

分担研究報告書

テトラヒドロカンナビノイド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、大麻の成分であるテトラヒドロカンナビノイド(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薬物弁別法が用いられている。世界中で大麻の乱用問題の議論がなされているものの、大麻により発現する感覚とは何か、あるいは何を求めて乱用されるのかについてはほとんど明らかにされていない。昨年度までに、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おり、THC以外の幻覚を有する薬物との感覚における相同性を検証したところ、upper系に属する幻覚誘発薬であるMDMAと一部感覚におけるプロファイルが似ているものの、他の幻覚を発現する薬物による感覚あるいは典型的な依存形成薬物による感覚との類似性について比較検討したところ、類似性は全く認められなかった。本年度においては、オピオイド鎮痛薬をはじめとする乱用薬物あるいはTHC以外の幻覚誘発薬によって引き起こされる感覚における類似性を検証したところ、何れも異なる感覚を発現していることが明らかとなった。乱用薬物は、upper系およびdowner系といった分類、幻覚誘発薬を含めた薬効のタイプ別分類などが系統的な分類法として用いられてきている。一般的に乱用薬物による感覚の多様性については議論がなされてきていないが、各乱用薬物ごとに異なる感覚を有しており、こうした多様性に対して、特定の感覚を求めて乱用がなされていると推測された。

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。

近年、脱法ドラッグとして、違法ではないとの認識から乱用とそれによる事故が多発して社会問題となっていた。この乱用には、法規制に対し様々な誘導体が合成され、規制しきれなかったことが一因であった。このため特に誘導体化が盛んに行なわれていたカンナビノイドならびにカチノン系薬物に関する包括規制が行なわれ、その乱用が鎮静化してきているが、逆に大麻の乱用が再び増加している。カンナビノイドならびにカチノン系薬物は、幻覚作用といった独特の感覚が得られることが知られているが、その幻覚誘発薬による感覚とは何か、あるいはなぜ乱用されるのかという根本の疑問に関しては明らかにされていない。そこで本研究では、tetrahydrocannabinol (THC)の感覚について検討するため、動物における

THCの弁別刺激効果について検討し、その結果をもとに機序の解析を行うこととした。さらに、他の多くの乱用薬物の感覚についても解析を行った。

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)およびC57BL/6Jマウス(東京実験動物、東京)を用いた。これらの動物は恒温恒湿室(23±1℃、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230g程度、マウスにおいて23g程度になるよう摂餌制限を行った。飲水(水道水)は自由とした。

2. 使用薬物

実験にはΔ9-tetrahydrocannabinol(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)、morphine hydrochloride(Daiichi-Sankyo Co Ltd., Tokyo、

Japan,)、quinpirole hydrochloride (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO)、U50,488H methanesulfonate (Research Biochemicals International, Natick, MA)、MDMA hydrochloride, phencyclidine (国立医薬品食品衛生研究所 生薬部 花尻瑠理より譲渡)、diazepam (武田テバファーマ株式会社、東京)および istradefylline (Wako Pure Chemical Industries. Ltd., Osaka, Japan) 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)あるいは model ENV-307 (Med Associates, St. Albans, VT)) 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つのレバーあるいは穴を設置し、左右のレバー(穴)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、東京あるいは Bio-Serv, Frenchtown, NJ) を用いた。

4. 弁別訓練

薬物と vehicle との弁別訓練を開始する前に、すべての動物にレバー押し(あるいは nose-poke) 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(穴)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(nose-poke) 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(nose-poke) 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(nose-poke) 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 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、弁別訓練開始前に薬物または vehicle を投与した。各セッションの投与順序は DDVV... (D=薬物、V=Vehicle) とし、薬物もしくは vehicle 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(nose-poke) 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、動物がオペラントボックス内の左右いずれかのレバー(穴)を合計 10 回押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。

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(穴)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(穴)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(穴)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。

C. 結果

D₂-受容体作動薬である quinpirole の弁別刺激効果に対して NMDA 受容体拮抗薬である phencyclidine、k-opioid 受容体作動薬である U50,488H、さらには MDMA のいずれも THC の弁別刺激効果に対して全く般化は認められなかった (Fig. 1)。次に、A_{2a}-受容体拮抗薬である istradefylline の弁別刺激効果に対する quinporole および MDMA による般化試験を行ったところ、quinporole では般化は認められず、MDMA では部分的な般化が認められた (Fig. 2)。さらに、m-受容体作動薬である hydromorphone の弁別刺激効果に対する数種依存形成薬物による般化試験を行なったが、THC および diazepam とともに般化は認められなかった (Fig. 3)。

