

令和5～令和7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)  
精神活性物質の化学構造に基づく乱用危険性予測に関する研究(23KC1002)

総合研究報告書

分担研究報告書 [3年間のまとめ]

## 危険ドラッグの有害作用予測：構造活性相関に関する解析

研究分担者 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）

---

### 【研究概要】

#### [研究テーマ：危険ドラッグの有害作用予測：構造活性相関に関する解析]

[緒言] 危険ドラッグとして流通する麻薬類似物質や覚醒剤類似物質の中枢神経作用や報酬効果は、主として動物を用いた行動薬理学的手法により解析されてきた。しかし、ヒトに対する危険ドラッグの薬理作用および有害作用を評価する方法は十分に確立されていない。特に危険ドラッグは短期間に多数出現するため、ヒト神経系を反映した迅速な薬物スクリーニング法の開発が求められている。そこで本研究では、ヒト由来ドパミン神経細胞を中心とした培養神経細胞系を用い、危険ドラッグの神経毒性およびモノアミン神経系に対する薬理作用を評価する *in vitro* 評価系の構築を目的とした。

[方法] ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経および市販のヒトドパミン神経細胞 (iCell® DopaNeurons) を用いて、覚醒剤 methamphetamine (METH) および危険ドラッグ合成カチノン類の神経細胞毒性を評価した。さらに iCell® DopaNeurons を用いて DAT 取込み阻害作用およびドパミン遊離作用を検討した。また、セロトニン神経系の評価として、ラット由来 raphe 領域初代培養を用い、SERT 取込み阻害作用およびセロトニン遊離作用について検討した。

[結果] METH および合成カチノンは、ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経または iCell® DopaNeurons において濃度依存的な神経細胞毒性を示した。iCell® DopaNeurons では、METH および合成カチノンにより有意な DAT 取込み阻害作用が認められた。ドパミン遊離試験では、METH により有意なドパミン遊離が確認されたが、合成カチノンでは有意な増加は認められなかった。また、ラット由来 raphe 領域培養では TPH2 陽性細胞が確認され、fluoxetine 処理によりセロトニン遊離の増加が認められた。

[考察] ヒト由来ドパミン神経細胞を用いた評価系は、危険ドラッグや覚醒剤などドパミン神経系を標的とする薬物の神経毒性および薬理作用を評価する *in vitro* 系として有用である可能性が示された。特に iCell® DopaNeurons において、METH によるドパミン遊離促進作用と合成カチノンによる DAT 阻害作用が確認されたことから、本細胞系はモノアミントランスポーターに対する薬物作用様式の違いを識別可能な評価系となる可能性が示唆された。一方、セロトニン神経系については raphe 領域培養を用いた基礎評価を行い、SERT 阻害薬に対する応答が確認されたが、評価条件の最適化が今後の課題である。以上の結果から、本研究で構築した培養神経細胞系は、危険ドラッグの神経毒性およびモノアミン神経系作用を評価するスクリーニング系として有用であると考えられる。

---

[結論] 本研究では、ヒト由来ドパミン神経細胞を用いた危険ドラッグの有害作用評価系の構築を目的として、神経細胞毒性およびモノアミン神経系機能を指標とした *in vitro* 評価法の検討を行った。その結果、ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経において、覚醒剤 METH および合成カチノンは濃度依存的な神経細胞毒性を示すことが確認された。さらに、iCell® DopaNeurons を用いた評価により、これら薬物は DAT 取込み阻害作用を示し、METH ではドパミン遊離の増加が認められた。一方、合成カチノンではドパミン遊離は認められず、薬物作用様式の違いが確認された。また、ラット由来 raphe 領域培養を用いた評価により、セロトニン神経を含有する培養系が構築され、SERT 阻害薬によるセロトニン応答が確認された。以上の結果から、ヒト由来ドパミン神経細胞を中心とした培養神経細胞系は、危険ドラッグの神経毒性およびモノアミン神経系に対する薬理作用を評価する *in vitro* スクリーニング系として有用である可能性が示された。

