

分担研究報告書

テトラヒドロカンナビノールの摂取感覚効果に関する研究

研究分担者：森 友久(星薬科大学)

研究要旨

通常、依存形成薬物を摂取することによってヒトは様々な感覚、即ち自覚効果を得ることが知られ、テトラヒドロカンナビノール(THC)などの薬物は幻覚を示す。この自覚効果を実験動物において検討する方法としてラットによる薬物弁別法が用いられている。しかしながら THC によって誘発する感覚とは何かといった研究はこれまでにほとんど行われてきていない。これまでに、中枢作用薬は、中枢興奮あるいは中枢抑制薬の2種類に分類され、議論がなされてきたが、昨年度の研究結果から、THC の弁別刺激効果は、アップー系とダウンナー系といった相異なる感覚を併せ持つ極めて珍しい感覚から成り立っていることが示唆されている。そこで本年度は、THC の弁別刺激効果について downer 系の効果に着目して検討を行った。NMDA 受容体遮断薬(CPP)によって中枢の興奮を抑制した際には、弱いながら部分的な THC 様の弁別刺激効果は認められた。一方で、抗不安薬であるジアゼパムは、部分的に THC 様の弁別刺激効果を示すことをこれまでに見出し、これらの併用により THC 様の弁別刺激効果は相乗的に増加した。また、GABA_A-受容体を調節し、筋弛緩作用が弱く、強い睡眠導入作用を示す zolpidem が部分的に THC 様の弁別刺激効果を示したのに対し、GABA_B-受容体に作用し、筋弛緩作用が強い baclofen は全く THC 様の弁別刺激効果を示さなかった。さらに、THC の運動に与える影響を検討したところ、自発運動には影響を及ぼさなかった。以上の結果より、THC は、GABA_A-受容体を介した感覚と類似の作用によって THC の感覚を発現している可能性が示唆された。

A. 研究目的

ヒトは、中枢神経系に作用する薬物を摂取すると、例えば、アルコールを飲むと高揚感を感じる、花粉症薬を飲むと眠気を感じる、といった様にある種独特な摂取感覚効果が得られる。この効果は自覚効果と呼ばれ、ヒトのみでなく、サルをはじめとする多くの動物でも認められる。精神依存や身体依存を形成する薬物は、依存形成薬物と呼ばれており、その薬理作用から覚醒剤、麻薬、大麻、幻覚、アルコールならびに中枢抑制薬などの種類に区別される。依存形成薬物は、それぞれ特異的な自覚効果を持ち合わせており、この効果が快感であれば、それを求めて薬物を繰り返し使用するようになり、この効果により精神依存が形成されると考えられている。

これらの依存形成薬物の中でも大麻は、その乱用が世界的な社会問題となっている。我が国で最も乱用されている依存形成薬物が覚醒剤であるのとは対照的に、欧米諸国では、大麻の乱用者数が最も多く、特に若年層の間で乱用者の増加が顕著にみられる。European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction の調査によると、EU 圏内における大麻の乱用者は 15 歳から 64 歳の成人の間で 2700 万人にまで及び、内 1750 万人は 15 歳から 34 歳までの若年者の使用によるものである。これは EU にお

いて大麻の次に乱用されているコカインの乱用者数 390 万人の約 6 倍に及ぶ数字となっている。

大麻が作用する CB 受容体の内因性リガンドとして anandamide や 2-arachidonoylglycerol (2-AG) が発見されており、これらの内因性リガンドが神経終末における CB₁ 受容体を介した神経伝達物質の放出を抑制的に制御し、脳の高次機能を調節していることが示唆されている¹⁾。これまでに CB 受容体の分子機構は明らかにされつつある一方で、カンナビノイドを摂取した際の摂取感覚効果など、THC を含めた乱用に関するメカニズムについては不明点も多い。特にヒトにおける幻覚の詳細な発現機序は未だ明らかとなっていない。一般的に、大麻はダウンナー系の薬物として分類されてきたが、アップー系とダウンナー系の両成分からなりたっていることを昨年度明らかとした。このうち、アップー系の薬物の解析は多くの研究によって進んでいるものの、ダウンナー系の摂取感覚については殆ど研究が進んでいないのが現状である。そこで本研究では、薬物弁別法を用い、THC の摂取感覚におけるダウンナー系の作用について検討を行なった。

