

The Cannabinoid CB1 Receptor Mediates Retrograde Signals for Depoladzadon-Induced Suppression of Inhibition in Cerebellar Purkinje Cells

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/4647

【総説】

第二回 高安賞優秀賞受賞論文

論文 「The Cannabinoid CB1 Receptor Mediates Retrograde Signals for
Depolarization-Induced Suppression of Inhibition in Cerebellar Purkinje Cells」
The Journal of Neuroscience
Vol.22, No.5, Page 1690-1697 2002年3月掲載

小脳プルキンエ細胞の脱分極による抑制性シナプスの逆行性調節はカンナビノイド受容体を介する

吉田 隆行 (よしだ たかゆき)

はじめに

中枢神経系のシナプスでは様々な神経伝達調節が行われている。化学シナプスにおいて、情報は神経伝達物質を介してシナプス前ニューロンから後ニューロンへ伝達される(順行性シグナル伝達)。これに加えて、中枢のいくつかのニューロンでは、シナプス後ニューロンから前ニューロンへ逆向きに情報を伝達する機構が知られている(逆行性シグナル伝達)。これはシナプス後ニューロンの活動状態を情報の送り手であるシナプス前ニューロンへ伝える新たな情報伝達機構として注目されており、シナプス伝達の調節やシナプス結合形成に重要な役割を果たすと考えられている。

小脳プルキンエ細胞および海馬ニューロンでは、シナプス後ニューロンの脱分極によって抑制性シナプスが一過性に抑圧される現象(Depolarization-induced Suppression of Inhibition: DSI)が知られている¹⁾²⁾。DSIはシナプス後ニューロンの細胞内カルシウム濃度($[Ca^{2+}]_i$)の上昇が引き金となり、シナプス前終末の伝達物質放出が抑制されることによって生じるため、逆行性シグナルが関与すると考えられてきた。いくつかの先行研究において、小脳および海馬では、グルタミン酸がシナプス後ニューロンから神経活動依存的に放出され、シナプス前ニューロンの終末に存在する代謝型グルタミン酸受容体(mGluR)に作用し、抑制性伝達物質であるγ-アミノ酪酸(GABA)の放出を抑えることによってDSIを引き起こすと報告されていた。しかし、

DSIはmGluRの拮抗薬によって阻害されないことから³⁾、グルタミン酸がDSIの主要な逆行性シグナルであることは疑問視されていた。

最近、当研究室の前島らは、内因性カンナビノイド(内因性のマリファナ類似物質)がシナプス前終末のカンナビノイド(CB)受容体に対して逆行性に作用することを明らかにした⁴⁾⁵⁾。CB受容体はマリファナの有効成分であるΔ⁹-テトラヒドロカンナビノールの標的分子で、三量体GTP結合タンパク質Gi/oに共役する膜7回貫通型受容体である。これらには1型(CB1)および2型(CB2)の2つのサブタイプが存在する。形態学的には、CB1受容体は中枢神経系の様々な領域に豊富に存在し、小脳では興奮性シナプスの豊富な分子層とプルキンエ細胞への抑制性入力細胞であるバスケット細胞の軸索終末に強く発現している。また、電気生理学的には、プルキンエ細胞の自発性の抑制性シナプス後電流(IPSC)はCB受容体作動薬によって減弱する。これらの知見から、小脳プルキンエ細胞のDSIでは内因性カンナビノイドが主要な逆行性シグナル因子ではないかという仮説を立て、電気生理学的手法を用いてその検証を行った。

方法

生後8から13日齢のC57BL/6Jマウスをエーテル深麻酔下で断頭し、小脳から厚さ250μmの矢状断スライス標本作製した。標本を人工脳脊髄液で灌流しながら正立顕微鏡下でプルキンエ細胞を同定し、その細胞体からホールセルパッチクランプ