昨年度までに THC の弁別刺激効果は、中枢抑制ならびに興奮の相異なる性質から成り立っていることを示唆してきたために、神経伝達物質の制御からこれらの 2 面性が認められるか否かを検証した。今回は、THC により誘発される精神依存と密接に関係しているとされる腹側被蓋野における glutamate と GABA の放出に与える CB 受容体作動薬である WIN 55,212-2 の影響についてマイクロダイアリス法を用いて検討した。その結果、WIN 55,212-2 は、glutamate の放出量を明らかに増加させ、GABA の放出量は低下させた。

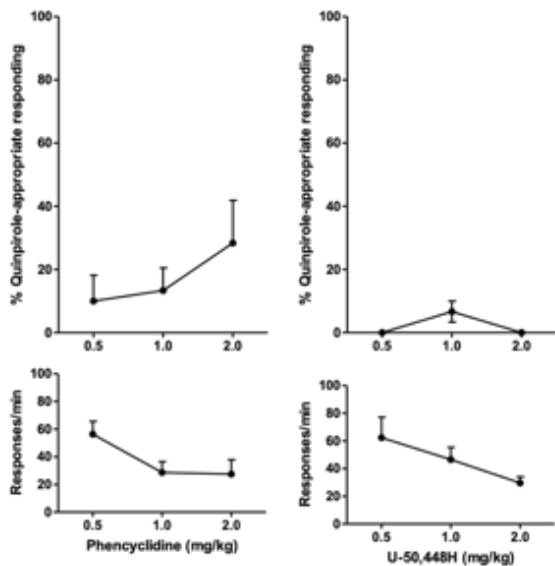


Fig 1 . Substitution test with phencyclidine and U-50,488H in THC-discriminated rat. Substitution of phencyclidine (0.5 – 2.0 mg/kg)(left) and U-50,488H (0.5 – 2.0 mg/kg) for the discriminative stimulus effects of THC in rat that had been trained to discriminate between 2.0 mg/kg THC and vehicle. Each point represents the mean percentage of THC - appropriate responding (top) and the mean response rates (bottom) with S.E.M of six-eight animals.

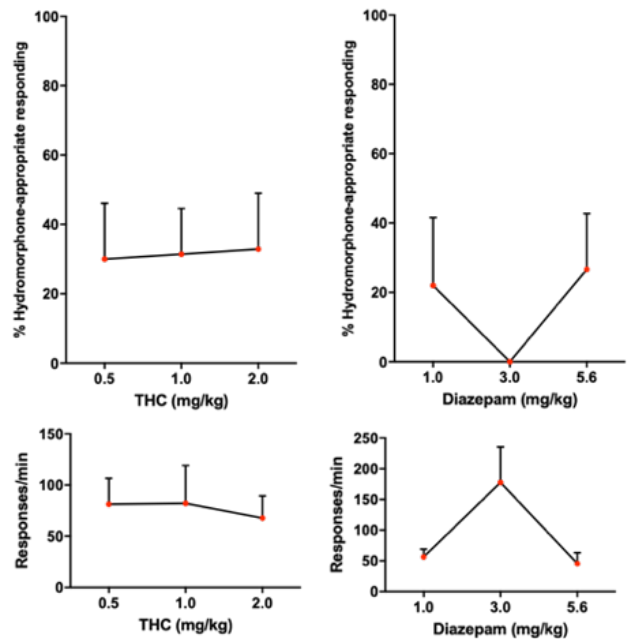


Fig 3. Substitution test with THC and diazepam in hydromorphone-discriminated mouse. Substitution of THC (0.5 – 2.0 mg/kg)(left) and diazepam (1.0 – 5.6 mg/kg) for the discriminative stimulus effects of hydromorphone in mouse that had been trained to discriminate between 0.48 mg/kg hydromorphone and vehicle. Each point represents the mean percentage of hydromorphone - appropriate responding (top) and the mean response rates (bottom) with S.E.M of six-eight animals.

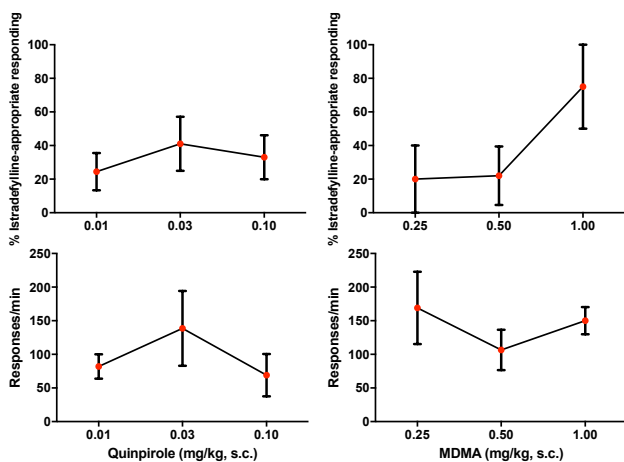


Fig. 2. Substitution test with quinpirole or MDMA in istradefylline-discriminated mouse. Substitution of quinpirole (0.01 – 0.1 mg/kg)(left) and MDMA (0.25 – 1.0 mg/kg) for the discriminative stimulus effects of istradefylline in mouse that had been trained to discriminate between 3.0 mg/kg istradefylline and vehicle. Each point represents the mean percentage of istradefylline- appropriate responding (top) and the mean response rates (bottom) with S.E.M of five-eight animals.

