

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)  
指定薬物の指定に係る試験法の評価検証に資する研究

分担研究報告書

危険ドラッグ誘発幻覚作用の定量と発現機序に関する研究

分担研究者：船田正彦 湘南医療大学 薬学部

研究協力者：池上大悟 湘南医療大学 薬学部

---

【研究要旨】

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 の回数と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。我々は、これまでに HTR を自動測定可能な装置（マグネットメーター）を開発した。

本研究では、マグネットメーターを利用して、催幻覚薬によって誘発されるマウスの HTR の定量精度を検証した。マグネットメーターは、ポリウレタン銅線により、直径 16cm のコイルを作製した。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、行動変化とマグネットメーターで検出される電気信号の相関性を検証し、HTR 測定精度を検討した。催幻覚薬として 5-HT<sub>2</sub> 作用薬である 4-Iodo-2,5-dimethoxy- $\alpha$ -methylbenzeneethanamine (DOI)を投与し、HTR の発現について解析した。また、幻覚作用の発現と脳内神経活性の関係を検討するために、脳内 c-Fos 発現量の解析を行った。DOI 投与により用量依存的な HTR の発現が確認された。HTR 発現回数において、マグネットメーターでの検出 HTR 回数（電気信号）とビデオ解析の回数（目視）に正の相関性( $r^2=0.9936$ )が認められた。また、DOI による HTR は選択的セロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗薬の(R)-(+)- $\alpha$ -(2,3-Dimethoxyphenyl)-1-[2-(4-fluorophenyl)ethyl]-4-piperinemethanol (MDL100907)により完全に抑制された。一方、DOI (1 mg/kg)投与により、前頭前野 (Prefrontal Cortex)において、有意な c-Fos 発

現量の増加が確認された。

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。また、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、前頭前野におけるセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 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。

## A. 研究目的

危険ドラッグとして合成カンナビノイド、カチノン系化合物、オピオイド化合物および催幻覚物質などが流通し、事件事故、健康被害が発生しており、世界的な問題となっている<sup>1)</sup>。

催幻覚物質として、インドールアミン系とフェニルアルキルアミン系という 2 つの化学構造を有する化合物群が知られている。フェニルアルキルアミン系幻覚剤として、Iodo-2,5-dimethoxy- $\alpha$ -methylbenzeneethanamine (DOI)、1-(2,5-dimethoxy-4-methylphenyl)-2-amino-propane (DOM) などが流通している<sup>2)</sup>。こうした化合物群は、ラットやマウスの動物実験において、特徴的な首振り反応 Head Twitch Response (HTR)を示すことが報告されており、幻覚作用を反映する行動モデルとして注目されている<sup>3,4)</sup>。

幻覚作用を示す危険ドラッグの法規制のためには、幻覚作用を適切に評価するための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 の回数の関係を探ることで、幻覚作用の発現予測ができることが示

唆されている<sup>3,4)</sup>。セロトニン受容体作用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首振り反応 Head Twitch Response (HTR)に着目して、HTR を定量化できる自動測定装置の精度を検証した。また、幻覚作用の発現と脳内神経活性の関係を検討するために、脳内 c-Fos 発現量の解析を行った。

## B. 研究方法

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

使用薬物：セロトニン 5-HT<sub>2</sub> 作用薬である 4-Iodo-2,5-dimethoxy- $\alpha$ -methylbenzeneethanamine (DOI, Sigma-Aldrich) および選択的セロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗薬である (R)-(+)- $\alpha$ -(2,3-Dimethoxyphenyl)-1-[2-(4-fluorophenyl)ethyl]-4-piperinemethanol (MDL100907, Tocris) を使用した。

### 1. マグネットメーター

マグネットメーターは、ポリウレタン銅線

(絶縁部含めて 0.26mm 径銅線) を使用して、直径 16cm のコイルを作製し、直径 15cm の円筒ビーカーに装着した。装置内の磁石の動きにより誘発される電気信号を PowerLab 26T (AD INSTRUMENTS、U.S.A.)により検出し、LabChart(LCS100/8、(AD INSTRUMENTS、U.S.A.)を使用して解析した(Fig. 1)。

