

# 逆行性シグナルとして働く内因性カンナビノイドの 同定およびその放出メカニズムの解明

著者	少作 隆子
著者別表示	Shosaku Takako
雑誌名	平成17(2015)年度 科学研究費補助金 基盤研究(B) 研究成果報告書
巻	2003-2005
ページ	12p.
発行年	2006-03
URL	<a href="http://doi.org/10.24517/00056870">http://doi.org/10.24517/00056870</a>



---

逆行性シグナルとして働く内因性カンナビノイドの  
同定およびその放出メカニズムの解明

---

(課題番号 15300133)

平成15年度～平成17年度 科学研究費補助金  
( 基盤研究 (B) ) 研究成果報告書

平成18年3月

研究代表者 少作隆子

金沢大学大学院医学系研究科・教授

金沢大学附属図書館



0800-04249-2

# 目次

1. はしがき	1
2. 研究組織・研究発表	2
3. 研究成果	
(1) 研究の背景・目的	5
(2) 研究方法	5
(3) 研究結果	6
(4) 今後の展望	10
4. 添付抄録（学会発表）	
(1) 第26回日本神経科学大会（シンポジウム・口演発表）	12
(2) 第81回日本生理学会大会（シンポジウム・ポスター発表）	13
(3) 第27回日本神経科学大会（口演発表・ポスター発表）	14
(4) 第82回日本生理学会大会（シンポジウム・ポスター発表）	15
(5) 第28回日本神経科学大会（ポスター発表）	16
(6) 第83回日本生理学会大会（シンポジウム・口演発表）	17
5. 添付論文（発表論文）	
(1) Eur J Neuroscience 18 (2003) 109-116	19
(2) Eur J Neuroscience 19 (2004) 2682-2692	29
(3) Current Neuropharmacol 2 (2004) 49-57	41
(4) Neurosci Res 50 (2004) 369-374	51
(5) Neuron 45 (2005) 257-268	59
(6) J Neurosci 25 (2005) 6826-6835	73
(7) Cell Calcium 38 (2005) 369-374	85
(8) J Neurosci 26 (2006) 2991-3001	93
6. 添付論文（出版物）	
(1) Excitatory-Inhibitory Balance (2003) 99-109	105
(2) Mol Med Vo. 41 (2004) 1087-1094	117
(3) Dendritic Neurotransmitter Release (2005) 269-281	127
(3) 生化学 第78巻 (2006) 126-130	141

## 1. はしがき

この冊子は、平成 15 年度～17 年度の科学研究費補助金・基盤研究 (B)「逆行性シグナルとして働く内因性カンナビノイドの同定およびその放出メカニズムの解明」(研究課題番号 15300133) に基づいて行われた研究の成果をまとめたものである。

### 研究意図

神経細胞間の情報伝達(シナプス伝達)は神経活動依存的に短期的および長期的に調節されており、そのことが脳の機能やその可塑性に重要な役割を果たしている。この神経活動依存的シナプス伝達調節に逆行性シグナル(シナプス後ニューロンから前ニューロンへのシグナル)が関与していることは以前より知られていたが、その実体が明らかとなったのはつい最近のことである。2001年に、我々のグループ(*Neuron* 29:729-738, 2001; *Neuron* 31:463-475, 2001)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(マリファナ類似物質)がシナプス後ニューロンの活動状態(脱分極や代謝型グルタミン酸受容体活性化)をシナプス前終末に知らせる逆行性シグナルとして働いていることが初めて証明され、世界の研究者の注目を集めた。しかし、内因性カンナビノイドとして知られている物質(anandamide、2-AG、noladin ether)のうちどの物質が実際に逆行性シグナルとして働いているのか、また、脱分極や代謝型グルタミン酸受容体活性化はどのようにしてその生成・放出を促進するのか、については依然不明であった。本研究では、逆行性シグナルとして働く内因性カンナビノイドを同定し、その生成・放出メカニズムを明らかにすることを試みた。

## 2. 研究組織・研究発表

### 研究組織

研究代表者：少作隆子 (金沢大学大学院医学系研究科・教授)  
研究分担者：狩野方伸 (大阪大学大学院医学系研究科・教授)

研究協力者：前島隆司 (自然科学研究機構生理学研究所・助手)  
福留優子 (金沢大学大学院自然科学研究科・大学院生)  
橋本谷祐輝 (大阪大学大学院医学系研究科・研究員)  
河村吉信 (大阪大学大学院医学系研究科・研究員)

### 交付決定額 (配分額)

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 15 年度	6, 6 0 0	0	6, 6 0 0
平成 16 年度	5, 0 0 0	0	5, 0 0 0
平成 17 年度	4, 7 0 0	0	4, 7 0 0
総計	1 6, 3 0 0	0	1 6, 3 0 0

