

【研究紹介】

脳内マリファナ物質の働きおよびその生成・消去メカニズム

Mechanisms of production and degradation of endocannabinoids

金沢大学医学系研究科保健学専攻
リハビリテーション科学領域機能障害学
少 作 隆 子

はじめに

マリファナ(大麻の加工品)は世界で最も頻繁に用いられている精神活性剤の一つであり、その歴史は古い。1960年代から90年代にかけて、マリファナのさまざまな精神神経作用は、その有効成分である Δ^9 -THCが脳内のカンナビノイド受容体(カンナビノイドという言葉は大麻の学名*Cannabis*に由来)に結合することにより引き起こされることが明らかとなった。では何故脳内にマリファナの受容体があるのだろうか。この疑問は、脳内のリガンド(内因性カンナビノイド)の探求へと研究者を駆り立てた。その結果、二つの物質が内因性カンナビノイドとして同定された。それでは、内因性カンナビノイドは脳内でどのような働きをしているのだろうか。この疑問に答えることができたのはわずか数年前のことである。2001年に、我々(当時、筆者が所属していた金沢大学医学系研究科シナプス発達・機能学の狩野方伸教授の研究グループ)および他の2つの研究グループにより、内因性カンナビノイドがシナプス後ニューロンからシナプス前終末への逆行性シグナルとして働いていることが証明され、内因性カンナビノイドの機能に関する研究の突破口となった¹⁾。我々はその後、内因性カンナビノイドの生成・放出、作用、消去のメカニズムについて研究してきた。これらの研究内容を以下に紹介する。

研究の背景

最初に、カンナビノイド受容体、内因性カンナビノイド、逆行性シグナル、について簡単に説明する。カンナビノイド受容体としては2つの遺伝子がクローニングされ、それぞれCB1およびCB2と命名されている。CB1受容体は中枢神経系に、CB2受容体は免疫系の細胞に多く発現している。CB1受容体はGi/o共役型受容体であり、脳内密度は他のG蛋白共役型受容体に比

べ非常に高い。内因性カンナビノイドとしては、アナンダミド(N-arachidonyl ethanolamide)と2-AG(2-arachidonyl glycerol)が同定されている。最近の研究の多くは、2-AGの方がより生理的に重要であると報告している。

ニューロンからニューロンへの情報伝達はシナプスにおいて一方向的に行なわれる。シナプス前ニューロンの軸索末端から神経伝達物質が放出され、それがシナプス後ニューロンの細胞体や樹状突起の伝達物質受容体に結合し、信号が伝えられる(シナプス伝達)。この通常の向きとは逆向きの信号、すなわち、シナプス後ニューロンからシナプス前終末に向かうシグナルは「逆行性シグナル」と呼ばれている。シナプス伝達の調節に逆行性シグナルが関与していることは以前より知られていたが、その分子実体は長い間謎であった。2001年に、海馬および小脳において、逆行性シグナルの正体が内因性カンナビノイドであることが証明され¹⁾、多くの研究者の注目を集めた。その後の研究により、脳のさまざまな領域のさまざまなシナプスにおいて、内因性カンナビノイドが逆行性シグナルとして働いていることが明らかとなった²⁾。

海馬シナプスにおける内因性カンナビノイドの生成・作用・分解メカニズム

実験材料および方法

我々の研究グループ全体としては、海馬・小脳・線条体のスライス標本および海馬ニューロンの培養標本を用いて実験を行っている。ここでは筆者が参加した培養海馬ニューロンを用いた研究の結果のみを紹介する。海馬ニューロンはラット(生後0-2日)の脳より調整し、培養皿で12-14日間培養し、シナプスが十分に形成された後に実験を行った。抑制性シナプスを形成しているニューロン・ペアの両方にパッチクランプ用電極をつけ、一方を刺激し、他方より抑制性シナプス後電流(IPSC)を測定した。シナプス後ニューロンから内因性カンナビノイドが放出されると、シナプス前終末のCB1受容体を介して伝達物質GABAの放出が抑制され、振幅が低下することがすでにわかっている。そこで、IPSC振幅の低下を指標として、カンナビノイド放出を検知した。

