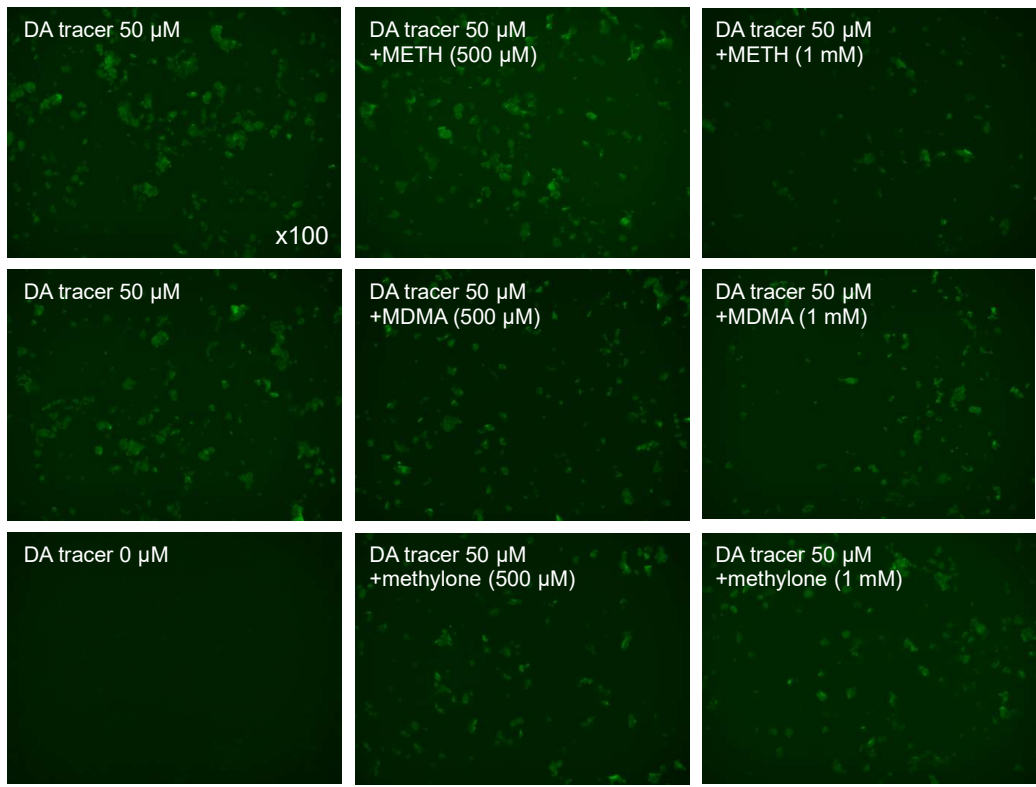


Fig. 2a. アルキン化ドパミン(DAtracer)のDATへの作用とそれに対する各種危険ドラッグ/乱用薬物の競合拮抗作用

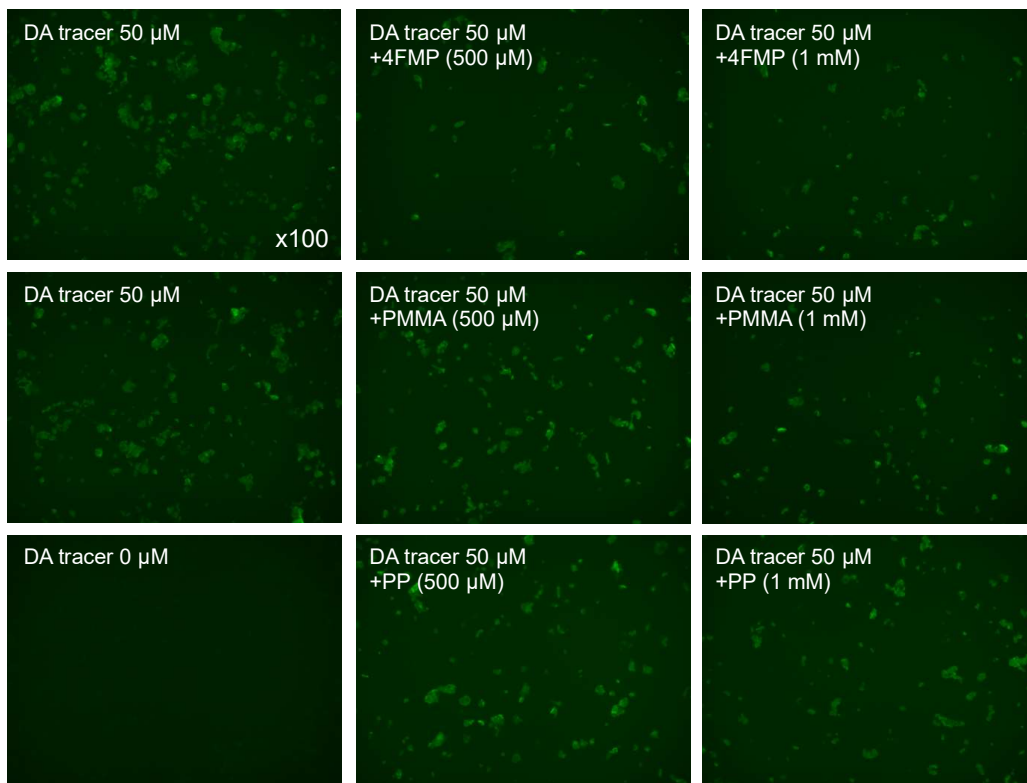


Fig. 2b. アルキン化ドパミン(DA tracer)のDATへの作用とそれに対する各種危険ドラッグ/乱用薬物の競合拮抗作用

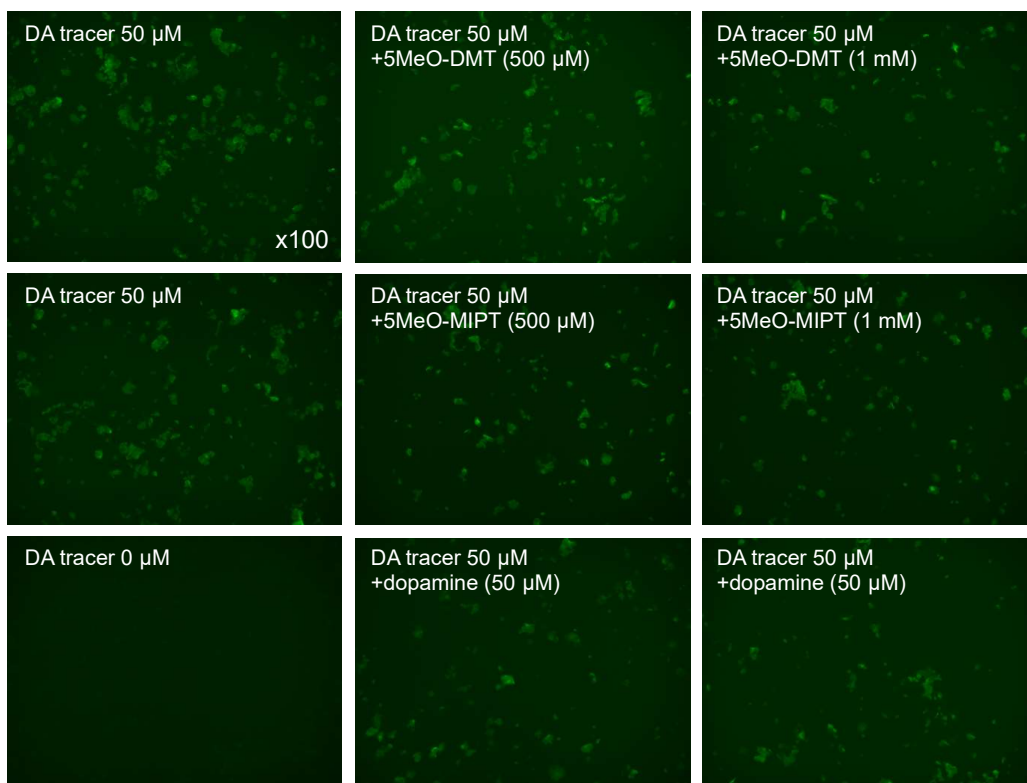


Fig. 2c. アルキン化ドパミン(DA tracer)のDATへの作用とそれに対する各種危険ドラッグ/乱用薬物の競合拮抗作用

令和4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)  
危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価と乱用実態把握に関する研究(21KC1003)

分担研究報告書

フェンタニル類似体の代謝挙動とフッ素位置異性体の識別に関する研究

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： 清水英徳 (岐阜県保健環境研究所 生活科学部)  
研究協力者： 岩木孝晴 (岐阜県保健環境研究所 生活科学部)  
研究協力者： 篠田範夫 (岐阜県保健環境研究所 生活科学部)  
研究協力者： 田中宏幸\*<sup>2</sup> (岐阜県保健環境研究所 生活科学部)  
研究協力者： 曾田 翠 (岐阜薬科大学 薬物動態学研究室)  
研究協力者： 森川美空 (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： 岩井康晴 (岐阜薬科大学 薬物動態学研究室)

\*<sup>1</sup> 現所属：岐阜薬科大学 生態機能解析学大講座 免疫生物学研究室

【研究要旨】

[緒言] 近年、麻薬であるフェンタニル類似体が危険ドラッグとして海外で流通しており、我が国でもすでに 30 種類以上が規制対象となっている。依然、新規なフェンタニル類似体は合成、流通しており、それらの流通や乱用を防ぐための正確な検出方法の確立が求められている。しかしながら、その位置異性体は製品中における識別や摂取証明が困難である。そこで、本年度は、フェンタニル類似化合物である Fluorofuranylfentanyl (FFF)を用い、その位置異性体の測定方法の確立と *in vitro* 代謝実験を実施した。

[結果] 位置異性体である *o*-fluorofuranylfentanyl (*o*-FFF)、*p*-fluorofuranylfentanyl (*p*-FFF)、*m*-fluorofuranylfentanyl (*m*-FFF) をフェンタニル類似体のモデル化合物として使用した。その結果、FFF 位置異性体の識別は LC-MS/MS では各種カラムを使用しても困難であったが、GC-MS では 3 種の位置異性体が識別可能であることが明らかになった。ヒト肝ミクロソームに FFF 位置異性体を添加し、経時的に採取したサンプルを LCMS-IT-TOF にて測定し、代謝物の同定を行った。その結果、親化合物の半減期が 1 時間以内であること、いずれの異性体においても 3 種の第 I 相代謝物 [酸化的 N-脱アルキル化体 (M1)、一水酸化体 (M2)、アミド加水分解体 (M3)] の存在することが明らかになった。M1 は主要代謝物であり、3 種の FFF に共通するものであった。一方、M3 は 3 種の位置異性体において分離測定が可能であり、代謝物生成量比でも異性体間で差がみられることが確認された。

[考察] GC-MS では、3 種の FFF 位置異性体の親化合物の識別が行えることが可能であり、製品における親化合物の識別には GC-MS が利用可能であることが明らかになった。一方で、FFF 位置異性体はいずれも半減期が短く、FFF の摂取証明には親化合物ではなく、代謝物の情報を活用することが必要であることが示唆された。一方で、FFF 代謝物の解析結果より、FFF 摂取のマーカーとしては、FFF 由来のフラン環やアニリン環を持つ FFF に特徴的な主要代謝物である M1 の検出が有用であること、3 種の FFF 位置異性体の識別においては M3 の保持時間の違いと生成量比を活用できることが示唆された。以上の結果は、フェンタニル類似体の厳密な識別の基盤となる有用な情報を提供しており、我が国におけるフェンタニル類似体を含む危険ドラッグのまん延防止に貢献すると考えられる。

