

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24621013

研究課題名(和文)カンナビノイドの睡眠調節作用の解明

研究課題名(英文)Effects of cannabinoids on sleep/wake regulation

研究代表者

内山 奈穂子(Uchiyama, Nahoko)

国立医薬品食品衛生研究所・生薬部・主任研究官

研究者番号：60392297

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、カンナビノイドの睡眠・覚醒調節に関わる新たな作用機構の解明を目的とする。3種の合成カンナビノイドcannabicyclohexanol (CCH), JWH-018, (-)-CP-55940の自発運動量抑制作用は、野生型マウスの場合と比較して睡眠覚醒障害モデル動物であるリボカリン型プロスタグランジン(PG)D合成酵素(L-PGDS)或いはアデノシンA2A受容体遺伝子欠損マウスにおいて有意に増強された。さらに、これらカンナビノイド投与後の野生型及びL-PGDS遺伝子欠損マウスの脳波は、生理的なノンレム睡眠或いはレム睡眠の何れの脳波とも異なることが判明した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on the effects of cannabinoids on sleep/wake regulation. In the initial study, we revealed that three synthetic cannabinoids: cannabicyclohexanol (CCH), JWH-018 and (-)-CP-55940, dramatically decreased the locomotor activity (LOC) in wild-type (WT) mice. Subsequently, we compared the suppressive effects of the three synthetic cannabinoids on LOC in Lipocalin-type prostaglandin D synthase (L-PGDS) KO mice and adenosine A2A receptors (A2AR) KO mice, animal models of sleep/wake disorders. The suppressive effects of these cannabinoids on LOC were more potent in L-PGDS KO and/or A2AR KO mice than those of WT mice. Additionally, we tested the effects of the three cannabinoids on sleep/wake regulation evaluated by electroencephalogram (EEG) in WT and L-PGDS KO mice. These cannabinoids significantly changed the EEG power spectrum in WT as well as in L-PGDS KO mice. The power spectrum observed was different from non-rapid eye movement (non-REM) or REM sleep.

研究分野：睡眠科学

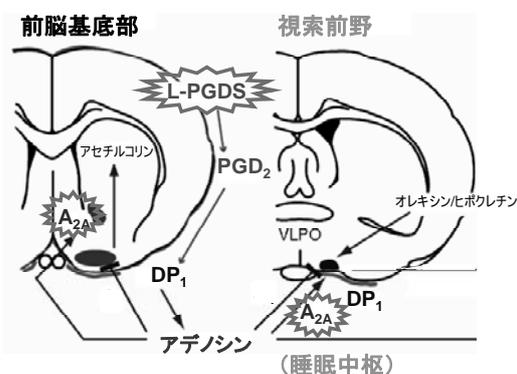
キーワード：カンナビノイド 睡眠 覚醒 脳波 リボカリン型プロスタグランジンD合成酵素 アデノシンA2A受容体

### 1. 研究開始当初の背景

カンナビノイドは、多幸感や幻覚などの精神症状を誘発する「大麻（マリファナ）」の主活性成分である  $\Delta^9$ -テトラヒドロカンナビノール ( $\Delta^9$ -THC) に代表される植物由来カンナビノイドや、脳内で発見されたアラキドン酸誘導体アナンダミドなどの内因性カンナビノイドとして多数存在する。これらカンナビノイドは、脳内のカンナビノイド受容体 (CB-R) を介して記憶、学習、食欲などの中枢作用に関与することが知られている。また、CB-R は、グルタミン酸、GABA、アセチルコリン等の神経シナプス前膜に存在し、シナプス後膜から遊離される内因性カンナビノイドを介して、各種伝達物質の遊離を抑制することや、統合失調症などの精神疾患と CB1-R および内因性カンナビノイドとの関連性が指摘されている (①)。最近、これらカンナビノイドが睡眠を促進することが報告されたが (②)、その詳細な作用については未だ不明な点が多い。

我々はこれまでに、 $\Delta^9$ -THC 及び大麻様の作用を有する合成カンナビノイド (cannabicyclohexanol (CCH), JWH-018) をラットに投与し、脳波および自発運動量に与える影響を調べた。その結果、いずれのカンナビノイドもラット脳波のほぼ特定の周波数 (シータ波) を有意に増強させるとともに、自発運動量を減少させることを明らかにしている (③)。シータ波は主にレム睡眠 (夢を見ている状態) 時に現れる周波数帯域であり、この現象は非常に興味深い結果であるが、その作用機構は不明である。