内因性カンナビノイドの放出を引き起こす条件

内因性カンナビノイドは、脂溶性のため膜を自由に通り抜けることができ、生成されるとすぐに放出されると考えられている。したがって、内因性カンナビノイドの「放出を引き起こす条件」というのは、「生成を引き起こす条件」に他ならない。内因性カンナビノイドの生成を引き起こす条件について詳細に調べた結果、少なくとも二つの経路が関わっていることが判明した。一つは、細胞内Ca²⁺濃度上昇が引き金となり起こるもので、我々はこの経路をCaER(Ca²⁺-driven endocannabinoid release)と名付けた³⁾。もう一つは、グループI代謝型グルタミン酸受容体(I-mGluR)⁴⁾やM₁/M₃ムスカリン性アセチルコリン受

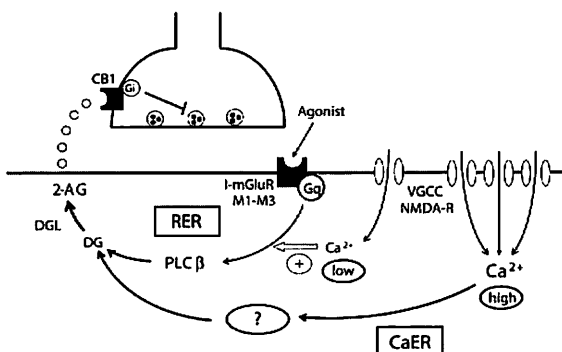


図1. 内因性カンナビノイド生成メカニズムの模式図。説明は本文参照。VGCCは電位依存性Ca²⁺チャネル、NMDA-RはNMDA型グルタミン酸受容体を表す。

容体 (mAChR)⁹⁾のようなGq共役型受容体の活性化が引き金となり起こるもので、これをRER (receptor-driven endocannabinoid release)と命名した⁹⁾。CaERおよびRERの経路を図1に示す。

CaERは、電位依存性Ca²⁺チャンネル⁹⁾あるいはNMDA型グルタミン酸受容体⁹⁾の開口により細胞外のCa²⁺イオンが細胞内に流入し、細胞内Ca²⁺濃度が μ Mレベルにまで大きく上昇すると引き起こされる。Ca²⁺濃度上昇により何らかの酵素反応が促進され diacylglycerol (DG)が生成され、次いでdiacylglycerol lipase (DGL)の働きにより2-AGが生成される、というメカニズムが考えられている¹⁰⁾。

RERについては、薬理学的実験および遺伝子改変動物を用いた実験の結果、以下のようなメカニズムが明らかとなった¹¹⁾。Gq共役型受容体刺激により β タイプのphospholipase C (PLC β)が活性化され、さらにDGLの働きにより2-AGが生成される。興味深いことには、この経路は細胞内Ca²⁺濃度のわずかな上昇 (μ Mレベル以下)により著しく促進されることが判明した。我々はさらに、このRERのCa²⁺依存性は、受容体刺激によるPLC β の活性化がCa²⁺依存性であることに起因することを明らかにした¹¹⁾。

以上の結果より、強い興奮性入力の内因性カンナビノイド放出に必要な条件を満たしていることがわかる。興奮性伝達物質であるグルタミン酸が入力線維より多量に放出されAMPA型グルタミン酸受容体を介して強い脱分極が起こると、電位依存性Ca²⁺チャンネルおよびNMDA型グルタミン酸受容体が開口しCa²⁺濃度が上昇する。グルタミン酸はさらにI-mGluRにも作用する。このようなCa²⁺濃度上昇とI-mGluRの活性化は、CaERおよびRERを介して2-AG放出を引き起こすと考えられる。実際に、興奮性入力を高頻度刺激すると内因性カンナビノイドが放出されることは、スライス標本を用いた実験により確認された⁹⁾。

内因性カンナビノイドの作用

シナプス後ニューロンより放出された内因性カンナビノイドは、シナプス前終末のCB1受容体に結合し伝達物質の放出量を減少させシナプス伝達を一過性に抑制する。このような内因性カンナビノイドによるシナプス伝達の抑制にどのような意義があるのだろうか。脳のシナプスにはカンナビノイド感受性のものとそうでないものがある。また、感受性であるシナプスの中にも、感受性の高いものや低いものがある。このようなシナプスのタイプによる違いは脳の領域により大きく異なる。海馬においては、興奮性シナプスはすべてカンナビノイド感受性であるが、その感度は低い¹²⁾。一方、抑制性シナプスはカンナビノイド高感受性のものと非感受性のものとに二分される¹³⁾。ひとつのニューロンに強い興奮性入力が入り、ニューロンの興奮性が上昇し内因性カンナビノイドが放出される場合を考えてみる。放出量が少ない場合は、まずカンナビノイド感受性の高い抑制性シナプス入力のみが抑制され、その結果、相対的にニューロンの興奮性はますます上昇する。一方、放出量が多い場合は、感受性の低い興奮性入力も抑制され、カンナビノイド非感受性の抑制性入力のみが維持され、相対的にニューロンの興奮性は低下すると考えられる。すなわち、内因性カンナビノイドを介するシナプス伝達調節は、活動の強さに応じて、正のフィードバックとしても負のフィードバックとしても働きうることになる。