## A. 研究目的

近年、合成カチノン類や合成カンナビノイド以外にオピオイドへの関心が高まっており、フェンタニルとその類似体の乱用が世界各国で増加している<sup>1-3)</sup>。フェンタニルは製造が容易かつ安価であり、その化学構造を容易に組み替えることが出来るため<sup>4,5)</sup>、新規フェンタニル類似体が出現しやすい。日本においても、2022年12月現在、*b*-hydroxythiofentanyl や *furanylethylfentanyl* をはじめとした6種のフェンタニル類似体が指定薬物として規制されており、麻薬指定のものも含めると、日本で取り締まり対象のフェンタニル類似体は30種類以上にのぼっている<sup>6-8)</sup>。

Fluorofuranylfentanyl [N-(2, 3, or 4)-fluorophenyl)-N-[1-(2-phenylethyl)-4-piperidyl]furan-2-carboxamide or FFF] は2018年に初めて確認されたフェンタニル類似体であり<sup>9)</sup>、*furanylfentanyl* のアニリン環にフルオロ基が付加した構造をもつ化合物である (Fig. 1)。その *in vitro* 代謝プロファイルについて、*o*-fluorofuranylfentanyl (*o*-FFF)<sup>10)</sup> および *p*-fluorofuranylfentanyl (*p*-FFF)<sup>11)</sup> の報告があるが、*m*-fluorofuranylfentanyl (*m*-FFF) に関しては報告がなく、3種での比較はされていない。フェンタニル類似体はその種類により効力や毒性、法的位置が異なる可能性があり、これらを正確に識別することが重要である。実際に、フルオロ基を持つフェンタニル類似体については、その置換位置により効力が異なることが金森ら<sup>12)</sup>によって示されている。しかし、異性体については同じような保持時間やフラグメントパターンを持つため、その識別は困難であることが既報により指摘されており<sup>13-16)</sup>、異性体を識別するメソッドの開発は法医学や臨床毒物学において、非常に有用であると考えられる。

そこで、本研究では FFF 位置異性体の識別法の開発を目的とし、1) LC-MS、GC-MS を用いた FFF 位置異性体識別と、2) ヒト肝ミクロソーム (HLMs) を用いた *in vitro* 実験における代謝挙動の比較を行った。

## B. 研究方法

### 1. 親化合物における異性体識別

#### 1-1. LC-MS 分析条件

測定には LCMS-8045 triple quadrupole mass spectrometer (Shimadzu, Kyoto) を用いた。カラムは ZORBAX Eclipse Plus C8 (2.1×150 mm, 3.5 mm) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)、COSMOSIL 5C18-MS-II (2.0×150 mm, 5 mm) (NACALAI TESQUE INC., Kyoto)、COSMOSIL Cholester (2.0×150 mm, 5 mm) (YMC CO., LTD., Kyoto)、COSMOSIL πNAP (2.0×150 mm, 5 mm) (YMC CO., LTD., Kyoto)、YMC-Triart PFP (2.1×150 mm, 5mm) (YMC CO., LTD., Kyoto) の5種を用い、検討を行った。移動相には、(A) 0.1% formic acid in 精製水および (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%、2-30 min: 10→60%、30-30.5 min: 60→100%、30.5-36 min: 100%、36-36.5 min: 100→10%、36.5-46 min: 10%とし、全体としての測定時間は46 minに設定した。また、カラム温度は40°C、流速は0.18 mL/minとした。3種類の位置異性体を含む FFF 混合溶液は acetonitrile に溶解して120 nmol/Lに調製し、インジェクト量は5 mLとして測定を行った。イオン化法としては positive electrospray ionization (ESI) mode を用いた。FFF と papaverine の MRM トランジションはそれぞれ *m/z* 393.2→188.10 及び *m/z* 340.15→202.10 とし、コリジョンエネルギーはそれぞれ22eV及び28eVに設定した。

#### 1-2. GC-MS 分析条件

測定は金森ら<sup>17)</sup>の方法をもとに行った。測定機器は TRACE 1310 GC/ISQ LT (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を用い、カラムは DB-5MS (30×0.25 mm i.d., 膜厚0.25 mm) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)を用いた。昇温条件は、120°C (1 min)、120-310°C (15°C/min, 昇温)、310°C (4 min) とした。また、キャリアガスにはヘリウムを用い、流速は1.0 mL/minとした。イオン化法として Electron Ionization (EI) を用い、イオン化エネルギーは70 eVとした。3種類の位置異性体を含む FFF 混合溶液は ethyl acetate に溶解して0.2 mg/mLに調製し、インジェクト量は1.0 mLとして測定を行った。試料注入にはスプレットレス法を用いた。

## 2. In vitro 代謝試験

### 2-1. 分析条件

FFF の分析には HPLC-tandem-MS (Shimadzu, Kyoto)、LC カラムには ZORBAX Eclipse Plus C8 2.1×150 mm, 3.5 μm 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、有機溶媒比率 40 %のアイソクラティック条件で 5 分測定を行った。また、カラム温度は 40 °C、流速は 0.25 mL/min とし、測定サンプルのインジェクト量は 5 μL として測定を行った。

FFF の代謝物推定には、LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Kyoto)、LC カラムには ZORBAX Eclipse Plus C8 2.1×150 mm, 3.5 μm 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→60%、40-46 min : 10%とし、測定時間は 46 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 μL 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。

### 2-2. 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 MS<sup>2</sup> 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。

### 2-3. ヒト肝ミクロソーム (HLMs) を用いたイン

### キュベーション

薬物の代謝反応は Erratico らの方法<sup>18)</sup>に一部改良を加えて行った。

100 mM リン酸緩衝液に NADPH Regenerating System Solution A および Solution B (終濃度 1.55 mM NADP<sup>+</sup>, 3.3 mM glucose-6-phosphate, 3.3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.4 U/mL glucose-6-phosphate dehydrogenase in sodium citrate)、acetonitrile に溶解させた FFF のストック溶液 (終濃度 12.5 μM) を添加した。前述の混液を反応開始前に 37 °C の水浴中で 5 分間インキュベートした後、100 mM のリン酸緩衝液で希釈した HLMs 溶液 (microsomal protein 終濃度 0.5 mg/mL) を添加して反応を開始させた。全量 1.4 mL の反応溶液を転倒混和した後、37 °C の水浴中でインキュベートした。

サンプル採取は HLMs 溶液を添加後、0, 10, 20, 30, 60, 90, 120 min に行い、反応溶液 200 μL を、1,200 μL の氷冷 acetonitrile 溶液へ添加することで代謝反応を停止させた。この溶液を遠心分離し (10 min, 12,000 rpm, 4 °C)、LCMS-IT-TOF 用サンプルでは上清を 400 μL 分取し 45 °C にて遠心乾固させた。LC-MS 用のサンプルは遠心分離後に 10 倍希釈したのちに 100 μL を分取し、これを 45 °C にて遠心乾固した。

### 2-4. サンプル調製

LC-MS を用いた分析には、遠心乾固したサンプルに acetonitrile 250 μL および IS である papaverine (終濃度 10 ng/mL) を含有する精製水 250 μL を添加し、超音波処理を行って再溶解させた後、フィルターろ過したものを測定に用いた。

LCMS-IT-TOF を用いた分析には、遠心乾固したサンプルに acetonitrile 100 μL および IS である papaverine (終濃度 500 ng/mL) を含有する精製水 100 μL を添加し、超音波処理を行って再溶解させた後、フィルターろ過したものを測定に用いた。

## C. 研究結果

### 1-1. LC-MS による位置異性体識別

5 つのカラムを用いた LC-MS における FFF 混合物のクロマトグラムを Fig. 2 に示す。いずれのカラムについても 3 つの分離したピークは確認されず、LC-MS において FFF 位置異性体は識

別されなかった。

## 1-2. GC-MSによる位置異性体識別

GC-MSを用いたFFF混合物のクロマトグラムを Fig. 3 に、MS<sup>2</sup> スペクトルを Fig. 4 に示す。クロマトグラムにおいてFFF混合物は3つのピークに分離され、その溶出順は *m*-FFF, *p*-FFF, *o*-FFF の順であった (Fig. 3)。MS<sup>2</sup> スペクトルについて、いずれの位置異性体においても *m/z* 95, 258, 301 のフラグメントが確認され、その強度に顕著な差は見られなかった (Fig. 4)。

## 2-1. FFFの半減期の算出

LC-MSにて測定した親化合物の未変化体の経時変化より、HLMsにおける *in vitro* 代謝半減期は *o*-FFF で  $53.6 \pm 3.3$  min、*m*-FFF で  $42.6 \pm 1.6$  min、*p*-FFF で  $29.9 \pm 2.4$  min となり、位置異性体間で半減期に違いが見られた (Fig. 5)

## 2-2. *In vitro* 実験におけるFFFの代謝経路

各FFF位置異性体の代謝物を Table 1 に示す。LCMS-IT-TOFの測定より、*o*-FFFのRTは18.846 min、*m*-FFFのRTは19.022 min、*p*-FFFのRTは19.022 minであった。FFFの[M+H]<sup>+</sup>分子イオンは *m/z* 393.1973 であり、いずれの位置異性体も *m/z* 146, 188, 272 のプロダクトイオンを生成した。

各FFF位置異性体の *in vitro* 代謝における経時変化を Fig. 6 に、FFFの代謝経路を Fig. 7 に示す。全ての位置異性体においてノル代謝物 M1、一水酸化体 M2、アミド加水分解生成物 M3 の3種類の第I相代謝物が検出された (Table 1)。また、第II相代謝物はいずれの位置異性体においても検出されなかった。*o*-FFF と *p*-FFF は既報において今回検出された第I相代謝物が確認されており<sup>10,11)</sup>、*m*-FFF もこれらの位置異性体と同様の代謝傾向を示した。

## 2-3. 代謝物の保持時間と生成量比の比較

*In vitro* 代謝実験により推定された3種類の第I相代謝物の内、M3においてそのRTに違いが見られ、2F-M3では18.963 min、3F-M3では19.549 min、4F-M3では17.909 minであった (Table 1)。この溶出順は、C18カラムを用いて分

離を行った既報の結果と一致している<sup>13,19,20)</sup>。

また、各位置異性体間での代謝物生成量比を Table 2 に示した。M1に対するM3の生成量比 (Table 2a)、M2に対するM3の生成量比 (Table 2b) では各位置異性体間で有意な差が確認された。M2に対するM1の生成量比 (Table 2c) は、*o*-FFFのみ他の位置異性体と有意な差が見られた。

## D. 考察

### 1) 親化合物における異性体識別

LC-MSでの親化合物識別検討において、C8カラム (Fig. 2a) および、C18カラム (Fig. 2b) を用いたクロマトグラムでは、FFF混合溶液のピークの先端は2つに割れた。なお、結果には示さないがC8カラムにて *o*-FFF、*m*-FFF、*p*-FFF を単独で測定した保持時間から考えると、前側のピークは *o*-FFF であり、後ろ側のピークは *m*-FFF と *p*-FFF が混在していると考えられる。