## 2. マウス首振り反応の検出

マウスの頭蓋表面にネオジウム磁石 (4mm X 4mm X 2mm, 375mg) をデンタルセメントで留置した。1 週間の回復を待って、マウスをマグネットメーター内に入れ、装置内でのマウス首振り反応(HTR)の動きで感知される磁力変化を測定した。

ビデオ解析：ビデオカメラ (Handycam, Sony, 4K FDR-AX60)にて行動変化を録画し、首振り反応の出現を解析した。

幻覚を誘発する薬物として、DOI を使用した。装置上部より、ビデオ撮影を行い、行動変化と磁力変化の相関性を確認しながら、HTR に特異的な信号を選択した。同様に、5-HT<sub>2A</sub>拮抗薬の MDL 100907 (MDL) 前処置の影響を検討し、セロトニン受容体の役割を解析した。

## 3. qPCR (リアルタイム PCR)

試料の調製および RNA 抽出：脳サンプル (PFC: Prefrontal Cortex, 前頭前野) からの全 RNA 抽出は、Aurum Total RNA Mini Kit (BIO-RAD 社, U.S.A.)を用いて、製造元のプロトコルに従い抽出した。抽出した RNA の濃度および純度は、NanoDrop 分光光度計 (Thermo Fisher Scientific 社, U.S.A.) を用い、260/280 nm およ

び 260/230 nm の吸光度比を測定することで評価した。精製後の RNA は、実験に使用するまで -80°C で保存した。

プライマーの設計: c-Fos (mouse) 遺伝子および内部標準遺伝子 (GAPDH) のプライマーは、Primer-BLAST (NCBI) を用いて設計した。リアルタイム PCR (qPCR) : qPCR 反応は、iTaq Universal SYBR Green One-Step Kit (BIO-RAD 社, USA)と CFX Opus 96 リアルタイム PCR システム(BIO-RAD 社, USA)を用いて実施した。反応液の総容量は 20  $\mu$ L とし、2 $\times$  SYBR Green reaction mix 10  $\mu$ L、iScript 逆転写酵素 0.25 $\mu$ L フォワードおよびリバースプライマー各 0.8  $\mu$ L (終濃度 0.4  $\mu$ M)、希釈したサンプル 2  $\mu$ L、および滅菌蒸留水 6.15  $\mu$ L を混合した。熱サイクル条件は、初期熱変性 (95°C、30 秒) の後、変性 (95°C、5 秒) およびアニーリング・伸長 (60°C、30 秒) を 40 サイクル繰り返した。

## 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。行動薬理学的データおよび電気信号の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。qPCR の解析では、 $\Delta\Delta$ Ct 法(Comparative Ct Method) により、内部標準遺伝子として GAPDH を用い、標的遺伝子の相対的な発現量を算出した。データは、Prism 7 for Mac OS X を用いて、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. マグネットメーターの検出精度

マウスの頭蓋表面にネオジウム磁石を留置したマウスに DOI を投与し、装置内へ入れると、一定の振幅の中に鋭いスパイク信号が確認された(Fig. 2A)。鋭いスパイク信号が確認された部分では、マウスは頭部を高速で振る行動が発現していた。そこで、ビデオによる行動変化と電気信号として得られる波形から、HTR に関連する電気信号のみを抽出する条件設定として、適切なフィルター処置条件を検討した(Fig. 2B)。その結果、行動変化から得られる電気信号の波形について、40-200Hz のフィルター処理を行うことで、HTR の特異的なシグナルとして分離できることが明らかになった(Fig. 2C)。また、HTR 発現回数において、マグネットメーターでの検出 HTR 回数（電気信号）とビデオ解析の回数（目視）に正の相関性 ( $r^2=0.9936$ ) が認められた(Fig. 2D)。

### 2. マウス首振り反応の検出

マグネットメーターの使用（40-200Hz のフィルター処理）で、DOI 投与により、用量依存的な HTR の発現が確認された(Fig. 3A)。DOI (1 mg/kg) の効果は、選択的セロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗薬である MDL100907 の前処置により用量依存的に抑制された(Fig. 3B)。

### 3. 脳内 c-Fos 発現

DOI (1 mg/kg) 投与により、前頭前野 (PFC: Prefrontal Cortex) において、有意な c-Fos 発現量の増加 (3.8±0.3 倍) が確認された。

