氏　　名	みょうせ　たかゆき 明瀬　孝之
学位の種類	博士（薬学）
報告番号	甲第 1772 号
学位授与の日付	平成 31 年 3 月 14 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当（課程博士）
学位論文題目	**大麻成分 Δ^{9}-tetrahydrocannabinol によるラットの超音波発声に関する行動薬理学的研究**
論文審査委員	（主　査）福岡大学　教授　三島　健一 （副　査）福岡大学　教授　岩崎　克典 福岡大学　教授　江川　孝

内　容　の　要　旨

大麻草には、カンナビノイド類、テルペン類やアルカロイド類などの約 740 種類以上の成分が含まれている。その中で活性成分として Δ^{9}-tetrahydrocannabinol（THC）、cannabidiol（CBD）及びβ-caryophyllene（β-CPH）がある（図 1）。THC は、大麻草の精神作用の本体でカンナビノイド(CB_1 及び CB_2)受容体の部分作動薬であり、投与量によって薬理作用が二相性を示す場合がある。一方、CBD は、中枢作用が弱く、CB_1 受容体をネガティブアロステリックモデュレーターとして調節し、大麻草の中で THC の薬理作用を変化させることが知られている。そのため、大麻草による薬理作用は複雑化している。

ヒトが大麻草を摂取すると、平衡感覚、空間感覚、視覚や聴覚など感覚機能に異常を生じる。そのため、音、接触、光などの外来刺激に対して過度の反応を示すことがある。しかし、動物実験レベルでは、このようなヒトでの大麻草による感覚機能の報告はない。これまでの我々の研究では、THC によるカタレプシー様不動状態において空気刺激を負荷すると、一瞬で不動状態が解けることや、von Frey test 及び prepulse inhibition test において、THC は、触覚刺激に対する感覚機能を亢進することを報告した。しかし、これらの実験は、拘束下で定量性がない主観的な評価系であった。そこで、我々は、ラットが発声する超音波に着目して、ラットの触覚機能を測定するための新規評価系の確立を目指して研究を行った。

超音波は、ヒトが感知できない高い周波数帯（20 kHz 以上）の音である。齧歯類は、超音波発声（ultrasonic vocalizations）を介してコミュニケーションをとることが知られている。近年の超音波発声に関する研究から、成熟ラットは、生体外刺激によって超音波を発声する特徴があり、嗜好性、ストレス反応、社会性・協調性などの生理行動または情動行動の指標として超音波発声が用いられている。このような超音波発声の特性を利用して、我々は THC による感覚機能を測定できる評価系が確立できないかと考えた。

そこで、本研究の第 1 章では、ラットの超音波発声に対する生体外刺激の条件を検討し、その発声状況、ソノグラムを詳細に解析し、大麻による感覚機能を測定できる実験装置と条件を設定した。第 2、3 章では、その新規評価系を用いて触覚機能に対する THC の影響を検討した。