一方、Triart PFPカラム (Fig. 2c) ではピークが確認されなかった。これは、PFPカラムにおいて化合物とカラムの間に *p-p* 相互作用のみでなく双極子相互作用も働いたため<sup>21)</sup>、フルオロ基をもつFFFに対し強い保持を示し、測定時間内でFFFが溶出しなかったことが理由だと考えられる。実際、フルオロ基を含有するフェンタニル類の異性体識別に関しては、C18カラムやキラルカラムを用いLC-MS分離を行った既報も見られるが、いずれも異性体間にはわずかな保持時間の差しか見られず、クロマトグラム上での完全分離は困難であると考えられる<sup>10,22,23)</sup>。以上の結果より、5種類のカラムを用いたLC-MSにおける位置異性体識別の検討ではFFFを分離することができず、LC-MSを用いたFFF位置異性体の識別は困難であることが示唆された。

一方、GC-MSにおける親化合物識別検討では、クロマトグラムにおいて3種類の異性体が明確に分離できた (Fig. 3)。FFF位置異性体におけるGC-MSでの完全な分離は、私たちが知る限りこれが初めての報告である。フルオロ基を有する他のフェンタニル類似体である fluorobutyrylfentanyl、fluoroisobutyrylfentanyl、fluoromethoxyacetylfentanyl については、既報においてメタ異性体、パラ異性

体、オルト異性体の溶出順で GC-MS にて検出されていることが報告されている<sup>22)</sup>。本研究においても、FFF の溶出順はこの報告と一致していた。なお、MS2 スペクトルに関しては異性体間で顕著な差は見られず、MS2 スペクトルやその強度の違いを用いての親化合物の識別は困難であることが示唆された (Fig. 4)。以上より、FFF 親化合物の位置異性体識別には GC-MS のクロマトグラムを用いることが有用であると示唆された。

## 2) *In vitro* 実験

*In vitro* 代謝実験により、FFF 異性体の半減期がそれぞれ算出された。各異性体の半減期はいずれも 1 時間未満であり、FFF の親化合物はいずれの位置異性体においても体内で速やかに代謝され消失すると考えられた。そのため、FFF の摂取証明には親化合物ではなく、代謝物を用いた位置異性体の特定が重要であることが示唆された。

すべての位置異性体において、N-脱アルキル化により生成されるノル代謝物である M1、一水酸化である M2、アミド加水分解により生成される M3 が検出された (Fig. 7)。その経時変化 (Fig. 6) から、各異性体の代謝経路は同様であると考えられた。なお、第II相代謝物はいずれの位置異性体でも検出されなかった。いくつかの先行研究において、フェンタニル類似体についての HLMs や肝細胞を用いた *in vitro* 代謝実験系では、第II相代謝物の検出量はわずかであるか、検出されないことが報告されている<sup>24)</sup>。本研究においても、第II相代謝物は HLMs で生成されなかったか、その濃度が極めて低く検出限界以下であったと考えられる。

代謝物を用いた位置異性体識別では、代謝物 M3 において各異性体間で保持時間の違いが見られ、その溶出順は 4F-M3、2F-M3、3F-M3 の順であった。それぞれの保持時間の差は最も小さいものでも 0.5 分程度と十分な差がみられ、この代謝物の保持時間の差は FFF 位置異性体を識別する 1 つの指標になり得ると考えられる。なお、M3 は他のフェンタニル類似体の代謝物としても検出されることが報告されており<sup>24)</sup>、単独では FFF の摂取を証明することはできない。しかし、FFF や FFF に特有の代謝物である M1 が確認されている場合においては、代謝物 M3 の保持時間の違いは

FFF の位置異性体識別に利用可能であることが示唆された。

代謝物の生成量比を各異性体について比較したところ、M1 に対する M3 の生成量比 および、M2 に対する M3 の生成量比には各位置異性体間で有意な差が確認された。したがって、代謝物生成量比は各異性体の識別に利用可能であることが示唆された。これらの生成量比の違いには、各異性体におけるアミド加水分解生成物である M3 の生成されやすさの違いが影響していると考えられる。

また、*o*-FFF の M2 に対する M1 の生成量比は、*o*-FFF のみが他の位置異性体より有意に大きく、*o*-FFF では M1 が生成されやすいことが考えられた。M1 と M2 は FFF に特異的な代謝物であるため、これらの代謝物生成量の比較もまた *o*-FFF と他の異性体の識別に有用であることが示唆された。

## E. 結論

本研究では、フェンタニル類似体の 1 種である FFF の位置異性体の識別を目的とし、LC-MS、GC-MS を用いた親化合物における位置異性体識別検討と、HLMs を用いた *in vitro* 代謝実験による各異性体の代謝挙動の比較を行った。

LC-MS と GC-MS を用いた異性体識別検討の結果、FFF 位置異性体は LC-MS では分離できなかったが、GC-MS のクロマトグラムを用いることで全ての異性体を識別することが可能であった。したがって、製品中における親化合物の識別には GC-MS の利用が有用であると考えられた。

また、*in vitro* 代謝実験の結果、FFF の半減期はいずれの異性体も短く、FFF の摂取証明には、親化合物ではなく、代謝物の特定が有用であることが示唆された。FFF では異性体と同様に 3 種類の第I相代謝物が特定された。代謝物のうち、M3 の保持時間や代謝物生成量比は位置異性体間で明確な差が確認され、この情報は FFF の位置異性体識別に利用可能であることが示唆された。これらの結果は、GC-MS や標準品を利用できない場合の識別に役立つものであり、本年度取り扱った位置異性体のみならず、わずかに構造の異なるフェンタニル類似体の識別において、その代謝挙動を活用することが有用であることが示唆された。



## F.参考文献

- 1) United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). Global Overview of Drug Demand and Supply. World Drug Report 2019 (United Nations publication, Sales No. E.19.XI.8). 2019: 1–77.
- 2) Vicknasingam B, Narayanan S, Singh D, Corazza O. Global strategy for New Psychoactive Substances: an update. *Curr Opin Psychiatry*. 2020; 33: 295-300.
- 3) O'Donnell J, Tanz LJ, Gladden RM, Davis NL, Bitting J. Trends in and Characteristics of Drug Overdose Deaths Involving Illicitly Manufactured Fentanyls - United States, 2019-2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021; 70: 1740-1746.
- 4) Drug Enforcement Administration (DEA). Counterfeit Prescription Pills Containing Fentanyl: A Global Threat. 2016. <https://www.hsdn.org/?view&did=796541> (参照2022-8-18).
- 5) Butler DC, Shanks K, Behonick GS, Smith D, Presnell SE, Tormos LM. Three Cases of Fatal Acrylfentanyl Toxicity in the United States and a Review of Literature. *J Anal Toxicol*. 2018 Jan 1;42(1):e6-e11.
- 6) 厚生労働省. "麻薬の指定状況(令和3年9月8日現在)麻薬及び向精神薬取締法(第2条関係 74物質)". [https://www.mhlw.go.jp/bunya/iyakuhin/yakubuturanyou/dl/mayaku\\_torishimari\\_280915-01.pdf](https://www.mhlw.go.jp/bunya/iyakuhin/yakubuturanyou/dl/mayaku_torishimari_280915-01.pdf), (参照2021-12-27)
- 7) 厚生労働省. "麻薬の指定状況(令和3年9月8日現在)麻薬、麻薬原料植物、向精神薬及び麻薬向精神薬原料を指定する政令(第1条関係 147物質)". <https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/000647611.pdf>, (参照2021-12-27)
- 8) 厚生労働省. 指定薬物名称・構造式一覧(令和4年6月28日現在). <https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/000794078.pdf> (参照2022-8-19)
- 9) Krotulski A, Logan B. Ortho/Para-Fluorofuranylfentanyl Toxicology Analytical Report. NPS Discovery-Monographs. 2019. [https://www.npsdiscovery.org/wp-content/uploads/2019/05/FluoroFuranylfentanyl\\_012319\\_ToxicologyAnalyticalReport.pdf](https://www.npsdiscovery.org/wp-content/uploads/2019/05/FluoroFuranylfentanyl_012319_ToxicologyAnalyticalReport.pdf) (参照2022-8-18).
- 10) Rodriguez Salas J, Krotulski AJ, Newman R, Thogmartin JR, Mohr ALA, Logan BK. Concentrations of para-Fluorofuranylfentanyl in Paired Central and Peripheral Blood Collected during Postmortem Death Investigations. *J Anal Toxicol*. 2022; 46: 358-373.
- 11) Montesano C, Vincenti F, Fanti F, Marti M, Bilel S, Togna AR, Gregori A, Di Rosa F, Sergi M. Untargeted Metabolic Profiling of 4-Fluoro-Furanylfentanyl and Isobutyrylfentanyl in Mouse Hepatocytes and Urine by Means of LC-HRMS. *Metabolites*. 2021; 11: 97.
- 12) Kanamori T, Okada Y, Segawa H, Yamamuro T, Kuwayama K, Tsujikawa K, Iwata Y. T. Evaluation of Agonistic Activity of Fluorinated and Nonfluorinated Fentanyl Analogs on  $\mu$ -Opioid Receptor Using a Cell-Based Assay System. *Biol. Pharm. Bull*. 2021; 44: 159–161.
- 13) Angi C, Lurie IS, Marginean I. Analysis of fentanyl derivatives by ultra high performance liquid chromatography with diode array ultraviolet and single quadrupole mass spectrometric detection. *J Sep Sci*. 2019; 42: 1686-1694.
- 14) Bergh MS, Bogen IL, Wilson SR, Øiestad ÅML. Addressing the Fentanyl Analogue Epidemic by Multiplex UHPLC-MS/MS Analysis of Whole Blood. *Ther Drug Monit*. 2018; 40: 738-748.
- 15) Bergh MS, Bogen IL, Wohlfarth A, Wilson SR, Øiestad ÅML. Distinguishing Between Cyclopropylfentanyl and Crotonylfentanyl by Methods Commonly Available in the Forensic Laboratory. *Ther Drug Monit*. 2019; 41: 519-527.
- 16) Strayer KE, Antonides HM, Juhascik MP, Daniulaityte R, Sizemore IE. LC-MS/MS-Based Method for the Multiplex Detection of 24 Fentanyl Analogues and Metabolites in Whole Blood at Sub ng mL<sup>-1</sup> Concentrations. *ACS Omega*. 2018; 3: 514-523.
- 17) Kanamori T, Iwata Y. T, Tsujikawa K, Kuwayama K, Yamamuro T, Segawa H, & Inoue H., Simultaneous analysis of 18 compounds of fentanyl and its analogues by TLC, GC/MS, and LC/MS. *Jpn. J. Forensic Sci. Technol.*, 2016; 21: 139–147.
- 18) Erratico C, Negreira N, Norouzizadeh H, Covaci A, Neels H, Maudens K, van Nuijs AL., In vitro and in vivo human metabolism of the synthetic cannabinoid AB-CHMINACA. *Drug Test Anal.*, 2015; 7: 866–876.
- 19) Garneau B, Desharnais B, Laquerre J, Côté C, Taillon MP, Martin PY, Daigneault G, Mireault P, Lajeunesse A. A comprehensive analytical process, from NPS threat identification to systematic screening: Method validation and one-year prevalence study. *Forensic Sci Int*. 2021; 318: 110595.



