

中大脳動脈閉塞モデルマウスの急性期, 亜急性期及び慢性期における大麻成分カンナビジオールの脳保護効果とその作用機序に関する研究

早川 和秀

福岡大学薬学部 〒814-0180 福岡市城南区七隈 8-19-1

Therapeutic time window of cannabidiol on middle cerebral artery occlusion model in mice

Kazuhide Hayakawa

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University,  
8-19-1 Nanakuma, Fukuoka, 814-0180, Japan

Abstract

Cannabis contains about 60 different cannabinoids, including the psychoactive component,  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol, and non-psychoactive components, which include cannabidiol, cannabinol and cannabigerol. Among these components, the cerebroprotective mechanism of cannabidiol, a non-psychoactive constituent of cannabis, was examined by using 4-h mouse middle cerebral artery (MCA) occlusion model in acute, sub-acute and chronic phase.

Cannabidiol significantly prevented infarction and MPO activity at 20 hours after reperfusion. These effects of cannabidiol were not inhibited by either SR141716 or AM630. Cannabidiol inhibited the MPO positive cells expressing HMGB1 and also decreased the expression level of HMGB1 in plasma. In addition, cannabidiol decreased the number of Iba1- and GFAP-positive cells at 3 d after cerebral ischemia. Moreover, cannabidiol improved neurological score and motor coordination on the rota-rod test.

Repeated treatment with cannabidiol for 14 days after cerebral ischemia improved the functional deficits, survival rates and decreased HMGB1 level in plasma and the number of Iba1 expressing HMGB1 positive cells.

Cannabidiol will open new therapeutic possibilities not only ischemic acute phase but also post-ischemic injury via HMGB1-inhibiting mechanism.

## 緒言

大麻 (*Cannabis sativa*)は世界保健機構 (World Health Organization : WHO)において乱用薬物の1つとして定義されている。大麻草および大麻樹脂は、ヒトに対して多幸感や陶酔感、気分の爽快感などを与え、近年わが国においても乱用者が著しく増えており、大きな社会問題となっている。しかしながら、大麻薬効薬理の基礎研究が盛んに行われている中で、大変興味深い作用を持つ成分が大麻中に存在し、医療大麻としての可能性が期待されているのもまた事実である。

### <大麻成分と薬効薬理>

大麻中には60種類以上のNを含まず、C, H, Oのみからなるカンナビノイド化合物が含まれ、主な精神作用を示す本体は $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC)である。その他、THCに比べて精神作用が弱い $\Delta^8$ -THC, cannabinol (CBN), cannabidiol (CBD)などが含まれている。THCの主な精神作用としては、陶酔感などの気分・情動の変化、視覚、聴覚および時間・空間認知などの知覚・感覚の変化、注意の集中、連想などの思考の異常である<sup>1)</sup>。しかし、このような作用とは裏腹に、動物実験においてTHCや他のカンナビノイドCB<sub>1</sub>受容体作動薬には、4 vessel occlusion (4VO)モデルやpermanent middle cerebral artery occlusion (pMCAo)モデルの脳虚血に対して神経細胞保護作用があるとの報告がある<sup>2),20)</sup>。さらに、THCのような精神作用を有さないCBDも、脳虚血モデルにおいて脳神経細胞保護作用や抗炎症作用を持つことが知られている<sup>2)-5)</sup>。臨床では、ニューメキシコで大麻の処方権が医師に与えられており、疼痛や嘔吐抑制のために処方されている。また、英国やカナダにおいては大麻抽出物の舌下スプレーが多発性硬化症や脊髄損傷の筋痙縮あるいは慢性疼痛や癌性疼痛の痛みに対して有効であることが報告され、現在イギリスのGW製薬では「SATIVEX」として販売、また、カナダではドイツのバイエル社を通して販売が始まっている。また、日本でも、大塚製薬がGW製薬からアメリカでの独占販売権を取得し、アメリカでこの大麻製剤を販売することになった。このように世界的に大麻成分が見直され、医療大麻として使用する概念が広まってきている。特に、多発性硬化症や脳挫傷、あるいは脳梗塞への効果が期待されており、新規脳保護薬としての可能性を秘めている。

### <大麻に関する基礎研究>

大麻研究は1988年にDavaneとHowlettら<sup>6)</sup>によってTHCの誘導体であるCP55,940を用いた研究からカンナビノイド(CB)受容体の存在が明らかにされ、1990年にMatsudaらが<sup>7)</sup>、ラットでのcDNAライブラリーからCB受容体をコードするcDNAを

