

側鎖の構造が重要であり、細胞毒性の発現とカンナビノイド受容体への受容体親和力との相関性があると考えられる。

薬物が示す脳神経細胞への毒性発現の解析において、初代培養神経細胞を利用することは有用である。そこで、マウス大脳皮質初代培養神経細胞を利用して、合成カンナビノイド添加による細胞毒性の発現を検討した。CP-55,940、CP-47,497 および CP-47,497-C8 の添加により、細胞毒性が誘導された。したがって、マウス大脳皮質初代培養神経細胞を利用した細胞毒性評価は、NG108-15 細胞などの細胞株を利用した評価系と同様、合成カンナビノイド添加による細胞毒性評価に利用可能であることが明らかになった。

本研究では、合成カンナビノイドの身体依存形成能を評価する実験システムの構築を試みた。合成カンナビノイドによるカタレプシーや体温下降等の薬理効果発現の用量を参考に、薬物の慢性処置条件を決定することで、身体依存動物の作製が効率良くできることが明らかになった。また、合成カンナビノイド身体依存動物にカンナビノイド CB1 受容体拮抗薬を処置し、誘発される退薬症候を観察することにより、身体依存の強度が評価できることが判明した。跳躍や立ち上がり行動等に加えて、高架式十字迷路試験により不安状態も評価可能であることが明らかになった。

合成カンナビノイドによる薬理効果発現の用量を参考に、薬物の慢性処置を行ない、カンナビノイド CB1 受容体拮抗薬によって誘発される退薬症候の強度を指標に、効率良く合成カンナビノイドの身体依存形成能を評価できることが判明した。

本研究では、合成カンナビノイドの慢性使用により、身体依存が形成され、断薬により退薬症候が発現することが明らかになった。特に、退薬症候発現には、脳内ノルアドレナリン神経系およびセロトニン神経系の過剰興奮が関与している可能性が示唆された。したがって、合成カンナビノイド慢性処置動物において、退薬時の脳内(大脳皮質)におけるノ

ルアドレナリンおよびセロトニン含量の増加は、身体依存形成能を有する危険性を示す生化学的マーカーとして有用であることが示唆された。

本研究では、カンナビノイド受容体の発現が確認されている NG108-15 細胞を使用して、合成カンナビノイド誘導体添加による細胞毒性の発現について検討した。その結果、CP-55,940、CP-47,497 および CP-47,497-C8 の添加 2 時間後に、細胞毒性の発現が確認された。合成カンナビノイド誘導体は、細胞毒性を示すことが確認された。合成カンナビノイド誘導体の細胞毒性の評価において、カンナビノイド受容体が発現している NG108-15 細胞による検討は、迅速かつ高感度に評価結果が得られ、有用な方法であると考えられる。同様に、マウス大脳皮質初代培養神経細胞を利用した細胞毒性評価は、NG108-15 細胞などの細胞株を利用した評価系と同様、合成カンナビノイド添加による細胞毒性評価に利用可能であることが明らかになった。

違法ドラッグとして流通している合成カンナビノイドは身体依存形成能を有すると考えられる。また、合成カンナビノイドは、稀少構造の差異が存在しても、類似の細胞毒性を示すことが明らかになった。こうした構造を有する薬物は、身体依存形成能および脳神経細胞への毒性を示す可能性があり、その乱用の拡大には特に注意を要すると考えられる。

## E. 結論

本研究では、合成カンナビノイドの身体依存形成能を評価する実験システムの構築を試みた。合成カンナビノイドによる薬理作用発現の用量を参考に、薬物の慢性処置条件を決定することで、身体依存動物の作製が効率良くできることが明らかになった。また、合成カンナビノイド身体依存動物にカンナビノイド CB1 受容体拮抗薬を処置し、誘発される退薬症候の強度を指標に、効率良く合成カンナビノイドの身体依存形成能を評価できること

が判明した。

さらに、合成カンナビノイドの退薬症候発現には、脳内ノルアドレナリン神経系およびセロトニン神経系の過剰興奮が関与しており、合成カンナビノイド退薬時の脳内(大脳皮質)におけるノルアドレナリンおよびセロトニン含量の増加は、身体依存形成能を有する危険性を示す生化学的マーカーとして有用であることが示唆された。脳組織内のモノアミンおよび関連代謝産物量の測定は簡便かつ高感度であり、違法ドラッグ(脱法ドラッグ)の特性を判断する生化学的マーカーとして有用である。合成カンナビノイドの身体依存形成能を推測する生化学的マーカーとして、脳内のノルアドレナリンおよびセロトニンの変動が利用できると考えられる。

合成カンナビノイドの細胞毒性の評価において、カンナビノイド受容体が発現している細胞株である NG108-15 細胞および初代神経培養細胞による検討は、迅速かつ高感度に評価結果が得られ、有用な方法であると考えられる。特に、大脳皮質初代神経培養細胞による評価は、より生体に近い環境で脳神経への細胞毒性作用を解析できるため、合成カンナビノイドの毒性評価とその発現メカニズムの解明のために非常に有用性の高い方法である。

こうした一連の評価システムにより、国内で流通が確認されている違法ドラッグの薬物依存性および神経毒性の検討を行い、危険化合物の迅速な発見に活用できると考えられる。また、将来的に乱用拡大につながる化学物質を特定し規制薬物指定への早期の対策に有用であると考えられる。

本研究から、合成カンナビノイドである CP-55,940 は身体依存形成能を有することが明らかになった。同様に、CP-55,940、CP-47,497 および CP-47,497-C8、は強力な細胞毒性を示しことから、その乱用により重大な健康被害の発生が懸念される。

## F. 参考文献

- 1) Drug Enforcement Administration, Department of Justice. Schedules of controlled substances: temporary placement of alpha-methyltryptamine and 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine into Schedule I. Final rule. Fed Regist. 68: 16427-1630, 2003.
- 2) De Boer D., Bosman I.: A new trend in drugs-of-abuse; the 2C-series of phenethylamine designer drugs. Pharmacy World and Science. 26: 110-113, 2004.
- 3) Rösner P, Quednow B, Girreser U, Junge T.: Isomeric fluoro-methoxy-phenylalkylamines: a new series of controlled-substance analogues (designer drugs). Forensic Sci Int. 148: 143-156, 2005.
- 4) Lindigkeit R., Boehme A., Eiserloh I., Luebbecke M., Wiggermann M., Ernst L. and Beuerle T.: Spice: a never ending story? Forensic Sci Int. 191: 58-63, 2009.
- 5) 船田正彦: 合成カンナビノイド誘導体の薬物依存性並びに神経毒性の評価. 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症機序と乱用実態把握に関する研究」(H21-医薬-一般-031) 研究報告書(主任研究者: 船田正彦).
- 6) Rodgers RJ, Dalvi A.: Anxiety, defence and the elevated plus-maze. Neurosci Biobehav Rev. 21(6): 801-810, 1997.
- 7) Walf AA, Frye CA.: The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. Nat Protoc. 2(2): 322-328, 2007.
- 8) Franklin K.B.J., Paxinos G.: The mouse brain in stereotaxic coordinates, Academic Press, San Diego 1997.
- 9) Howlett A.C., Barth F., Bonner T.I., Cabral G., Casellas P., Devane W.A., Felder C.C., Herkenham M., Mackie K., Martin B.R.,