- 20) Adamowicz P, Bakhmut Z, Mikolajczyk A. Screening procedure for 38 fentanyl analogues and five other new opioids in whole blood by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Appl Toxicol.* 2020; 40: 1033-1046.
- 21) YMC CO., LTD. HPLC DATA SHEET ペンタフルオロフェニル (PFP) 基結合型カラム「YMC-TriartPFP」の特長－異性体分析や極性化合物分析への応用－. <https://www.ymc.co.jp/data/tech/145.pdf> (参照2022-10-3)
- 22) Kanamori T, Iwata Y. T, Segawa H, Yamamuro T, Kuwayama K, Tsujikawa K, Inoue H. Characterization and differentiation of positional isomers of fluoro-fentanyl analogs by a combination of instrumental analyses. *Jpn. J. Forensic Sci. Technol.* 2019; 24: 123-133.
- 23) Qin N, Shen M, Xiang P, Wen D, Shen B, Deng H, Qiang H, Song F, Shi Y. Determination of 37 fentanyl analogues and novel synthetic opioids in hair by UHPLC-MS/MS and its application to authentic cases. *Sci Rep.* 2020; 10: 11569.
- 24) Watanabe S, Vikingsson S, Roman M, Green H, Kronstrand R, Wohlfarth A. In Vitro and In Vivo Metabolite Identification Studies for the New Synthetic Opioids Acetylfentanyl, Acrylfentanyl, Furanylfentanyl, and 4-Fluoro-Isobutyrylfentanyl. *AAPS J.* 2017; 19: 1102-1122.
- 2) 北市 清幸、松尾 桃花、山崎里桜、森理人、伊藤秀、田外秀俊、曾田翠、兒玉幸修、佐々木均. 乱用抵抗性製剤開発ガイドライン案の作成に向けた各種製剤学的 in vitro 試験法の実施. 2022 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会. 仙台/ハイブリッド, 2022 年 9 月 8-10 日.
- 3) 伊藤宏輔: フェンタニル類似体の摂取証明に向けた識別法の開発に関する研究. BPCNP4 学会合同年会. 東京, 2022 年 11 月 4-6 日
- 4) Y. Oida, M. Morikawa, K. Itoh, K. Iwai, T. Iwaki, M. Soda, H. Shimizu, H. Tanaka, N. Shinoda, K. Kitaichi. The establishment of the method to differentially identify the isomers of a fentanyl analogue, fluorofuranylfentanyl. CINP 2023. Montreal, May 6-10, 2023.

#### H.知的財産権の出願・登録状況

特記事項なし

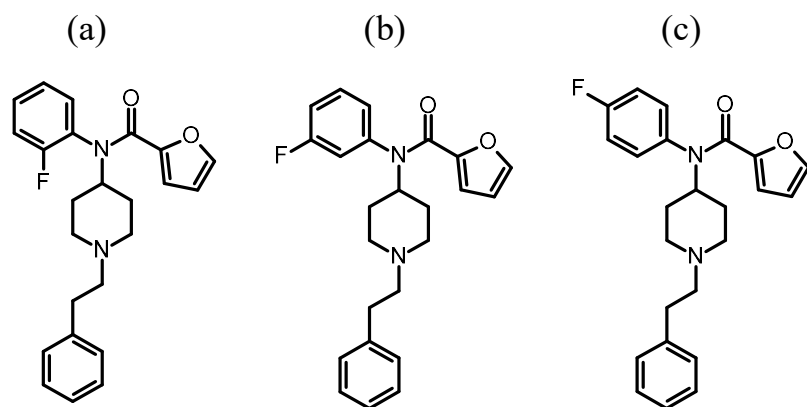
#### G.研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 北市 清幸、松尾 桃花、山崎里桜、森理人、伊藤秀、田外秀俊、曾田翠、兒玉幸修、佐々木均. 乱用抵抗性製剤の作製に向けた製剤学的検証. 日本アルコール・薬物医学会雑誌 in press.

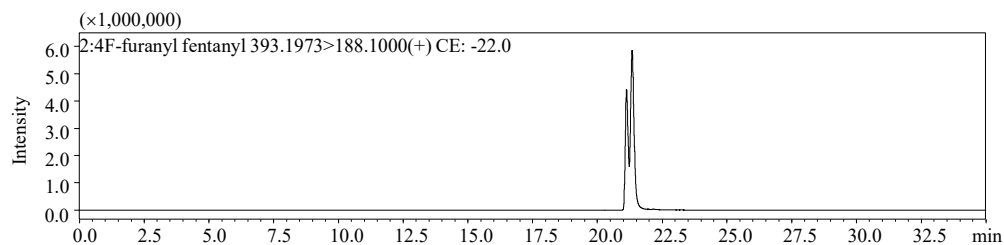
##### 2.学会発表

- 1) 森川美空: フェンタニル類似体 Fluorofuranylfentanyl の異性体識別と代謝物の同定に関する研究. 日本薬学会第 142 年会. 名古屋, 2022 年 3 月 25-28 日