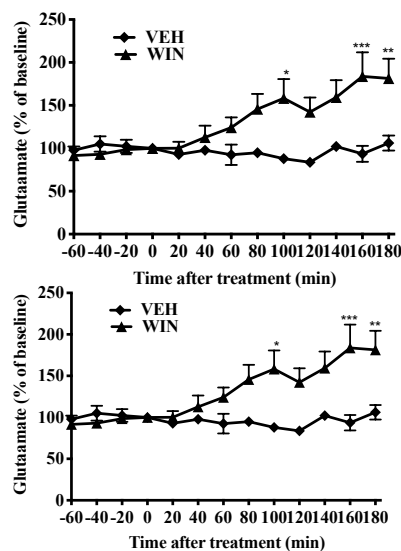


Fig. 4. Effects of WIN55,212-2 on the dialysate concentrations of GABA (top) and glutamate (bottom) in the VTA. After baseline fractions were collected, rats were treated with WIN55,212-2 (5 mg/kg) or vehicle at time 0.

D. 考 察

昨年度までに 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 downer 系あるいは upper 系の作用に

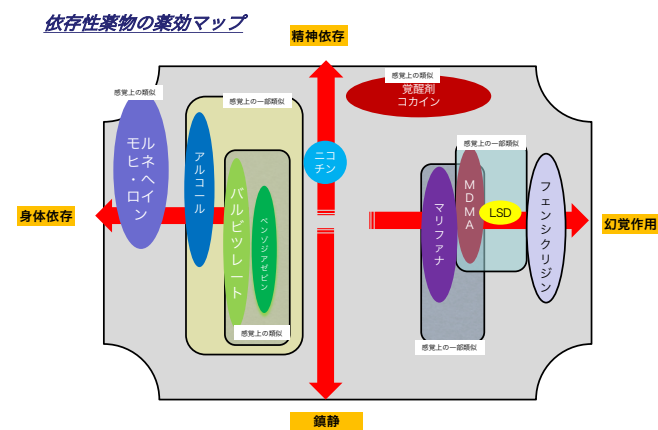
は、前シナプスにおける GABA 神経系あるいはグルタミン酸神経系の神経伝達物質の抑制的制御の結果、2面性の感覚を有することを推測してきた。そこで本年度の研究では、依存形成薬物の精神依存に密接に関わっているとされる腹側被蓋野における GABA ならびに glutamate の放出に対する CB 受容体作動薬である WIN 55,212-2 の影響について検討した。その結果、GABA の放出低下ならびに glutamate の放出増強が認められた。腹側被蓋野は、中脳辺縁ドパミン神経系の細胞体が存在しており、これらの機序により、その投射先である側坐核からのドパミンの放出が促進されていると示唆された。以上のように CB 受容体作動薬による GABA および glutamate の調節から中脳辺縁ドパミン神経系の活性化を伴う精神依存の形成が説明され、大麻による精神依存あるいはアップー系の作用は説明が可能となる。しかしながら、何故 CB 受容体作動薬が glutamate の放出を増強したのかについての機序は明らかにすることが出来ず、今後さらなる検討が必要であると思われた。

これまでに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 の弁別刺激効果において、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。本年度の研究において、統合失調症などにおける幻覚発現に関与するとして知られる D₂-受容体刺激、パーキンソン病の治療において幻覚といった副作用が問題となる istradefylline および疼痛コントロールにおいて幻覚が発現する m-受容体作動薬の弁別刺激効果を指標として幻覚を発現する種々の薬物を用いて般化試験を行った。しかしながら、いずれの組み合わせにおいても般化は認められなかった。

1980 年代から薬物弁別法を用いた感覚に関する研究が行われ、乱用薬物は、精神依存が強いもの、身体依存が強いもの幻覚作用が強いものなどがあり、こうした特徴を有する代表的な薬物による分類がなされてきた。特に近年では、危険ドラッグなどの乱用が問題となり、幻覚誘発薬において、その作用において多様性が知られるようになった。また、昨年度までの研究において、THC の弁別は、他の依存形成薬物あるいは幻覚誘発薬とは異なる摂取感覚を有していることを確認してきた。さらに、本年度の研究において、THC 以外の幻覚を発現する薬物間の感覚における類似性について検討したところ、類似はほとんど認められなかった。よって、乱用薬物により誘発される感覚には、多くの多様性が存在し、これを求めて乱用が繰り返されると考えられた。