B. 研究方法

本研究を遂行するにあたり、科学的にはもとより、

動物福祉の観点からも適正な動物実験の実施を促すことと目的として制定された星薬科大学動物実験規定に従い、本学の動物実験委員会で承認を得たうえで、動物に対する倫理面を十分に考慮し、さらに使用動物数を最小限にするように努力して、すべての実験をおこなった。

1. 実験動物及び飼育条件

Fischer 344 系雄性ラット (オリエンタル酵母工業株式会社、東京) を用いた。この動物は恒温恒湿室 (23±1 °C、55±5 %) においてプラスチックゲージ内で飼育し、8:00 点灯、20:00 消灯の 12 時間サイクルの明暗条件下で飼育した。なお薬物弁別法で使用したラットについては、体重が 230 g 程度になるよう摂餌制限を行った。なお飲水 (水道水) は自由とした。

2. 使用薬物

実験には Δ^9 -tetrahydrocannabinol(THC) (九州大学大学院薬学研究院 生薬学分野 森元聡教授より譲渡)、diazepam (武田テバファーマ株式会社、東京)、CPP (abcam 株式会社、東京)、zolpidem (Sigma-Aldrich Co.) および baclofen (Tocris Bioscience) を使用した。THC は 99.5 % ethanol (和光純薬株式会社、大阪)、Tween 80 (Sigma-Aldrich Co.) および生理食塩水中に溶解した。

3. 弁別装置

実験には、オペラントボックス (model GT8810、小原医科産業株式会社、東京) を使用した。オペラントボックス内の床はグリットとし、ボックス内には左右に 2 つのレバーを設置し、左右のレバーの間に強化子の給仕皿が 1 つ設置されているものを使用した。また、強化子として精密錠剤型飼料 (20 mg; 小原医科産業株式会社、東京) を用いた。

4. 弁別訓練

THC と vehicle との弁別訓練を開始する前に、すべてのラットにレバー押し訓練を行った。レバー押し訓練には左右どちらかのレバーが提示され、LLRLLRR (L= 左、R= 右) の順序でまず Fixed Ratio (FR) 1 強化スケジュールでレバー押し訓練を行った。また、1 セッションは 15 分とし、レバーを押すと強化子が与えられるスケジュールを用いた。1 セッションのレバー押し回数が 40 回に達した時点で FR1 におけるレバー押しが確立されたものとし、徐々に FR2、FR4、FR6、FR8、さらに FR10 へと増加させた。

FR10 での反応率 (response rate) が安定した後、THC (2.0 mg/kg) と Vehicle との弁別訓練を FR10 スケジュールで行った。弁別訓練では 1 セッションを 15 分間とし、弁別訓練開始 30 分前に THC または vehicle を腹腔内投与した。各セッションの投与順序は DDVV... (D=THC、V=Vehicle) とし、薬物もしくは溶媒投与時の左右のレバーの選択は、動物の

嗜好性による片寄り (ばらつき) を避けるためにカウンターバランス法 (L=D、R=V の対応と L=V、R=D の対応の装置をそれぞれ 2 組用意した) を使用した。弁別獲得の基準は、最初の強化子を得るためのレバー押しの回数を First Food Pellet (FFP) として測定し、訓練において 5 日間連続して $FFP \leq 12$ (正反応率 83% 以上) となった場合を弁別獲得とし、弁別訓練は弁別獲得後も継続した。

5. 般化試験

般化試験は、薬物およびその溶媒の弁別獲得後、弁別訓練を継続しながら 3 日間連続して $FFP \leq 12$ を達成した際に行った。テストセッションは、ラットがオペラントボックス内の左右いずれかのレバーを合計 10 回押しした時点で終了とした。また、セッション開始から 15 分が経過した時点で 10 回のレバー押し反応を認めなかった場合は反応が崩壊したと判断し、セッションを終了した。

6. 自発運動量測定

実験には、赤外焦電型センサー (ニューロサイエンス社、東京) を使用した。動物体温における放出赤外線を用いて、光学フィルターを通して受光することにより、外乱光の影響を受けることなく、各薬物の投与後 180 分間の総自発運動量および 15 分ごとの経時変化を測定した。測定を行うにあたり、マウスを新規環境に慣れさせる目的で、測定を行うケージにアルファドライを敷き、1 時間の馴化を行ったのち実験に使用した。