## D. 考察

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首振り反応 Head Twitch Response (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として、ポリウレタン銅線のコイルを作製し、直径 15cm の円筒ビーカーに装着した。マウスの頭蓋表面にネオジウム磁石を留置したマウスに DOI を投与し、装置内へ入れると、一定の振幅の中に鋭いスパイク信号が確認された。鋭いスパイク信号が確認される部分では、マウスは頭部を高速で振る行動が発現していた。ビデオによる行動変化と電気信号として得られる波形を比較検討することにより、40-200Hz のフィルター処理を行うことで、HTR の特異的なシグナルとして分離できることが明らかになった。幻覚を誘発する薬物として、セロトニン 5-HT<sub>2</sub> 作用薬である DOI 投与後、ビデオによる行動変化と電気信号として得られる波形から、HTR の特異的なシグナルを分離することが可能であった。また、ビデオによる解析データを利用して、目視による HTR 測定回数との相関性を確認した。その結果、目視による測定回数とマグネットメーターの測定回数に高い正の相関性 ( $r^2=0.9936$ ) が認められた。また、この設定条件では、DOI 投与により用量依存的な HTR の発現が確認された。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。

一方、DOIによるHTRは、5-HT<sub>2A</sub>受容体拮抗薬により、完全に抑制された。ヒトにおける幻覚作用とHTRの関連性から、HTRは、5-HT<sub>2A</sub>受容体作用薬による幻覚作用を反映する行動指標の一つとして注目されている<sup>5,6,7,8)</sup>。本結果およびセロトニン5HT<sub>2A</sub>受容体作用薬TCB-2<sup>10)</sup>においてHTR発現が確認されていることから、HTR発現にセロトニン5-HT<sub>2A</sub>受容体が関与することが明らかになった。

DOI投与によりHTRが発現した条件下で、脳内神経活動の「機能的マーカー」とされる即時型早期遺伝子 (Immediate Early Gene: IEG) : c-Fosの発現を解析した。その結果、前頭前野において有意な増加が確認された。前頭前野は、セロトニン作用薬が示す幻覚作用と関連性が指摘されており、さらに、5-HT<sub>2A</sub>受容体が高密度で分布していることが報告されている<sup>11)</sup>。今後は、5-HT<sub>2A</sub>受容体を介する幻覚発現における前頭前野の役割を検討していく予定である。

一方、セロトニン系化合物以外の催幻覚薬ではHTRの発現が認められないため、HTRの幻覚作用のモデルとしての価値は限定的と考察されている<sup>9)</sup>。セロトニン系化合物については、マウスを用いたHTRアッセイを、ヒトにおける幻覚作用を予測するための前臨床モデルとして用いることが可能であると考えられる。

本装置を利用して、危険ドラッグが示すマウスの首振り反応を指標に、幻覚作用の発現強度を推測できることが期待される。本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。

## E. 結論

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量的に解析することが可能になった。本装置を利用して、危険ドラッグが示すマウスの首振り反応を指標に、幻覚作用の発現強度を推測できることが期待される。本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。

## F. 参考文献

- 1) United Nations Office on Drugs and Crime, Early Warning Advisory on NPS, 2022. <https://www.unodc.org/LSS/SubstanceGroup/Details/275dd468-75a3-4609-9e96-cc5a2f0da467>
- 2) Nichols DE. Hallucinogens. *Pharmacol Ther.* 2004; 101:131–181. [PubMed: 14761703]
- 3) Halberstadt AL, Geyer MA. Multiple receptors contribute to the behavioral effects of indoleamine hallucinogens. *Neuropharmacology.* 2011; 61:364–381. [PubMed: 21256140]
- 4) Canal CE, Morgan D. Head-twitch response in rodents induced by the hallucinogen 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine: a comprehensive history, a re-evaluation of mechanisms, and its utility as a model. *Drug Test Anal.* 2012 Jul-Aug;4(7-8):556-76. doi: 10.1002/dta.1333. Epub 2012 Apr 19. PMID: 22517680; PMCID: PMC3722587.
- 5) González-Maeso J, Weisstaub NV, Zhou M, Chan P, Ivic L, Ang R, Lira A, Bradley-Moore M, Ge Y, Zhou Q, Sealton SC, Gingrich JA.

- Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT(2A) receptor-mediated signaling pathways to affect behavior. *Neuron*. 2007 Feb 1;53(3):439-52. doi: 10.1016/j.neuron.2007.01.008. PMID: 17270739.
- 6) Halberstadt AL, Geyer MA. Characterization of the head-twitch response induced by hallucinogens in mice: detection of the behavior based on the dynamics of head movement. *Psychopharmacology (Berl)*. 2013 Jun;227(4):727-39. doi: 10.1007/s00213-013-3006-z. Epub 2013 Feb 14. PMID: 23407781; PMCID: PMC3866102.
- 7) Halberstadt AL, Geyer MA. Effects of the hallucinogen 2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2C-I) and superpotent N-benzyl derivatives on the head twitch response. *Neuropharmacology*. 2014 Feb;77:200-7. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.08.025. Epub 2013 Sep 4. PMID: 24012658; PMCID: PMC3866097.
- 8) Halberstadt AL, Chatha M, Klein AK, Wallach J, Brandt SD. Correlation between the potency of hallucinogens in the mouse head-twitch response assay and their behavioral and subjective effects in other species. *Neuropharmacology*. 2020 May 1;167:107933. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.107933. Epub 2020 Jan 7. PMID: 31917152; PMCID: PMC9191653.
- 9) Canal CE, Morgan D. Head-twitch response in rodents induced by the hallucinogen 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine: a comprehensive history, a re-evaluation of mechanisms, and its utility as a model. *Drug Test Anal*. 2012 Jul-Aug;4(7-8):556-76. doi: 10.1002/dta.1333. Epub 2012 Apr 19. PMID: 22517680; PMCID: PMC3722587.
- 10) McLean TH, Parrish JC, Braden MR, Marona-Lewicka D, Gallardo-Godoy A, Nichols DE. 1-Aminomethylbenzocycloalkanes: conformationally restricted hallucinogenic phenethylamine analogues as functionally selective 5-HT2A receptor agonists. *J Med Chem*. 2006 Sep 21;49(19):5794-803. doi: 10.1021/jm060656o. PMID: 16970404.
- 11) González-Maeso J, Weisstaub NV, Zhou M, Chan P, Ivic L, Ang R, Lira A, Bradley-Moore M, Ge Y, Zhou Q, Sealton SC, Gingrich JA. Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT(2A) receptor-mediated signaling pathways to affect behavior. *Neuron*. 2007 Feb 1;53(3):439-52. doi: 10.1016/j.neuron.2007.01.008. PMID: 17270739.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 荒井 裕美子; 湯山 円晴; 市丸 嘉; 船田 正彦; 佐藤 忠章; 栗原 正明 : 定量的構造活性相関 (QSAR) による THC 類縁体及び HHC 類縁体のカンナビノイド受容体 1 (CB1) 親和性インシリコ予測. *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス* 56 (5), 408-416, 2025

### 2. 学会発表

- 1) Arita, S. Kikukawa, T. Tomizawa, M. Funada, K. Tomiyama, H. Tabata, K. Nakamura, T. Oshitari, H. Natsugari, H. Takahashi, Fentanyl-Type Antagonist of the  $\mu$ -Opioid Receptor: Important Role of Axial Chirality in the Active

Conformation, International Narcotics Research Conference 2025, A41, Italy, July 2025

- 2) 有田浩暢, 菊川俊太郎, 富澤幸, 坂田遥佳, 西本瑞葉, 船田正彦, 富山健一, 橋本勝, 田坂友彦, 田畑英嗣, 中村佳代, 忍足鉄太, 夏苺英昭, 高橋秀依, フェンタニル骨格を有する $\mu$ オピオイド受容体アンタゴニストの構造解析, 第 23 回次世代を担う有機化学シンポジウム, 2025 年 5 月
- 3) 有田浩暢, 菊川俊太郎, 富澤幸, 坂田遥佳, 西本瑞葉, 船田正彦, 富山健一, 橋本勝, 田坂友彦, 田畑英嗣, 中村佳代, 忍足鉄太, 夏苺英昭, 高橋秀依, フェンタニル骨格を有する $\mu$ オピオイド受容体アンタゴニストの構造解析, 日本薬学会第 145 年会, 2025