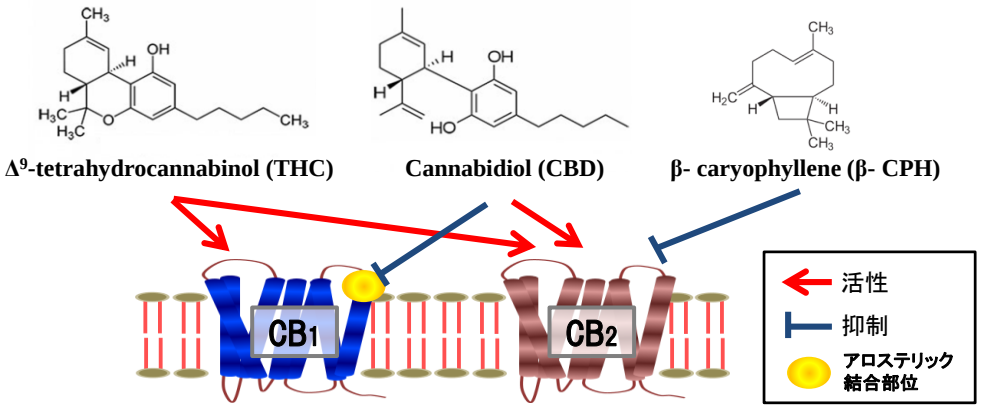


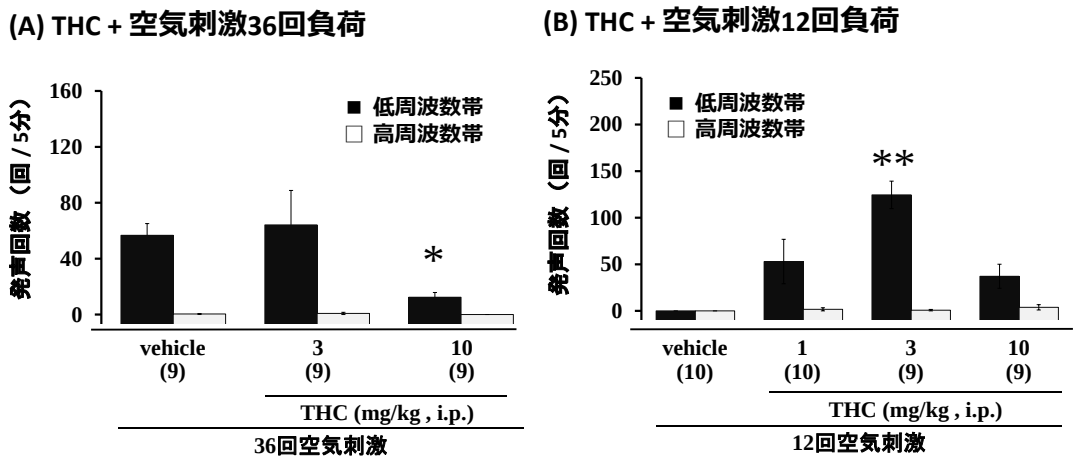
図 1　大麻成分の化学構造と CB 受容体への作用

①ラットの超音波発声の特性と感覚機能を測定するための新規評価系の確立

我々は、各種刺激条件によってラットが高周波数帯（45-100 kHz）と低周波数帯（20-30 kHz）の 2 つの超音波を発声することを発見した。その中で、低周波数帯の発声は、触覚刺激である空気刺激負荷（0, 12, 24, 36 回負荷）の強さによって発声回数が増加した。これらの結果から、非侵襲的な空気刺激による低周波数帯の発声を用いることで、新規の触覚機能評価系を確立した。

②空気刺激による低周波数帯の超音波発声に対する大麻成分の影響

36 回の空気刺激負荷に対して、THC 10 mg/kg は低周波数帯の発声回数を抑制した（図 1A）。一方、12 回の空気刺激負荷に対して、CBD 及び β-CPH は超音波の発声数に影響しなかったが、THC 3 mg/kg は低周波数帯の発声回数を増加させた（図 1B）。これらの結果から、大麻による触覚機能への影響は、THC のみが関与し、刺激の強さと THC の用量によって感覚過敏と感覚鈍麻が発現する複雑な作用であることがわかった。

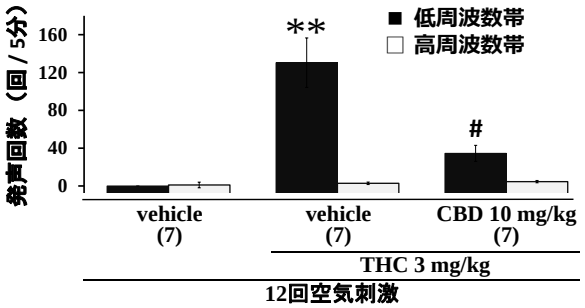


** p<0.05, ** p<0.01 vs vehicle，(One-way ANOVA followed Dunnet's test)*

図 2　空気刺激 36 または 12 回負荷後の超音波発声に対する THC の影響

③THC による感覚過敏における CB_1 受容体の関与

CB_1 受容体拮抗薬 SR141716 及び CB_1 受容体ネガティブアロステリックモデュレーターCBD は、空気刺激 12 回負荷後の THC による低周波数帯の超音波発声回数の増加作用を有意に抑制した（図 3)。しかし、CB_2 受容体拮抗薬 AM630 は発声回数を抑制しなかった。これらのことから、THC による感覚過敏は、CB_1 受容体を介して発現することがわかった。



** p<0.01, vs vehicle，#p<0.05 vs THC 3 mg/kg，(One-way ANOVA followed Dunnet's test)

図 3 THCによる12回空気刺激負荷後の低周波数帯発声数増加に対するCBDの影響

本研究は、ラット超音波発声を用いて、非拘束下で簡便で客観的かつ定量性のある新規触覚機能の評価系を確立した。この評価系は、触覚機能の発現機序の解明やその新薬開発への応用が期待できる。また、大麻成分 THC の薬理作用には触覚機能に対する感覚過敏と感覚鈍麻の発現があることを動物実験レベルで初めて明らかにし、CB_1 受容体が THC による感覚異常に関与していることを解明した。

審査の結果の要旨

大麻（cannabis）は、世界で最も乱用されている薬物である。我が国においても、平成25年以降、大麻事犯による検挙者数が増加し、低年齢層への広がりが社会的問題となっている。