- Mechoulam R., Pertwee R.G.: International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev.* 54:161-202, 2002.
- 10) Aceto MD, Scates SM, Martin BB.: Spontaneous and precipitated withdrawal with a synthetic cannabinoid, WIN 55212-2. *Eur J Pharmacol.* 416(1-2): 75-81, 2001.
- 11) Zimmermann U.S., Winkelmann P.R., Pilhatsch M., Nees J.A., Spanagel R. and Schulz K.: Withdrawal phenomena and dependence syndrome after the consumption of "spice gold". *Dtsch Arztebl Int.* 106: 464-467, 2009.
- 12) Funada M, Hara C, Wada K.: Involvement of corticotropin-releasing factor receptor subtype 1 in morphine withdrawal regulation of the brain noradrenergic system. *Eur J Pharmacol.* 430(2-3): 277-281, 2001.
- 13) El-Kadi AO, Sharif SI.: The role of 5-HT in the expression of morphine withdrawal in mice. *Life Sci.* 57(5): 511-516, 1995.
- 14) Ho BY, Zhao J.: Determination of the cannabinoid receptors in mouse x rat hybridoma NG108-15 cells and rat GH4C1 cells. *Neurosci Lett.* 212: 123-126, 1996.
- 15) Melvin L.S., Milne G.M., Johnson M.R., Subramaniam B., Wilken G.H. and Howlett A.C.: Structure-activity relationships for cannabinoid receptor-binding and analgesic activity: studies of bicyclic cannabinoid analogs. *Mol Pharmacol* 44: 1008-1015, 1993.
- 16) Manera C., Tuccinardi T. and Martinelli A.: Indoles and related compounds as cannabinoid ligands. *Mini Rev Med Chem.* 8: 370-387, 2008.

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 船田正彦. 合成カンナビノイド誘導体の薬理学的特性とその乱用について. *日本アルコール・薬物医学会雑誌* 45(3): 167-174, 2010.
- 2) 船田正彦. 薬物依存評価のための動物モデル. *日本臨牀* 68: 1459-1664, 2010.
- 3) 船田正彦. 大麻の薬理作用と薬物依存性. *医薬ジャーナル* 46: 85-89, 2010.

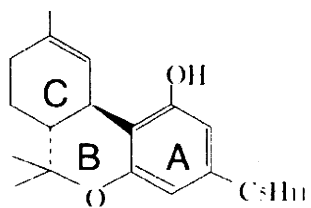
##### 2. 学会発表

- 1) 船田正彦, 富山健一, 青尾直也, 秋武義治, 三島健一, 藤原道弘, 和田清. 合成カンナビノイド誘導体の薬物依存性と細胞毒性の評価. 第40回日本神経精神薬理学会, 仙台, 2010. 9.15.
- 2) 船田正彦. 大麻乱用の有害作用: 精神依存形成と細胞毒性の発現について. 第45回日本アルコール薬物医学会, 小倉, 2010. 10.8.
- 3) 富山健一, 和田清, 船田正彦. カンナビノイド受容体作用薬の弁別刺激特性と細胞毒性. 第45回日本アルコール薬物医学会, 小倉, 2010. 10.9.

#### 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。

A) Classical cannabinoid誘導體



(-)- $\Delta^9$ THC

B) Nonclassical cannabinoid誘導體

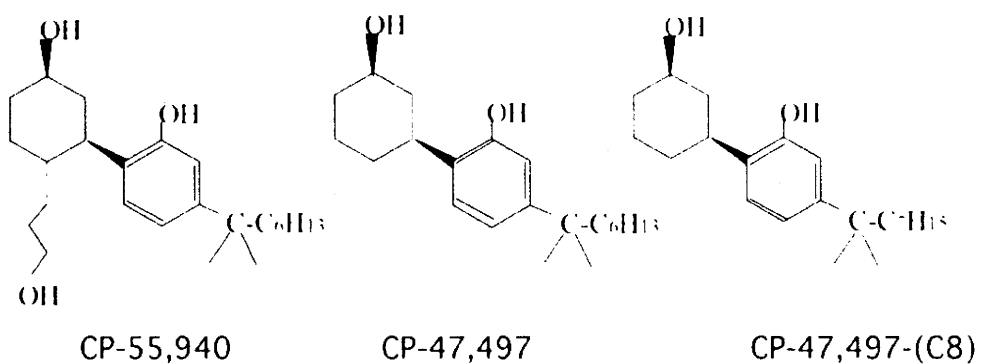


Fig. 1. Chemical structures of CP-55,940, CP-47,497 and CP-47,497-(C8).

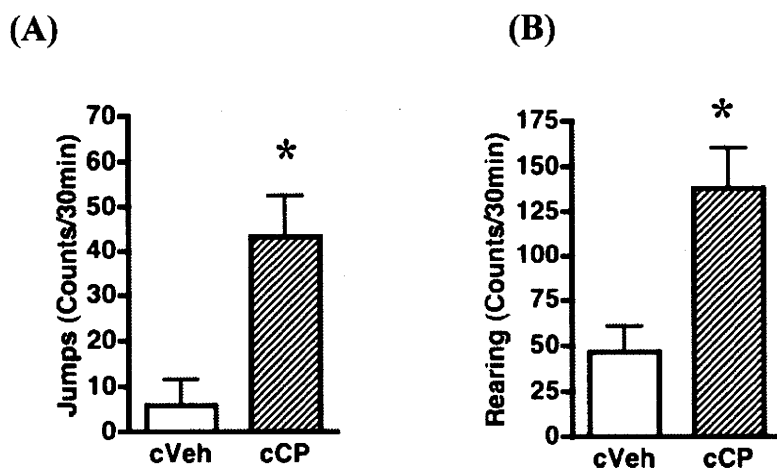


Fig. 2. Effect of cannabinoid receptor antagonist AM251 on behavioral changes in CP-55,940-treated mice. Mice were chronically treated with CP-55,940 (1 mg/kg, s.c.) or vehicle for 5 days. AM251 (1 mg/kg, i.p.) precipitated jumps (A) and rearing (B) in CP-55,940-treated mice (cCP) or vehicle-treated mice (cVeh). Each column represents the mean total behavior counts with S.E.M. of 10 animals for 30 min after AM251 (1 mg/kg, i.p.) treatment.  
\*P<0.05 vs. vehicle-treated group (cVeh).

