

原著論文

マウス角膜キンドリングモデルにおける
アナンダミド関連薬の抗けいれん作用

末丸 克矢*, 吉川 弥里, 阿蘇 寛明, 渡辺 雅彦
就実大学薬学部公衆衛生学

**Anticonvulsant activity of anandamide-related drugs
in a mouse corneal kindling model**

Katsuya Suemaru, Misato Yoshikawa, Hiroaki Aso, Masahiko Watanabe
Department of Public Health, School of Pharmacy, Shujitsu University

(Received 25 September 2017; accepted 6 November 2017)

Abstract: It has been shown that the endocannabinoid system plays a role in the inhibition of seizures in several animal models. However, few studies have examined the anticonvulsant activity in kindling model, which is a chronic animal model of epilepsy. Anandamide is an endocannabinoid ligand for cannabinoid CB1 and CB2 receptors that is inactivated by cellular uptake followed by intracellular hydrolysis by fatty acid amide hydrolase (FAAH). The central effects of anandamide are through the CB1 receptors, since CB1 receptors are located primarily in the brain. In the present study, we investigated the effects of anandamide-related drugs against a mouse corneal kindling model. CB1 receptor agonists, ACEA and WIN55212-2, showed dose-dependent anticonvulsant activities against fully kindled mice. AM404, an uptake inhibitor of anandamide, exhibited a dose-dependent anticonvulsant activity in fully kindled seizures. URB597, an inhibitor of FAAH, also exhibited apparent anticonvulsant effects. These results indicate that anandamide-related drugs have remarkable anticonvulsant effects in a mouse corneal kindling model.

Keywords: endocannabinoid; anandamide-related drugs; anticonvulsant effect; corneal kindling model

緒言

てんかんは自発性かつ反復性のてんかん発作を主徴とする慢性の脳疾患で、治療は抗てんかん薬による薬物治療が主となる。現在、臨床で汎用されている抗てんかん薬の作用機序は、①神経細胞表面の Na⁺, K⁺および Ca²⁺イオンチャネルの不活

性化、②興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸受容体の不活性化、③抑制性神経伝達物質である GABA による興奮抑制の増強および④シナプス小胞蛋白 (SV2A) への結合を介した興奮性神経伝達物質の抑制に大別される¹⁾。てんかんの薬物治療は、てんかん症候群または発作型に対して適

切とされている薬剤を用いて行われ、患者の約70%は発作抑制に至るとされている。しかし、残りの約30%は2~3種類以上の単剤あるいは多剤併用の十分量の治療でも発作が抑制されない薬剤抵抗性てんかんの患者である²⁾。従って、新しい作用機序を有する抗てんかん薬の開発が期待されている。

大麻草 (*Cannabis sativa*) に含まれる生理活性成分の中樞作用は、脳内のカンナビノイド (CB) 受容体に結合して引き起こされる。エンドカンナビノイドはその内因性リガンドの総称で、主要なものとしてアナンダミドと 2-アラキドノイルグリセロール (2-AG) がある。いずれもアラキドン酸を含む脂質性の物質で、アナンダミドは脂肪酸アミド加水分解酵素 (FAAH), 2-AG はモノシルグリセロールリパーゼによって分解される。CB 受容体には、CB1 と CB2 の2種類がある。CB1 受容体は中枢神経系に、CB2 は免疫系に多く発現している。CB1 受容体は脳内に広く分布しており³⁾、特に大脳皮質、海馬、扁桃体などてんかんに関連する脳部位にも多く発現している。

脳内のエンドカンナビノイドは、シナプス伝達を逆行性に修飾する脂質メディエーターとし神経伝達を制御し、食欲、記憶、不安など多くの生命活動に関与しているが、さまざまな病態にも関与していることが報告されている。近年、抗てんかん薬未治療の側頭葉てんかん患者において、脳脊髄液中のアナンダミド濃度が低下していることが報告された³⁾。また、精神作用が少ないカンナビノイドであるカンナビジオールが、薬剤抵抗性てんかんであるドラベ症候群に奏効することが報告された⁴⁾。カンナビジオールは CB1 受容体への親和性は低く、抗けいれん作用の作用機序の詳細は明らかになっていない⁵⁾。しかし、カンナビジオールがアナンダミド代謝酵素の FAAH を阻害することから⁵⁾、脳内のアナンダミドが抗けいれん作用に関与していると推察される。従って、アナンダミドの作用を増強する薬剤が新規抗てんかん薬の候補と考えられている。