クローニングしたことから急速に発展し始めた。CB 受容体は、CB<sub>1</sub> 受容体と CB<sub>2</sub> 受容体に分類され<sup>8)</sup>、どちらも膜 7 回貫通型の Gi/o 蛋白結合型の受容体である。CB<sub>1</sub> 受容体は、黒質、淡蒼球、海馬、小脳の分子層、大脳皮質などを中心にシナプス前膜や脳内アストロサイトに強く発現していることが知られている<sup>9-12)</sup>。一方、CB<sub>2</sub> 受容体は脾臓及び扁桃腺に多く発現しており、細胞では B 細胞、natural killer 細胞、マクロファージ、あるいは脳のマクロファージと言われるミクログリアにもその発現が認められている<sup>8),13),14),38)</sup>。また、近年では CB<sub>2</sub> 受容体の脳内での発現も確認されており、大麻の精神疾患に重要な役割を果たしている可能性があることが報告されている<sup>37)</sup>。

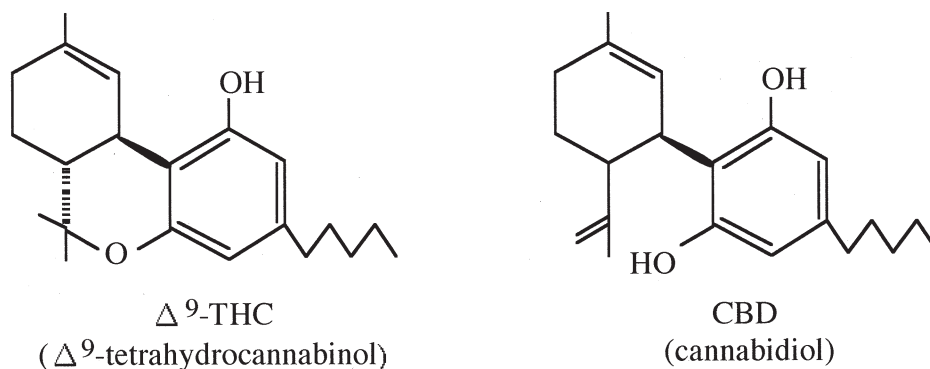


Fig.1 Cannabinoid structure

THC や CBD は脳虚血モデルに対して細胞保護効果があると報告されている。大麻中で THC の構造変化によって合成される CBN にはほとんど生理活性がないことが知られている。THC の細胞保護に関する報告は数多くあり、CB<sub>1</sub> 受容体を活性化させ、adenylate cyclase の抑制による cAMP の減少や、電位依存性 P/Q 及び N 型の Ca<sup>2+</sup>チャネルを阻害することにより、神経シナプス前膜からのグルタミン酸の遊離を抑制し、それにより NMDA 受容体の活性化が抑えられ、細胞内 Ca<sup>2+</sup>の過度な上昇を抑制することにより、脳虚血による障害を緩和することや、CB<sub>1</sub> 受容体 agonist には体温低下作用があり、虚血時の脳温を低下させることにより障害を抑制することが報告されている<sup>21)</sup>。加えて、CB 受容体に強い親和性のある BAY 38-7271 は脳浮腫を抑制することで神経細胞保護作用を持つ<sup>22)</sup>との報告もある。また、細胞内カスケードについては、CB<sub>1</sub> 受容体や CB<sub>2</sub> 受容体を介して Raf-1 や NGF(nerve growth factor) の生成を伴って phosphoinositide 3-kinase/Akt 経路を活性化し<sup>23)</sup>、MAPK ファミリーのうち、ERK (extracellular signal-regulated kinase) の活性化や BDNF (brain dependent growth factor) の mRNA を増やすという報告もなされている<sup>24),25)</sup>。さらに、大腸菌のエンドトキシンである lipopolysaccharide によるミクログリアからの TNF- $\alpha$  やその他のサイトカインの遊離を阻害するなどの抗炎症作用<sup>26)</sup>も持っており、細胞に対して保護的な要素となるものが数多く報告されている。また、一方で、皮質神経の培養細胞において、THC は CB<sub>1</sub> 受

容体を介して c-Jun N-terminal kinase を活性化させることで神経毒性を有しており<sup>27)</sup>, 細胞の apoptosis を促進する<sup>28),29)</sup>など, 細胞死を誘導する作用も併せ持つ二面性を持った薬物であると考えられる. さらに, カンナビノイドの受容体に関連して, 内因性カンナビノイドのリガンドとして N-arachidonoyl ethanolamide (anandamide), 2-arachidonoyl glycerol (2-AG), 2-arachidonoyl glycerol ether, oleamide などが発見され<sup>15)-19)</sup>, 2-AG や anandamide は, 脳虚血時に脳内で上昇し, CB<sub>2</sub> 受容体を介したマクロファージの遊走や増殖に関与するなど<sup>30),31)</sup>, 脳虚血と内因性カンナビノイドとの関連についても数多くの報告がなされている.