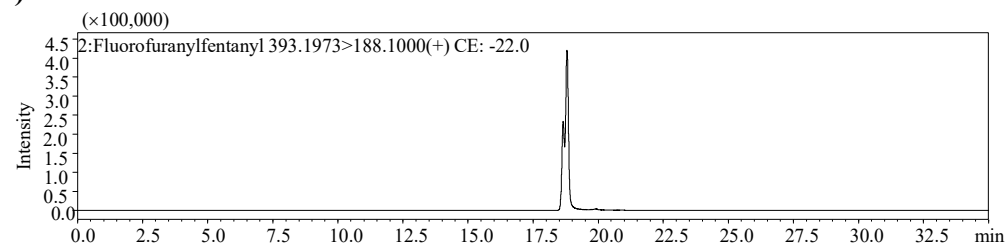


**Fig. 1** Chemical structures of (a) *o*-FFF, (b) *m*-FFF and (c) *p*-FFF.

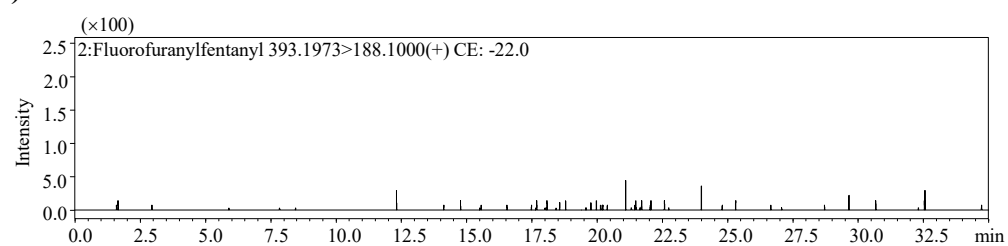
**(a) C8**



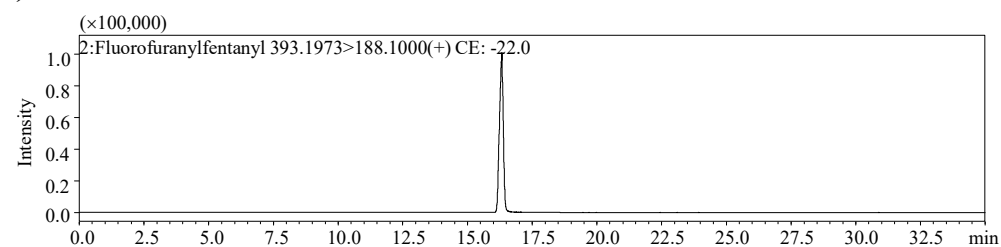
**(b) C18**



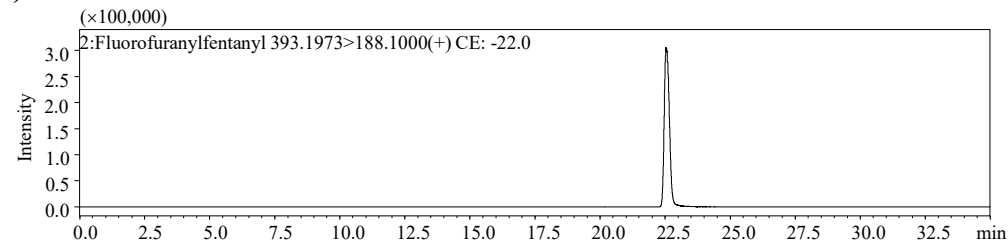
**(c) Triart PFP**



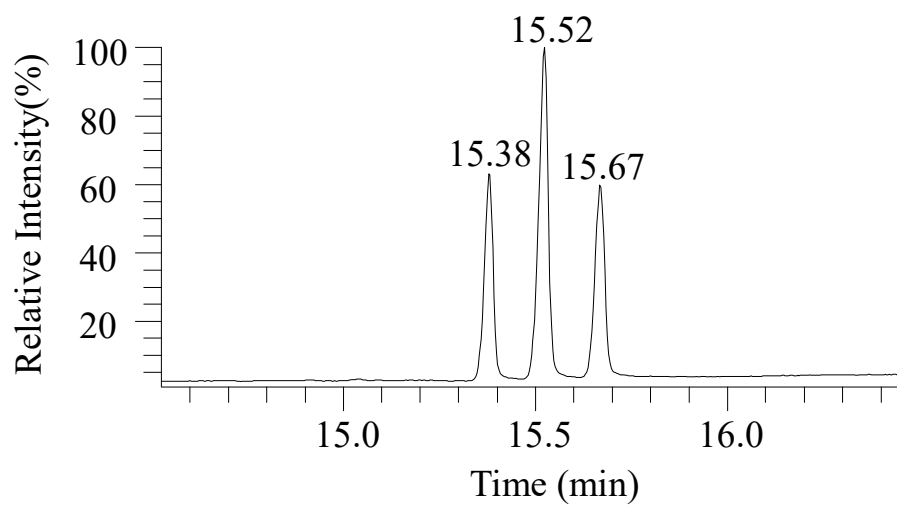
**(d) Cholester**



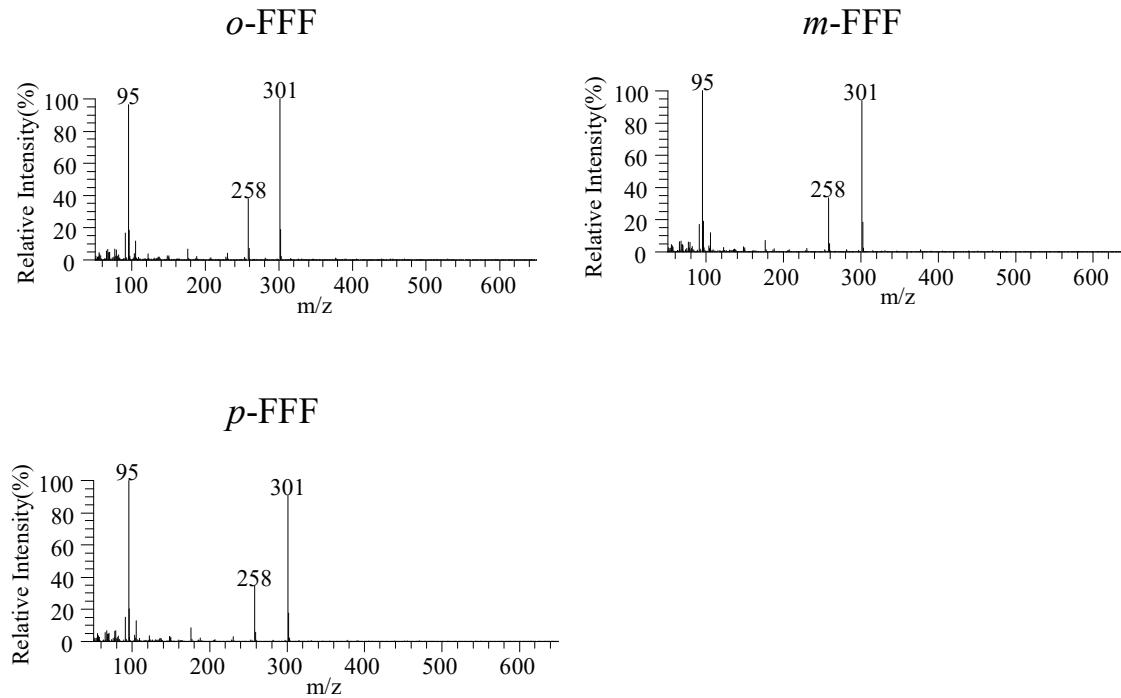
**(e)  $\pi$ NAP**



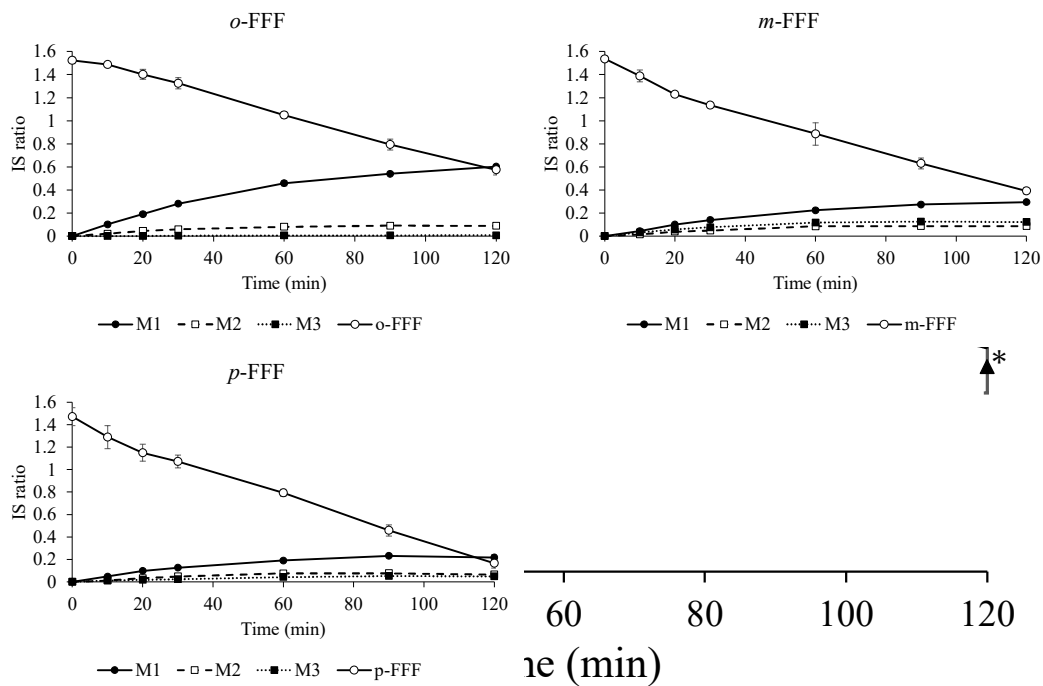
**Fig. 2** Typical chromatograms of the mixture of FFFs using LC-MS



**Fig. 3** Typical chromatogram of the mixture of *m*-FFF (15.38 min), *p*-FFF (15.52 min) and *o*-FFF (16.67 min) using GC-MS



**Fig. 4** MS<sup>2</sup> spectra of *o*-FFF, *m*-FFF and *p*-FFF using GC-MS

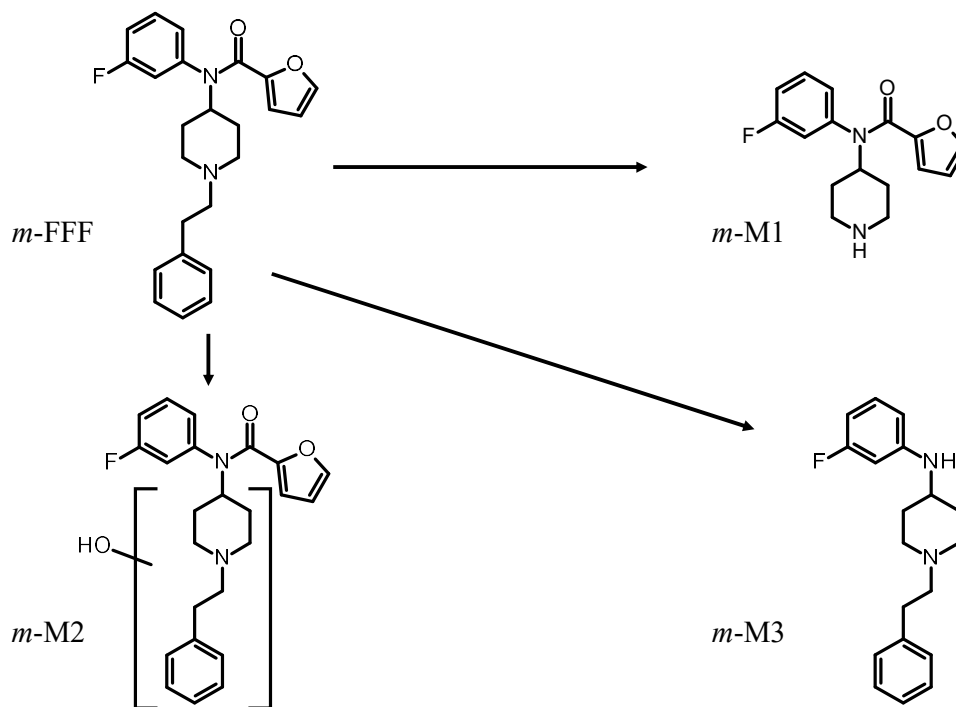


Fig

**Fig. 6** Production of the metabolites of FFFs in HLMs

Each data represents mean  $\pm$  SD ( $n=6$ ). \* $p < 0.05$  vs. *m*-FFF (Student's *t*-test).

Table 1 FFFs and their metabolites in HLMs



**Fig. 7** Proposed metabolic pathways of *m*-FFF

Table 1 FFFs and their metabolites in HLMs

Parent compound and Metabolites	Proposed metabolic pathway	Formula	Measured [M+H] <sup>+</sup> (m/z)	Theoretical [M+H] <sup>+</sup> (m/z)	Mass error (ppm)	RT(min)	Measured fragments (m/z)
<i>o</i> -FFF	Parent	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	393.1973	393.1973	0.0	18.846	146 188 272
<i>m</i> -FFF			393.1987	393.1973	3.6	19.022	146 188 272
<i>p</i> -FFF			393.1974	393.1973	0.3	19.022	146 188 272
<i>o</i> -MI	Oxidative N-dealkylation	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	289.1347	289.1347	0.0	12.050	206
<i>m</i> -MI			289.1340	289.1347	2.4	12.285	206
<i>p</i> -MI			289.1339	289.1347	2.8	12.461	206
<i>o</i> -M2	Hydroxylation	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	409.1925	409.1922	0.7	17.089	144 186 204 391
<i>m</i> -M2			409.1921	409.1922	0.2	17.381	174 186 204 391
<i>p</i> -M2			409.1924	409.1922	0.5	17.381	186 204 258 391
<i>o</i> -M3	Amide hydrolysis	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> FN <sub>2</sub>	299.1925	299.1918	2.3	18.963	188
<i>m</i> -M3			299.1918	299.1918	0.0	19.549	105 188
<i>p</i> -M3			299.1912	299.1918	2.0	17.909	105 188

Table 2 The metabolite production ratio of FFFs; (a) the production ratio of M3 to M1, (b) the production ratio of M3 to M2 and (c) the production ratio of M1 to M2.

Time (min)	The production ratio of M3 to M1 *			P value **		
	<i>o</i> -FFF	<i>m</i> -FFF	<i>p</i> -FFF	<i>o</i> -FFF vs. <i>m</i> -FFF	<i>m</i> -FFF vs. <i>p</i> -FFF	<i>o</i> -FFF vs. <i>p</i> -FFF
10	ND	0.72 ± 0.101	0.26 ± 0.096	ND	0.004	0.009
20	ND	0.58 ± 0.051	0.18 ± 0.038	ND	< 0.001	0.001
30	0.011 ± 0.0006	0.55 ± 0.050	0.19 ± 0.017	< 0.001	< 0.001	0.003
60	0.010 ± 0.0087	0.52 ± 0.019	0.22 ± 0.022	< 0.001	< 0.001	< 0.001
90	0.012 ± 0.0036	0.46 ± 0.049	0.22 ± 0.006	< 0.001	< 0.001	< 0.001
120	0.012 ± 0.0060	0.41 ± 0.011	0.23 ± 0.038	< 0.001	< 0.001	< 0.001

Time (min)	The production ratio of M3 to M2 *			P value **		
	<i>o</i> -FFF	<i>m</i> -FFF	<i>p</i> -FFF	<i>o</i> -FFF vs. <i>m</i> -FFF	<i>m</i> -FFF vs. <i>p</i> -FFF	<i>o</i> -FFF vs. <i>p</i> -FFF
10	ND	2.16 ± 0.30	0.93 ± 0.199	ND	0.004	0.001
20	ND	1.50 ± 0.20	0.55 ± 0.031	ND	< 0.001	< 0.001
30	0.052 ± 0.004	1.60 ± 0.17	0.49 ± 0.014	< 0.001	< 0.001	< 0.001
60	0.057 ± 0.049	1.39 ± 0.12	0.56 ± 0.043	< 0.001	< 0.001	< 0.001
90	0.069 ± 0.023	1.45 ± 0.18	0.68 ± 0.071	< 0.001	0.002	< 0.001
120	0.076 ± 0.035	1.41 ± 0.16	0.76 ± 0.048	< 0.001	0.002	< 0.001

Time (min)	The production ratio of M1 to M2 *			P value **		
	<i>o</i> -FFF	<i>m</i> -FFF	<i>p</i> -FFF	<i>o</i> -FFF vs. <i>m</i> -FFF	<i>m</i> -FFF vs. <i>p</i> -FFF	<i>o</i> -FFF vs. <i>p</i> -FFF
10	4.99 ± 0.86	3.01 ± 0.20	3.83 ± 0.85	0.018	0.179	0.174
20	4.35 ± 0.51	2.60 ± 0.16	3.04 ± 0.59	0.04	0.281	0.043
30	4.83 ± 0.51	2.92 ± 0.07	2.64 ± 0.17	< 0.001	0.058	0.002
60	5.72 ± 0.18	2.65 ± 0.19	2.53 ± 0.33	< 0.001	0.592	< 0.001
90	6.01 ± 0.24	3.18 ± 0.22	3.07 ± 0.36	< 0.001	0.682	< 0.001
120	6.86 ± 0.96	3.43 ± 0.39	3.37 ± 0.71	0.004	0.913	0.007

\*Mean ± SD (n=3). \*\*p < 0.05 (Student's t-test).