7. 統計解析

実験における測定値は、平均値 \pm 標準誤差 (mean \pm S.E.M.) として表示した。テストセッションにおいては、総レバー押し回数に対する薬物側レバー押し回数の割合 (%) で求めた。訓練薬物の弁別刺激効果に対し、80 % を超えて薬物側レバー押し反応を示したものを般化とし、50-79 % の範囲を部分般化とし、50 % を下回る薬物側レバー押し反応を示したものを般化しなかったと判断した。また、反応率 (response rate) はレバーを問わず、10 回反応するまでの時間を 1 分間あたりのレバー押し回数に換算して求めた。自発運動量における統計解析では、平均値 \pm 標準誤差 (mean \pm S.E.M) として表記した。尚、統計学的有意差の評価は、Two-way ANOVA によって解析した後、Bonferroni test に従って post-hoc test を行った。

C. 結果

NMDA 受容体拮抗薬である CPP (1.0 - 5.6 mg/kg, s.c.) を用いて般化試験を行った。その結果、CPP (5.6 mg/kg) は THC の弁別刺激効果に対して、部分般化を示した (図 1)。さらに、diazepam (1.0 mg/kg i.p.) と

CPP (1.0 mg/kg s.c.)を併用した般化試験を行った。その結果、diazepam と CPP の併用により相乗的に、THC 様の弁別刺激効果は増強された (図 2)。

THC の弁別刺激効果における抑制性的作用について、MDMA を対象として検討したところ、baclofen (0.3-3.0 mg/kg, s.c.) は、MDMA に対して部分般化したものの、THC にはほとんど般化を示さなかった。逆に、zolpidem (0.3-3.0 mg/kg, s.c.) は、1.0 mg/kg において THC の弁別刺激効果に部分般化を示したものの、MDMA に対しては、全く般化を示さなかった (図 3 および 4)。

自発運動に与える影響について検討したところ、MDMA は、自発運動を有意に亢進したものの、THC は殆ど自発運動には影響を及ぼさなかった (図 5)。

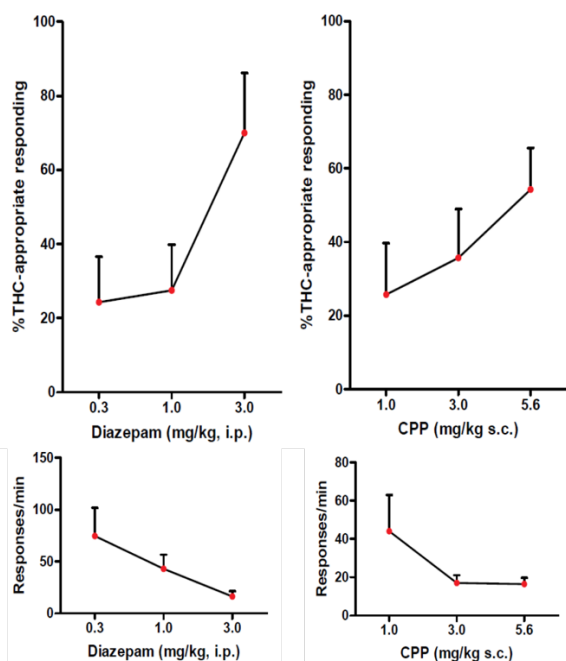


図1. Substitution test with Diazepam and CPP in THC-discriminated rat.

Substitution of Diazepam (0.3 - 3.0 mg/kg, i.p.) and CPP (1.0 - 5.6 mg/kg, s.c.) for the discriminative stimulus effects of THC in rat that had been trained to discriminate between 2.0 mg/kg THC and Vehicle. Each point represents the mean percentage of THC - appropriate responding (top) and the mean response rates (bottom) with S.E.M of six-eight animals.

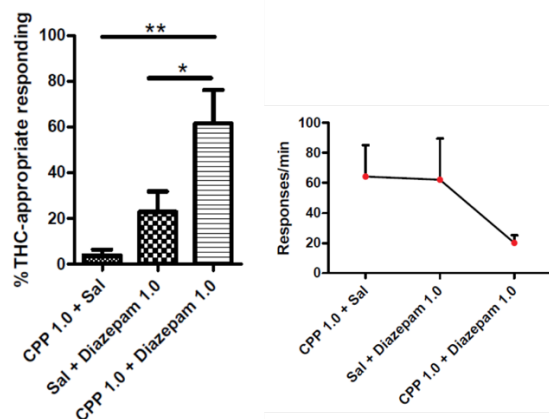


図2. Substitution test with Diazepam+CPP in THC-discriminated rat.