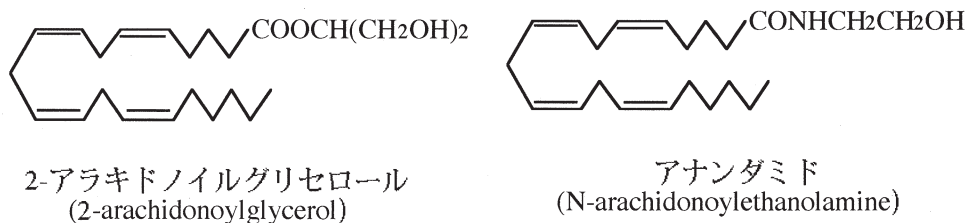


Fig.2 Endocannabinoid structure

一方で, CBD は両 CB 受容体にはほとんど結合せず, 右表に示したように, rearing などの行動抑制をはじめ, THC が持つような空間記憶障害や abnormal-behavior が現われず, thiopental の睡眠延長作用や脳神経保護作用などの薬理作用を持っている. CBD の脳神経細胞保護効果に関しては, 強い抗酸化作用の他に, 抗炎症作用が重要な作用機構になっているという報告もある<sup>2)</sup>. また, in vitro において, CBD は PKC の活性化や<sup>32)</sup>, ガン細胞に対して apoptosis を誘導することで<sup>33)</sup> 抗癌作用を持つとされている. また, 近年, THC や CBD の代謝物が, “CB<sub>3</sub> 受容体” という新たな受容体を介しているのではないかと報告もなされており<sup>34)</sup>, 既存の CB 受容体ではなく, 脳内における第3の CB 受容体の存在を予測させる報告が次々とされているところである. 実際に, 現在, 新規 CB 受容体として non-CB<sub>1</sub> 受容体, non-CB<sub>2</sub> 受容体, GPR55, abnormal-cannabidiol 受容体などが想定されている<sup>35),36)</sup>. しかし, 生理的役割については分かってきたもののこれらはすべてクローニングされていない.

このように, THC の脳保護作用については, 長年の研究の成果により多くのことが分かってきた. しかしながら, CBD の作用機序については不明な点が多く残されている. 本研究で THC の薬理作用と比較しながら CBD の作用メカニズムを解明することにより, 精神作用の弱い CBD をリード化合物とした新たな脳保護薬の開発が期待できるのではないかと考え, 炎症反応が強く起こる中大脳動脈 (MCA)閉塞モデルを選択し,

このモデルを用いて CBD の作用機序を追跡することにした。

### <MCA 閉塞モデルの特徴>

MCA を閉塞する局所脳虚血では、主幹動脈の閉塞によりその血管領域の梗塞が生じるが、中心部 (ischemic core) は完全虚血に近くなり壊死となり、辺縁部 (ischemic penumbra) は周辺からの側副血行路を介して血流がある程度維持され選択的神経細胞死が起こる。脳血流が 40%以下になると酸素代謝を維持できず、さらに、20%以下になると ATP は枯渇し、エネルギー代謝障害の状態になると報告されている。また、血流再開の有無により病態が異なるなど複雑な様相を示す。短時間で血流が再開された場合には組織は救済されるが、時間が長くなると出血性梗塞を起こし強い浮腫が生じるなどの特徴をもつ。生化学的には、グルタミン酸の放出や、電位依存性 Ca チャネル (VSCC) の開口、組織アシドーシスの進行などが起こり、時間経過に伴い徐々に細胞死が起こり ischemic penumbra の形成を進めていくことが報告されている<sup>39)</sup>。また、虚血して 24 時間以上たつと、血中の単球、好中球が脳組織に浸潤し、貪食細胞であるマクロファージに分化する。その後徐々に脳のグリア細胞が梗塞部位に集積し始める<sup>40)</sup>。このように、一過性の MCA 閉塞後には、経日的な脳内変化が観測される。