新規抗てんかん薬の開発には、疾患動物モデルを用いた評価が必須となる^{1,6)}。てんかんの生物学的特徴を有するモデルとして、キンドリングがある。キンドリングとは、脳の特定位点に痙攣閾値以下の電気刺激を繰り返し与えると、数日後には脳波に発作波が生じ、次いで行動上のけいれん発作があらわれ、最終的に全般発作になる現象のことで、局在関連性てんかんの実験てんかんモデルとして確立されている。さらに、マウスの角膜に直接電気刺激を繰り返すことによってもキンドリング現象が誘発されることが見出され⁷⁾、新規抗てんかん薬のスクリーニングに活用されている⁸⁻¹³⁾。しかしながら、アナンダミド関連薬の角膜キンドリングに対する効果は不明である。

本研究では、マウス角膜キンドリングモデルを用いてアナンダミド関連薬の抗けいれん作用を評価する目的で、CB1 受容体選択的作動薬の ACEA (Arachidonyl-2'-chloroethylamide)¹⁴⁾ならびに CB1 および CB2 受容体非選択的作動薬の WIN55212-2¹⁴⁾、アナンダミド代謝酵素の FAAH 阻害薬の URB597 (Cyclohexylcarbamoyl-biphenyl-3-yl Ester)¹⁵⁾およびアナンダミドの再取り込み阻害薬の AM404 (N-(4-Hydroxyphenyl)-arachidonylamide)¹⁶⁾の抗けいれん作用について調べた。

方法

動物は、ICR 雄性マウス(日本エスエルシー株式会社)を用いた。室温 23±2°C の動物飼育室内にて、紙製床敷を敷いたプラスチックケージ内で5~6匹ずつ飼育した。餌および水は自由に摂取させた。本実験は、就実大学動物実験委員会の承認を得て行った。

フェニトイン (和光) と WIN55212-2 mesylate (Sigma-Aldrich) は、1% Tween 80 溶液を用いて調製した。AM404 (Sigma-Aldrich), ACEA hydrate (Tocris Bioscience) および URB597 (Cayman Chemical) は、ポリオキシエチレンヒマシ油 (Cremophor®)、生理食塩水、エタノールの混液

(18:1:1 v/v) に溶解した。レベチラセタム (東京化成) は、生理食塩水に溶解した。全ての試薬は、マウスの体重 10 g 当たり 0.1 mL の投与量になるように調製し、腹腔内 (i.p.) に投与した。投与量と投与後のタイムスケジュールは、既報を参考として、フェニトインは薬効評価の 2 時間前に^{12,13)}、その他の薬剤は全て 30 分前に投与した^{12,13)}。

角膜キンドリングは、5.5 mA の電流を両眼同時に 3 秒間、1 日 2 回反復負荷することにより作製した^{7,12,13)}。角膜を電気刺激する前には、0.5% テトラカイン塩酸塩溶液を両眼に滴下した。けいれんは Racine の評価方法¹⁷⁾ にしたがって、発作の程度を 6 段階に分類して評価した。すなわち、けいれんが起らなかった場合を score 0、耳や顔面にれん縮が出現した場合を score 1、体幹にミオクローヌス性発作が出現した場合を score 2、立ち上がり動作を伴う前肢の間代性けいれんが出現した場合を score 3、転倒を伴う間代性けいれんが出現した場合を score 4、全身性強直間代性けいれんが出現した場合を score 5 とした。3 回以上連続して score 4 以上のけいれんが起こった場合をキンドリング形成とした。