一方、これまでに、我々のグループは睡眠物質プロスタグランジン  $D_2$  (PGD<sub>2</sub>) 及びアデノシンによる睡眠調節に関する研究を行ってきた (④)。内因性睡眠物質である PGD<sub>2</sub> は、前脳基底部クモ膜細胞に存在する DP<sub>1</sub> 受容体に結合してアデノシンを遊離させる。遊離アデノシンは、前脳基底部に局在するアデノシン A<sub>2A</sub> 受容体 (A<sub>2A</sub>-R) を発現している神経を刺激し、その結果、睡眠調節中枢と考えられている腹側外側視索前野 (VLPO) の活動



●星枠の部分: (リポカリン型PGD合成酵素(L-PGDS), アデノシンA<sub>2A</sub>受容体)

(図1)睡眠覚醒の情報伝達系の概略

を亢進させ、睡眠を誘発する (図1)。しかし、この調節機構に関して未だ解明されていない点は多くあり、今後も研究が必要である。

### 2. 研究の目的

本研究では、睡眠・覚醒調節に関わる新たな作用機構として、カンナビノイドによる睡眠調節作用を解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

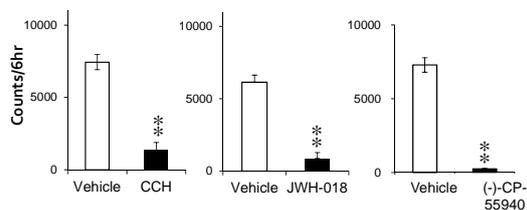
(1) 構造の異なる 5 種類のカンナビノイド [ CCH , JWH-018 , (-)-CP-55940 , (+)-WIN-55212-2 ], 及び内因性カンナビノイドのアナンダミド] を選定し、野生型マウスの腹腔内に投与し、各薬物のマウス自発運動量に及ぼす作用を検討した。

(2) 次に、睡眠覚醒障害モデル動物として、リポカリン型 PGD 合成酵素 (L-PGDS) 及びアデノシン A<sub>2A</sub> 受容体遺伝子欠損マウスの腹腔内に投与し、CCH, JWH-018, (-)-CP-55940 投与によるマウスの自発運動量に及ぼす作用を検討した。

(3) 続いて、これら 3 種の合成カンナビノイドの野生型及び L-PGDS 遺伝子欠損マウスの脳波に及ぼす作用を検討した。

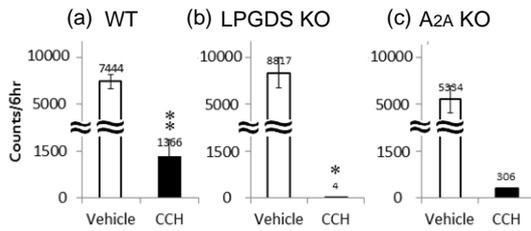
### 4. 研究成果

(1) 5 種類のカンナビノイド [CCH, JWH-018, (-)-CP-55940, (+)-WIN-55212-2, アナンダミド] を野生型マウスに投与し、各薬物のマウス自発運動量に及ぼす作用を検討した。その結果、CCH, JWH-018 及び(-)-CP-55940 投与マウスに、顕著な自発運動量の減少がみられた (図2)。さらに、この 3 種の合成カンナビノイドについて用量依存性を調べた結果、用量依存的な自発運動量の減少作用が認められた。



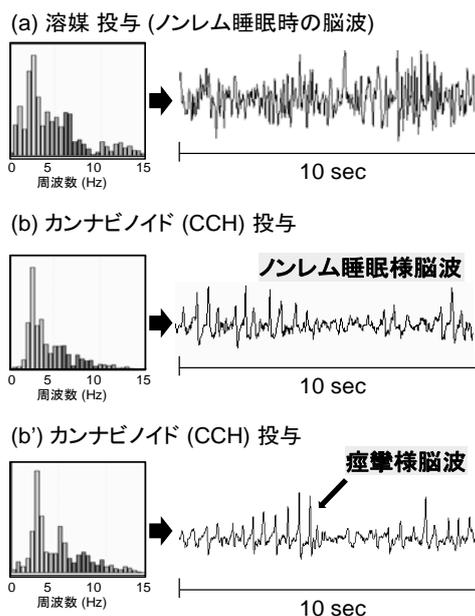
(図2)カンナビノイド(CCH, JWH-018, (-)-CP-55940) (5 mg/kg i.p.) 投与後6時間の野生型マウスの合計運動量

(2) 次に、睡眠覚醒障害モデル動物として、リポカリン型 PGD 合成酵素 (L-PGDS) 及びアデノシン A<sub>2A</sub> 受容体遺伝子欠損マウスを用いて、CCH, JWH-018, (-)-CP-55940 をそれぞれ投与した。その結果、これら薬物を投与後、野生型マウスの場合と比較していずれの遺伝子欠損マウスにおいても自発運動量の抑制作用がより増強された (図3)。

