

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：37303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16389

研究課題名（和文）大麻主要活性成分 9-THCの第二世代マウスにおける影響

研究課題名（英文）Effects of repeated THC in second-generation mic

研究代表者

福森 良（FUKUMORI, RYO）

長崎国際大学・薬学部・助教

研究者番号：60713774

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、大麻の主要活性成分である 9-THCを親マウスに反復投与して、その後
に交配して生まれた、第二世代マウスにおける影響について検討した。その結果、薬物を直接摂取していない第
二世代マウスにおいても、自発運動量の低下や、感覚情報処理機能の障害が認められた。9-THCが作用する、
カンナビノイドCB1受容体を遺伝的に欠損させたマウスでは、第二世代マウスにおける自発運動量の低下がみら
れなかったことから、CB1受容体が高次行動への影響に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昨今の社会情勢において、大麻/マリファナは最も注目度の高い依存性薬物であるが、諸外国では「医療用」と
しての使用のみならず、「嗜好品」としての使用も一部の国では許可されている。我が国においては、大麻は依
然として規制薬物であるが、近年は大麻の乱用が著明に増加している。このような社会情勢を鑑みて、本研究に
おいて検討した薬物を直接摂取していない第二世代マウスにおける影響について啓発することは、大麻乱用を予
防するための社会貢献の観点からも、非常に重要であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the effects of repeated administration of THC
on second-generation mice. THC was repeatedly administered to the parent mice. The second
generation mice showed reduced locomotor activity and impairment of sensorimotor gating function.
However, CB1KO mice, locomotor activity was not reduced in the second generation mice. These results
suggest that CB1 receptors might be involved in the decrease of locomotor activity in
second-generation mice.

研究分野：神経精神薬理学

キーワード：大麻 THC 第二世代 内因性カンナビノイド

1. 研究開始当初の背景

昨今の社会情勢において、大麻/マリファナは最も注目度の高い依存性薬物であるが、諸外国では「医療用」としての使用のみならず、「嗜好品」としての使用も一部の国では許可されている。我が国においては、大麻は依然として規制薬物であるが、近年は大麻の乱用が増加している。このような社会情勢を鑑みて、大麻使用の影響を検討することは社会貢献の観点からも非常に重要である。

大麻はさまざまな影響を引き起こす。大麻および、その主要活性成分である Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール(THC)を短期間摂取すると、様々な認知過程(短期記憶、作業記憶、注意、学習など)が障害される(Solowij et al., 2012、pesa et al., 2012)。さらに、長期的な使用では、脳の局所的な容積の減少や、これに関連した認知機能障害を引き起こされる可能性が報告されている(Yucel et al., 2008、zalesky et al., 2012)。また、大麻の長期摂取では、統合失調症に類似した精神病症状を引き起こす可能性や、精神病の発症を高める可能性も報告されている(Solowij et al., 2012、Pelayo-teran et al., 2012)。動物実験においても THC により精神病様作用が認められる(Malone et al., 2006)。このように、大麻および THC は、精神病症状や認知機能障害を引き起こす可能性が多く報告されている。しかしながら、これらの報告は大麻および THC の直接的な影響に関するものが大部分である。

2. 研究の目的

近年、薬物の摂取はエピジェネティックな変化を引き起こし、仔に影響を与えるといった報告が徐々になされている。雄の親マウスにおける連続的なコカインの摂取は、仔のコカインに対する依存性を増強させる(Vassoler et al., 2013)、または仔の認知機能を障害する(He et al., 2005)。これらの報告では、親マウスにおけるヒストンのアセチル化または DNA のメチル化等が、仔に影響を与える事が示唆されている。

本研究では、THC を反復投与後のマウスより生まれた仔マウス(第二世代マウス)における影響を探索することが目的である。大麻および THC の影響についての研究は、直接的な作用についてのものがほとんどであり、これまでに薬物を直接投与していない第二世代マウスにおける影響を検討した報告は皆無に等しい。そこで本研究では、雄マウス、または雌マウスに THC を反復投与し、その後で交配して、生まれた第二世代マウスにおける影響について行動生物学的、分子生物学的に検討した。