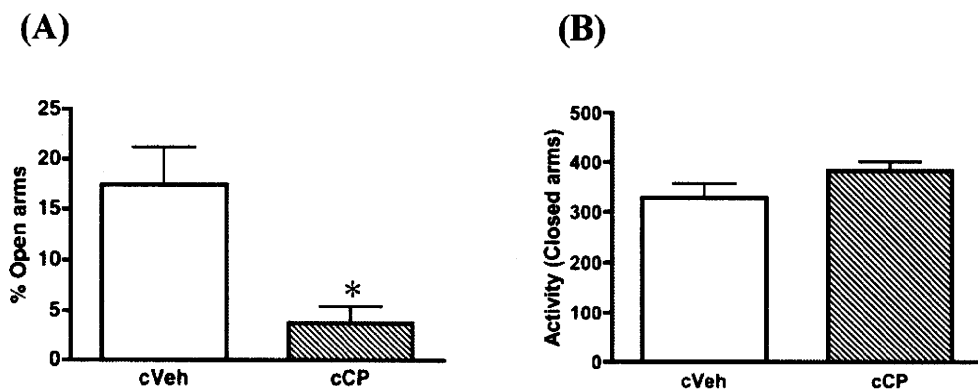


Fig. 3. Effects of chronic treatment with the synthetic cannabinoid receptor agonist on behavioral performance in elevated plus-maze. Mice were chronically treated with CP-55,940 (1 mg/kg, s.c.) or vehicle for 5 days. After 24hr, behavioral changes in CP-55,940-treated mice (cCP) or vehicle-treated mice (cVeh) were evaluated for 5 min using in elevated plus-maze. (A) percent time spent on open arms (B) activity counts in closed arms. Each column represents the mean with S.E.M. of 10-12 animals.

\* $P < 0.05$  vs. vehicle-treated group (cVeh).

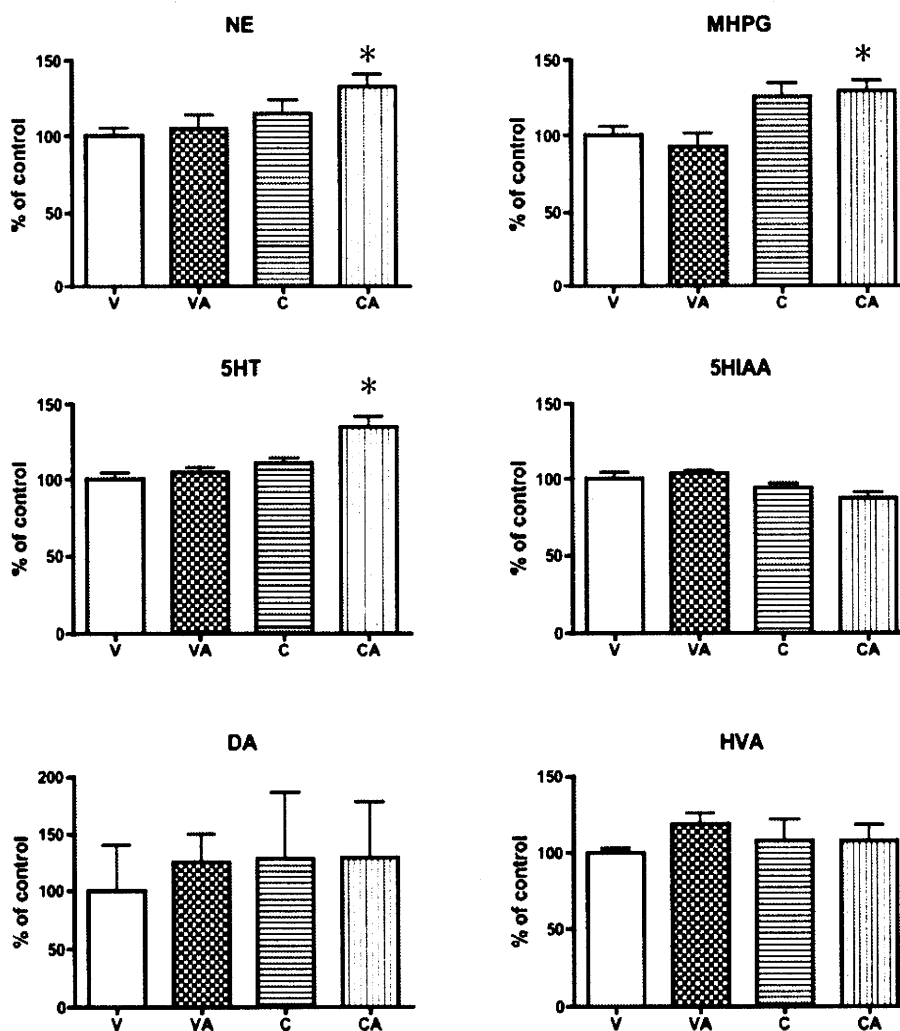


Fig. 4. Effect of cannabinoid receptor antagonist AM251 on monoamine levels in the cerebral cortex in CP-55,940-treated mice. Mice were chronically treated with CP-55,940 (C, 1 mg/kg, s.c.) or vehicle (V) for 5 days. AM251 (1 mg/kg) precipitated changes of monoamine levels in CP-55,940-treated mice (CA) or vehicle-treated mice (VA) were evaluated. The mice were sacrificed 30 min after i.p. injection of AM251. The concentrations of monoamines were analyzed using a HPLC system. Each column represents the mean with S.E.M. of 6 animals.

\* $P < 0.05$  vs. vehicle-treated vehicle group (V).

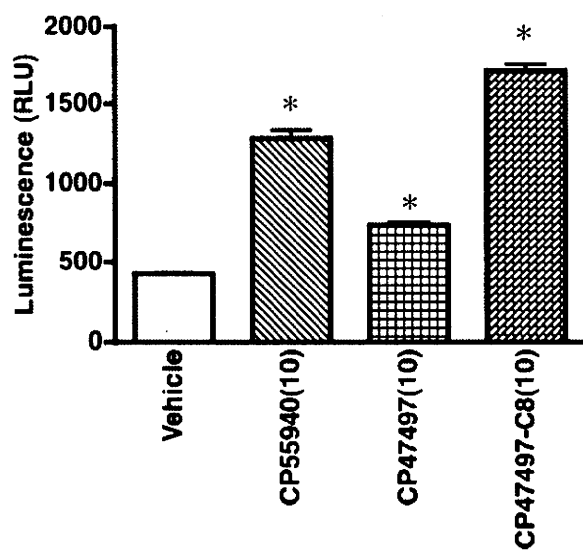
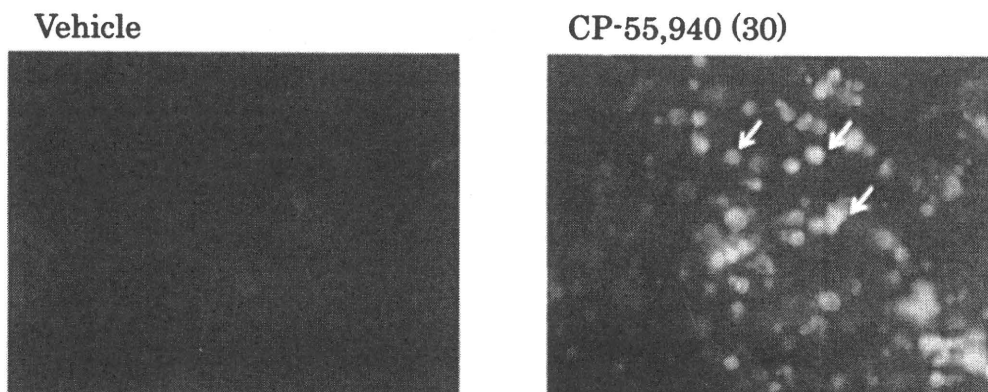


Fig. 5. Effect of synthetic cannabinoid receptor agonist CP-55,940, CP-47,497 or P-47,497-C8 on NG108-15 cells. NG108-15 cells were plated at 96-well plate and evaluated for toxicity following 2 h exposure to CP-55,940 (10  $\mu$ M). Data are expressed as percent of the 0.1% DMSO control, and are presented as means $\pm$ SEM from six total wells analyzed across two independent experiments.