けいれん score の結果は、すべて平均値±標準誤差で示した。統計学的検討には Kruskal-Wallis test を用いた後、多重比較検定には Steel's test を使用した。危険率が 5% 未満を統計学的に有意差ありとした。

結果

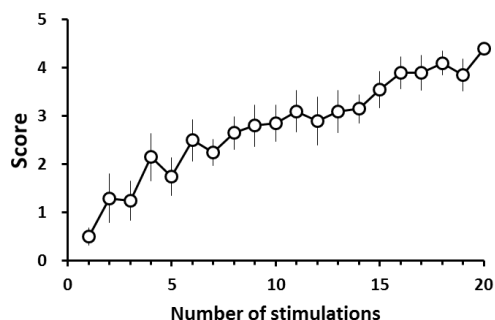


図 1. 角膜キンドリングの形成過程 (n=10)

角膜より 5.5 mA の電流を 3 秒間負荷すると、score 0~1 程度の軽度なけいれんが惹起された。この score は 1 日 2 回の反復電撃負荷により増加し、キンドリング現象が確認された (図 1)。

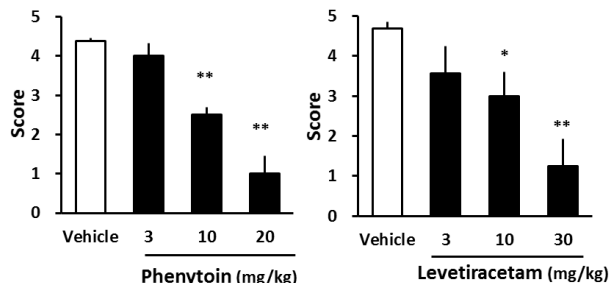


図 2. 角膜キンドリングに対するフェニトインおよびレベチラセタムの作用

値はマウス 8 匹の平均 score ± 標準誤差を示す。
*p < 0.05, **p < 0.01 (Steel's test)

キンドリング形成されたマウスを用いてフェニトインの抗けいれん作用を評価した結果、フェニトイン (3-20 mg/kg, i.p.) は用量依存的な抗けいれん作用を示した。また、レベチラセタム (3-30 mg/kg, i.p.) も用量依存的な抗けいれん作用を示した (図 2)。

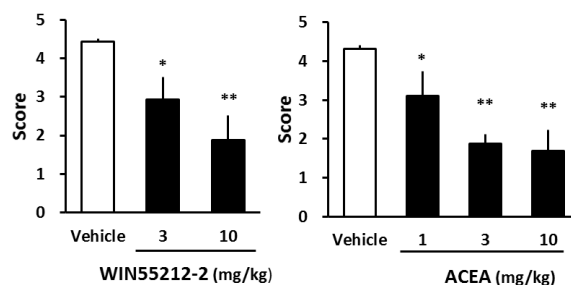


図 3. 角膜キンドリングに対する WIN55212-2 および ACEA の作用

値はマウス 8 匹の平均 score ± 標準誤差を示す。
*p < 0.05, **p < 0.01 (Steel's test)

CB1・CB2 受容体非選択的作動薬 WIN55212-2 (3-10 mg/kg, i.p.) ならびに CB1 受容体選択的作動薬 ACEA (1-10 mg/kg, i.p.) は、ともに用量依存的な抗けいれん作用を示した (図 3)。

アナンダミド再取り込み阻害薬の AM404 (3-20 mg/kg, i.p.) ならびにアナンダミド代謝酵素

阻害薬の URB597 (3-10 mg/kg, i.p.) は、ともに用量依存的な抗けいれん作用を示した (図 4)。

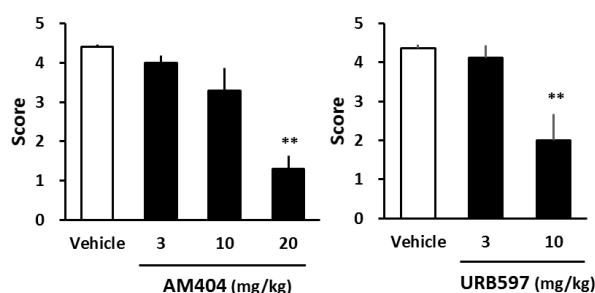


図 4. 角膜キンドリングに対する AM404 および URB597 の作用

値はマウス 8~9 匹の平均 score ± 標準誤差を示す。
**p < 0.01 (Steel's test)

