

# 東北薬科大学

## 審査学位論文（博士）要旨

氏名（本籍）	ながおか こうし 長岡 高史（岩手県）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	甲第 138 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条 1 項該当
学位論文題名	カンナビノイド受容体を介した疼痛制御機構に関する 行動薬理学的検討
論文審査委員	主査 特任教授 櫻田 忍
	副査 教授 大久保 恭 仁
	副査 教授 石川 正 明

カンナビノイド受容体を介した疼痛制御機構に  
関する行動薬理学的検討

論文内容要旨

東北薬科大学大学院薬学研究科薬学専攻博士課程後期課程  
機能形態学教室

長岡 高史

# カンナビノイド受容体を介した疼痛制御機構に関する行動薬理学的検討

東北薬科大学大学院薬学研究科  
機能形態学教室 長岡 高史

## 緒言

大麻は、鎮痛、鎮静および気管支拡張といった治療効果を目的として日本薬局方にも収載されていた歴史を持つが、現在では大麻取締法によりその所持は規制され、今日では日本薬局方から削除されている。しかし、1990年にCB<sub>1</sub>受容体が同定されて以来、CB<sub>1</sub>受容体を介した薬理作用に関する研究が新たに進展している。CB<sub>1</sub>受容体は、記憶を司る海馬や運動機能を担う小脳や大脳基底核、大脳皮質などの中枢神経系に豊富に存在している。細胞体や樹状突起における発現は少なく、シナプス前膜側に豊富に発現しており、シナプス前膜終末より神経伝達物質の遊離を抑制的に制御していることが報告されている。また、内因性カンナビノイドやCB<sub>1</sub>受容体作動薬によるCB<sub>1</sub>受容体の活性化によって抗侵害作用が発現することが報告されており、CB<sub>1</sub>受容体は疼痛制御に深く関与していることが示唆されている。一方、CB<sub>2</sub>受容体は主に脾臓や肥満細胞などの免疫系細胞に発現し、サイトカインや免疫機能の調節を行っていると言われている。しかし、CB<sub>2</sub>受容体作動薬により炎症性疼痛モデルや神経障害性疼痛モデルにおける疼痛反応が抑制されることが報告されていることから、CB<sub>2</sub>受容体もまた疼痛制御に関与している可能性が考えられる。

脊髄において疼痛刺激は、脊髄後角表層部（I、II層）へと投射する一次知覚神経から二次神経へシナプス伝達される。一次知覚神経終末には疼痛伝達物質であるサブスタンスP（SP）及びグルタミン酸が豊富に存在し、それぞれ二次神経上のNeurokinin 1（NK<sub>1</sub>）受容体およびN-methyl-D-aspartate（NMDA）受容体に結合し、その疼痛刺激を上位中枢へと伝えている。これら疼痛伝達物質の遊離は、一次知覚神経終末に存在するTransient receptor potential cation channel subfamily V member 1（TRPV1）受容体によって制御されており、その選択的作動薬であるcapsaicinの投与により実際にSP

やグルタミン酸が遊離されることが報告されている。また、NMDA 受容体の活性化による細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  の流入は、一酸化窒素合成酵素 (NO synthase : NOS) の活性化による NO の産生、並びに細胞内情報伝達系の mitogen-activated protein kinase (MAP キナーゼ) カスケードの一つである ERK1/2 経路の活性化を引き起こすことが報告されている。第一章では内因性カンナビノイドによる疼痛制御機構を解明するため、 $\text{CB}_1$  受容体拮抗薬である AM251 誘発疼痛関連行動の発現機構を細胞内情報伝達系を含め検討した。

大麻含有成分である  $\beta$ -caryophyllene (BCP) は、丁子や黒胡椒のような食用植物および香辛料にも広く含まれているセスキテルペン類の精油である。現在、アロマセラピーの分野で、不安や更年期症状の改善などを目的として広く用いられている。BCP は、動物実験において抗炎症作用や抗侵害作用を示す一方、同じ大麻を由来とする  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol と比較して精神的な副作用を示さないことが報告されている。第二章では、BCP 末梢投与による抗侵害作用の発現機序を、capsaicin 誘発性の急性疼痛モデルを用いて検討した。さらに morphine との併用効果についても検討を加えた。

## 実験方法

実験には ddY 系雄性マウスを用いた。マウスは実験に供するまで水とエサを自由に摂取させ、12 時間の明暗サイクル、室温 22-24°C および湿度 50-60% の室内にて予備飼育した。薬物投与の約 1 時間前から観察ケージ内 (22.0×10.0×12.5 cm) にて馴化した。薬物投与後すぐに、マウスを測定ケージ内に戻し行動観察を行った。第一章では、AM251 の脊髄クモ膜下腔内投与 (i.t.) 直後から 30 分間、後肢による腹部への引っ掻き (Scratching) 行動、尻尾および後肢への噛みつき (Biting) 行動、腹部、尾部および後肢への舐め (Licking) 行動である SBL 行動を測定した。第二章ではマウスの後肢足底内 (i.pl.) へ capsaicin (1.6  $\mu$ g) を投与し、capsaicin 投与後から後肢への Licking および Biting 行動を 5 分間測定した。