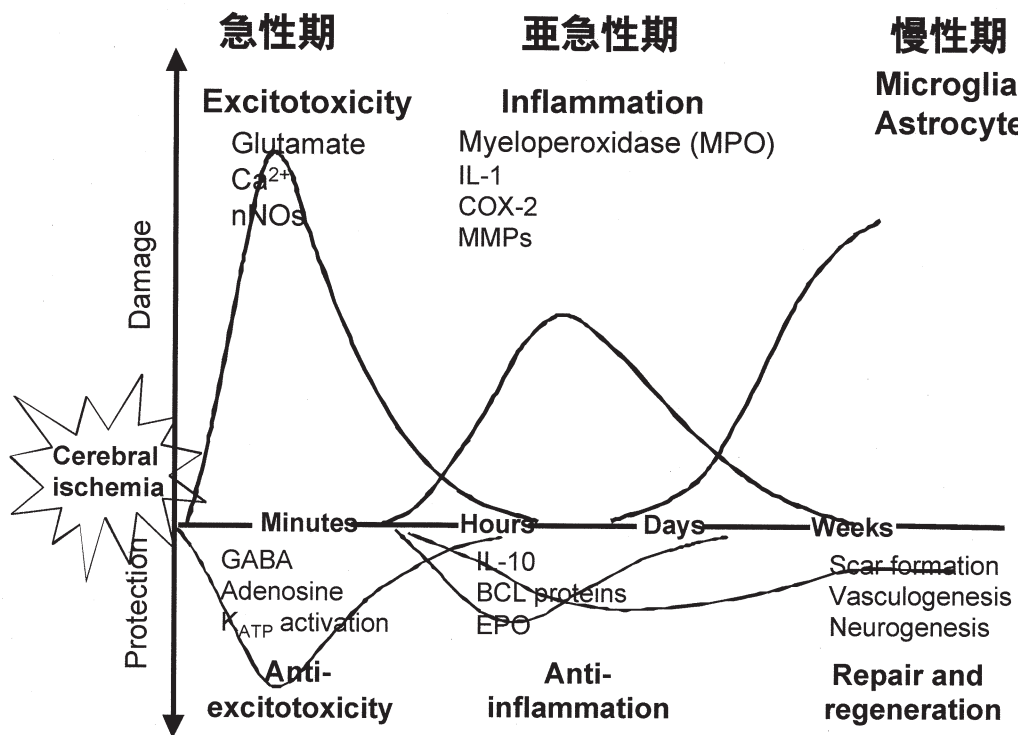


Fig.3 脳虚血後の脳内経日的変化

## <本研究の概要>

本研究では、MCA 閉塞モデルマウスの脳内経日的変化に対する大麻成分の脳保護効果の比較を行い、さらにその作用機序を追求した。第 1 章では、基礎検討として MCA 閉塞モデルの経日的な組織学的変化、生化学的変化また機能的変化を検討した。第 2 章では、CB<sub>1</sub> 及び CB<sub>2</sub> 受容体の局在部位の検討をはじめ、4hMCA 閉塞モデルの梗塞巣に対する大麻成分 THC, CBN, CBD の脳保護効果の比較を行った。第 3 章では、第 2 章で効果のあった THC 及び CBD に着目し、様々な受容体拮抗薬を用いてそれぞれ検討を行った。加えて、連続投与による耐性形成の有無や炎症反応に対する効果を検討した。第 4 章では、連続投与を行っても耐性を形成しなかった CBD を用いて、MCA 閉塞後 1 日から連続投与したときの脳梗塞予後の治療効果について検討を行った。

## <実験方法>

MCA 閉塞後の時期を急性期、亜急性期、慢性期の 3 つの時期に分けた。急性期では、MCA 閉塞直後から再灌流 1 時間後までの脳内グルタミン酸遊離量をマイクロダイアリシス法により測定した。さらに、亜急性期では、虚血 4 時間後から 7 日後までの myeloperoxidase (MPO) 活性を測定した。慢性期では、MCA 閉塞 14 日後までの生存率と neurological score を観察し、協調運動 (rota-rod, 10rpm, 2min) と自発運動量 (open field, 3min) については、MCA 閉塞 14 日後に検討した。TUNEL 染色、GFAP, Iba1, HMGB1 の免疫染色は、MCA 閉塞 1 日後から 90 日後まで経日的に行った。CBD (3mg/kg) の 4hMCA 閉塞モデルの 1 日後の梗塞巣に対する抑制効果を検討した。また治療効果については、4hMCA 閉塞 1, 3, 5 日後から 14 日後まで腹腔内に連続投与し、therapeutic time window の評価を行った。

## <実験結果>

### 4hMCA 閉塞後の経時的及び経日的脳内変化

#### ① 急性期

##### <脳血流量の低下>

脳虚血後すぐに血流は 20%近くまで低下し、再灌流後の血流は 50%までしか回復せず、再灌流後に微小循環障害が起こっていることが示唆された。

##### <グルタミン酸遊離>

虚血急性期に起こるグルタミン酸遊離量をマイクロダイアリシス法により測定したところ、MCA 閉塞後すぐにグルタミン酸遊離量は上昇し、その上昇は再灌流後徐々に低下した。

## ② 亜急性期

〈Myeloperoxidase (MPO) 酵素活性〉

脳内の MPO 酵素活性及び免疫染色による MPO 陽性細胞は、再灌流後から徐々に上昇し、虚血 1 日後をピークとして 3 日後まで上昇していた。その後 MPO の活性は弱くなり、7 日後には正常レベルにまで低下していた。