考察

新規抗てんかん薬の開発には疾患動物モデルを用いた薬効評価が必須で、評価モデルの選択が重要となる^{1,9)}。てんかん動物モデルには、自然発症のと人工誘発のモデルに大別される。自然発症のモデルとしては、EL マウスや DBA/2 マウスなどのてんかんミュータント動物とヒトのてんかん責任遺伝子を導入した遺伝子改変てんかん動物モデルがある。人工誘発のモデルには、電気的または化学的刺薬により誘発されるモデルがあり、化学的刺薬にはピロカルピン、カニン酸およびペンチレンテトラゾールが汎用されている^{6,9)}。

一方、基礎てんかん学を牽引してきたモデル動物としてキンドリングがある。キンドリングモデルは、けいれんを起こす閾値以下の電気刺激を繰り返し負荷することにより次第にけいれん性発作が増強され、最終的に強直性間代性発作を誘発するモデルである。てんかんの病態は、てんかん原生と発作原生で構成されていると考えられている。キンドリング現象も、けいれん発作が過剰な神経興奮の結果であると同時に、次回の発作の原因となり得ると考えられ^{6,9)}、てんかんの神経生理学的機序やてんかん原生の獲得機序の解明に汎用されてきた。これらの研究により、海馬や

扁桃体がてんかんの焦点になる頻度の高い神経領域であることが明らかになり、キンドリングはヒト側頭葉てんかん患者でみられる神経の異常な可塑性を模倣していると考えられている。しかし、キンドリングモデルの作製には、実験動物の脳内局所への電極挿入手術など労力を必要とする⁹⁾。マウスを用いた角膜キンドリングモデルは、この問題点を軽減するモデルである。角膜キンドリングの形成過程への影響を調べることにより、レベチラセタムがてんかん原生を抑制することが報告され注目されている^{10,11)}。また、角膜キンドリング獲得後の発作に対する薬剤の影響を調べることにより、抗けいれん作用の評価が行われている¹⁰⁻¹³⁾。

単回けいれん誘発モデルである最大電撃けいれんおよび最大ペンチレンテトラゾール (皮下投与) けいれんは、フェニトインやカルバマゼピンなどの第一世代抗てんかん薬の薬理的薬効評価の研究から構築された古典的スクリーニング法である^{6,9)}。第二世代抗てんかん薬に分類されるトピラマートやラモトリギンも、これらのいずれかのスクリーニング法によって抗けいれん作用が確認された薬剤である^{6,9)}。第一世代ならびに第二世代抗てんかん薬の作用点は、Na⁺や Ca²⁺などのイオンチャネルおよびグルタミン酸や GABA 受容体であるが¹⁾、新たな作用機序を有する新規抗てんかん薬に対して古典的スクリーニング法が有効でない場合が報告されている。近年、日本で上市されたレベチラセタムの作用機序の詳細は不明であるが、従来の作用機序とは異なり SV2A への結合が関与するとされている^{10,11)}。レベチラセタムは最大電撃けいれんおよび最大ペンチレンテトラゾール (皮下投与) けいれんに対して全く抑制効果を示さないが、キンドリングモデルに対して抗けいれん作用を示す¹⁰⁻¹²⁾。キンドリング現象には脳内電気刺激による電気キンドリングとペンチレンテトラゾールの反復投与によって引き起こされる化学キンドリングがあるが、特にレベチラセタムやブリバラセタムはペン

