

令和4-6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：22KC1005)

総合研究報告書

指定薬物の指定に係る試験法の評価検証に資する研究

研究代表者 鈴木 勉

(湘南医療大学 薬学部)

指定薬物は、薬物による中枢興奮や抑制作用を実験動物の自発運動を含む一般行動観察、脳内アミン量の変化、受容体結合実験などの結果から指定が行われているが、幻覚作用の評価は非常に困難である。これまで、幻覚発現薬の評価には、マウスによる head twitch response (HTR) が主に用いられているが、その判別が困難である等から評価法の改良や新たな評価法の開発が求められている。市中に次々と出回る幻覚発現薬物を速やかに評価して、規制に繋げるためには、精度が高く、簡便で迅速な評価法の開発や各評価法の適正を明らかにすることが望まれる。

そこで本研究では、指定薬物の指定に係る試験法の評価検証に資する研究（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：22KC1005）において基礎研究を実施した。本研究では、幻覚発現薬として κ -オピオイド受容体作動薬 U50,488H および 5-HT₂ 受容体作動薬 4-iodo-2,5-dimethoxy- α -methylbenzeneethanamine (DOI) を使用することで指定薬物の指定に係る実験動物を用いた試験法の評価を実施した。本研究成果によって、既存の試験法に加えて精度が高く、簡便で迅速な評価法の開発に繋がった。

〔分担研究-1：幻覚発現物質の評価検証を目指した試験法の開発〕鈴木 勉

乱用目的に次々と合成され、市中に出回る幻覚作用を発現する薬物を速やかに評価して、適時に規制して行くためには、精度が高く、簡便で迅速な評価法の開発が望まれる。また、幻覚作用を客観的に評価するためには、定量化・数値化する必要がある。本研究では、幻覚発現薬として κ -オピオイド受容体作動薬 U50,488H および 5-HT₂ 受容体作動薬 DOI を使用しマウスを用いた条件づけ場所嗜好性試験を実施した。さらに、幻覚発現薬による幻覚発現時には情動異常を引き起こす可能性が考えられるため、マウスガラス玉覆い隠し試験を実施した。条件づけ場所嗜好性試験においては、 κ -オピオイド受容体および 5-HT₂ 受容体作動薬で嫌悪効果を認められた。この嫌悪効果は、おそらく幻覚発現薬の幻覚作用に起因している可能性が考えられる。したがって、

本試験を用いることでこの嫌悪作用を指標とした幻覚作用の評価が可能ではないかと考えられる。さらに、ガラス玉覆い隠し試験において κ -オピオイド受容体作動薬および 5-HT₂ 受容体作動薬で情動異常を検出できた。したがって、本試験（条件づけ場所嗜好性試験（嫌悪効果の評価）およびガラス玉覆い隠し試験）を用いることで、幻覚作用発現に伴う情動異常が評価可能であると考えられる。

〔分担研究-2：危険ドラッグ誘発幻覚作用の測定法開発に関する研究〕 船田正彦

未規制の乱用薬物である危険ドラッグには、幻覚作用を示す薬物が存在する。幻覚作用の評価方法は確立しておらず、法規制のためには正確に幻覚作用の評価を行うシステム構築が急務である。これまでの研究では、幻覚作用を示すセロトニン受容体作用薬において、マウスの首振り反応 Head Twitch Response (HTR)の出現が確認されており、幻覚作用が強い薬物と HTR の回数の関係を調べることで、幻覚作用の発現予測ができることが示唆されている。セロトニン受容体作用薬を示す危険ドラッグは多数存在することから、ハイスループットで幻覚作用を予測する手法の確立が望まれる。本研究では、幻覚を示すとされる危険ドラッグによって誘発されるマウスの HTR に着目して、HTR を定量化できる自動測定装置の開発を試みた。HTR を定量化する目的で、磁石の動きを検知することができる磁力測定装置として、マグネットメーターを作製した。マグネットメーターは、ポリウレタン銅線を使用して、直径 16 cm のコイルを作製し、直径 15cm の円筒ビーカーに装着した。実験には、ICR 系マウスを使用した。マウスの頭蓋表面に強力な磁力を有するマグネットをデンタルセメントで留置して、装置内での HTR の動きで感知される電気信号を測定した。装置上部より、ビデオ撮影を行い、行動変化と電気信号の相関性を確認しながら、HTR に特異的な信号を選択した。幻覚を誘発する薬物として、セロトニン 5-HT₂ 受容体作用薬の 4-Iodo-2,5-dimethoxy- α -methylbenzeneethanamine (DOI)および選択的セロトニン 5-HT_{2A} 受容体作用薬である 4-bromo-3,6-dimethoxybenzo cyclobuten-1-yl)methylamine hydrobromide (TCB-2)を使用した。DOI および TCB-2 投与後、HTR の特異的なシグナルの検出を行った。DOI および TCB-2 投与により用量依存的な HTR の発現が確認された。DOI による HTR は選択的セロトニン 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬の (R)-(+)- α -(2,3-Dimethoxyphenyl)-1- (R)-(+)- α -(2,3-Dimethoxyphenyl)-1-[2-(4-fluorophenyl)ethyl] -4-piperinemethanol (MDL100907) により完全に抑制された。以上の結果から、本研究で作製した磁力測定装置により、マウスの首振り反応の発現回数を定量的に解析することが可能になった。セロトニン受容体作用薬によるマウスの首振り反応の発現には、セロトニン 5-HT_{2A} 受容体が重要な役割を果たしていることが示唆された。本解析手法は自動測定が可能であることから、危険ドラッグの催幻覚作用を迅速に予測する手法として、有用であると考えられる。