加えて MPO と HMGB1 の共発現細胞は、MCA 閉塞 3 日後まで発現しており、7 日後以降では共発現は認められなかった。

## ③ 慢性期

〈グリア細胞の活性化〉

Iba1 及び GFAP 染色により、Iba1 の活性化は虚血 1 日後から梗塞巣領域で顕著に見られた。アストロサイトはそれに遅れて、虚血 3 日後から活性化し経時的に細胞体の増大を見せた。

〈グリア細胞と HMGB1 の共発現〉

Iba1 と HMGB1 の共発現細胞は、脳虚血 1 日後から強い発現が観察されたのに対し、GFAP と HMGB1 の共発現細胞は、それに遅れて 7 日後から強い発現が認められた。

グリア細胞と HMGB1 が共発現している知見は今までに報告されておらず、HMGB1 が脳虚血後のグリア細胞の活性化に重要な役割を果たしていることを示唆している。

〈血漿中及び脳内 HMGB1 の発現量〉

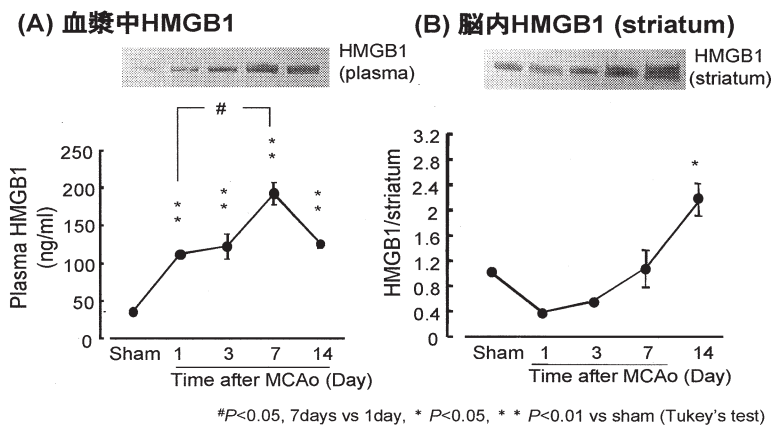


Fig.4 The expression of HMGB1 in plasma and striatum

血中 HMGB1 は脳虚血 1 日後から上昇し、7 日後を最大値として 14 日後まで上昇していた。一方、線条体における HMGB1 は脳虚血 1

日後には減少していた。しかしながら、7 日後から徐々に発現量の増加が見られ、14 日後には有意な増加が認められた。

これらのことから、ミクログリアが HMGB1 を遊離することにより、アストロサイトの活性化

及び伸長反応を促進していることが示唆された。これは、HMGB1 がミクログリアからアストロサイトへの連絡手段としてのタンパク質である可能性を示しており、もし事実なら、今までに報告がない新たな知見である。また、細胞外遊離した HMGB1 は脳虚血後期まで炎症メディエータとして働くため、新たな脳保護薬の創薬ターゲットとしての可能性を秘めている。

#### 4hMCA 閉塞モデルに対する CBD の脳保護効果

〈急性期-亜急性期：MCA 閉塞 1 日後の梗塞巣に対する CBD の抑制効果〉

##### 1. 投与タイミングの検討

CBD (3mg/kg) は 4hMCA 閉塞-再灌流 2 時間後の単回投与でも梗塞巣を有意に抑制し、幅広い治療域を有していたのに対し、THC (10mg/kg) は虚血直前の投与のみで梗塞巣を抑制し、CBD の方が強い治療効果を有していることが明らかとなった。

##### 2. 作用メカニズムの検討

THC (10mg/kg) は虚血初期に起こるグルタミン酸の過剰な遊離を抑制することにより脳保護効果を示し、CBD (3mg/kg) は虚血亜急性期に誘導される白血球 MPO 活性を抑制することで脳保護効果を示した。

〈慢性期：4hMCA 閉塞 1, 3, 5 日後から 14 日後まで CBD を連続投与したときの治療効果〉

##### 1. 4hMCA 閉塞後の生存率低下, neurological score 値の上昇, 協調運動不全, 自発運動量低下に対する CBD の効果

CBD (3mg/kg) の脳虚血 1, 3 日後からの連続投与により、生存率, neurological score の改善が認められた。また、MCA 閉塞後の協調運動不全や自発運動量低下についても、MCA 閉塞 1 日後からの CBD 投与により明らかに改善された。