\*P<0.05 vs. Vehicle-treated group.



(A)



(B)

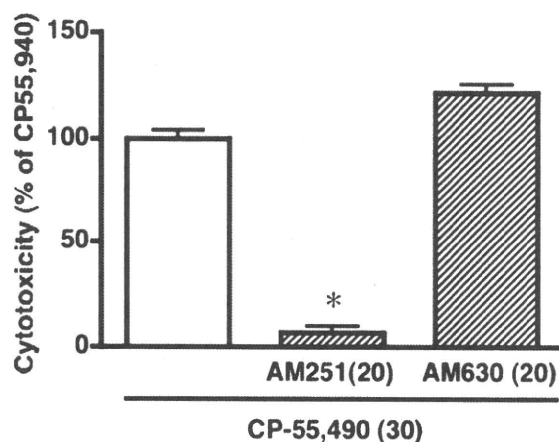


Fig. 6. Effect of synthetic cannabinoid receptor agonist CP-55,940 on NG108-15 cells. NG108-15 cells were plated at 96-well plate and evaluated for toxicity following 2 h exposure to CP-55,940 (30  $\mu$ M). (A) Photographs of NG108-15 cells treated synthetic cannabinoid receptor agonist CP-55,940 (30  $\mu$ M). (B) Pretreatment with selective CB1 receptor antagonist AM251 (20  $\mu$ M) or selective CB2 receptor antagonist AM630 (20  $\mu$ M) was given 5 min prior to CP-55,940. Data are expressed as percent of the 0.1% DMSO control, and are presented as means $\pm$ SEM from six total wells analyzed across two independent experiments.

\* $P < 0.05$  vs. CP-55,940-treated group.

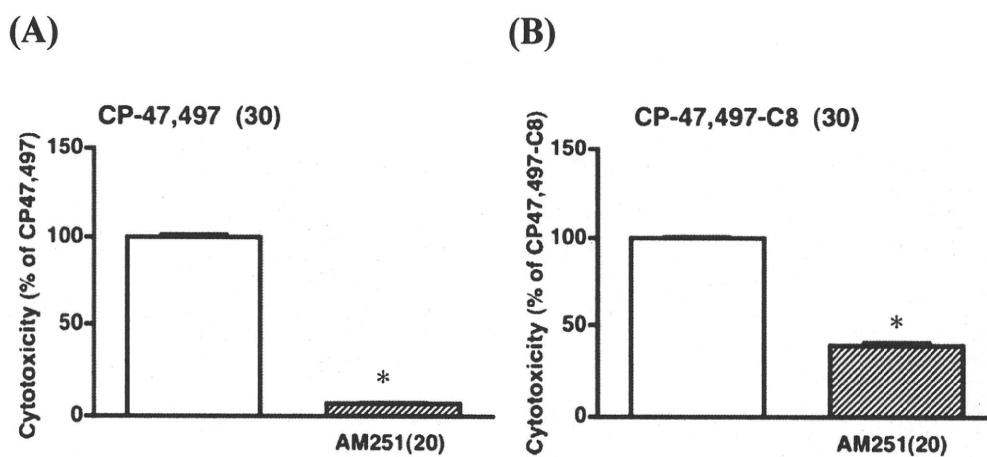


Fig. 7. Effect of “spice-related” synthetic cannabinoid receptor agonist CP-47,497 or P-47,497-C8 on NG108-15 cells. NG108-15 cells were plated at 96-well plate and evaluated for toxicity following 2 h exposure to CP-47,497 (30  $\mu$ M) or P-47,497-C8 (30  $\mu$ M). Pretreatment with selective CB1 receptor antagonist AM251 (20  $\mu$ M) was given 5 min prior to synthetic cannabinoid receptor agonists. Data are expressed as percent of the 0.1% DMSO control, and are presented as means $\pm$ SEM from six total wells analyzed across two independent experiments.

\*P<0.05 vs. synthetic cannabinoid receptor agonist -treated group.

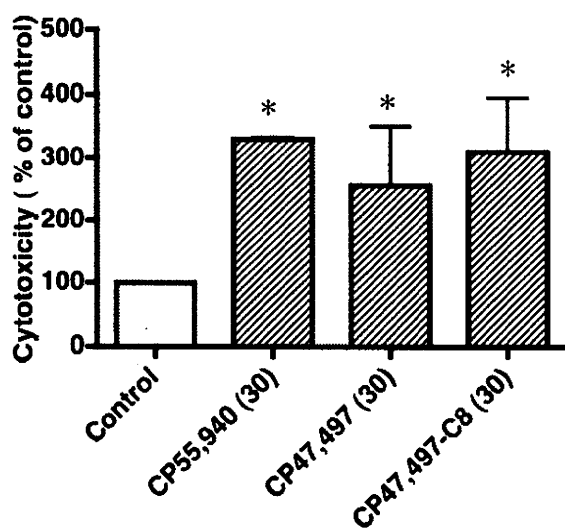


Fig. 8. Effect of synthetic cannabinoid receptor agonist CP-55,940, CP-47,497 or P-47,497-C8 on primary culture of mouse cerebral cortical neurons. The neurons of 10-day old in culture were used for the experiments. Cytotoxicity was evaluated following 2 h exposure to CP-55,940 (30  $\mu$ M), CP-55,940, CP-47,497 (30  $\mu$ M) or P-47,497-C8 (30  $\mu$ M). Data are expressed as percent of the 0.1% DMSO control, and are presented as means $\pm$ SEM from three total wells analyzed across two independent experiments.

\*P<0.05 vs. Control group.