## 実験結果

### 第一章

AM251 の i.t.投与により、用量依存的かつ有意な SBL 行動が発現した。この SBL 行動は、CB<sub>1</sub> 受容体作動薬である ACEA の同時投与により用量依存的かつ有意に抑制され、CB<sub>2</sub> 受容体作動薬である JWH-133 の同時投与では影響を受けなかった。一方、脊髄後角で疼痛伝達に深く関与している NK<sub>1</sub> 受容体および NMDA 受容体の拮抗薬の同時投与においても用量依存的かつ有意な SBL 行動の抑制が認められ、脊髄疼痛伝達物質の枯渇を目的とした capsaicin の前処理によっても AM251 誘発性 SBL 行動は有意に抑制された。さらに、神経型一酸化窒素合成酵素 (nNOS) 阻害薬ならびに mitogen-activated protein kinase (MAPK) /extracellular signal-regulated kinase (ERK) kinase (MEK) 阻害剤の同時投与によっても、用量依存的かつ有意な抑制が認められた。

## 第二章

BCP の同側 i.pl.前投与により、capsaicin 誘発疼痛に対する用量依存的かつ有意な抗侵害作用が発現した。この抗侵害作用は、BCP の対側 i.pl.前投与によっては認められなかった。BCP の抗侵害作用は、CB<sub>2</sub> 受容体拮抗薬である AM630 の皮下 (s.c.) 前投与によって用量依存的かつ有意に抑制されたが、CB<sub>1</sub> 受容体拮抗薬である AM251 の s.c.前投与によっても影響を受けなかった。一方、オピオイド受容体拮抗薬である naloxone hydrochloride の s.c.または i.pl.投与前あるいは末梢性オピオイド受容体拮抗薬である naloxone methiodide の s.c.前投与により、BCP の抗侵害作用は有意に抑制された。また、オピオイド  $\mu$  受容体拮抗薬である  $\beta$ -FNA は BCP 誘発抗侵害作用を有意に抑制したのに対し、 $\delta$  受容体拮抗薬である NTI および  $\kappa$  受容体拮抗薬である nor-BNI は有意な影響を与えなかった。さらに、内因性オピオイドペプチドである  $\beta$ -endorphin の抗血清を i.pl.前投与する事により、BCP の抗侵害作用は用量依存的かつ有意に抑制された。一方、抗侵害作用を示さない低用量の morphine と BCP を併用投与することにより、i.t.あるいは s.c.のいずれの投与経路においても、抗侵害作用の相乗効果が認められた。

## 考察および結論

AM251 誘発性疼痛関連行動は、capsaicin 前処理、CB<sub>1</sub> 受容体拮抗薬、NK<sub>1</sub>

受容体拮抗薬および NMDA 受容体拮抗薬により抑制されたことから、一次知覚神経終末に存在する CB<sub>1</sub> 受容体において内因性カンナビノイドと拮抗することにより、SP およびグルタミン酸の遊離を促進させ、脊髄後角の NK<sub>1</sub> 受容体および NMDA 受容体を活性化して発現する事が示唆された。さらに、この AM251 誘発性疼痛関連行動は、nNOS 阻害薬および MEK 阻害剤によって抑制されたことから、細胞内情報伝達系において NO-ERK 系の情報伝達を介して発現する事が示唆された。

大麻由来の精油成分である BCP の抗侵害作用は、AM630 の s.c.前投与により抑制されたことから、CB<sub>2</sub> 受容体の活性化を介して発現することが示唆された。また、naloxone hydrochloride および naloxone methiodide の i.pl.前投与、β-endorphin 抗血清の i.pl.前投与および β-FNA の s.c.前投与によって有意に抑制されたことから、BCP の抗侵害作用は足蹠における β-endorphin の遊離による μ 受容体の活性化を介して発現していることが示唆された。一方、抗侵害作用を示さない低用量の morphine と BCP の併用投与において、抗侵害作用の相乗効果が認められたことから、BCP は疼痛制御における morphine の併用薬として有用である可能性が示された。

本研究の結論として、内因性カンナビノイドは、脊髄において CB<sub>1</sub> 受容体を介して脊髄疼痛伝達物質の遊離を抑制する事により、また足蹠においては CB<sub>2</sub> 受容体を介して β-endorphin を遊離する事により、疼痛制御を行っている事が明らかとなった。

## 主論文

Soh Katsuyama , Hirokazu Mizoguchi , Takaaki Komatsu , Kohshi Nagaoka , Shinobu Sakurada , Tsukasa Sakurada.: The cannabinoid 1 receptor antagonist AM251 produces nocifensive behavior via activation of ERK signaling pathway. *Neuropharmacology* (2010) 59(6): 534-541.

S. Katsuyama , H. Mizoguchi , H. Kuwahata , T. Komatsu , K. Nagaoka , H. Nakamura , G. Bagetta , T. Sakurada , S. Sakurada.: Involvement of peripheral cannabinoid and opioid receptors in β-caryophyllene-induced antinociception. *European Journal of Pain* (2013) 17(5): 664-675.