[分担研究-3：幻覚作用を有する薬物の合成] 栗原正明

幻覚作用を有すると考えられるオピオイド受容体に作用する化合物の合成を行うことを目的とする。合成した化合物は幻覚作用を評価する試験法の開発に供する。 κ オピオイド受容体作動薬として U50,488H の合成を行った。7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane を出発原料として、トータル収率約 20% で U50,488H を合成することができた。次に光学活性体の合成を行いたい。

[分担研究-4：摂取感覚および行動パターン解析による薬物乱用の評価] 森 友久

乱用が問題となる薬物は、精神刺激薬様の摂取感覚を有し、自発運動を強く亢進するとされてきた。そのため乱用に関する蓋然性評価において、精神刺激薬様の摂取感覚あるいは自発運動促進効果が蓋然性評価の指標とされてきた。これらの結果は、指定薬物の指定に係る試験法として、少なくとも 1 つの指標による評価では、十分な評価が難しいことを示唆している。本分担研究課題では、様々なタイプの幻覚発現薬によって引き起こされる行動変化を評価しうる系の構築を目指すため、本研究では、危険ドラッグとして用いられ構造変換が容易な phenylpiperadine 誘導体に着目して検討することとした。そこで、1-(3-trifluoromethylphenyl)piperadine (TFMPP)、1-(3-chlorophenyl)-piperadine (3-CPP) および phenylpiperadine による MDMA の弁別刺激効果に対する般化試験、さらにこれらの自発運動に及ぼす影響を検討した。その結果、phenylpiperadine および 3-CPP は MDMA 様の弁別刺激効果を示したものの、TFMPP は般化しかなかった。一方、自発運動の測定において、TFMPP は運動亢進を示したものの、phenylpiperadine および 3-CPP は自発運動に影響を及ぼさなかった。このように phenylpiperadine 構造を有する薬物においても精神刺激薬様の摂取感覚を持つにも関わらず、自発運動に影響を及ぼさない薬物が確認され、蓋然性評価系において、少なくともいくつかの評価系の組み合わせることが重要であると確認された。今後は、乱用が懸念される NMDA 受容体拮抗薬および κ -受容体作動薬の乱用予測のための評価系について検討していく。

[分担研究-5：幻覚剤 DOI によるマウス行動異常—伏臥位を基本的指標として評価する実験系] 北中純一

幻覚発現薬の動物実験による評価としては、簡便な行動観察に基づく、再現性の良い指標が強く望まれる。人間に対して幻覚作用を有する 1-(4-iodo-2,5-di-methoxyphenyl)propan-2-amine 塩酸塩 (DOI) によって引き起こされるマウス異常行動 (前肢洗顔行動・後肢引っ掻き行動・伏臥位) は DOI の用量依存的に発現頻度が増加した。DOI 誘発異常行動と大脳皮質・線条体および側坐核・海馬各部位におけるモノアミン代謝との間に相関は認められなかった。したがって幻覚発現薬による異常行動は、ICR 系マウスを実験動物とした場合、特に前肢洗顔行動とそれに続く伏臥位の発現頻度とが用量依存性、発現強度の相関性の観点から有効な観察基準と考えられた。幻覚発現薬を繰り返し投与した場合、DOI 反復投与は、水平方向の運動量を増加させなかった。伏臥位のみ、

DOI 連続投与によってその発現が有意に増強した。伏臥位の観察は、一般的な睡眠姿勢とは明らかに異なり、簡便に行動観察されることから、投与量に応じて強度が変化する伏臥位は、幻覚発現薬の作用強度を評価する上で有用な指標となり得る。投与頻度の上昇が伏臥位発現強度の上昇を引き起こすことは、DOI が誘発する主たる作用であることを想定させ、人間での幻覚発現効果とその相関を想定させる。したがって、本研究結果は、マウスを用いた伏臥位測定を実施すれば、stimulant の薬理学的特性を持たない幻覚発現薬 DOI の効果を簡便かつ定性的に反映する行動指標となることを示唆する。