チレンテトラゾールによるキンドリングより角膜キンドリングモデルに対して低用量で抗けいれん作用を示している^{10,11)}。従って、単回けいれん誘発モデルである最大電撃けいれんや最大ペンチレンテトラゾールけいれんモデルでは抗けいれん作用を見出すことができない可能性があるため、新規作用機序を有する候補薬のスクリーニングにキンドリングモデルを組み込むことの必要性が提唱されている⁹⁾。なお、第一世代ならびに第二世代の抗てんかん薬も角膜キンドリングモデルに対して抗けいれん作用を示すことから¹²⁾、検出感度に優れたけいれんモデルと考えられる。なお、本研究において、角膜キンドリングに対するフェニトインならびにレベチラセタムの影響を検討した結果、両薬剤とも用量依存的な抗けいれん作用を示した。

既に様々なスクリーニング法やてんかん動物モデルを用いて、アナンダミド関連薬の抗けいれん作用が評価されている。CB1・CB2受容体非選択的作動薬のWIN 55,212-2¹⁴⁾は、扁桃体キンドリングモデル¹⁸⁾、ピロカルピンモデル¹⁹⁾およびDBA/2マウスを用いた聴原性けいれん発作モデル²⁰⁾に対して抗けいれん作用を示すことが報告されている。しかし、最大電撃けいれん²¹⁾ならびに最大ペンチレンテトラゾール(皮下投与)モデル²²⁾では有意な抗けいれん作用は認められていない。CB1受容体選択的作動薬のACEA¹⁴⁾は、マウスへのペンチレンテトラゾール静脈内持続注入モデル²³⁾やDBA/2マウスを用いた聴原性けいれん発作モデル²⁰⁾において抗けいれん作用が確認されている。しかし、これまでに角膜キンドリングモデルを用いた検討は報告されていなかった。本研究において、角膜キンドリングモデルを用いてWIN 55,212-2ならびにACEAの効果を検討した結果、両薬剤とも用量依存的な抗けいれん作用を示した。従って、CB1受容体が抗けいれん作用の発現に関連していると考えられるが、CB1受容体は同時に大麻の精神作用にも関連することから、副作用に関する基礎的検討が重要と

考えられる。

アナンダミドの代謝酵素であるFAAH阻害薬やアナンダミドの再取り込み阻害薬は、内因性のアナンダミドを増加させることにより、その作用を増強する。ラットのカイニン酸モデルにおいて、FAAH阻害薬のAM374が抗けいれん作用を示すことが報告されている²⁴⁾。FAAH阻害薬であるURB597 (in vitro IC₅₀ = 4.6 nM)¹⁵⁾に関しては、ペンチレンテトラゾール静脈内持続注入モデルで抗けいれん作用が確認されているが²⁵⁾、マウスの扁桃体キンドリングモデルでは抗けいれん作用は認められていない¹⁸⁾。一方、アナンダミドの再取り込み阻害薬のAM404 (in vitro IC₅₀ = 1 μM)¹⁶⁾に関しては、モルモットのカイニン酸モデル²⁶⁾に対して抗けいれん作用を示すことが報告されているが、マウスへの電撃けいれん(35mA, 0.2s)モデルに対しては効果を示さなかったことが報告されている²⁷⁾。以上の様に、FAAH阻害薬やアナンダミド再取り込み阻害薬の効果は、動物モデルによりその評価は一定していない。また、角膜キンドリングモデルを用いた評価もなされていなかった。そこで、本研究において、角膜キンドリングモデルを用いてURB597ならびにAM404の影響を検討した結果、両薬剤とも用量依存的な抗けいれん作用を示した。従って、URB597やAM404が新規抗てんかん薬の候補となることが期待される。

近年、アセトアミノフェンの活性代謝物であるAM404が脳内CB1受容体やカプサイシン(TRPV1)受容体を活性化することにより鎮痛作用を発現することが報告された^{28,29)}。アセトアミノフェンの中枢神経系への副作用は少ないことから、アセトアミノフェンがAM404を介して抗けいれん作用を示すか否かを明らかにすることは興味深い。

現在、天然のTHCをカプセル剤とした薬剤やTHCの合成誘導体であるナビロン(CB1およびCB2受容体刺激薬)が開発され、がん化学療法に対する制吐薬に適応を取得している³⁰⁾。近年で