E. 結論

本研究結果ならびにこれまでの報告などから、依存形成薬物であっても、多くの多様性を持ち、異なるプロファイルを示すことが示唆された。1992 年に、日本の薬物依存研究における第一人者であった柳田知司による依存性薬物による薬効マップが示されたが、その後、こうした依存形成薬物の薬理作用を理解するためのマップは作製されてきていない。以前のマップにおいては、鎮静、即ちダウンナー系に関する記載はなく、精神依存および身体依存に加えて、快感および幻覚作用について明示されていた。今回、精神依存と快感を同義とし、鎮静作用をマップに組み入れ、本研究結果を踏まえ、依存形成薬物の多様性を示すことが出来た。



F. 参考文献

- 1) Mansbach RS, Balster RL.(1991) Pharmacological specificity of the phencyclidine discriminative stimulus in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 39, 971-975.
- 2) Mori T, Suzuki T. (2018) The discriminative stimulus properties of hallucinogenic and dissociative anesthetic drugs. *Curr Top Behav Neurosci.* 39, 141-152.
- 3) Frontali M, Amorico L, De Acetis L, Bignami G (1976) A pharmacological analysis of processes underlying differential responding: a review and further experiments with scopolamine, amphetamine, lysergic acid diethylamide (LSD-25), chlordiazepoxide, physostigmine, and chlorpromazine. *Behav Biol.* 18, 1-74.
- 4) Suzuki T, Mori T, Takamori K, Onodera K, Misawa M. (1996) Effects of H(1)-antagonists on discriminative stimulus effects of cocaine and methamphetamine in rats. *Behav Pharmacol.* 7, 111-118.
- 5) Walsh SL, Cunningham KA (1997) Serotonergic mechanisms involved in the discriminative stimulus, reinforcing and subjective effects of cocaine. *Psychopharmacology (Berl)* 130, 41-58.
- 6) Wright M, Matheson J, Mann RE, Stoduto G, Le Foll

- B, Wickens CM, Brands B, Di Ciano P. (2022) Effects of combining alcohol and cannabis on driving, breath alcohol level, blood THC, cognition, and subjective effects: A narrative review. *Fares A, Exp Clin Psychopharmacol.* 30, 1036-1049.
- 7) Mori T, Uzawa N, Kazawa H, Watanabe H, Mochizuki A, Shibasaki M, Yoshizawa K, Higashiyama K, Suzuki T. (2014) Differential substitution for the discriminative stimulus effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and methylphenidate in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 350, 403-411.
- 8) Green AR, Mehan AO, Elliott JM, O'Shea E, Colado MI (2003) The pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy"). *Pharmacol Rev* 55, 463-508.
- 9) Takada K, Hagen TJ, Cook JM, Goldberg SR, Katz JL (1988) Discriminative stimulus effects of intravenous nicotine in squirrel monkeys. *Pharmacol Biochem Behav.* 30, 243~247.
- 10) Sanger DJ (1988) Discriminative stimulus properties of anxiolytic and sedative drugs: Pharmacological specificity. *Psychopharmacol Ser* 4. 73~84.
- 11) Bennett DA (1988) Discriminative stimulus properties of anxiolytic and sedative drugs: Pharmacological specificity. *Psychopharmacol Ser* 4. 85~94.
- 12) Chutuape MA, de Wit H (1994) Relationship between subjective effects and drug preferences: ethanol and diazepam. *Drug Alcohol Depend.* 1994 34, 243~251.
- 13) Griffiths RR, McLeod DR, Bigelow GE, Liebson IA, Roache JD. (1984) Relative abuse liability of diazepam and oxazepam: behavioral and subjective dose effects. *Psychopharmacology (Berl).* 84, 147-154.
- 14) Fares A, Wright M, Matheson J, Mann RE, Stoduto G, Le Foll B, Wickens CM, Brands B, Di Ciano P. (2022) Effects of combining alcohol and cannabis on driving, breath alcohol level, blood THC, cognition, and subjective effects: A narrative review. *Exp Clin Psychopharmacol.* 30, 1036-1049.
- 15) Suzuki T, Mori T, Tsuji M, Misawa M. (1995) Interaction between discriminative stimulus effects of cocaine and morphine. *Jpn J Pharmacol.* 67, 341-347.
- 16) Smith HS (2011) Morphine sulfate and naltrexone hydrochloride extended release capsules for the management of chronic, moderate-to-severe pain, while reducing morphine-induced subjective effects upon tampering by crushing. *Expert Opin Pharmacother.* 12, 1111-1125.
- 17) Bey T, Patel A (2007) Phencyclidine Intoxication and Adverse Effects: A Clinical and Pharmacological Review of an Illicit Drug. *Cal J Emerg Med* 8, 9-14.
- 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