##### 2. 4hMCA 閉塞後のグリア細胞活性化, HMGB1 発現量上昇, 細胞障害に対する CBD の効果

CBD (3mg/kg) の脳虚血 1 日後からの連続投与により、グリア細胞に発現した HMGB1 だけでなく、血漿中及び線条体の HMGB1 発現量を低下させた。また、細胞障害のマーカーである TUNEL 陽性細胞の発現も抑制していた。

#### 〈結論〉

CBD は、精神作用が弱く、連続投与による耐性形成も起こさない。また、白血球 MPO や HMGB1 抑制による強い抗炎症作用により、虚血-再灌流 2 時間後投与、あるいは 3 日後の投与でも脳虚血性障害を抑制し、幅広い therapeutic time window を示した。CBD が、脳虚血後遅いタイミングの投与でも脳保護効果を示すことや、HMGB1 を抑制し脳虚血の進行を抑制することを考え



ると、これまで脳梗塞 3 時間以内の急性期治療の中心として活躍している t-PA と併用することにより治療効果の相加効果あるいは相乗効果が期待される。また、脳梗塞再発の防止のために、現在アスピリンやチクロピジンなどの抗血栓療法が取られているが、CBD が脳梗塞予後の治療薬として創薬されれば、治療効果のさらなる上昇が期待され、QOL の向上にも繋がるのではないかと考えられる。

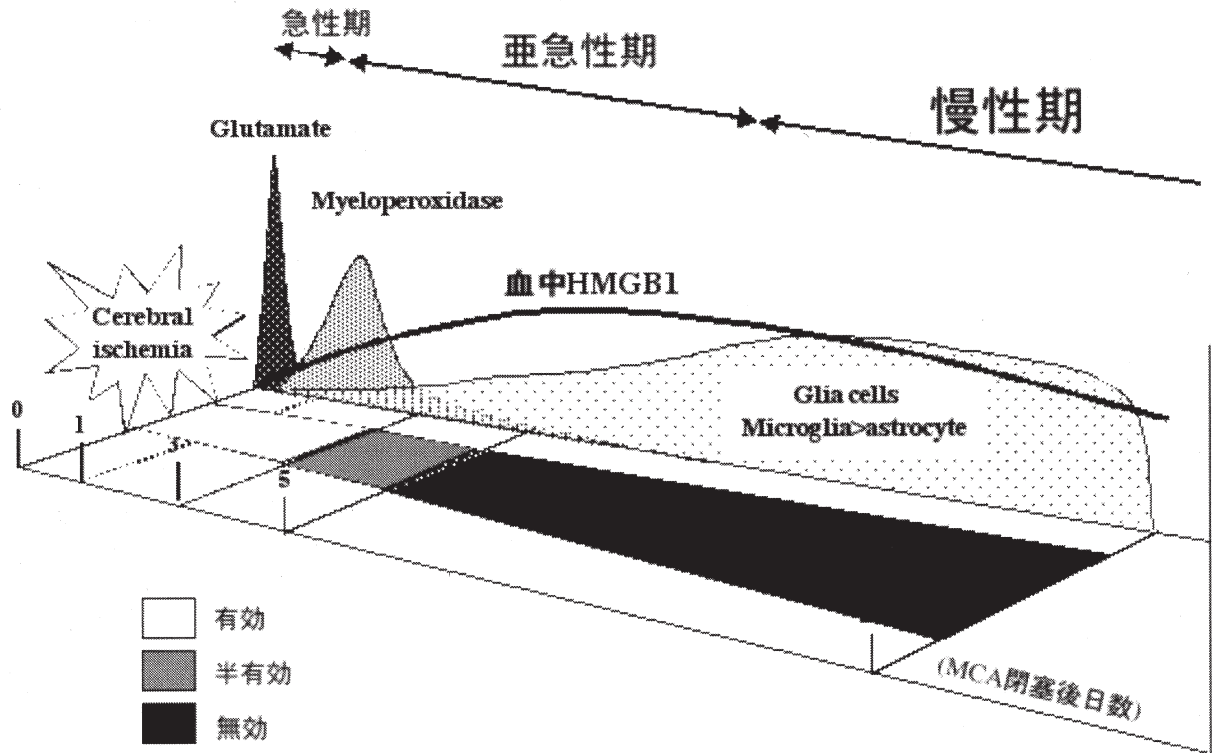


Fig.5 虚血性傷害を緩和するための CBD の投与時期

<参考文献>

1. Keeler, M.H., Reifler, C.B., Liptzin, C.B. Spontaneous recurrence of marihuana effect. *Amer. J. Psychiat.* 1968;125:384-486.
2. Braida D, Pegorini S, Arcidiacono MV, Consalez GG, Croci L, Sala M, Post-ischemic treatment with cannabidiol prevents electroencephalographic flattening, hyperlocomotion and neuronal injury in gerbils, *Neurosci Lett* . 2003;346:61-64.
3. Mechoulam R, Parker LA, Gallily R, Cannabidiol: an overview of some pharmacological aspects, *J Clin Pharmacol*. 2000;42:11S-19S.
4. Grotenhermen F. Pharmacology of cannabinoids. *Neuro Endocrinol Lett*. 2004;25:14-23.
5. Hampson AJ, Grimaldi M, Lolic M, Wink D, Rosenthal R, Axelrod J. Neuroprotective antioxidants from marijuana. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;899:274-282. Review.