は、精神作用が少ないカンナビノイドで FAAH 阻害を有するカンナビジオールが、薬剤抵抗性てんかんであるドラベ症候群に奏効することが報告され⁴⁾、抗てんかん薬として承認が検討されている。本研究において、CB1 受容体作動薬のみならず、アナンダミド代謝酵素阻害薬の URB597 ならびにアナンダミド再取り込み阻害薬の AM404 が角膜キンドリングに対して抗けいれん作用を示すことが明らかになった。今後は、基礎的研究においても、精神作用を含めた副作用や安全性に関する研究が重要と考えられる。

利益相反: 本研究は学内の研究費のみで実施した。開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) Holmes GL, Zhao Q.: Choosing the correct antiepileptic drugs: from animal studies to the clinic. *Pediatric neurology*, 38:151–62 (2008).
- 2) Kwan P, Brodie MJ.: Early Identification of Refractory Epilepsy. *N Engl J Med*, 342:314–319 (2000).
- 3) Romigi A, Bari M, Placidi F, Marciani MG, Malaponti M, Torelli F, Izzi F, Prosperetti C, Zannino S, Corte F, Chiaramonte C, Maccarrone M.: Cerebrospinal fluid levels of the endocannabinoid anandamide are reduced in patients with untreated newly diagnosed temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 51:768–772 (2010).
- 4) Devinsky O, Cross JH, Laux L, Marsh E, Miller I, Nabbout R, Scheffer IE, Thiele EA, Wright S.: Trial of Cannabidiol for Drug-Resistant Seizures in the Dravet Syndrome. *N Engl J Med*, 376:2011–2020 (2017).
- 5) Bisogno T, Hanus L, De Petrocellis L, Tchilibon S, Ponde DE, Brandi I, Moriello AS, Davis JB, Mechoulam R, Di Marzo V.: Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *Br J Pharmacol*, 134: 845–852 (2001).
- 6) Kandratavicius L, Balista PA, Lopes-Aguiar C, Ruggiero RN, Umeoka EH, Garcia-Cairasco N, Bueno-Junior LS, Leite JP.: Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 10:1693–1705 (2014).
- 7) Sangdee P, Turkanis SA, Karler R.: Kindling-like effect induced by repeated corneal electroshock in mice. *Epilepsia*. 23:471–479 (1982).
- 8) Potschka H, Löscher W.: Corneal kindling in mice: behavioral and pharmacological differences to conventional kindling. *Epilepsy Res*, 37:109–120 (1999).
- 9) Löscher W.: Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure*, 20:359–368 (2011).
- 10) Klitgaard H.: Levetiracetam: the preclinical profile of a new class of antiepileptic drugs? *Epilepsia*. 42:13–18 (2001).
- 11) Matagne A, Margineanu DG, Kenda B, Michel P, Klitgaard H.: Anti-convulsive and anti-epileptic properties of brivaracetam (ucb 34714), a high-affinity ligand for the synaptic vesicle protein, SV2A. *Br J Pharmacol*, 154:1662–1671 (2008).
- 12) Klitgaard HV, Matagne A, Gobert J, Wülfert E.: Evidence for a unique profile of levetiracetam in rodent models of seizures and epilepsy. *Eur J Pharmacol*, 353:191–206 (1998).
- 13) Matagne A, Klitgaard H.: Validation of corneally kindled mice: a sensitive screening model for partial epilepsy in man. *Epilepsy Res*, 31:59–71 (1998).
- 14) Pertwee RG, Howlett AC, Abood ME, Alexander SP, Di Marzo V, Elphick MR, Greasley PJ,