大麻草には、カンナビノイド類、テルペン類やアルカロイド類などの約500種類以上の成分が含まれている。その中で活性成分として、Δ^9-tetrahydrocannabinol（THC）、cannabidiol（CBD）及びβ-caryophyllene（β-CPH）などがある。最近、品種改良などにより大麻草中のTHC濃度が上昇していることが報告されている。THCは、大麻草の精神作用の本体でカンナビノイド(CB_1及びCB_2)受容体の部分作動薬であり、投与量によって薬理作用が相反性を示す場合がある。一方、CBDは精神作用が弱く、CB_1受容体をネガティブアロステリックモデュレーターとして調節し、大麻草の中でTHCの作用を変化させることが知られている。そのため、大麻草中のTHC濃度上昇も含めて、その作用は複雑化している。

ヒトが大麻草を摂取すると、平衡感覚、空間感覚、視覚や聴覚など感覚機能に異常を生じる。そのため、音、接触、光などの外来刺激に対して過度の反応を示すことがある。これまでの我々の研究では、THCによるカタレプシー様不動状態において空気刺激や音刺激を負荷すると、一瞬で不動状態が解けることや、von Frey test および prepulse inhibition testにおいて、THCは触覚刺激に対する感覚機能を亢進することを報告した。しかし、これらの実験は拘束下で定量性がない主観的な評価系であった。そこで、我々はラットが発声する超音波に着目して、非侵襲的で無拘束状態で定量性のあるラットの触覚機能を測定するための新規評価系の確立を目指して研究を行った。

超音波は、ヒトが感知できない高い周波数帯（20 kHz 以上）の音である。齧歯類は、超音波発声（ultrasonic vocalizations）を介してコミュニケーションをとることが知られている。近年の超音波発声に関する研究から、成熟ラットは、生体外刺激によって超音波を発声する特徴があり、嗜好性、ストレス反応、社会性・協調性などの生理行動または情動行動の指標として超音波発声が用いられている。このような超音波発声の特性を利用して、我々はTHCによる触覚機能を測定できる評価系が確立できないかと考えた。

そこで、本研究では、ラットの超音波発声に対する生体外刺激の条件を検討し、その発声状況、ソノグラムを詳細に解析し、大麻による触覚機能を測定できる実験装置と条件を設定した。次に、その新規評価系を用いて触覚機能に対する大麻成分の影響を検討した。

<u>①ラットの超音波発声の特性と触覚機能を測定するための新規評価系の確立</u>

我々は、各種刺激条件によってラットが高周波数帯（45-100 kHz）と低周波数帯（20-30 kHz）の 2 つの超音波を発声することを確認した。その中で、低周波数帯の発声は、触覚刺激である空気刺激負荷（0,12,24,36回負荷）の強さによって発声回数が増加した。これらの結果から、非侵襲的な空気刺激による低周波数帯の超音波発声を用いることで、新規の触覚機能評価系を確立した。

<u>②空気刺激による低周波数帯の超音波発声に対する大麻成分の影響</u>

36 回の空気刺激負荷に対して、THC 10 mg/kg は低周波数帯の発声回数を抑制した。一方、12 回の空気刺激負荷に対して、THC 3 mg/kg は低周波数帯の発声回数を増加させた。また、CBD 及びβ-CPH はいずれの条件下においても超音波の発声数に影響しなかった。これらの結果から、大麻による触覚機能への影響は、大麻成分の中で THC が関与し、刺激の強さと THC の用量によって触覚機能に対して過敏作用と鈍麻作用が発現する複雑な作用であることがわかった。

③THC による触覚過敏作用における CB_1 受容体の関与

CB_1 受容体拮抗薬 SR141716 及び CB_1 受容体ネガティブアロステリックモデュレーター CBD は、空気刺激 12 回負荷後の THC による低周波数帯の超音波発声回数の増加作用を有意に抑制した。しかし、CB_2 受容体拮抗薬 AM630 は発声回数を抑制しなかった。これらのことから、THC による触覚過敏作用は、CB_1 受容体を介していることがわかった。

本研究では、ラット超音波発声を用いて、非拘束下で簡便で客観的かつ定量性のある新規触覚機能の評価系を確立した。この評価系を用いることで、触覚機能の発現機序の解明やその新薬開発への応用が期待できる。また、大麻成分 THC は、触覚機能に対する過敏作用と鈍麻作用があることを動物実験レベルで初めて明らかにし、CB_1 受容体が感覚刺激の強さによって感じ方が変わる仕組みに関与していることを明らかにした。

以上、本研究は、触覚機能を測定するための新規評価系を確立し、それを用いて大麻の薬理作用について新しい知見を得ていることから高く評価できる。また、論文業績ならびに公聴会審査における申請者の質疑応答は、学位を授与するのに適切な能力であると判断した。本論文は、大麻の有用性と危険性を考えるうえで重要な研究であり、学位論文として十分に評価できるものと判定した。