6. Davene W.A., Dysarz F.A.<sup>3rd</sup>, Johnson M.R., Melvin L.S. Howlett A.C. Determination and characterization of cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol.* 1988;34:605-613.
7. Matsuda L.A., Lolait S.J., Brownstein M.J., Young A.C., Bronner T.I. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature.* 1990;346:561-564.
8. Munro S, Thomas K.L., Abu-Shaa M. Molecular characterization off a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature.* 1993;365:61-65.
9. Fernandez-Ruiz J, Gomez M, Hernandez M, de Miguel R, Ramos JA. Cannabinoids and gene expression during brain development. *Neurotox Res.* 2004;6:389-401.
10. Malilleux P, Vanderhaeghan JJ. Localization of cannabinoid receptor in the human developing and adult basal ganglia. Higher levels in the striatonigral neurons. *Neurosci Lett.* 1992;148:173-176.
11. Matsuda L.A., Bonner T.I. Localization of cannabinoid receptor mRNA in rat brain. *J Comp Neurol.* 1993;327:535-550.
12. Moldrich G, Wenger T. Localization of the CB<sub>1</sub> receptor in the rat brain. An immunohistochemical study. *Peptides.* 2000;21:1735-1742.
13. Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, CarriereD, Caarayon P, Bouaboula M, Sheir D, Le Fur, G and Casellas P. Expression of central and periperal cannabinoid receptors in human immune tissues and leucocyte subpopulations. *Eur J Biochem.* 1995;232:54-61.
14. Schats A.R., Lee M, Condie B.R., Pulaski J.T. and Kaminski N.E. Cannabinoid receptors CB1 and CB2 : a characterization of expression and adenylate cyclase modulation within the immune system. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1997;142:278-287.
15. Ameri A. The effects of cannabinoids on the brain. *Prog in Neurobiol.* 1998;58:315-348.
16. 杉浦隆之, 小高友子, 近藤佐知子, 中根慎治, 和久敬蔵. アナンダミドと 2-アラキドノイルグリセロール. *細胞工学.* 1998;17:746-753.
17. 杉浦隆之, 小高友子, 近藤佐知子, 中根慎治, 和久敬蔵. 2-アラキドノイルグリセロール. *蛋白質 核酸 酵素.* 1999;44:1104-1110.
18. 上田夏生. アナンダミドと関連化合物. *蛋白質 核酸 酵素.* 1999;44:1139-1145.
19. Hanus L, Abu-Lafi S, Fried A, Vogel Z, Shalev D.E., Kustanovich I and Mechoulam R. 2-arachidonyl glycerol ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor. *PNAS.* 2001;98:3662-3665.
20. Walter L, Franklin A, Witting A, Wade C, Xie Y, Kunos G, Mackie K, Stella N. Nonpsychotropic cannabinoid receptors regulate microglial cell migration. *J Neurosci.* 2003;23:1398-1405.