- Hansen HS, Kunos G, Mackie K, Mechoulam R, Ross RA.: International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB1 and CB2. *Pharmacol Rev.* 62:588–631 (2010).
- 15) Kathuria S, Gaetani S, Fegley D, Valiño F, Duranti A, Tontini A, Mor M, Tarzia G, La Rana G, Calignano A, Giustino A, Tattoli M, Palmery M, Cuomo V, Piomelli D.: Modulation of anxiety through blockade of anandamide hydrolysis. *Nat Med.* 9:76–81. (2010).
- 16) Beltramo M, Stella N, Calignano A, Lin SY, Makriyannis A, Piomelli D.: Functional role of high-affinity anandamide transport, as revealed by selective inhibition. *Science.* 277:1094–1097 (1997).
- 17) Racine RJ.: Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalography and clinical neurophysiology* 32, 281–294 (1972).
- 18) Wendt H, Soerensen J, Wotjak CT, Potschka H.: Targeting the endocannabinoid system in the amygdala kindling model of temporal lobe epilepsy in mice. *Epilepsia.* 52:62–65 (2011).
- 19) Wallace MJ, Blair RE, Falenski KW, Martin BR, DeLorenzo RJ.: The endogenous cannabinoid system regulates seizure frequency and duration in a model of temporal lobe epilepsy. *J Pharmacol Exp Ther.* 307:129–137 (2003).
- 20) Citraro R, Russo E, Leo A, Russo R, Avagliano C, Navarra M, Calignano A, De Sarro G.: Pharmacokinetic-pharmacodynamic influence of N-palmitoylethanolamine, arachidonyl-2'-chloroethylamide and WIN 55,212-2 on the anticonvulsant activity of antiepileptic drugs against audiogenic seizures in DBA/2 mice. *Eur J Pharmacol.* 791:523–534(2016).
- 21) Luszczki JJ, Misiuta-Krzesinska M, Florek M, Tutka P, Czuczwar SJ.: Synthetic cannabinoid WIN 55,212-2 mesylate enhances the protective action of four classical antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 98:261–267 (2011).
- 22) Luszczki JJ, Andres-Mach M, Barcicka-Klosowska B, Florek-Luszczki M, Haratym-Maj A, Czuczwar SJ.: Effects of WIN 55,212-2 mesylate (a synthetic cannabinoid) on the protective action of clonazepam, ethosuximide, phenobarbital and valproate against pentylenetetrazole-induced clonic seizures in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 35:1870–1876 (2011).
- 23) Bahreman A, Nasrabady SE, Shafaroodi H, Ghasemi M, Dehpour AR.: Involvement of nitrenergic system in the anticonvulsant effect of the cannabinoid CB(1) agonist ACEA in the pentylenetetrazole-induced seizure in mice. *Epilepsy Res.* 84:110–119 (2009).
- 24) Karanian DA, Karim SL, Wood JT, Williams JS, Lin S, Makriyannis A, Bahr BA.: Endocannabinoid enhancement protects against kainic acid- induced seizures and associated brain damage. *J Pharmacol Exp Ther.* 322:1059–1066. (2007).
- 25) Naderi N, Ahmad-Molaei L, Mazar-Atabaki A, Ronaghi A, Shirazi-zand Z, Motiei-Langroudi SM, Eslahkar S.: L-type calcium channel mediates anticonvulsant effect of cannabinoids in acute and chronic murine models of seizure. *Neurochem Res.* 37:279–287 (2012).
- 26) Shubina L, Aliev R, Kitchigina V.: Endocannabinoid-dependent protection against kainic acid-induced long-term alteration of brain oscillations in guinea pigs. *Brain Res.* 1661:1–14 (2017).
- 27) Naderi N, Aziz Ahari F, Shafaghi B, Najarkolaei

- AH, Motamedi F.: Evaluation of interactions between cannabinoid compounds and diazepam in electroshock-induced seizure model in mice. *J Neural Transm (Vienna)*, 115:1501–1511 (2008).
- 28) Högestätt ED, Jönsson BA, Ermund A, Andersson DA, Björk H, Alexander JP, Cravatt BF, Basbaum AI, Zygmunt PM.: Conversion of acetaminophen to the bioactive N-acylphenolamine AM404 via fatty acid amide hydrolase-dependent arachidonic acid conjugation in the nervous system. *J Biol Chem* 280, 31405–31412 (2005).
- 29) Bertolini, A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S.: Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Rev* 12, 250–275 (2006).
- 30) 綿引 智成. カンナビノイド系を標的とした医薬品開発状況. *ファルマシア* 52:850–854 (2016).