3. 研究の方法

動物は、ICR 系(野生型)マウスの雌雄に生理食塩水または THC3.2mg/kg を 30 日間皮下反復投与した。10 日間の退薬期間を設けた後に、生理食塩水を投与した雌雄同士、THC を投与した雌雄同士をそれぞれ交配した(図 1)。その後生まれた仔マウス(第二世代マウス)を 8 週齢まで飼育した後に行動試験を行った。また、本研究ではカンナビノイド CB_1 受容体ノックアウト (CB_1KO) マウスも使用し、ICR 系マウスと同様の実験を行った。

行動試験としては、

- 自発運動量を測定する Open field 試験、
- 感覚情報処理機能を測定する Prepulse inhibition 試験、
- 協調運動を評価する Rotarod 試験
- 認知機能を評価する Novel object recognition 試験

を行い、第二世代マウスにおける脳高次機能の変容を検討した。

これと共に THC を投与した親マウスの交配までの期間、妊娠期間、出産した仔の数および、第二世代マウスの体重の変化を測定することで、生殖機能や身体的特徴の変容の有無を検討した。

また、第二世代マウスにおける影響のメカニズムを検討する目的で、成長後の脳組織における内因性カンナビノイド(アナンダミド、2-AG)の発現変動を LC/MS/MS 法にて検討した。

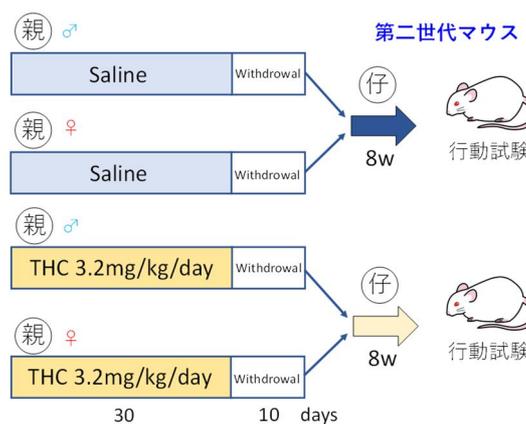


図 1: 実験スケジュール

4. 研究成果

Open field 試験

野生型マウスでは、生理食塩水投与群とくらべて、THC 投与群から生まれた第二世代マウスで自発運動量が有意に低下していた。また、中心部の滞在時間も THC 投与群から生まれた第二世代マウスで有意に低下していた。一方で、CB₁KO マウスでは、生理食塩水と THC 投与群の親から生まれた第二世代マウスの間で、自発運動量および中心部の滞在時間に差は認められなかった。(図 2) このことから、THC 投与群から生まれた第二世代マウスの自発的行動量の低下には CB₁ 受容体が関与していると考えられる。

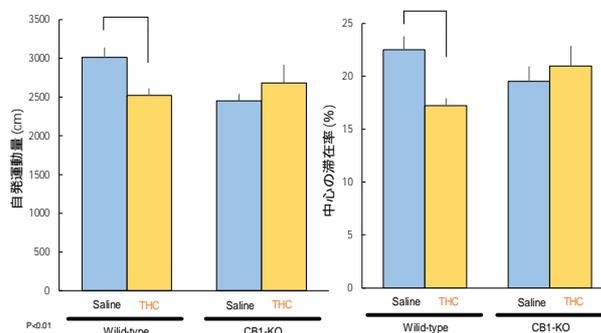


図 2: 第二世代マウスにおける自発運動量の変化

Prepulse Inhibition 試験

野生型マウスでは、生理食塩水投与群の親から生まれた第二世代マウスで、プレパルスにより驚愕反応が約 80% 抑制された (PPI)。これとくらべて、THC 投与群の親から生まれた第二世代マウスでは PPI が著明に低下した。また、CB₁KO マウスにおいても野生型マウスと同様の結果となり、生理食塩水投与群とくらべて、THC 投与群の親から生まれた第二世代マウスは PPI が著明に低下した。(図 3)このことから、PPI の抑制には CB₁ 受容体が関与していないことが示唆される。