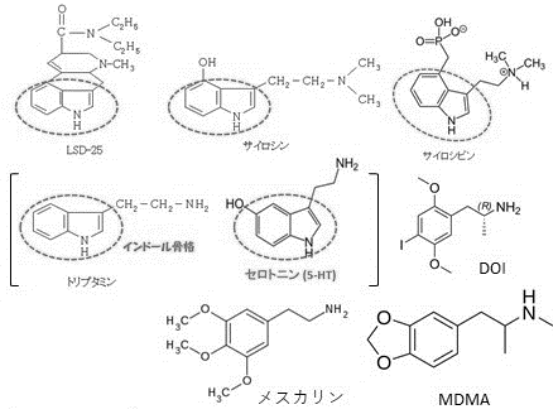
[分担研究-6：危険ドラッグ誘発幻覚作用の測定法開発に関する研究] 増川太輝

L-3,4-dihydroxyphenylalanine (ドーパ) は、現在でも、最も有効なパーキンソン病治療薬である。ドーパの薬理作用は、従来、アミノ酸脱炭酸酵素によるドパミンへの変換を介して作用し、ドーパ自体に活性はないと考えられてきた。我々は、ドーパの遊離が、メタンフェタミンおよびニコチンの投与によって増加するのに対して、コカインはむしろ、ドーパ遊離を抑制させること、ニコチンおよびメタンフェタミンによる行動変化が、ドーパ拮抗薬であるドーパシクロヘキシルエステルによって抑制されることを見出してきた。これらのことは、ドーパが精神症状の一部に関与することを示す。本研究においては、ドーパの遊離、ドーパ受容体 GPR143 とセロトニン受容体との機能連関を解析することを通じて、指定薬物の幻覚作用におけるドーパ性神経伝達の関与を明らかにすることを目的とした。5-HT_{2A} 受容体とドーパ/GPR143 シグナルとの関連性を明らかにするため、GPR143 欠損マウスを用いて、5-HT_{2A} 受容体作動薬である 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI) の薬理作用を野生型と比較・検討した。その結果、GPR143 欠損マウスにおいて野生型と比較し、DOI による運動量増加作用および側坐核における c-Fos 発現増加作用が増強した。次に、マイクロダイアリシスを用いて、ドーパ、ドパミン、5-HT の同時測定を試みたところ、側坐核におけるこれらの神経伝達物質の検出が可能となった。さらに、5-HT_{2A} 受容体発現 CHO 細胞に DOI を処置すると、ERK リン酸化レベルが上昇し、DOI の効果は GPR143 の共発現により増強した。これらの結果は、GPR143 が 5-HT_{2A} 受容体応答を負に修飾することを示す。

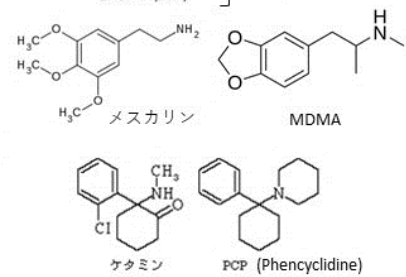
幻覚作用を有する薬物 (図 1)

幻覚作用を有する薬物 (hallucinogen)

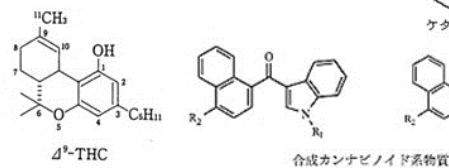
- 5-HT 系
(5-HT_{2A/2C} R-agonist)
LSD-25、マジックマッシュルーム、
その他



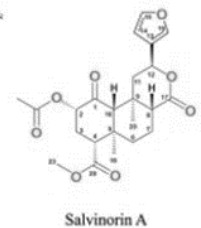
- NMDA 系 (NMDA R-antagonist)
PCP (フェンサイクリジン)
ケタミン: 解離性麻酔薬 (副作用: 悪夢・幻覚)



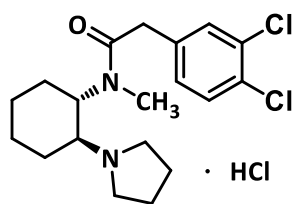
- CB 系 (CB R-agonist)
大麻 (Δ^9 -THC)
中枢: 主にCB1受容体



- κ -Opioid 系 (κ -opioid R-agonist)
サルビア・ディビノラム: ヒトでの乱用 (幻覚: 解離性)
(*Salvia divinorum*)



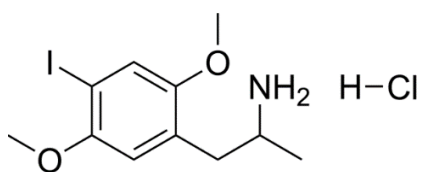
本研究課題にて合成した薬物（図 2）



(±)-U50,488H

trans-(±)-3,4-Dichloro-*N*-methyl-*N*-[2-(1-pyrrolidinyl)cyclohexyl]

benzeneacetamide hydrochloride



DOI

4-Iodo-2,5-dimethoxy- α -methylbenzeneethanamine