令和4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)  
危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価と乱用実態把握に関する研究(21KC1003)

分担研究報告書

大麻を乱用する少年における新たな大麻関連製品、  
危険ドラッグの乱用実態に関する研究

分担研究者：嶋根卓也（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 薬物依存研究部）  
研究協力者：中島美鈴（肥前精神医療センター）  
市村清隆（福岡県保健医療介護部薬務課）  
児玉 臨（福岡県保健医療介護部薬務課）  
榊田昂志（福岡県保健医療介護部薬務課）  
野村由紀子（福岡県警察本部生活安全部少年課）  
加々美誠（福岡県警察本部生活安全部少年課）  
森 治美（福岡県警察本部生活安全部少年課）

---

【研究要旨】

[緒言] 近年、高濃度に抽出された THC を含有する大麻ベイプ（リキッド、ワックスなど）が押収される事件が相次いでいるが、その使用実態については十分に研究されていない。そこで本研究では、大麻使用少年を対象として、大麻ベイプの使用実態を明らかにすることを目的とした。研究対象は、福岡県保健医療介護部薬務課および福岡県警少年サポートセンターが実施している少年用大麻再乱用防止プログラム（以下、F-CAN）に参加する12～19歳の大麻使用少年である。[結果] 2021年9月から2023年1月までの間に、計17名の大麻使用少年がF-CANへの参加申込みを行った。このうち、選択基準を満たす12名より研究参加の同意を得た（同意取得率70.6%）。本研究ではこの12名を分析対象者とした。過去1年以内の大麻ベイプの使用率は、全体の66.7%であった。大麻ベイプ使用群は、対照群（非使用者）に比べて、大麻使用開始年齢が若く（ベイプ群13.3歳、対照群15.8歳）、DAST-20スコアの平均値が高く（ベイプ群8.6点、対照群3.3点）、それぞれ有意差が認められた。一方、MINIによる薬物依存および薬物乱用の診断には有意差が認められなかった。

[考察] 若年の大麻使用者の多くが、友人や仲間との付き合いの中で、大麻使用を開始していることが、これまで繰り返し指摘されてきた。低年齢で大麻に曝露されることは、そういった大麻を使う仲間との交流機会がより増えることにもつながる。大麻を使う仲間との交流の中で、大麻ベイプを使う機会も一緒に増えた可能性がある。また、大麻ベイプ使用群が抱えている問題は、精神医学的な依存症の問題というよりも、それ以外の大麻使用に伴う友人関係や家族関係、あるいは学校関係といった心理社会的な問題の方が中心となっている可能性が示唆された。いずれにせよ、十分なサンプル数が得られていない現状、大麻ベイプ使用者の特徴についての結論を出す段階ではない。対象者のさらなるリクルートが必要である。

---



## A. 研究目的

法務省が発行する令和4年版犯罪白書<sup>1</sup>によれば、大麻取締法違反による検挙人員は近年急激に増加傾向にある。令和3年における検挙人員は5,783名（前年比9.9%増）であり、これは記録が残されている昭和46年以降で最も多い。検挙人員の多くは若年者であり、全体の7割～8割を20歳代および30歳代の若年層が占めている。20歳未満の少年事犯についても急増している。

若年期からの大麻使用は、薬物依存のリスクを高めることが知られており、薬物依存症の予防という観点からは、10代における早期の大麻使用を防止することが重要となる。例えば2003年の全米薬物使用調査（National Survey on Drug Use and Health）のデータを使った分析によれば、13～18歳に大麻を使い始めた人は、成人してから使い始めた人に比べ、薬物依存と診断されるリスクが約5倍～7倍高いことが報告されている<sup>2</sup>。また、若年期における大麻使用は、使用頻度に応じて影響が増大することが知られている。オーストラリア・ニュージーランドにおける大規模コホート研究によれば、17歳以前の大麻使用頻度が高くなるにつれて、学業へのネガティブな影響（高校を卒業できない、単位を取得できない）があり、他の違法薬物の使用リスクや、自殺企図のリスクが増大することが報告されている<sup>3</sup>。こうした背景にも関わらず、国内における大麻を対象とする医学的研究の多くが、主として精神科医療施設を受診した30～40歳代の患者を対象としたものであり<sup>4,6</sup>、10歳代の若年期における大麻使用の実態についてはほとんど報告されていない。

一方、国内の大麻の取り締まりに関する近年の特徴として、高濃度に抽出されたTHCを含有するワックスやリキッドタイプの大麻製品が押収される事件が相次いでいる。これらの大麻製品は、電子タバコを用いたベイパーと呼ばれる方法（Vaping Marijuana: 以下、大麻ベイプと表記）で使用される場合が多い。全米の青少年を対象とする薬物調査として知られる

Monitoring the Future では、2017年より大麻ベイプの使用状況について調査されている<sup>7</sup>。第12年生（日本における高校3年生に相当）における大麻ベイプの使用率は、生涯経験率25.7%、過去1年経験率18.3%、過去1ヶ月経験率12.4%と報告されている（2021年調査）。大麻ベイプに関する調査を開始した2017年における使用率（生涯経験率11.9%、過去1年経験率9.5%、過去1ヶ月経験率4.9%）と比較すると大幅に増加している。一方、従来の乾燥大麻の使用率については横這いで推移している。これらは、大麻ベイプが青少年の間で急速に広回っていることを示唆する結果と言える。米国では、大麻ベイプ（および電子タバコ）の使用に伴う二次的な急性肺障害の発生が指摘されており、電子タバコまたはベイプ製品関連肺障害（E-cigarette- or vaping product-associated lung injury）という言葉も使われるようになってきている<sup>8</sup>。

大麻ベイプに関する先行研究としては、前述したモニタリング調査の他、タバコ製品との併用に関する研究<sup>9,10</sup>や、使用動機に関する質的研究<sup>11</sup>などが報告されているものの、大麻ベイプ使用者の薬物依存の重症度、大麻ベイプを選択するメリット、大麻に対する考え・感情・信念といった心理社会的な側面を量的に調べた研究は未だにない。そこで本研究では、10歳代の大麻使用少年を対象に、大麻ベイプを含む大麻の使用実態および危険ドラッグを含む大麻以外の違法薬物の使用実態を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 研究対象者

研究対象となるのは、福岡県保健医療介護部薬務課（以下、福岡県薬務課と表記）の事業であり、福岡県警少年サポートセンターが実施協力している少年用大麻再乱用防止プログラム（以下、F-CANと表記）に参加する大麻使用少年である。2021年9月から2023年1月までの間に、計17名の大麻使用少年がF-CANへの参加申込みを行った。このうち、選択基準を満た

す 12 名より研究参加の同意を得た（同意取得率 70.6%）。本研究ではこの 12 名を分析対象者とした。

対象者の選定にあたっては、以下の選択基準および除外基準を設けた。

#### (1) 選択基準

- 1) F-CAN に参加する大麻使用少年
- 2) 初回参加時に実施される事前アンケートに回答した者
- 3) 事前アンケート回答時の年齢が 12 歳から 19 歳である者

#### 【各選択基準の設定理由】

- 1) F-CAN に参加する大麻使用少年がリクルート対象であるため
- 2) 本研究は事前アンケートのデータを二次利用するため
- 3) 本研究では大麻使用少年を 20 歳未満と定義する。また、プログラムのリクルート対象者は、「飲酒・喫煙・薬物乱用についての全国中学生意識・実態調査」で大麻使用が報告されている年齢のうち、最も若い 12 歳を下限とした。

#### (2) 除外基準

- 1) 事前アンケートに回答していない者
- 2) 事前アンケートに回答時の年齢が 12 歳から 19 歳ではない者

#### 【各除外基準の設定理由】

- 1) 本研究は事前アンケートのデータを二次利用するため
- 2) 本研究では大麻使用少年を 20 歳未満と定義する。また、プログラムのリクルート対象者は、「飲酒・喫煙・薬物乱用についての全国中学生意識・実態調査」で大麻使用が報告されている年齢のうち、最も若い 12 歳を下限とした。

## 2. インフォームドコンセント

本研究は、「侵襲を伴わない研究」、「介入を行わない研究」、「人体から取得された試料を用いない研究」であり、要配慮個人情報を取得しな

い研究に該当する。人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針に基づき、必ずしもインフォームドコンセントを受けることを要しないが、本研究の実施について説明文書を用いて研究対象者に通知する。また、研究対象者が研究対象になることを拒否できる機会を保障するために、アンケート用紙の冒頭で、研究参加への同意の有無をチェックボックスにて確認する。なお、未成年者に該当する場合、同意は本人および保護者の双方を確認する。研究開始後に、同意を撤回する場合は、少年サポートセンターの少年育成指導官を窓口とし、福岡県警察本部生活安全部少年課、福岡県薬務課を介して、研究責任者に報告される。

## 3. 調査項目

大麻使用に関連する項目：初回使用年齢、大麻の初回使用年齢、過去 1 年以内の大麻の使用頻度（乾燥大麻、大麻ベイク、大麻成分を含んだ食品）、大麻と飲酒の併用頻度、大麻に対する考え・感情・信念（Marijuana Effect Expectancy Questionnaire<sup>12</sup>、6 項目）、大麻ベイクを選択するメリット・デメリット（7 項目）

大麻以外の薬物使用：過去 1 年以内の危険ドラッグ、覚醒剤、有機溶剤、MDMA、コカイン、ヘロイン、LSD、処方薬乱用、市販薬乱用

薬物依存に関連する項目：薬物関連問題の重症度（DAST-20 日本語版）<sup>13,14</sup>、物質使用障害 M.I.N.I（精神疾患簡易構造化面接法）

その他の調査項目：過去 1 年以内のタバコの使用状況（紙巻きタバコ、加熱式タバコ、電子タバコ）、過去 1 年以内の飲酒頻度、ビンジ飲酒頻度、基本属性（性別、年齢、学歴、職歴など）

## 4. 統計解析

過去 1 年以内の大麻ベイクの使用歴に基づき、対象者をベイク群と対照群に分類した。基本属性、大麻使用に関連する項目、大麻以外の薬物使用、薬物依存に関連する項目について群間比較を行った。カテゴリカル変数についてはフィッシャーの正確確率法で、連続変数については t-検定にて有意差を検定した。

## 5. 倫理審査

本研究の研究計画書は、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 A2021-124）。

## C. 研究結果

表 1 に対象者の基本属性に関する結果を示した。調査時年齢の平均値は 16.2 歳であり、性別は女性 58.3%、男性 33.3%、その他 8.3%であった。対象者のうち 58.3%は学校に在籍しており、50.0%は何らかの仕事に就いていた。ベイズ群は対照群に比べて、調査時年齢が若く、女性の比率が高く、学校に在籍しており、仕事に就いていないという傾向がみられたが、いずれも有意差は認められなかった。

表 2 に大麻使用に関連する結果を示した。初回大麻使用年齢の平均値は 14.1 歳であった。過去 1 年以内の形状別にみた大麻使用率は、乾燥大麻 100%、大麻樹脂 8.3%、大麻ベイズ 66.7%、大麻食品 33.3%であった（複数回答）。過去 1 ヶ月以内の大麻使用日数（平均）は、6.5 日間であった。大麻使用に対する欲求は全体の 41.7%が「とても使いたい」あるいは「どちらかと言えば使いたい」に該当した。過去 1 年以内の大麻使用時のアルコールの併用は、対象者の 50%が経験していた。ベイズ群は対照群に比べて、初回大麻使用年齢が早く、ベイズ群 13.3 歳、対照群 15.8 歳であり、群間に有意差が認められた（ $p=0.021$ ）（図 1）。その他の項目については有意差が認められなかった。