21. Leker RR, Gai N, Mechoulam R, Ovadia H, Drug-induced hypothermia reduces ischemic damage: effects of the cannabinoid HU-210, *Stroke*.2003;34: 2000-2006.
22. Mauler F, Hinz V, Augstein KH, Fassbender M, Horvath E. Neuroprotective and brain edema-reducing efficacy of the novel cannabinoid receptor agonist BAY 38-7271. *Brain Res*. 2003;989:99-111.
23. Sanchez MG, Ruiz-Llorente L, Sanchez AM, Diaz-Laviada I. Activation of phosphoinositide 3-kinase/PKB pathway by CB(1) and CB(2) cannabinoid receptors expressed in prostate PC-3 cells. Involvement in Raf-1 stimulation and NGF induction. *Cell Signal*. 2003;15:851-9.
24. Galve-Roperh I, Rueda D, Gomez del Pulgar T, Velasco G, Guzman M. Mechanism of extracellular signal-regulated kinase activation by the CB(1) cannabinoid receptor. *Mol Pharmacol*. 2002 ;62:1385-1392.
25. Derkinderen P, Valjent E, Toutant M, Corvol JC, Enslen H, Ledent C, Trzaskos J, Caboche J, Girault JA. Regulation of extracellular signal-regulated kinase by cannabinoids in hippocampus. *J Neurosci*. 2003;23:2371-2382.
26. Facchinetti F, Del Giudice E, Furegato S, Passarotto M, Leon A. Cannabinoids ablate release of TNFalpha in rat microglial cells stimulated with lipopolysaccharide. *Glia*. 2003;41:161-168.
27. Downer EJ, Fogarty MP, Campbell VA. Tetrahydrocannabinol-induced neurotoxicity depends on CB1 receptor-mediated c-Jun N-terminal kinase activation in cultured cortical neurons. *Br J Pharmacol*.;140:547-557.
28. McKallip RJ, Lombard C, Martin BR, Nagarkatti M, Nagarkatti PS. Delta(9)-tetrahydrocannabinol-induced apoptosis in the thymus and spleen as a mechanism of immunosuppression in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302:451-465.
29. Chan GC, Hinds TR, Impey S, Storm DR. Hippocampal neurotoxicity of Delta9-tetrahydrocannabinol. *J Neurosci*. 1998 Jul 15;18(14):5322-32.
30. Carrier EJ, Kearn CS, Barkmeier AJ, Breese NM, Yang W, Nithipatikom K, Pfister SL, Campbell WB, Hillard CJ. Cultured rat microglial cells synthesize the endocannabinoid 2-arachidonylglycerol, which increases proliferation via a CB2 receptor-dependent mechanism. *Mol Pharmacol*. 2004;65:999-1007.
31. Walter L, Franklin A, Witting A, Wade C, Xie Y, Kunos G, Mackie K, Stella N. Nonpsychotropic cannabinoid receptors regulate microglial cell migration. *J Neurosci*. 2003;23:1398-1405.
32. Hillard CJ, Auchampach JA. In vitro activation of brain protein kinase C by the

cannabinoids. *Biochim Biophys Acta*. 1994;1220:163-170.

33. Gallily R, Even-Chena T, Katzavian G, Lehmann D, Dagan A, Mechoulam R. Gamma-irradiation enhances apoptosis induced by cannabidiol, a non-psychotropic cannabinoid, in cultured HL-60 myeloblastic leukemia cells. *Leuk Lymphoma*. 2003;44:1767-1773.

34. Burstein SH, Karst M, Schneider U, Zurier RB. Ajulemic acid: A novel cannabinoid produces analgesia without a "high". *Life Sci*. 2004 ;75:1513-1522.

35. David B, Gareth P, Wayne LD, and C Robin H. In silico patent searching reveals a new cannabinoid receptor. *Trends. Pharmacol. Sci*. 2006;27:1-4.

36. Begg M, Pacher P, Batkai S, Osei-Hyiaman D, Offertaler L, Mo FM, Liu J, Kunos G. Evidence for novel cannabinoid receptors. *Pharmacol. Ther*. 2005;106:133-145.

37. Onaivi ES. Neuropsychobiological evidence for the functional presence and expression of cannabinoid CB2 receptors in the brain. *Neuropsychobiology*. 2006;54:231-246.

38. Thomas W. Klein, Cathy Newton, Kellie Larsen, Lily Lu, Lzabella Perkins, Liang nong and Herman Friedman. The cannabinoid system and immune modulation. *J Leu Biol*. 2003;74:486-497.

39. Dirnagl U, Simon RP, Hallenbeck JM. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci*. 2006;26:248-252.

40. Denes A, Vidyasagar R, Feng J, Narvainen J, McColl BW, Kauppinen RA, Allan SM. Proliferating resident microglia after focal cerebral ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007. in press.

#### <謝辞>

本稿を終わるにあたり、本研究に終始御指導と御鞭撻を賜りました福岡大学薬学部臨床疾患薬理学教室の藤原道弘教授、岩崎克典教授、三島健一准教授並びに福岡大学薬学部生化学教室の添田泰司教授に深く感謝致します。また、大麻成分の提供及び抽出に携わって頂きました九州大学薬学部の正山征洋教授、福岡大学薬学部生薬学教室の金城順英教授、土橋良太助教に深く感謝致します。また、本研究の遂行にあたり、数々の有益なる御助言と御協力を頂いた高崎浩太郎助教、桂林秀太郎助教に深く感謝致します。公私共に多大な御助言と御協力を頂いた佐野和憲氏、渡辺拓也氏、緒方歩女史、櫛川舞女史、三嶋翔平氏、田中ゆりか女史、中島貴史氏をはじめ福岡大学臨床疾患薬理学教室の皆様にご深く感謝いたします。また、学生生活を通じ、終始精神的、経済的支援を賜りました家族をはじめ多くの方々に深く感謝致します。最後に、本研究に尊い生命を提供して頂きました実験動物諸霊に深く感謝致します。