Substitution of diazepam (1.0 mg/kg i.p.) + CPP (1.0 mg/kg s.c.) for the discriminative stimulus effects of THC in rat that had been trained to discriminate between 2.0 mg/kg THC and Vehicle. Each point represents the mean percentage of THC - appropriate responding (top) and the mean response rates (bottom) with S.E.M of six-eight animals.

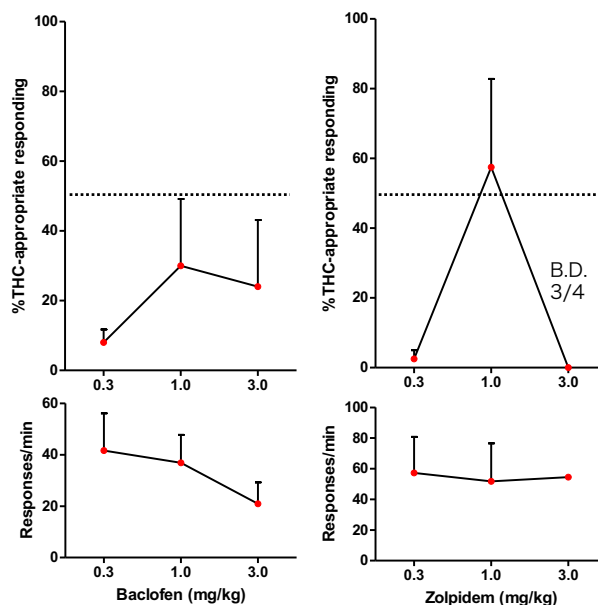


図3. Substitution test with baclofen and zolpidem in THC-discriminated rat.

Substitution of baclofen and zolpidem for the discriminative stimulus effects of THC in rat that had been trained to discriminate between 2.0 mg/kg THC and Vehicle. Each point represents the mean percentage of THC - appropriate responding (top) and the mean response rates (bottom) with S.E.M of six-eight animals.

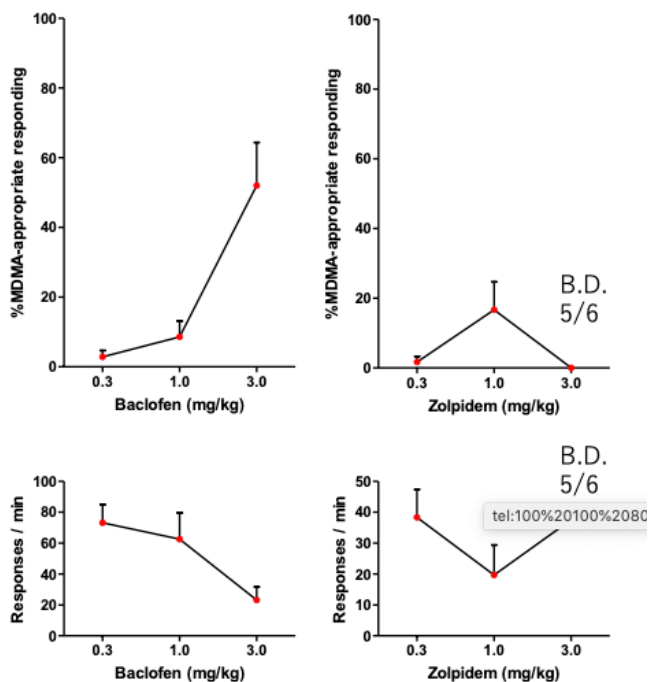


図 4. Substitution test with baclofen and zolpidem in MDMA-discriminated rat.

Substitution of baclofen and zolpidem for the discriminative stimulus effects of MDMA in rat that had been trained to discriminate between 2.0 mg/kg MDMA and saline. Each point represents the mean percentage of MDMA-appropriate responding (top) and the mean response rates (bottom) with S.E.M of six-eight animals.