分担研究報告書

合成カンナビノイドの薬物弁別刺激特性：カンナビノイド受容体の役割

分担研究者：富山健一（国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部）  
研究協力者：船田正彦（国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部）  
：青尾直也（国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部）

【研究要旨】

大麻の精神活性成分である  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) と薬理作用が類似した合成カンナビノイド誘導体が、違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)として流通しており、その乱用が問題となっている。本研究では、薬物弁別実験を用いて、合成カンナビノイド誘導体である (-)-cis-3-[2-hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl)-phenyl]-trans-4-(3-hydroxypropyl) cyclohexanol (CP-55,940)、および (6aR,10aR)-3-(1,1-Dimethylbutyl)-6a,7,10,10a-tetrahydro-6,6,9-trimethyl-6H-dibenzo[b,d]pyran (JWH-133) について、それぞれの薬物弁別刺激効果を解析し、 $\Delta^9$ -THC の効果と比較検討した。また、合成カンナビノイド誘導体の薬理作用は、カンナビノイド受容体を介して起るものと考えられることから、カンナビノイド受容体拮抗薬を併用した薬物弁別刺激効果発現の有無についても検討した。1) CP-55,940 を用いた薬物弁別実験の確立：CP-55,940 (0.1 mg/kg) および溶媒である生理食塩液により、FR10 スケジュールによる弁別訓練を実施した。CP-55,940 により、用量依存的に弁別刺激効果が認められたことから、CP-55,940 を標準薬とした薬物弁別の訓練条件が明らかになった。2)  $\Delta^9$ -THC の般化試験：CP-55,940 弁別獲得動物を用いて、 $\Delta^9$ -THC (0.1-3 mg/kg) の般化試験を行った。 $\Delta^9$ -THC は CP-55,940 と般化が認められ、類似の弁別刺激効果を有することが明らかになった。3) 合成カンナビノイド誘導体の般化試験：CP-55,940 弁別獲得動物を用いて、CB<sub>1</sub> 受容体拮抗薬 AM251 (1 mg/kg) および CB<sub>2</sub> 受容体拮抗薬 AM630 (1 mg/kg) を前処置した動物に、CP-55,940 (0.1 mg/kg) を投与し般化試験を行った。また、CB<sub>2</sub> 受容体選択的合成カンナビノイド誘導体 JWH-133 (3 mg/kg) を用いて般化試験を行った。その結果、CB<sub>1</sub> 受容体拮抗薬 AM251 において CP-55,940 の弁別刺激効果が有意に抑制された。一方で CB<sub>2</sub> 受容体拮抗薬 AM630 において CP-55,940 の弁別刺激効果の抑制は認められなかった。また、JWH-133 においても CP-55,940 との般化は認められなかった。このことから、合成カンナビノイド誘導体 CP-55,940 は CB<sub>1</sub> 受容体を介してその効果が発現すると示唆された。合成カンナビノイド誘導体は、 $\Delta^9$ -THC と類似の自覚効果（薬理効果）を示すことから、乱用危険性を有することが確認された。

本研究では、合成カンナビノイド誘導体である CP-55,940 を標準薬とした、薬物弁別確立の訓練条件が明らかになった。さらに、違法ドラッグである合成カンナビノイド誘導体は、 $\Delta^9$ -THC と類似の自覚効果（薬理効果）を有しており、その効果発現には CB<sub>1</sub> 受容体が関与していることが示唆された。CP-55,940 を標準薬（訓練薬）とした薬物弁別試験は、合成カンナビノイド誘導体の依存性評価に有効である。

## A. 研究目的

近年、乱用を目的として売買されている法的規制を受けない違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）の氾濫は重大な社会問題となっている<sup>1)</sup>。国内では覚せい剤であるmethamphetamine (MAP)に類似した違法ドラッグ 4-fluoroamphetamine (4FMP)、4-methoxymethamphetamine (PMMA)および大麻の精神活性成分である $\Delta^9$ -tetrahydro-cannabinol ( $\Delta^9$ -THC)と薬理作用が類似した合成カンナビノイド誘導体 5-(1,1-dimethylheptyl)-2-(3-hydroxy-cyclohexyl)-phenol (CP-47,497)、5-(1,1-dimethyloctyl)-2-(3-hydroxy-cyclohexyl)-phenol (CP-47,497-C8) および 1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole (JWH-018)等の流通が確認されており、その乱用が問題となっている<sup>2)</sup>。

$\Delta^9$ -THCは、カンナビノイド受容体 (CB受容体)と結合し様々な薬理効果を発現する。CB<sub>1</sub>受容体とCB<sub>2</sub>受容体の2つの異なるCB受容体が同定されており<sup>3)</sup>、主に脳組織に存在するCB<sub>1</sub>を介して $\Delta^9$ -THCの精神薬理作用が発現すると考えられている<sup>4)</sup>。合成カンナビノイド誘導体は、CB受容体作用薬として合成されており、その薬理作用の発現は、 $\Delta^9$ -THCと同様にCB<sub>1</sub>受容体またはCB<sub>2</sub>受容体を介するものと考えられる。

依存性薬物の評価は条件付け場所嗜好性試験法<sup>5)</sup>、自己投与試験法<sup>6)</sup>など、様々な行動薬理学的研究により検討されている。薬物弁別試験法は、薬物が有する自覚効果を評価する手法である<sup>7)</sup>。一方、現在までマウスを用いた薬物弁別試験法の報告は少なく、遺伝子改変マウスなどモデル動物が多いことから、マウスを使用した薬物弁別試験法の確立は重要である。この手法を用いて、既に規制されている薬物の自覚効果（薬理効果）と違法ドラッグの自覚効果（薬理効果）の類似性を評価することが可能である。この薬物弁別試験法は簡易かつ迅速に薬物の自覚効果を評価で

きるため、数多い違法ドラッグの特性を解析するために有用な方法であると考えられる<sup>8)</sup>。

合成カンナビノイド誘導体の評価においては、大麻の精神活性成分であり、麻薬に指定されている $\Delta^9$ -THCを訓練薬として検討する方法が妥当であると考えられる。しかしながら、 $\Delta^9$ -THCの物性は不安定であり、入手も容易ではない。取り扱いが簡便である特定の合成カンナビノイド誘導体を標準薬に設定することが必要である。そこで、カンナビノイド受容体作用薬として、その薬理学的特性の解析が進んでいる (-)-cis-3-[2-hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl)-phenyl]-trans-4-(3-hydroxypropyl) cyclohexanol (CP-55,940)を訓練薬として弁別試験を行った。

本研究では、カンナビノイド受容体作用薬であるCP-55,940を訓練薬物として、薬物弁別実験の確立を行い、 $\Delta^9$ -THCと違法ドラッグである合成カンナビノイド誘導体の自覚効果（薬理効果）の類似性について比較検討を行った。CP-55,940の弁別刺激効果を獲得した訓練動物を用いて、CB<sub>1</sub>受容体作用薬WIN55212-2、ACEAまたはCB<sub>2</sub>受容体選択的合成カンナビノイド誘導体JWH-133を用いた般化試験を行った。また、合成カンナビノイド誘導体の薬理効果発現の機序解析のために、CB<sub>1</sub>受容体拮抗薬AM251またはCB<sub>2</sub>受容体拮抗薬AM630を併用した般化試験を行った。さらに規制薬物であるmorphine、3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)、diazepam、5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-Meo-DIPT)との薬物効果類似性を推測するために、CP-55,940の弁別刺激効果獲得マウスを用いて、般化試験を行った。

## B. 研究方法

使用動物：すべての行動薬理実験には、C57BL/6Jマウス (Jcl、20-25g、日本クレア)を使用した。

使用薬物：規制薬物として  $\Delta^9$ -tetrahydro-cannabinol ( $\Delta^9$ -THC、福岡大学薬学部：三島健一先生、藤原道弘先生より譲渡)、塩酸モルヒネ (第一三共)、MDMA (千葉大学：橋本先生より譲渡)、diazepam (和光純薬)、5-Meo-DIPT (国立医薬品食品研究所：花尻瑠理先生、合田幸広先生より譲渡)、合成カンナビノイド誘導体として、CP-55,940 (Cayman Chem.)および JWH-133 (Cayman Chem.)、CB<sub>1</sub>受容体作動薬 WIN55212-2 (Tocris Bioscience)、ACEA (Tocris Bioscience)、CB<sub>1</sub>受容体拮抗薬 AM251 (Tocris Bioscience)、CB<sub>2</sub>受容体拮抗薬 AM630 (Tocris Bioscience)を使用した。