## 緒言

近年、危険ドラッグ（未規制物質）として流通する麻薬類似物質や覚醒剤類似物質が世界的に増加しており、特に合成カチノン類をはじめとする危険ドラッグは次々と出現している。これらの物質の中樞神経作用や報酬効果については、主として動物を用いた行動薬理学的手法により解析されてきたが、ヒトに対する薬理作用や有害作用を評価する方法は十分に確立されていない。特に新規物質が短期間に多数出現する現状では、動物実験のみで迅速に毒性や薬理作用を評価することは困難である。

そこで本研究では、ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経細胞を中心とした培養神経細胞系を用い、危険ドラッグの神経毒性およびモノアミン神経系に対する薬理作用を評価する *in vitro* スクリーニング系の構築を目的とした。具体的には、ドパミン神経細胞を用いた神経細胞毒性評価系を確立するとともに、ドパミントランスポーター (DAT) 機能およびドパミン遊離を指標とした機能評価系を構築した。さらに、セロトニン神経系の評価としてラット由来 raphe 領域培養を用いた培養系を導入し、セロトニントランスポーター (SERT) 機能およびセロトニン遊離を指標とした評価系の有用性について検討した。

1) ヒト iPS 細胞より作成した機能的神経細胞を用いた危険ドラッグの有害作用の評価 (1年

## 目

本研究では、危険ドラッグの有害作用評価系の構築を目的として、ヒト iPS 細胞からドパミン神経細胞を誘導し、ヒト由来ドパミン神経細胞を用いた毒性評価系の基礎的検討を行った。ヒト iPS 細胞株 (HPS2478) から神経前駆細胞を分化誘導し、SOX-1 陽性細胞を確認した後、ドパミン神経への分化誘導を行った。その結果、培養 15 日目にドパミン神経マーカーである tyrosine hydroxylase (TH) および神経マーカーである microtubule-associated protein 2 (MAP-2) の発現が確認され、ヒト iPS 細胞からドパミン神経細胞の誘導が可能であることが示された。さらに、市販のヒトドパミン神経細胞 (iCell® DopaNeurons) と比較しながら、METH および合成カチノン 3-CMC、dipentylone の神経細胞毒性について検討した。その結果、いずれの薬物においてもヒト iPS 由来ドパミン神経細胞に対して濃度依存的な細胞生存率の低下が認められた。また、予備的検討として DAT 阻害作用について評価したところ、選択的阻害剤 GBR-12909 による DAT 取込み阻害作用が確認された。以上の結果から、ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞は依存性薬物による神経毒性評価に利用可能であり、危険ドラッグの有害作用を評価する *in vitro* 評価系として活用できる可能性が示された。

2) ヒト iPS 細胞より作成した機能的神経細胞

## を用いた危険ドラッグの有害作用の評価 (2年目)

本研究では、危険ドラッグの有害作用評価系の構築を目的として、ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経細胞および市販のヒトドパミン神経細胞を用い、覚醒剤および合成カチノンの神経毒性とモノアミン輸送体機能への影響について検討した。ヒト iPS 細胞株 HPS2478 から神経前駆細胞を誘導し、培養 21 日目にドパミン神経マーカー TH および神経マーカー MAP-2 の発現を確認した。さらに、ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞、iCell®ドパミン神経細胞およびマウス胎児由来初代培養神経細胞を用いて、METH および合成カチノン N-ethylheptedrone の神経毒性を比較した。その結果、両化合物はいずれの細胞系においても濃度依存的に細胞生存率を低下させ、神経毒性を示すことが確認された。DAT の取込み阻害作用を評価したところ、iCell®ドパミン神経細胞では DAT 選択的阻害剤 GBR-12909 および N-ethylheptedrone による有意な取込み阻害作用が認められた。一方、ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞では GBR-12909 による阻害作用が確認されたが、他の薬物では明確な阻害作用は認められなかった。また、METH 刺激により iCell®ドパミン神経細胞から有意なドパミン遊離が認められた。以上の結果から、ヒト由来ドパミン神経細胞を用いた培養神経細胞系は、危険ドラッグの神経毒性およびモノアミン神経系機能を評価する *in vitro* 評価系として有用である可能性が示された。