表 3 に大麻以外の薬物使用および薬物依存に関する結果を示した。過去 1 年以内の大麻以外の薬物使用歴は、処方薬乱用が最も多く（50.0%）、市販薬乱用（41.7%）、有機溶剤（41.7%）、MDMA（33.3%）、LSD（33.3%）、コカイン（16.7%）、覚醒剤（8.3%）、危険ドラッグ（8.3%）と続いた。DAST-20 スコアの平均値は 6.8 点であり、66.8%がカットオフ値を超える DAST 陽性であった。MINI による評価では、対象者全体の 50.0%が薬物依存、83.3%が薬物乱用

の診断に該当した。ベイズ群は対照群に比べて、DAST-20 スコアの平均値が高く、ベイズ群 8.6 点、対照群 3.3 点であり、群間に有意差が認められた（ $p=0.038$ ）（図 1）。一方、MINI における薬物依存、薬物乱用の診断については有意差が認められなかった。

## D. 考察

研究対象者のリクルート数が当初の予定より下回っている。計画では、F-CAN 参加者として年間 30 名程度を見込んでおり、このうち約 80%が研究対象として合致し、かつ同意が得られると仮定していた。同意取得率は 70.6%であり想定に近い数字となったが、F-CAN への参加者数自体が当初の想定を下回っているために、結果として研究にリクルートされる対象者も少なくなったと考えられる。

F-CAN への参加者数が伸び悩んでいる背景の一つとして、大麻使用少年の支援を受けることに対する動機づけが低いことが考えられる。現在、少年院を仮退院した少年や、保護観察対象となった少年たちを中心に保護観察所で主として保護観察官がプログラム参加に関する説明をしているものの、F-CAN への参加に同意が得られないケースが多い。今後は、関係機関の協力を得ながら、動機づけを高める取り組みが必要と考えられる。

本研究は、近年若年層を中心とする流行が懸念される新たな大麻の形状として、大麻ベイズ（リキッド、ワックス）に着目し、その使用実態および使用者の特徴を明らかにすることを目的とした。過去 1 年以内の大麻ベイズの使用率は、対象者の 66.7%に達しており、大麻使用少年たちの間で、大麻ベイズが着実に広がっている可能性が示唆される。大麻ベイズに比べて、THC を含有する大麻食品や、大麻樹脂の使用率は低かった。

今回の分析では、大麻ベイズ使用群は、対照群（非使用者）に比べて、大麻の使用開始年齢が有意に若いという結果が得られた。若年の大麻使用者の多くが、友人や仲間との付き合いの

中で、大麻使用を開始していることが、これまで繰り返し指摘されてきた。低年齢で大麻に曝露されることは、そういった大麻を使う仲間との交流機会がより増えることにもつながる。大麻を使う仲間との交流の中で、大麻パイプを使う機会も一緒に増えた可能性が考えられる。とはいえ、彼らがどのように乾燥大麻と大麻パイプを使い分けているのかについては、今回のデータでは論じることができない。今後は、乾燥大麻と大麻パイプの使用頻度、両者のメリット・デメリットなどの結果も踏まえて、大麻パイプ使用者の特徴をさらに検討していくことが必要となる。

一方、大麻パイプ使用群は対照群に比べて、薬物関連問題の重症度を示す DAST-20 のスコアが有意に高いという結果が得られたが、MINI による薬物依存や薬物乱用の診断については、群間に有意差が認められなかった。また、対象者のサンプル数が少ないために十分な検出力が得られず、有意差は認められていないものの、大麻パイプ使用群は、大麻の使用日数（過去 1 ヶ月間）が多い傾向がみられている。これらの結果は、大麻パイプ使用群が抱えている問題は、精神医学的な依存症の問題というよりも、それ以外の大麻使用に伴う友人関係や家族関係、あるいは学校関係といった心理社会的な問題の方が中心となっている可能性が示唆される。いずれにせよ、十分なサンプル数が得られていない現状、大麻パイプ使用者の特徴についての結論を出す段階ではない。対象者のさらなるリクルートが必要である。

## E. 結論

大麻使用少年の間で、大麻パイプの使用が着実に広がっている可能性を示唆する結果が得られた。大麻パイプ使用者は、非使用者に比べて、大麻の初回使用年齢が若く、薬物使用関連問題の重症度が高いといった特徴がみられた。未だ十分なサンプル数が得られておらず、大麻パイプの使用実態を明らかにするためにはさらなるリクルートが必要である。

## F. 参考文献

1. 令和 4 年版犯罪白書（法務省法務総合研究所）、2022.
2. Winters KC, et al: Likelihood of developing an alcohol and cannabis use disorder during youth: association with recent use and age. *Drug Alcohol Depend* 92(1-3): 239-247, 2008.
3. Silins E, et al. Cannabis Cohorts Research Consortium. Young adult sequelae of adolescent cannabis use: an integrative analysis. *Lancet Psychiatry*. 2014 Sep;1(4):286-93.
4. Tokui T, Yonemoto T, Iwashita S, et al. The six cases of cannabis psychosis. *Seishin-Igaku*. 1989;31:919-29. (in Japanese).
5. Yokoyama N, Murakami M, Katayama S. The three cases of marijuana psychosis. *Seishin-Igaku*. 1991;33:235-42. (in Japanese).
6. Matsumoto T, et al. 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.
7. Monitoring the Future national survey results on drug use, 1975-2021 Data for In-School Surveys of 8th, 10th, and 12th Grade Students, Institute for Social Research, The University of Michigan. <http://monitoringthefuture.org/data/21data.htm>
8. Cherian SV, et al. E-Cigarette or Vaping Product-Associated Lung Injury: A Review. *Am J Med*. 2020 Jun;133(6):657-663. doi: 10.1016/j.amjmed.2020.02.004. Epub 2020 Mar 13. PMID: 32179055.
9. Trivers KF, et al. Prevalence of Cannabis Use in Electronic Cigarettes Among US Youth. *JAMA Pediatr*. 2018 Nov 1;172(11):1097-1099.
10. Kowitt SD, et al. Vaping cannabis among adolescents: prevalence and associations with tobacco use from a cross-sectional study in the USA. *BMJ Open*. 2019.

11. Aston ER, et al. Vaporization of Marijuana Among Recreational Users: A Qualitative Study. *J Stud Alcohol Drugs*. 2019.
12. Torrealday O, et al. Validation of the Marijuana Effect Expectancy Questionnaire-Brief. *J Child Adolesc Subst Abuse*. 2008;17(4):1-17.
13. Shimane T, et al. [Reliability and validity of the Japanese version of the DAST-20]. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi*. 2015 Dec;50(6):310-24. Japanese. PMID: 26964292.
14. Skinner, H.: The Drug Abuse Screening Test. *Addictive Behaviors*, 7: 363– 371, 1982.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Takahashi M, Yamaki M, Kondo A, Hattori M, Kobayashi M, Shimane T: Prevalence of adverse childhood experiences and their association with suicidal ideation and non-suicidal self-injury among incarcerated methamphetamine users in Japan. *Child Abuse & Neglect* 131: 105763-105763, 2022.
- 2) 服部真人, 小林美智子, 高橋哲, 高岸百合子, 大宮宗一郎, 谷真如, 嶋根卓也: 覚醒剤使用の引き金に関する実証的研究—薬物依存と他のアディクションの併存に焦点を当てて—. *日本アルコール・薬物医学会誌* 57(3):127-142 2022.
- 3) 山田理沙, 嶋根卓也, 近藤あゆみ, 米澤雅子, 松本俊彦: 薬物依存症回復支援施設の利用者を対象とした物質使用と HIV 感染リスクの高い性行動に関する研究. *日本エイズ学会誌* 24(3): 89-97, 2022.
- 4) 服部真人, 小林美智子, 高橋哲, 高岸百合子, 大宮宗一郎, 谷真如, 嶋根卓也: 薬物依存と他のアディクションが併存する覚醒剤事犯者の特徴. *犯罪心学研究* 60(1): 1-15, 2022.
- 5) 新田慎一郎, 嶋根卓也, 猪浦智史, 近藤あゆみ, 米澤雅子, 松本俊彦: 覚醒剤使用に問題を抱えるゲイ・バイセクシュアル男性

の特徴 —ヘテロセクシュアル男性との比較から—. *日本アルコール・薬物医学会雑誌* 57(5): 182-192, 2022.

- 6) 嶋根卓也: 市販薬乱用とセルフメディケーション. *精神科治療学* 37(7):793-797, 2022.
- 7) 嶋根卓也: コロナ禍における薬物使用の動向: 薬物使用に関する全国住民調査 2021 より. *Newsletter KNOW (麻薬・覚せい剤乱用防止センター)* 第 107 号: 2-6, 2022.
- 8) 嶋根卓也: OTC 薬乱用の現状と対応—最も身近な医薬品の意外な落とし穴. *日本医事新報* No.5133: 18-34, 2022.
- 9) 嶋根卓也: 「助けて」という気持ちをクスリと一緒に飲み込んでしまう. *こころの科学* 226: 71-75, 2022.
- 10) 嶋根卓也: 若年者における薬物乱用の理解と課題. ダメ、ゼツタイで終わらせない薬物乱用防止教育. 令和 4 年度全国学校保健・安全研究大会 課題別研究協議会: 114-117, 2022.
- 11) 嶋根卓也: 20.物質使用障害. 医療者のための LGBTQ 講座 (総編集: 吉田絵理子), 南山堂, 東京, 2022.

### 2. 学会発表

- 1) Shimane T, Funada M, Tomiyama K, Matsumoto T: Increase in Abuse of Over-the-counter Drugs Including Opioids Such as Dihydrocodeine in Japan. The 2nd International Forum on Drug Policy, Shanghai, China, 2022. 8.4. (Best Paper Award)
- 2) Shimane T: Current Situation and Response to Over-the-Counter Drug Abuse in Japan. International symposium on prevention and counseling of drug abuse for juveniles. National Chung Cheng University, Taiwan, 2022.11.2.
- 3) Shimane T: Understanding and support for marijuana using youth in Japan. 2022 Drug Control Cross-network Innovation as Scientific and Technological Intelligence Drug

Prevention Achievements Publication and  
International Symposium, Taiwan, 2022.11.4.

- 4) 嶋根卓也：法務総合研究所との共同研究による支援者向けの小冊子の作成：覚醒剤事犯者の理解とサポート 2021. シンポジウム 10 覚醒剤事犯者の理解とサポート(3). 2022 年度日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 宮城, 2022.9.9.
- 5) 嶋根卓也：高校生における大麻使用状況と大麻使用少年の心理社会的特徴：薬物使用と生活に関する全国高校生調査 2018 より. シンポジウム 13 大麻使用少年の理解とサポート(1). 2022 年度日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 宮城, 2022.9.10.
- 6) 嶋根卓也：覚醒剤使用者における危険な性行動：覚醒剤事犯者を対象とする全国調査より. シンポジウム 15 物質使用と性感染症・性行動・セクシュアリティ(1). 2022 年度日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 宮城, 2022.9.10.
- 7) 引土絵未, 嶋根卓也, 小高真美, 秋元恵一郎, 大吉 努, 加藤 隆, 栗坪千明, 山村りつ, 吉野美樹, 松本俊彦：薬物依存症者の就労支援のあり方に関する研究：インタビュー調査から. 2022 年度日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 宮城 (オンライン), 2022.9.9.
- 8) 中島美鈴, 児玉臨, 森治美, 嶋根卓也：身近な人とのコミュニケーションスキルに焦点つけた少年用大麻再乱用防止プログラムの作成 (1) . 第 22 回認知療法・認知行動療法学会, 東京, 2022.11.12.