内因性カンナビノイドの分解

内因性カンナビノイド・シグナルは、他のシグナルと同様に、何らかの方法で消去されなければならない。脳内で2-AGを分解するmonoacylglycerol lipase (MGL)はシナプス前終末に局在し

ていることが報告されている。そこで、MGL阻害剤を用いて2-AGの分解を止めるとどうなるかを調べた¹⁴⁾。興味深いことには、高濃度のMGL阻害剤を投与すると、静止状態においてもカンナビノイド感受性IPSCの振幅が徐々に小さくなった。このことは、2-AGは常に少しずつ生成・放出されていて、それがシナプス前終末のMGLにより分解されていることを示唆する。一方、低濃度のMGL阻害剤を投与すると、静止状態のIPSC振幅は変化しないが、CaERの誘導によるIPSCの一過性抑制からの回復が著しく遅れた。したがって、シナプス前終末のMGL活性は、内因性カンナビノイド・シグナルの持続時間を決める重要な要素であると考えられた。

内因性カンナビノイド系と脳機能

カンナビノイド・シグナルは脳の機能とどのように関わっているのだろうか。この問題は、遺伝子改変マウスを用いて精力的に研究されている。全身のCB1受容体が欠損しているマウスや、脳の特定の、あるいは、特定のタイプのニューロンでのみCB1受容体が欠損しているマウスなどを用いて、動物の行動などにどのような変化が見られるのかが調べられている。今のところ、ある種の鎮痛作用、脳の保護作用、記憶・学習機能などに内因性カンナビノイド・シグナルが重要な役割を担っていることが示唆されている。さらなる研究の発展により、脳内のカンナビノイド系の働きの全貌が明らかになることを期待している。

おわりに

多くの国ではマリファナを所持・摂取することは違法である。しかし、その一方で、マリファナに明らかな医学的有効性があることはよく知られており、アメリカなどではすでに合成マリファナ類似品が商品化されている。マリファナあるいはその類似品によって軽減される症状としては、不安、吐き気、疼痛、などがある。また、パーキンソン病や薬物濫用などの疾患の治療薬としても期待されている。内因性カンナビノイドについての基礎研究の成果が、副作用の少ない、より症状特異的な、脳内カンナビノイド系に作用する新しい治療薬の開発に役立つことを願っている。

謝 辞

本研究は、狩野方伸教授 (現在は大阪大学医学系研究科細胞神経科学・教授、2007年9月より東京大学医学系研究科神経生理学・教授)の研究室との共同研究によるものである。

引用文献

- 1) Wilson RI, Nicoll RA, Nature 2001; 410: 588-592
- 2) Ohno-Shosaku T et al., Neuron 2001; 29: 729-738
- 3) Kreitzer AC, Regehr WG, Neuron 2001; 29: 717-727
- 4) Maejima T et al., Neuron 2001; 31: 463-475
- 5) Chevalyere V et al., Annu Rev Neurosci 2006; 29: 37-76
- 6) Maejima T et al., J Neurosci 2005; 25: 6826-6835
- 7) Ohno-Shosaku T et al., Eur J Neurosci 2002; 15: 953-961
- 8) Fukudome Y et al., Eur J Neurosci 2004; 19: 2682-2692
- 9) Ohno-Shosaku T et al., J Physiol 2007; in press
- 10) Hashimoto-dani Y et al., Neuropharmacology 2007; in press
- 11) Hashimoto-dani Y et al., Neuron 2005; 45: 257-268
- 12) Ohno-Shosaku T et al., J Neurosci 2002; 22: 3864-3872
- 13) Hashimoto-dani Y et al., J Neurosci 2007; 27: 1211-1219