## 3) ヒト iPS 細胞より作成した機能的神経細胞を用いた危険ドラッグの有害作用の評価 (3年目)

本研究では、危険ドラッグおよび覚醒剤のモノアミン神経系に対する作用を *in vitro* で評価することを目的として、iCell®DopaNeurons およびラット由来 raphe 領域神経培養 (Rat Neurons-raphe) を用いた評価系を検討した。免疫染色の結果、Rat Neurons-raphe ではセロトニン神経マ

ーカー tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) と MAP-2、Synapsin I の発現が認められ、両培養系において神経細胞の成熟と神経ネットワーク形成が示唆された。神経毒性評価では、METH は mM オーダー、合成カチノン  $\alpha$ -PVP および MDPV は 250  $\mu$ M 以上で細胞生存率を低下させた。DAT 取込み阻害試験では、iCell®DopaNeurons において陽性対照 GBR-12909 に加え、METH、 $\alpha$ -PVP、MDPV が有意な阻害作用を示した。一方、モノアミン遊離試験では、METH は iCell®DopaNeurons から有意なドパミン遊離を誘導したが、 $\alpha$ -PVP および MDPV では有意な遊離は認められなかった。これらの結果は、METH がトランスポーター基質型、 $\alpha$ -PVP および MDPV が阻害型という既知の薬理作用様式と一致していた。さらに、Rat Neurons-raphe では fluoxetine により SERT 取込み阻害作用およびセロトニン濃度の有意な増加が確認された一方、METH では明確なセロトニン増加は認められなかった。以上より、本年度に構築したドパミン神経系およびセロトニン神経系の培養評価系は、危険ドラッグの神経毒性とモノアミン神経系作用を評価する *in vitro* スクリーニング系として有用である可能性が示された。

## 【総括】

本研究では、ヒト由来ドパミン神経細胞を用いた危険ドラッグの有害作用評価系の構築を目的として、神経細胞毒性およびモノアミン神経系機能を指標とした *in vitro* 評価法の検討を行った。その結果、ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経細胞および市販のヒトドパミン神経細胞において、覚醒剤 METH および合成カチノンは濃度依存的な神経細胞毒性を示すことが確認された。さらに、iCell®DopaNeurons を用いた評価により、これら薬物は DAT 取込み阻害作用を示し、METH ではドパミン遊離の増加が認められた。一方、合成カチノンではドパミン遊離は認められず、薬物作用様式の違いが確認された。また、ラット由来 raphe 領域培養を用いた評価により、セロトニン神経を含有する培養系が構

築され、SERT 阻害薬によるセロトニン応答が確認された。以上の結果から、ヒト由来ドパミン神経細胞を中心とした培養神経細胞系は、危険ドラッグの神経毒性およびモノアミン神経系に対する薬理作用を評価する *in vitro* スクリーニング系として有用である可能性が示された。

#### 【研究業績】

##### 1. 論文発表

- 1) Tomiyama KI, Funada M. The synthetic opioid isotonitazene induces locomotor activity and reward effects through modulation of the central dopaminergic system in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2025 Jul;500:117361

##### 2. 学会発表

- 1) 富山健一, 船田正彦: 新規合成オピオイド isotonitazene の薬理学的特性の解析, 2023 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 岡山, 2023 年 10 月 13-15 日.
- 2) 富山健一, 船田正彦: 新規合成オピオイド nitazene 系化合物の薬理学的特性の解析. 2025 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(2025.10.24).

##### 3. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得: 特になし

実用新案登録: 特になし

その他: 特になし