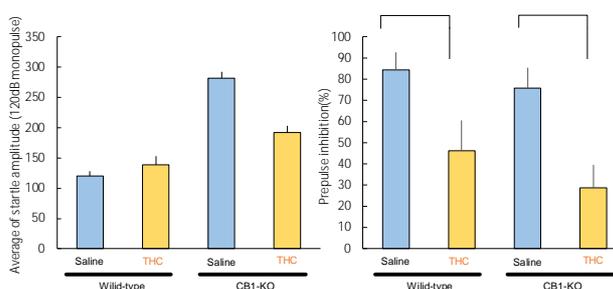


図 3: 第二世代マウスにおける感覚情報処理機能の変化

新奇物体認知試験

野生型マウスでは、生理食塩水と THC 投与群の親から生まれた第二世代マウスの間で、rota rod 行動に差は認められなかった。また CB₁KO マウスにおいても、生理食塩水と THC 投与群の親から生まれた第二世代マウスの間で、rota rod 行動に差は認められなかった。

新奇物体認知試験

野生型マウスでは、生理食塩水と THC 投与群の親から生まれた第二世代マウスの間で、新奇物体に対するアプローチ率に差は認められなかった。また CB₁KO マウスにおいても、生理食塩水と THC 投与群の親から生まれた第二世代マウスの間で、新奇物体に対するアプローチ率に差は認められなかった。

THC 投与による生殖機能や成長への影響

生理食塩水と THC 投与群の親から生まれた仔の数 (pup number) は、有意な差がなかった。(図 4A)

さらに、親マウスの交配までの期間、妊娠期間、および出産した仔の数についても変化は見られなかった。

また、第二世代マウスの成長に伴う体重の変化を測定したが、これについても親マウスに対する THC 投与の影響は見られなかった。(図 4B)

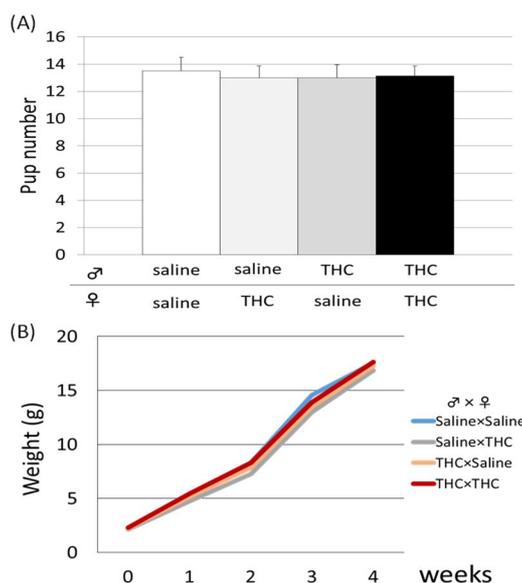


図 4: THC 投与による生殖機能や成長への影響

第二世代マウスの脳組織における内因性カンナビノイドの変化

第二世代マウスにおける影響のメカニズムを検討する目的で、成長後の脳組織における内因性カンナビノイド(アナンダミド、2-AG)の発現変動をLC/MSMS法にて検討した。

LC/MSMS法では、マウスから全脳を摘出し、その後、前頭皮質、線条体、海馬、扁桃体周辺部、延髄の脳の主要な5つの部位に分画し、直ちに液体窒素で瞬間凍結させた。アセトニトリルを添加し、超音波処理によってホモジナイズしたのち、遠心分離して得られた上清を測定サンプルとして調整した。今回用いた測定条件では、クロマトグラム上において2-AG、アナンダミド共に単独のピークを示し、また測定範囲内では直線的な検量線が得られることを確認している。