年 3 月

- 4) 船田正彦, 改正大麻取締法の現状: 大麻の医療応用と濫用問題の狭間で. 第 18 回日本緩和医療薬学会年会. 2025 年 6 月 21 日. 千葉
- 5) 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. 第 60 回日本アルコール・アディクション医学会学術総会. 2025 年 10 月. -東京

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録、その他  
特になし

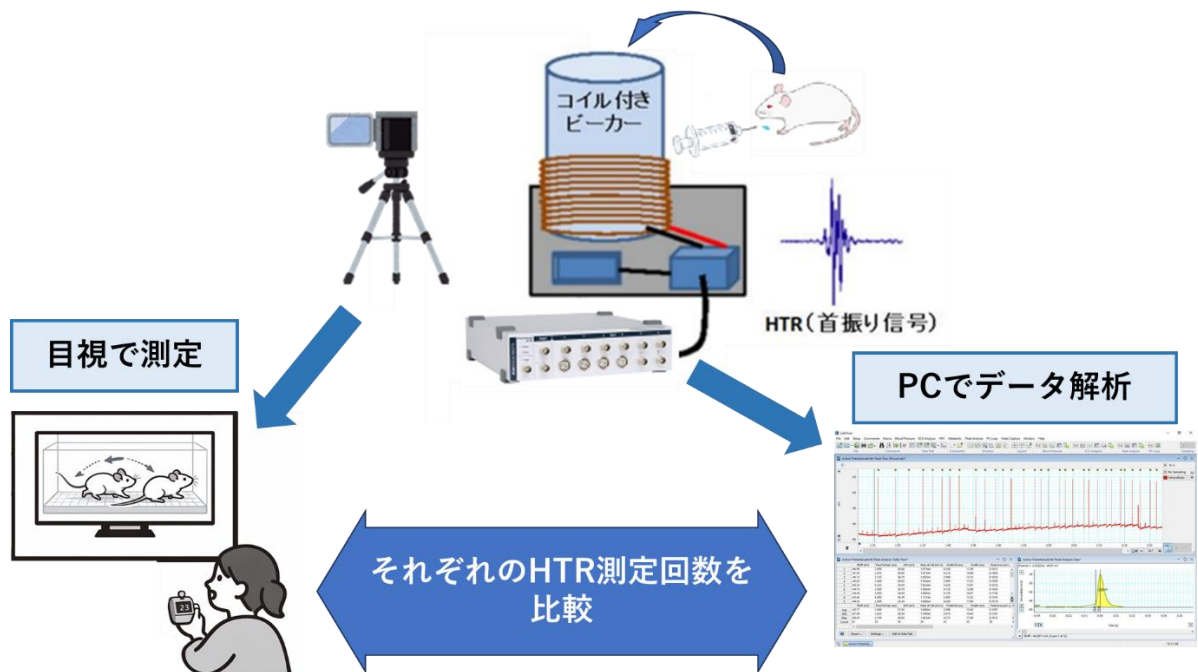
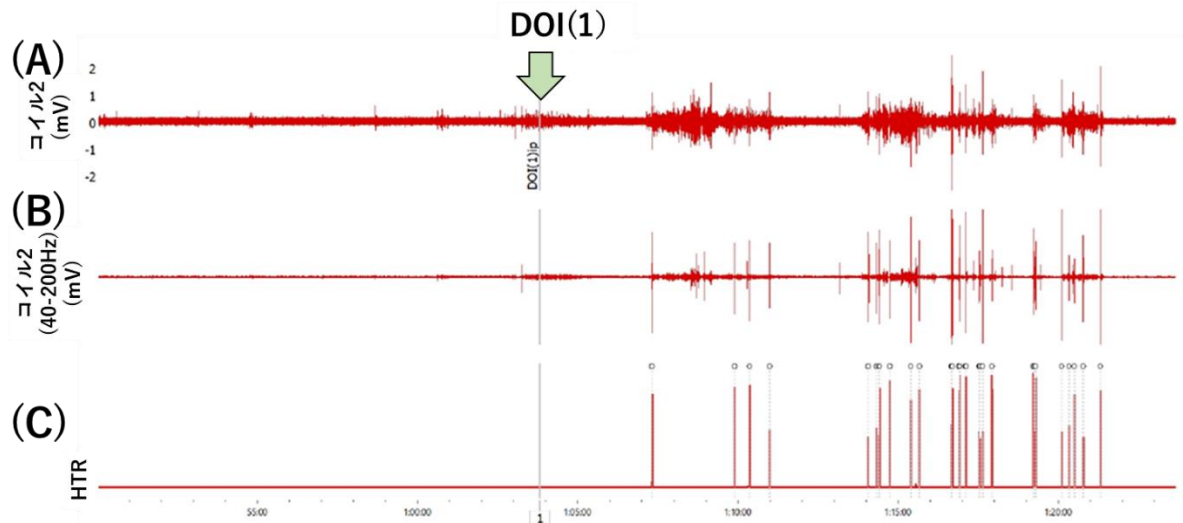