#### 1. CP-55,940 を用いた薬物弁別実験の確立

C57BL/6J マウスは正常発育体重の 80% になるように摂餌制限を行った。実験には、マウス用 five hole poke operant chamber (MED-NP5M-D1、ニューロサイエンス社)を用いて、等間隔に位置する 2 カ所を反応有効 hole とした (Fig. 1)。薬物弁別訓練は、薬物および溶媒ごとに、一方の hole のみ有効 hole として、FR10 スケジュールで実施した。CP-55,940 (0.1 mg/kg, i.p.)および溶媒である生理食塩液は、訓練開始の 15 分前に投与し、訓練時間は 15 分間とした<sup>5,6)</sup>。

般化試験は、2 カ所を反応有効 hole として、薬物もしくは溶媒投与によるそれぞれの hole 正選択率が 80% 以上を示す時に、「般化」したと判断した。

#### 2. CP-55,940 訓練動物における $\Delta^9$ -THC の弁別刺激効果

CP-55,940 (0.1 mg/kg)および溶媒である生理食塩液で薬物弁別訓練を行った動物を用いて、 $\Delta^9$ -THC の般化試験を行った。般化試験では、 $\Delta^9$ -THC (0.3, 1, 2, 3 mg/kg)および生理食塩液を試験の 15 分前に腹腔内投与した。また、試験時間は 15 分間とした。

#### 3. CP-55,940 訓練動物における合成カンナビノイド誘導体の般化試験

CP-55,940 (0.1 mg/kg)および溶媒である生理食塩液で薬物弁別訓練を行った動物を用いて、4FMP の般化試験を行った。般化試験では、CB<sub>1</sub>受容体作用薬 WIN55212-2 (1 mg/kg)、ACEA (3 mg/kg)、CB<sub>2</sub>受容体作用薬合成カンナビノイド誘導体 JWH-133 (3 mg/kg) および生理食塩液を試験開始の 15 分前に腹腔内投与した。CB<sub>1</sub>受容体拮抗薬 AM251 (1 mg/kg)または CB<sub>2</sub>受容体拮抗薬 AM630 (1 mg/kg)を腹腔内投与し、15 分間静置した後に CP-55,940 (0.1 mg/kg)を皮下投与し、その 15 分後に試験を行った。また、それぞれの試験時間は 15 分間とした。

#### 4. CP-55,940 訓練動物における規制薬物の般化試験

CP-55,940 (0.1 mg/kg)および溶媒である生理食塩液で薬物弁別訓練を行った動物を用いて、4FMP の般化試験を行った。般化試験では morphine (3 mg/kg)、MDMA (3 mg/kg)、diazepam (6 mg/kg)、5-Meo-DIPT (3 mg/kg)を試験の 15 分前に腹腔内投与した。また、試験時間は 15 分間とした。

### C. 研究結果

#### 1. CP-55,940 訓練動物における CP-55,940 の弁別刺激効果

CP-55,940 (0.1 mg/kg)および溶媒である生理食塩液で薬物弁別訓練を行った動物を用いて、CP-55,940 (0.01, 0.03, 0.06, 0.1 mg/kg) の弁別刺激効果について検討した。その結果、CP-55,940 は用量依存的に CP-55,940 hole を選択し、般化が認められた (Fig. 2)。また、CP-55,940 の般化が認められた用量において、15 分間の平均反応数は有意な影響は認められなかった (Fig. 2)。

#### 2. CP-55,940 訓練動物における $\Delta^9$ -THC の弁別刺激効果

CP-55,940 (0.1 mg/kg)および溶媒である生理食塩液で薬物弁別訓練を行った動物を用い

て、 $\Delta^9$ -THC (0.1, 1, 2, 3 mg/kg) の弁別刺激効果について検討した。その結果、 $\Delta^9$ -THC は用量依存的に CP-55,940 hole を選択し、般化が認められた(Fig. 3)。また、 $\Delta^9$ -THC の般化が認められた用量において、15 分間の平均反応数は有意な影響は認められなかった (Fig. 3)。

### 3. CP-55,940 訓練動物における合成カンナビノイド誘導体の般化試験

CP-55,940 (0.1 mg/kg)および溶媒である生理食塩液で薬物弁別訓練を行った動物を用いて、WIN55212-2 (1 mg/kg)、ACEA (3 mg/kg)、JWH-133(3 mg/kg)および AM251 (1 mg/kg)または AM630 (1 mg/kg)と CP-55,940 (0.1 mg/kg)の併用における、それぞれの弁別刺激効果について検討した。WIN55212-2 および ACEA は、CP-55,940 hole を選択し、般化が認められた。一方で、JWH-133 においては CP-55,940 との般化は認められなかった(Fig. 4)。また、WIN55212-2 および ACEA の般化が認められた用量において、15 分間の平均反応数は有意な影響は認められなかった (Fig. 4)。

AM251 において CP-55,940 の弁別刺激効果は有意に抑制された。一方で AM630 において CP-55,940 の弁別刺激効果の抑制は認められなかった(Fig. 5)。また、AM251 または AM630 と CP-55,940 の併用試験において、15 分間の平均反応数は有意な影響は認められなかった (Fig. 5)。

### 5. CP-55,940 訓練動物における規制薬物の般化試験

CP-55,940 (0.1 mg/kg)および溶媒である生理食塩液で薬物弁別訓練を行った動物を用いて、規制薬物である morphine (3 mg/kg)、MDMA (3 mg/kg)、diazepam (6 mg/kg)、5-Meo-DIPT (3 mg/kg)のそれぞれの弁別刺激効果について検討した。その結果、morphine、MDMA、diazepam、5-Meo-DIPT の全てにおいて CP-55,940 との般化は認められなかった (Fig.6)。これら規制薬物における 15 分間の平

均反応数は有意な影響は認められなかった (Fig.6)。

### D. 考察

違法ドラッグとして、その流通が確認されている合成カンナビノイド誘導体の依存性評価のために、薬物弁別試験法による行動解析を行った。合成カンナビノイド誘導体の評価においては、大麻の精神活性成分であり、麻薬に指定されている  $\Delta^9$ -THC を訓練薬として検討する方法が妥当であると考えられる。しかしながら、 $\Delta^9$ -THC の化学物質としての安定性や入手可能性等を考慮して、特定の合成カンナビノイド誘導体を標準薬に設定する必要がある。そこで、カンナビノイド受容体作用薬として、その薬理学的特性の解析が進んでいる CP-55,940 を訓練薬として弁別試験を行なった。