#### K. 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

表1. 研究対象となった大麻使用少年の基本属性 (n=12)

	全体 (n=12)		大麻パイプの使用				p-value
	n	%	対照群(n=4)		パイプ群(n=8)		
	n	%	n	%	n	%	
調査時年齢	16.2歳		17.8歳		15.4歳		0.070
性別							0.067
男性	4	33.3%	3	75.0%	1	12.5%	
女性	7	58.3%	1	25.0%	6	75.0%	
その他	1	8.3%	0	0.0%	1	12.5%	
学校への在籍 (調査時)							0.081
はい	5	41.7%	0	0.0%	5	62.5%	
いいえ	7	58.3%	4	100.0%	3	37.5%	
仕事をしている (調査時)							0.061
はい	6	50.0%	4	100.0%	2	25.0%	
いいえ	6	50.0%	0	0.0%	6	75.0%	

表2. 大麻パイプの使用経験別にみた大麻関連項目

	全体 (n=12)		大麻パイプの使用				p-value
	n	%	対照群(n=4)		パイプ群(n=8)		
	n	%	n	%	n	%	
初回大麻使用年齢							
平均年齢	14.1歳		15.8歳		13.3歳		0.021
過去1年以内の大麻使用 (複数回答)							
乾燥大麻 (ハッパ、ジョイント)	12	100.0%	4	100.0%	8	100.0%	—
大麻樹脂 (チョコ)	1	8.3%	0	0.0%	1	12.5%	1.000
大麻パイプ (ワックス、リキッド)	8	66.7%	0	0.0%	9	100.0%	—
大麻食品	4	33.3%	0	0.0%	5	50.0%	0.208
過去1ヶ月間での大麻使用日数							
平均日数	6.5日間		1.5日間		9.0日間		0.110
大麻使用に対する欲求							0.576
使いたい	5	41.7%	1	25.0%	4	50.0%	
使いたくない	7	58.3%	3	75.0%	4	50.0%	
大麻使用時の飲酒併用							0.545
あり	6	50.0%	1	25.0%	5	62.5%	
なし	6	50.0%	3	75.0%	3	37.5%	

表3. 大麻パイプの使用経験別にみた併用薬物および依存症関連項目

	全体		大麻パイプの使用				p-value
	(n=12)		対照群(n=4)		パイプ群(n=8)		
	n	%	n	%	n	%	
過去1年以内の薬物使用（大麻以外）							
有機溶剤	5	41.7%	0	0.0%	5	62.5%	0.081
覚醒剤	1	8.3%	0	0.0%	1	12.5%	1.000
危険ドラッグ	1	8.3%	0	0.0%	1	12.5%	1.000
MDMA	4	33.3%	0	0.0%	4	50.0%	0.208
コカイン	2	16.7%	0	0.0%	2	25.0%	0.515
ヘロイン	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	—
LSD	4	33.3%	0	0.0%	4	50.0%	0.208
処方薬乱用	6	50.0%	1	25.0%	5	62.5%	0.545
市販薬乱用	5	41.7%	0	0.0%	5	62.5%	0.087
その他	1	8.3%	0	0.0%	1	12.5%	1.000
DAST-20							
スコア平均値	6.8点		3.3点		8.6点		0.038
DAST陽性	8	66.8%	1	25.0%	7	87.5%	0.067
MINI							
薬物依存	6	50.0%	1	25.0%	5	62.5%	0.545
薬物乱用	10	83.3%	3	75.0%	7	87.5%	1.000

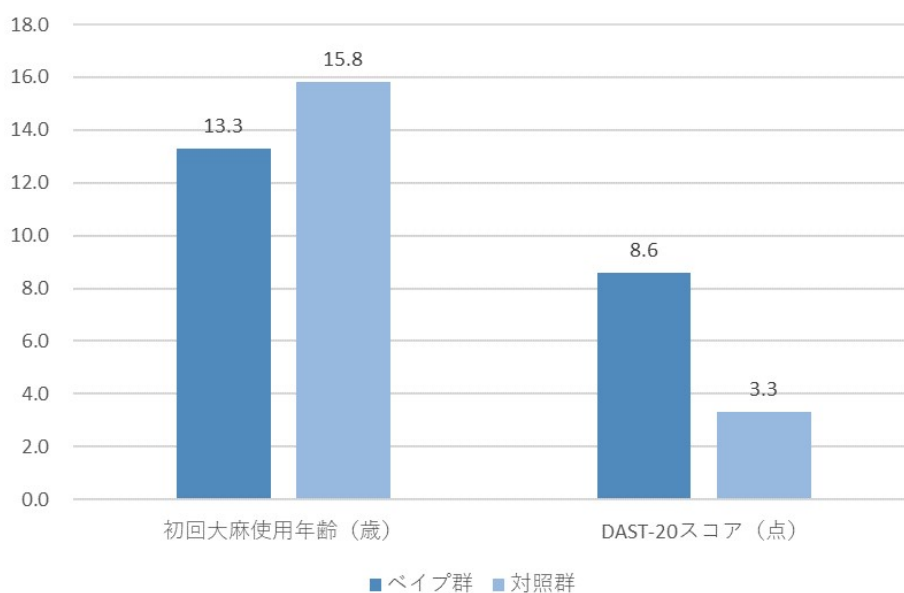


図1. 大麻パイプ使用群と対照群（非使用者）の大麻初回使用年齢およびDAST-20スコアの平均値  
 パイプ群：過去1年以内に大麻パイプの使用が認められた大麻使用少年  
 対照群：過去1年以内に大麻パイプの使用が認められなかった大麻使用少年



## 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
嶋根卓也	20. 物質使用障害.	吉田絵理子	医療者のためのLGBTQ講座	南山堂	東京	2022	106-110

### 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	危険ドラッグの依存性	精神科	41	239-247	2022
船田正彦	海外の大麻規制変遷から考える国内の大麻規制再構築の意義	医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス	54	36-42.	2023
Moriya S, Yoneta Y, Kuwata K, Imamura Y, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T	PreQ1 Facilitates DNA Strand Invasion by PNA	<i>Peptide Science 2021</i>	2022	111-112	2022
Yuyama M, Misawa T, Demizu Y, Kanaya T, Kurihara M.	Design and synthesis of novel estrogen receptor antagonists with acetal containing biphenylmethane skeleton	<i>Results in Chemistry</i>	3	100124	2021
Moriya S, Shibasaki H, Kohara M, Kuwata K, Imamura, Y, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T:	Synthesis and characterization of PNA oligomers containing preQ1 as a positively charged guanine analogue:	<i>Bioorg Med Chem Lett.</i>	39	127850	2021
Imafuku, F., Miyazaki, I., Sun, J., Kamimai, S., Shimizu, T., Toyota, T., Okamoto, Y., Isooka, N., Kikuoka, R., Kitamura, Y. and Asanuma, M.	Central and enteric neuroprotective effects by <i>Eucommia ulmoides</i> extracts on neurodegeneration in rotenone-induced parkinsonian mouse.	<i>Acta Med. Okayama</i>	76 (4)	373-383	2022

Takahashi M, Yamaki M, Kondo A, Hattori M, Kobayashi M, <u>Shimane T</u>	Prevalence of adverse childhood experiences and their association with suicidal ideation and non-suicidal self-injury among incarcerated methamphetamine users in Japan.	Child Abuse & Neglect	131	105763-105763	2022
<u>嶋根卓也</u>	市販薬乱用とセルフメディケーション.	精神科治療学	37(7)	793-797	2022
<u>嶋根卓也</u>	コロナ禍における薬物使用の動向：薬物使用に関する全国住民調査 2021 より.	Newsletter KNOW	107	2-6	2022
<u>嶋根卓也</u>	OTC 薬乱用の現状と対応ー最も身近な医薬品の意外な落とし穴.	日本医事新報	5133	18-34	2022
<u>嶋根卓也</u>	「助けて」という気持ちをクスリと一緒に飲み込んでしまう.	こころの科学	226	71-75	2022
<u>嶋根卓也</u>	若年者における薬物乱用の理解と課題. ダメ、ゼッターで終わらせない薬物乱用防止教育.	令和4年度全国学校保健・安全研究大会 課題別研究協議会		114-117	2022
山田理沙, <u>嶋根卓也</u> , 近藤あゆみ, 米澤雅子, 松本俊彦	薬物依存症回復支援施設の利用者を対象とした物質使用と HIV 感染リスクの高い性行動に関する研究.	日本エイズ学会誌	24(3)	89-97	2022
新田慎一郎, <u>嶋根卓也</u> , 猪浦智史, 近藤あゆみ, 米澤雅子, 松本俊彦	覚醒剤使用に問題を抱えるゲイ・バイセクシュアル男性の特徴ーヘテロセクシュアル男性との比較からー.	日本アルコール・薬物医学会雑誌	57(5)	182-192	2022
服部真人, 小林美智子, 高橋哲, 高岸百合子, 大宮宗一郎, 谷真如, <u>嶋根卓也</u>	薬物依存と他のアディクションが併存する覚醒剤事犯者の特徴.	犯罪心学研究	60(1)	1-15	2022
服部真人, 小林美智子, 高橋哲, 高岸百合子, 大宮宗一郎, 谷真如, <u>嶋根卓也</u>	覚醒剤使用の引き金に関する実証的研究ー薬物依存と他のアディクションの併存に焦点を当ててー.	日本アルコール・薬物医学会誌	57(3)	127-142	2022

厚生労働大臣 殿

機関名 湘南医療大学  
 所属研究機関長 職名 学長  
 氏名 大屋敷 芙志枝

次の職員の令和4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 危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価と乱用実態把握に関する研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 湘南医療大学 薬学部・教授  
 (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 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：湘南医療大学 動物実験に関する規程)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	湘南医療大学 薬学部	<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) ・該当する口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 湘南医療大学  
 所属研究機関長 職名 学長  
 氏名 大屋敷 芙志枝

次の職員の令和4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 危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価と乱用実態把握に関する研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 湘南医療大学 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・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

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

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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

令和5年 1月30日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立大学法人岡山大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 榎野 博史

次の職員の令和4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 危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価と乱用実態把握に関する研究
- 研究者名 (所属部署・職名) 岡山大学学術研究院医歯薬学域・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)
人を対象とする生命科学・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"/>
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"/>
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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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 原 英彰

次の職員の令和4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 危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価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・薬物動態学研究室・教授  
 (氏名・フリガナ) 北市清幸・キタイチキヨユキ

4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

(留意事項) ・該当する口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5年 3月 1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4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 危険ドラッグと関連代謝物の有害作用評価と乱用実態把握に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・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)
人を対象とする生命科学・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"/>
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"/>
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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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: )