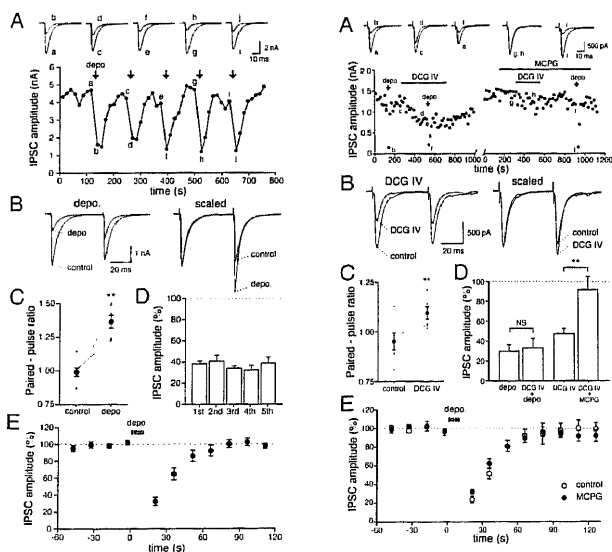


図1. 小脳プルキンエ細胞の誘発IPSCに生じるDSI

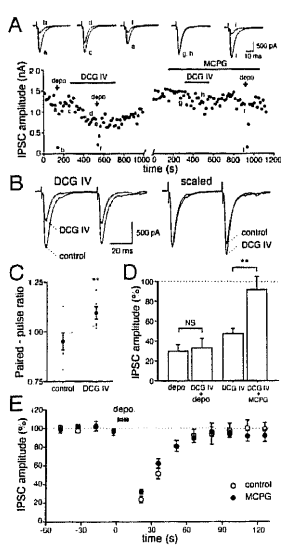


図2. Group II mGluRはDSIに関与しない

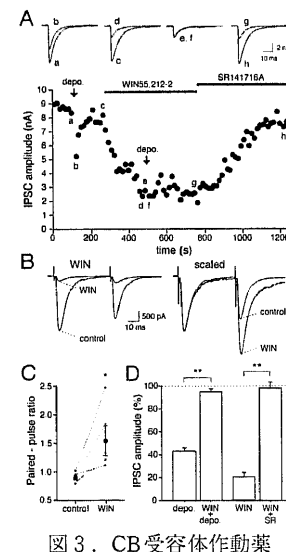


図3. CB受容体作動薬(WIN55212-2)はDSIを遮断する

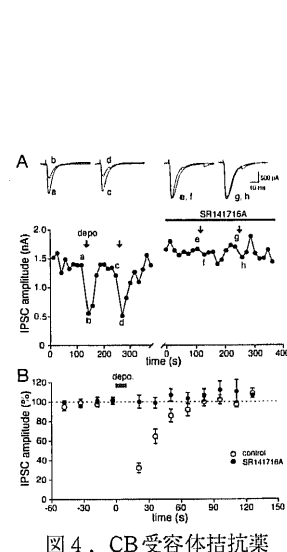


図4. CB受容体拮抗薬(SR141716A)はDSIを完全に阻害する

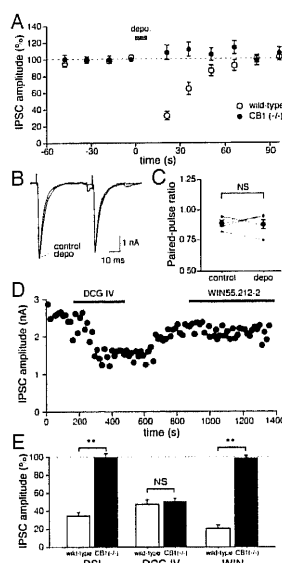


図5. CB1遺伝子欠損マウスではDSIが全く起こらない

結果

IPSCを定常記録した後、DSIを誘導するためにプルキンエ細胞に脱分極パルス (-70mVから0mV, 持続時間100ms, 1Hz, 10回)を与えた。すると、IPSCの振幅は一過性に減少し、およそ2分後には元の振幅に回復した (図1A,E)。DSIは減衰することなく、繰り返し同程度に生じた (図1A,D)。次に、この現象がシナプス前性の効果であることを確かめるため、時間間隔50msの2発刺激によって得られる大きさの異なるIPSC振幅の比率 (1発目のIPSCに対する2発目のIPSC)であるPaired-Pulse Ratio (PPR)を算出した。一般に、PPRの変化はシナプス前終末からの伝達物質放出の変化を反映すると考えられている。DSIではPPRが有意に増大することから (図1B,C)、この現象はシナプス前終末からの伝達物質放出の減少によって生じることが示唆された。

DSIは逆行性のシグナルによって引き起こされることが本実験系でも追試できたことから、まず始めに、グルタミン酸が逆行性シグナルとして作用する可能性を検証した。IPSCはバスケット細胞軸索終末に存在するGroup II mGluRの選択的作動薬 (DCG IV)によってシナプス前性に抑制されたが (図2B,C)、飽和濃度のDCG IV存在下でもDSIは影響されなかった (図2A,D)。また、非選択的mGluR拮抗薬 (MCPG)はDCG IVの効果を阻害したが (図2A,D)、DSIには影響を全く与えなかった (図2A,E)。これらの結果より、DSIとGroup II mGluRの活性化による効果とは独立していると言え、DSIに関与する逆行性シグナルがグルタミン酸である可能性は極めて低いと言える。