本研究では、CP-55,940 の弁別刺激効果獲得のための実験条件の検討を行った。CP-55,940 による弁別獲得のための訓練は、摂餌制限下、CP-55,940 (0.1 mg/kg)を投与し、FR10 スケジュールにより実施した。CP-55,940 により、用量依存的な弁別刺激効果が認められた。この時、15 分間の平均反応数は安定しており、薬物による運動活性への影響はないことが確認された。この結果は、ラットを用いて CP-55,940 の弁別刺激効果の評価を行っている先行研究と同様の結果であった<sup>9)</sup>。これらのことから、マウスを用いて、カンナビノイド受容体作用薬である CP-55,940 を標準薬として薬物弁別実験を行う際の、訓練条件が明らかになった。CP-55,940 および生理食塩液で薬物弁別訓練を行った動物を用いて、 $\Delta^9$ -THC の般化試験を行った結果、用量依存的な般化が認められた。すなわち、 $\Delta^9$ -THC は CP-55,940 と類似の弁別刺激特性を有することが明らかになった。麻薬である  $\Delta^9$ -THC と CP-55,940 が類似の感覚効果を有することから、CP-55,940 を標準薬として、他の合成カンナビノイド誘導体の麻薬類似の感覚効果について解析が可能

であると考えられる。

CP-55,940 および生理食塩液で薬物弁別訓練を行った動物を用いて、CB<sub>1</sub> 受容体作用薬 WIN55212-2、ACEA および CB<sub>2</sub> 受容体選択的 合成カンナビノイド誘導体 JWH-133 を用いた般化試験を行った結果、WIN55212-2 および ACEA は CP-55,940 と般化が認められた。一方で、JWH-133 においては CP-55,940 との般化は認められなかった。また、CP-55,940 の薬物弁別刺激効果を獲得した動物に CB<sub>1</sub> 受容体拮抗薬 AM251 または CB<sub>2</sub> 受容体拮抗薬 AM630 を併用した般化試験を行った結果、CB<sub>1</sub> 受容体拮抗薬 AM251 において CP-55,940 の弁別刺激効果が有意に抑制された。一方で CB<sub>2</sub> 受容体拮抗薬 AM630 において CP-55,940 の弁別刺激効果の抑制は認められなかった。これらの結果から、合成カンナビノイド誘導体 CP-55,940 は CB<sub>1</sub> 受容体を介してその精神作用効果が発現すると示唆された。CB<sub>2</sub> 受容体選択的 合成カンナビノイド誘導体 JWH-133 においては、CP-55,940 との薬物類似効果が認められなかったことから、CB<sub>1</sub> 受容体を介した薬理作用と CB<sub>2</sub> 受容体を介した薬理作用はそれぞれ異なっていると示唆された。これらの結果から、CB<sub>1</sub> 受容体に選択性の高い合成カンナビノイド誘導体は、 $\Delta^9$ -THC と類似の自覚効果（薬理効果）を示すことから、乱用危険性を有することが確認された。また、規制薬物である morphine、MDMA、5-MeO-DIPT、および diazepam において CP-55,940 との般化が認められなかったことから、合成カンナビノイド誘導体の薬理効果の発現機序は、オピオイド系またはベンゾジアゼピン系薬物の作用機序とは異なることが示唆された。

本研究では、合成カンナビノイド誘導体である CP-55,940 を標準薬とした、薬物弁別確立の訓練条件が明らかになった。さらに、違法ドラッグである合成カンナビノイド誘導体は、 $\Delta^9$ -THC と類似の自覚効果（薬理効果）を有していることが明らかになった。CP-55,940 を標準薬（訓練薬）とした薬物弁

別試験は、合成カンナビノイド誘導体の依存性評価に有効である。

## E. 結論

カンナビノイド受容体作用薬である CP-55,940 を標準薬として薬物弁別実験を行う際の訓練条件を確立した。また、大麻成分で麻薬に指定されている  $\Delta^9$ -THC は、CP-55,940 と類似の自覚効果（薬理効果）を有していることが明らかになった。合成カンナビノイド誘導体の中でも、CB<sub>1</sub> 受容体に選択性の高い合成カンナビノイド誘導体は大麻の精神活性成分であり、麻薬に指定されている  $\Delta^9$ -THC と類似した作用を発現する可能性が高く、規制薬物として指定する必要がある。

これらの結果から、薬物弁別試験法は規制されている薬物の薬理効果を標準とすることで、規制薬物と違法ドラッグの薬理効果の類似性を評価することが可能であることが明らかになった。さらに、薬物弁別試験法は、数多い違法ドラッグの自覚効果を迅速に評価できるため、規制のための科学的データの収集に適していると考えられる。

## F. 参考文献

- 1) 船田正彦, 青尾直也: MDMA 類似誘導体の薬物依存性評価システム構築に関する研究. 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). P9-21, 2005.
- 2) Lindigkeit R., Boehme A., Eiserloh I., Luebbecke M., Wiggermann M., Ernst L. and Beuerle T.: Spice: a never ending story? *Forensic Sci Int.* 191: 58-63, 2009.
- 3) 船田 正彦: 条件付け場所嗜好性試験に



よる薬物報酬効果の評価：基礎と応用。  
日本薬理学雑誌 126: 10-16, 2005.

- 4) Munro S., Thomas K. L., Abu-Shaar M.: Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 365: 61-65, 1993.
- 5) Devane WA., Dysarz FA., 3rd, Johnson MR., Melvin, LS., Howlett A. C.: Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*. 34: 605-613, 1998.
- 6) Deneau G., Ynagita T., Seevera MH.: Self-administration of psychoactive substances by the monkey. *Psychopharmacologia*, 16(1): 30-48, 1969.
- 7) William EF., Andrew WH., Justin RE., Sadia A., Richard AR., Jerrold CW., Andrew C., Kenner CR., Lames HW.: Hallucinogen-like action of 2,5-dimethoxy-4-(n)-propylthiophentylamine (2C-T-7) in mice and rats. *Psychopharmacology*, 181: 496-503, 2005.
- 8) 青尾直也, 船田正彦: オペラント行動実験を利用した違法ドラッグ依存性評価法の確立. 平成 18 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). P21-29, 2006.
- 9) Wiley JL, Barrett RL, Lowe J, Balster RL, Martin BR: Discriminative stimulus effects of CP 55,940 and structurally dissimilar cannabinoids in rats. 34: 669-676, 1995.

#### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし。

#### 2. 学会発表

- 1) 船田正彦、富山健一、青尾直也、秋武義治、三島健一、藤原道弘、和田清、合成カンナビノイド誘導体の薬物依存性と細胞毒性の評価. 第 20 回日本臨床精神神経薬理学会・第 40 回日本精神神経薬理学会. 仙台. 2010 年 9 月 15-17 日.
- 2) 富山健一、船田正彦, 和田 清: カンナビノイド受容体作用薬の弁別刺激特性と細胞毒性. 平成 22 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会. 小倉. 2010 年 10 月 7-9 日.