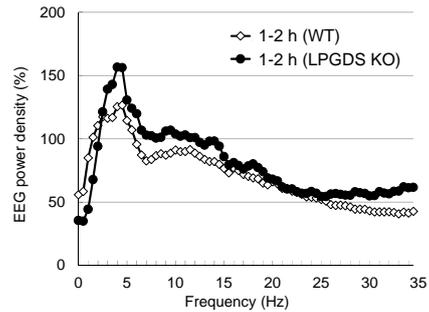


(図3)カンナビノイド(CCH) (5 mg/kg i.p.)投与後6時間の野生型(a)LPGDs KO(b)A<sub>2A</sub> KO(c)マウスの合計運動量

(3) 続いて、これら3種の合成カンナビノイドの野生型及びL-PGDS遺伝子欠損マウスの脳波に及ぼす作用を検討した。各薬物を野生型マウスに腹腔内投与した結果、全ての化合物投与後の脳波に共通して、2-5Hz(主にデルタ波:ノンレム睡眠時に増強する帯域)のスペクトル強度が有意に増加した。しかし、カンナビノイド投与によって誘発されるこの帯域を詳しく解析したところ、投与後の運動量抑制時の脳波は、生理的なノンレム睡眠或いはレム睡眠のいずれの脳波とも異なることが判明した。また、痙攣様の脳波が断続的に出現することも判明した(図4)。従って、これまでカンナビノイドにとって誘発されると考えられてきた特定脳波帯域(ノンレム睡眠(主にデルタ波))の増強は、従来の分類法で定義された生理的な睡眠とは明らかに異なると考えられた。さらに、野生型マウスの場合と比較してL-PGDS遺伝子欠損マウス脳波において、上記帯域のスペクトル強度がより増強された(図5)。また、これらカンナビノイド投与後におけるマウスの自発運動量抑制作用と睡眠様脳波発現の持続時間には相関がみられた。



(図4) Vehicle(a)及びカンナビノイド(CCH)投与後(b, b')における野生型マウス脳波の各周波数強度及びその脳波パターン



(図5)CCH投与1-2時間後の野生型(WT)及びLPGDS KOマウス脳波(EEG)の各周波数における強度

以上の結果から、カンナビノイドの自発運動量抑制及び睡眠様作用の増強作用の調節には、L-PGDS-PGD<sub>2</sub>-(DP1)-アデノシン-A<sub>2A</sub>-Rという睡眠情報伝達経路も関与している可能性が示唆された。カンナビノイドは、一般的に中枢において抑制作用をもたらすと考えられるが、なぜ睡眠誘発に働く伝達系の一部(L-PGDS及びアデノシン-A<sub>2A</sub>-R)を遮断したマウスでは行動抑制作用が増強されるのか、また睡眠様脳波の強度が増強されるのか、さらに両作用は連動して起こるのか不明である。

今後、カンナビノイドによる自発運動量抑制作用及びノンレム睡眠様脳波と痙攣様脳波発生の作用機構について、カンナビノイド受容体選択的阻害薬或いは作動薬やL-PGDS, A<sub>2A</sub>-Rの選択的阻害剤やKOマウスを用いて詳細な検討を進めたいと考えている。

<引用文献>

- ① 山本経之, 日本薬理学雑誌 (2007) 130, 135-140.
- ② Murillo-Rodriguez E, et al., Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem. (2011) 11:189-96.
- ③ Uchiyama N., et al., Forensic Sci. Int. (2012) 215,179-183., Sleep and Biological Rhythms (2011) 9, 342.
- ④ Urade Y, Hayaishi O, Future Neurol., (2010) 5, 363-376.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

- ① 内山奈穂子, 有竹浩介, 裏出良博: 睡眠覚醒障害モデル動物リポカリン型プロスタグランジンD合成酵素及びアデノシンA<sub>2A</sub>受容体遺伝子欠損マウスの自発行動におけるカンナビノイドの作用 (Effect of cannabinoids on locomotor activity in KO mice of lipocalin-type prostaglandin D synthase and adenosine A<sub>2A</sub> receptors as animal models of sleep/wake disorders) 第87回日本薬理学会年会 (仙台 2014.3)

- ② Uchiyama N., Aritake K., Urade Y. Effect of cannabinoids on locomotor behavior and sleep/wake regulation in lipocalin-type prostaglandin D synthase and adenosine A2A receptors KO mice. FEBS-EMBO2014 (フランス 2014.9)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

内山 奈穂子 (UCHIYAMA, Nahoko)  
国立医薬品食品衛生研究所・生薬部・主任  
研究官  
研究者番号：60392297

### (2)研究分担者

有竹 浩介 (ARITAKE, Kosuke)  
筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・  
准教授  
研究者番号：70390804

### (3)連携研究者

裏出 良博 (URADE, Yoshihiro)  
筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・  
教授  
研究者番号：10201360