LC/MS/MS法による測定方法の妥当性を検討する目的で、内因性カンナビノイド分解酵素阻害薬を用いて脳内カンナビノイドの変化を薬理的に検討した。2-AG分解酵素であるモノアシルグリセロールリパーゼ(MAGL)阻害薬としてJZL184(40mg/kg)、AEA分解酵素阻害薬である脂肪酸アミド加水分解酵素(FAAH)阻害薬としてURB597(10mg/kg)、またはVehicleはマウスに腹腔内投与し、投与から2時間後にサンプルを回収した。その結果、脳内の2-AGは、2-AGの分解酵素阻害薬であるJZL184を投与した場合のみ、今回測定した全ての脳部位で増加した。また、AEAは、AEAの分解酵素阻害薬であるURB597を投与した場合のみ、今回測定した全ての脳部位で増加した。(図5)

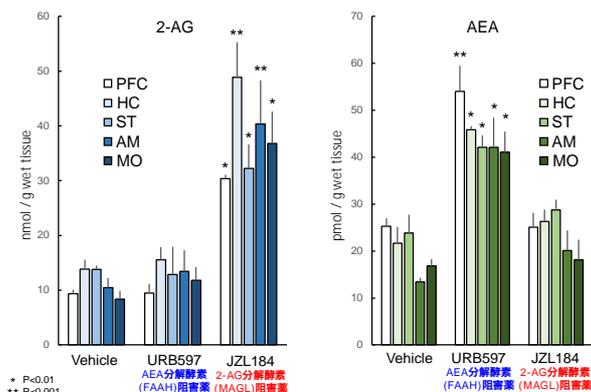


図5：内因性カンナビノイド分解酵素阻害薬による脳内カンナビノイド量の変化

測定方法が確立出来た、このLC/MSMS法を用いて、第二世代マウスにおける脳内内因性カンナビノイドの変化を検討した。その結果、THC群の第二世代マウスでは、8週齢において2-AGが減少する傾向がみられている。しかしながら、この結果については検討途中であり、今後さらなる検討が必要である。

【考察・結論】

Open-field試験では野生型のマウスで生理食塩水投与群とくらべて、THC投与群から生まれた第二世代マウスでは自発運動量が有意に低下していたが、CB₁KOマウスでは認められなかった。このことから、THC投与群から生まれた第二世代マウスの自発的行動量の低下にはCB₁受容体が関与していると考えられる。一方で、Prepulse Inhibition試験においては野生型のマウスで生理食塩水投与群とくらべて、THC投与群から生まれた第二世代マウスではPPIが著明に低下したが、CB₁KOマウスでも同様の結果であった。このことから、PPIの抑制にはCB₁受容体が関与していないことが示唆される。

今回の結果から、薬物を直接摂取していない第二世代マウスにおいても、THCがマウス高次行動に影響を与える可能性が明らかとなった。現在、まだ検討途中ではあるが、成長後の第二世代マウスの脳内において、内因性カンナビノイドが変化している可能性があり、高次行動の変化に内因性カンナビノイドが関与している可能性が示唆される。また近年、薬物の摂取はエピジェネティックな変化を引き起こし、仔に影響を与えるといった報告が徐々になされている(Vassoler et al., 2013, He et al., 2005)。THCが第二世代マウスに与える影響も、このようなエピジェネティック影響により引き起こされた可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 福森 良、太田 賢作、山本 経之、山口 拓
2. 発表標題 メタンフェタミン退薬後に発現するPrepulse inhibition障害に対するカンナビノイドCB1受容体拮抗薬の効果
3. 学会等名 第50回日本神経精神薬理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福森 良、太田 賢作、山本 経之、山口 拓
2. 発表標題 メタンフェタミン退薬後の認知機能障害発現における内因性カンナビノイドシステムの関与
3. 学会等名 第49回日本神経精神薬理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福森 良、太田賢作、山本経之、山口 拓
2. 発表標題 メタンフェタミン退薬時に発現する感覚情報処理機能障害におけるカンナビノイドCB1受容体の関与
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------