次に、内因性カンナビノイドの関与について検討した。IPSCはCB受容体作動薬 (WIN55, 212-2: WIN)によってシナプス前性に抑制され (図3B,C)、飽和濃度のWIN存在下ではDSIは完全に遮断 (occlude)された (図3A,D)。このことから、WINによるIPSCの減少作用とDSIは、同一のシグナル経路を介することが示唆された。このWINの効果はCB受容体拮抗薬 (SR141716A: SR)で完全に回復した (図3A,D)。

さらに、SRによってCB受容体を阻害するとDSIは全く生じなかった (図4A,B)。

さらなる確証を得るため、CB1遺伝子欠損マウスを用いた実験を行った。CB1遺伝子欠損マウスにおけるDCG IVの効果は野生型マウスでの結果と同様であったが (図5D,E)、DSIを誘導してもPPRに変化はなく (図5B,C)、WINの効果およびDSI

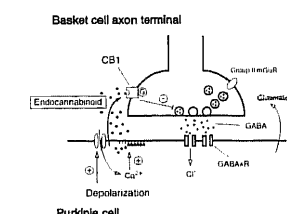


図7. 小脳DSIのメカニズム

記録を行なった。プルキンエ細胞を-70mVに膜電位固定し、バスケット細胞の軸索を電気刺激することによってIPSCを記録した。また、カルシウムイメージングとして、蛍光指示薬にマグネシウムグリーンを用い、共焦点レーザー顕微鏡を使って、脱分極によって生じるプルキンエ細胞内のカルシウム濃度変化を測定した。

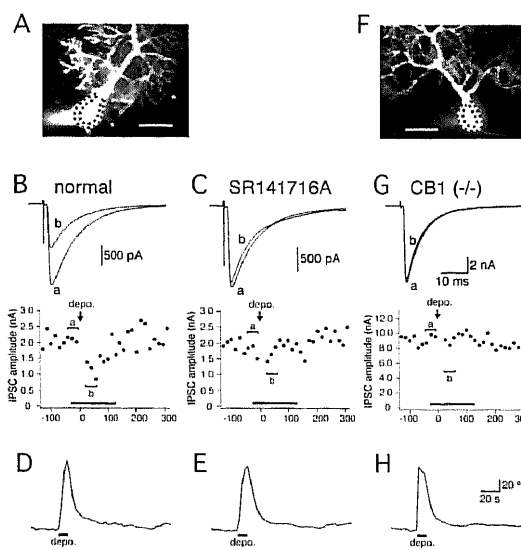


図6. SR141716AやCB1遺伝子欠損はプルキンエ細胞のカルシウム濃度上昇に影響を及ぼさない

は完全に失われていた (図5A,D,E)。

これらの実験では、脱分極によって生じるプルキンエ細胞 (図6A,F: 点線部) の $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は全く障害されないことから (図6D,E,H)、カルシウム依存的な内因性カンナビノイドの生成には影響はないと考えられる。

結論

以上のことから、小脳DSIをおこす逆行性シグナル伝達物質はグルタミン酸ではなく内因性カンナビノイドであり、DSIはプルキンエ細胞から放出された内因性カンナビノイドが抑制性シナプス前終末のCB1受容体へ逆行性に作用し、GABAの放出を抑制することによって生じる現象であると結論された (図7)。

文 献

- 1) Llano I, Leresche N, Marty A (1991) Calcium entry increases the sensitivity of cerebellar Purkinje cells to applied GABA and decreases inhibitory synaptic currents. *Neuron* 6: 565-574.
- 2) Pitler TA, Alger BE (1992) Postsynaptic spike firing reduces synaptic GABA responses in hippocampal pyramidal cells. *J Neurosci* 12: 4122-4132.
- 3) Glitsch M, Llano I, Marty A (1996) Glutamate as a candidate retrograde messenger at interneurone-Purkinje cell synapses of rat cerebellum. *J Physiol (Lond)* 497: 531-537.
- 4) Maejima T, Ohno-Shosaku T, Kano M (2001a) Endogenous cannabinoid as a retrograde messenger from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. *Neurosci Res* 40: 205-210.
- 5) Maejima T, Hashimoto K, Yoshida T, Aiba A, Kano M (2001b) Presynaptic inhibition caused by retrograde signal from metabotropic glutamate to cannabinoid receptors. *Neuron* 31: 463-475.

Profile



所 属：北海道大学大学院医学研究科脳科学
専攻神経機能学講座分子解剖学
1998年 富山大学理学部卒業
2000年 富山大学大学院理工学研究科修了
2004年 金沢大学大学院医学系研究科
(シナプス発達・機能学) 修了
趣 味：サイクリング 野鳥観察