#### H. 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

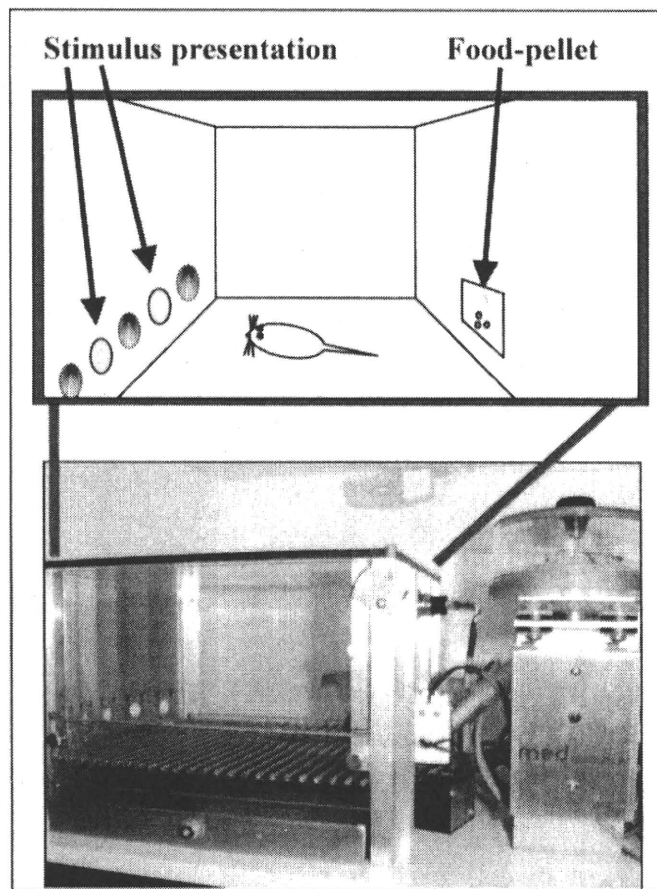


Fig. 1. Schematic diagram showing the hole configuration of five-hole poke operant chamber.

## CP-55,940

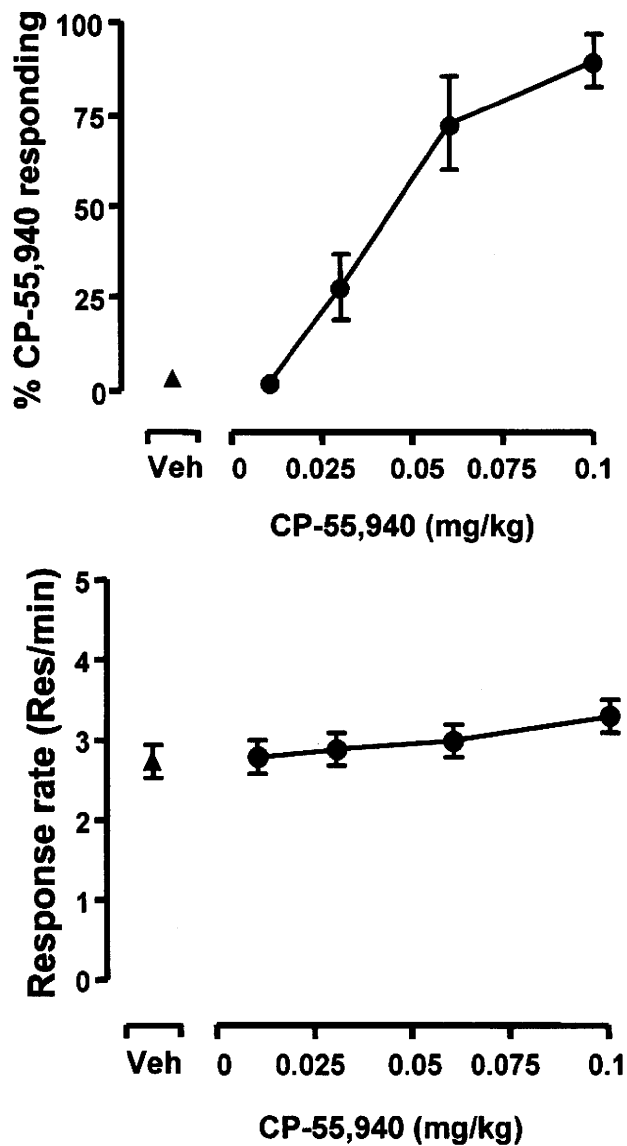


Fig. 2. Results of generalization test in mice (n=12) trained to discriminate CP-55,940 (0.1 mg/kg) from vehicle (upper panel). Mean ( $\pm$ SEM) percent drug-appropriate responding following administration of various doses CP-55,940. The animal's response rates are shown in the lower panel. \*Response rate was significantly ( $p < 0.05$ ) different from the saline control response rate.

## $\Delta^9$ -THC

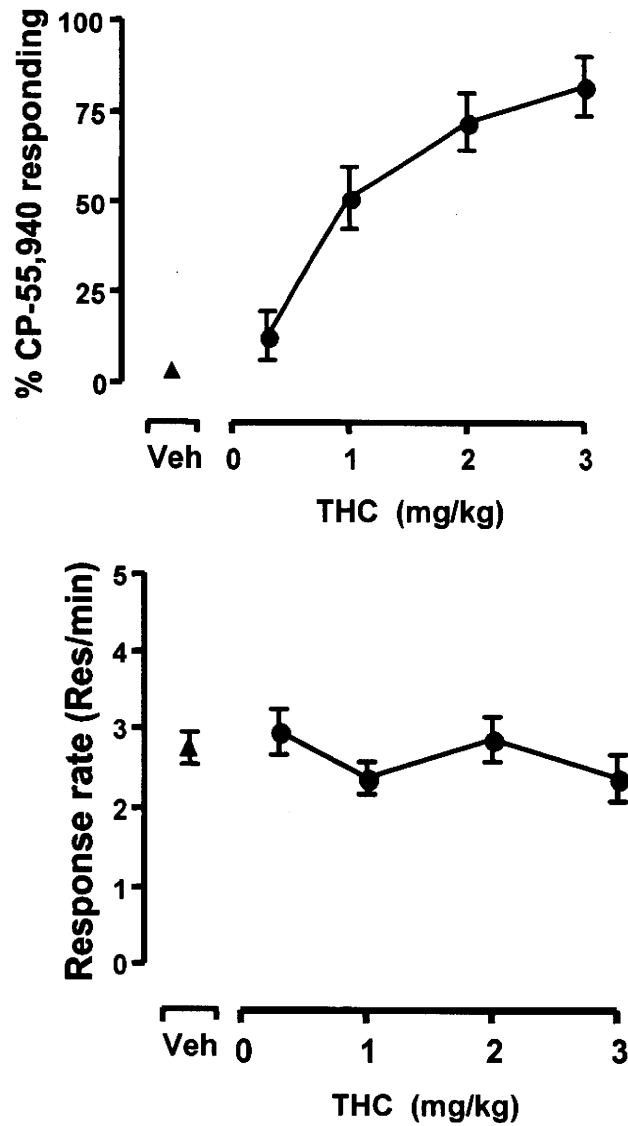


Fig. 3. Results of generalization test in mice (n=12) trained to discriminate CP-55,940 (0.1 mg/kg) from vehicle (upper panel). Mean ( $\pm$ SEM) percent drug-appropriate responding following administration of various doses  $\Delta^9$ -THC. The animal's response rates are shown in the lower panel.