Fig. 1. マグネットメーター

銅線コイルを巻いた円筒状の磁力測定装置を作製した。ポリウレタン銅線（絶縁部含めて 0.26mm 径銅線）を使用して、直径 16cm のコイルを作製し、直径 15cm の円筒ビーカーに装着した。麻酔下、頭蓋部へネオジウム磁石(4mm X 4mm X 2mm, 375mg) をデンタルセメントにて固定し 1 週間の回復を待って、行動変化を測定した。



○ HTR

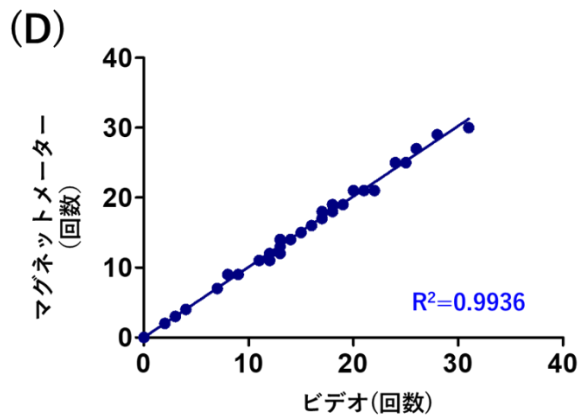


Fig. 2. マウス首振り反応の解析

(A) マウスの行動変化により、磁力変化が検出された

(B) ビデオ解析とフィルター処理により、特異的な定量的測定が可能になった。

◎40-200Hz のフィルター処理＝特異的なシグナルとして、波形の特徴を確認

(C) ○印：首振り反応(HTR)

(D) マグネットメーターと目視による HTR 発現回数の解析。

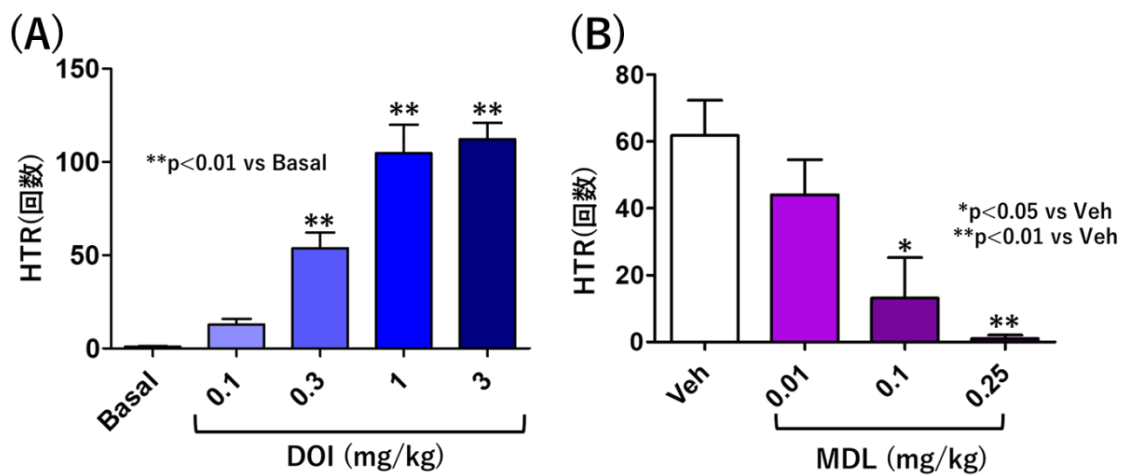


Fig. 3. セロトニン作用薬による首振り反応  
 DOI (1 mg/kg)による首振り反応(HTR) に対するセロトニン 5HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗薬  
 MDL100907 の影響.