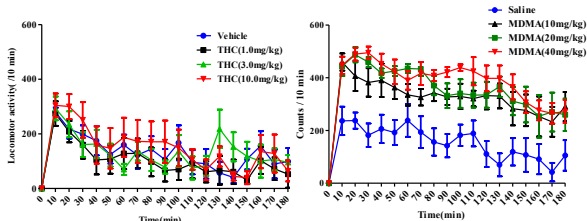


図 5 Effects of THC and MDMA on locomotor activity.

Locomotor activity test was recorded for 180 min after treatment of THC or MDMA.

D. 考察

大麻は、THC などのカンナビノイドを主成分としており、これが CB 受容体に結合することによって様々な生理作用や精神作用を引き起こすことが知られている。しかしながら THC が有する幻覚作用の詳細な発現機序に関しては未だ明らかとなっていない。そのため、薬物弁別法を用いて、THC の弁別刺激効果を指標として、幻覚誘発薬、ドパミン関連薬物、各種オピオイド受容体作動薬あるいは中枢神経抑制薬との弁別刺激効果の類似性を検討し、THC の弁別刺激効果を理解するための基礎検討を行ってきた。

その結果、THC の弁別刺激効果は CB 受容体刺激を介して発現するものの、幻覚誘発薬に共通する感覚から成り立っている可能性は少ないことを示し、さらに、THC の弁別刺激効果は、upper 系と downer 系といった相異なる感覚を併せ持つ極めて珍しい感覚から成り立っていることを見出している。

CB₁ 受容体は、主に中枢神経系のシナプス前終末に発現しており、グルタミン酸系もしくは GABA 系への間接的な作用を介して、感情や報酬効果、記憶などの様々な脳機能の調節に関与していることが知られている²⁾。このため、シナプス前終末に発現している CB₁ 受容体へのカンナビノイドリガンドの刺激を介して各種神経伝達物質を抑制的調節により弁別刺激効果を発現している可能性について検証するために、GABA 受容体作動薬である diazepam ならびに NMDA 受容体に対して競合的に拮抗する CPP を用いて般化試験を行った。その結果、diazepam は THC に対して般化に近い部分般化を示した（昨年度に報告）。また、本研究において、NMDA 受容体に対して競合的に拮抗する CPP (5.6 mg/kg) も THC の弁別刺激効果に対して部分般化を示し、diazepam と CPP の併用により、THC 様の弁別刺激効果は有意に増強された。以上の結果より、THC の弁別刺激効果の発現は、CB₁ 受容体を介して、間接的に中枢神経系の GABA 受容体 あるいは NMDA 受容体を介して中枢神経に対する抑制的調節が引き起こされ、THC の感覚として認知されるものと考えられた。

GABA は、GABA_A あるいは GABA_B 受容体を刺激することにより中枢神経系を抑制する。本研究において、baclofen は、THC にはほとんど般化を示さなかったものの、zolpidem は、部分的に般化した。Zolpidem は、抗けいれん作用ならびに筋弛緩作用が少なく、睡眠を導入するとされる。さらに、THC 自体は自発運動には、影響を及ぼさなかった。以上の結果より、THC の弁別刺激効果は、抗不安あるいは睡眠導入作用といったような中枢抑制を起点とする遠心性の経路の抑制効果は有さず、中枢神経のみを特異的に抑制して発現していることが推測された。

E. 結論

THC の弁別刺激効果発現には、幻覚に特徴的な cue を介して発現している可能性は低く、THC の有するダウンナー系の作用には、前シナプスにおける神経伝達物質の抑制的調節が起こり、結果として、GABA 神経系の機能亢進あるいはグルタミン酸神経系の抑制が引き起こされ、発現していることが示唆された。しかしながら、THC が作用する中枢の特定の部位に関する研究は未だ行われておらず、カンナビノイドの自覚効果発現に関する詳細な機序解明のためには、in vitro の研究を含めた包括的な検討調査が必要であると考えられる。

F. 参考文献

- 1) Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimotodani Y, Uchigashima M, Watanabe (2009) *Physiol. Rev.*, 89, 309~380
- 2) Wu, J (2019) Cannabis, cannabinoid receptors, and endocannabinoid system: yesterday, today, and tomorrow. *Acta Pharmacol Sin* 40, 297–299
- G. 学会発表
- なし
- H. 論文発表
- なし
- I. 知的財産権の出願・登録状況
- なし