### 研究発表

#### (1) 学会誌等

1. Ohno-Shosaku, T., Matsui, M., Fukudome, Y., Shosaku, J., Tsubokawa, H., Taketo, M. M., Manabe, T. and Kano, M. Postsynaptic M1 and M3 receptors are responsible for the muscarinic enhancement of retrograde endocannabinoid signalling in the hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 18: 106-116, 2003 年 7 月.
2. Fukudome, Y., Ohno-Shosaku, T., Matsui, M., Omori, Y., Fukaya, M., Tsubokawa, H., Taketo, M. M., Watanabe, M., Manabe, T. and Kano, M. Two distinct classes of muscarinic action on hippocampal inhibitory synapses: M2-mediated direct suppression and M1/M3-mediated indirect suppression through endocannabinoid signalling. *Eur. J. Neurosci.* 19: 2682-2692, 2004 年 5 月.
3. Kano, M., Ohno-Shosaku, T., Maejima, T., Yoshida, T. and Hashimoto, K. Retrograde modulation of synaptic transmission mediated by endogenous cannabinoids. *Curr. Neuropharmacol.* 2: 49-57, 2004 年.

4. Yamazaki, M., Ohno-Shosaku, T., Fukaya, M., Kano, M., Watanabe, M. and Sakimura, K. A novel action of stargazin as an enhancer of AMPA receptor activity. *Neurosci. Res.* 50: 369-374, 2004 年 12 月.
5. Hashimotodani, Y., Ohno-Shosaku, T., Tsubokawa, H., Ogata, H., Emoto, K., Maejima, T., Araishi, K., Shin, H.-S. and Kano, M. Phospholipase C $\beta$  serves as a coincidence detector through its Ca<sup>2+</sup> dependency for triggering retrograde endocannabinoid signal. *Neuron* 45: 257-268, 2005 年 1 月.
6. Maejima, T., Oka, S., Hashimotodani, Y., Ohno-Shosaku, T., Aiba, A., Wu, D., Waku, K., Sugiura, T. and Kano, M. Synaptically driven endocannabinoid release requires Ca<sup>2+</sup>-assisted metabotropic glutamate receptor subtype 1 to phospholipase C $\beta$ 4 signaling cascade in the cerebellum. *J. Neurosci.* 25: 6826-6835, 2005 年 7 月.
7. Ohno-Shosaku, T., Hashimotodani, Y., Maejima, T. and Kano, M. Calcium signaling and synaptic modulation: Regulation of endocannabinoid-mediated synaptic modulation by calcium. *Cell Calcium* 38: 369-374, 2005 年 9 月.
8. Kawamura, Y., Fukaya, M., Maejima, T., Yoshida, T., Miura, E., Watanabe, M., Ohno-Shosaku, T. and Kano, M. The CB1 cannabinoid receptor is the major cannabinoid receptor at excitatory presynaptic sites in the hippocampus and cerebellum. *J. Neurosci.* 26: 2991-3001, 2006 年 3 月.

## (2) 口頭発表

1. 狩野方伸、少作隆子. 内因性カンナビノイド (マリファナ類似物質) による逆行性シナプス伝達. 第 26 回日本神経科学大会、2003 年 7 月 23-25 日.
2. 少作隆子、坪川宏、松井稔、福留優子、少作純平、武藤誠、真鍋俊也、狩野方伸. M1 および M3 ムスカリン受容体を介する内因性カンナビノイド放出の促進. 第 26 回日本神経科学大会、2003 年 7 月 23-25 日.
3. 狩野方伸、少作隆子、前島隆司. 内因性カンナビノイドによるシナプス伝達の逆行性修飾. 第 81 回日本生理学会大会、2004 年 6 月 2-4 日.
4. 福留優子、少作隆子、橋本谷祐輝、松井稔、大森優子、深谷昌弘、武藤誠、渡辺雅彦、真鍋俊也、狩野方伸. ムスカリン受容体活性化による海馬抑制性シナプス伝達の 2 つの抑圧機構. 第 81 回日本生理学会大会、2004 年 6 月 2-4 日.
5. 橋本谷祐輝、少作隆子、福留優子、狩野方伸. 海馬ニューロンにおけるホスホリパーゼ C 活性の脱分極による促進. 第 27 回日本神経科学大会、2004 年 9 月 21-23 日.

6. 山崎真弥、少作隆子、深谷昌弘、狩野方伸、渡辺雅彦、崎村建司. StargazinファミリーはAMPA型受容体のサブユニットか？第27回日本神経科学大会、2004年9月21-23日.
7. 狩野方伸、少作隆子. 中枢シナプスにおける内因性カンナビノイドによる逆行性シグナリングのカルシウムによる調節. 第82回日本生理学会大会、2005年5月18-20日.
8. 橋本谷祐輝、少作隆子、坪川宏、狩野方伸. 海馬の逆行性内因性カンナビノイドシグナル誘発におけるポスホリパーゼC $\beta$ の役割. 第82回日本生理学会大会、2005年5月18-20日.
9. 山崎真弥、少作隆子、深谷昌弘、狩野方伸、渡辺雅彦、崎村建司. カルシウムチャンネル $\gamma$ サブユニットはAMPA型受容体機能に必須な補助因子である. 第28回日本神経科学大会、2005年7月26-28日.
10. 橋本谷祐輝、少作隆子、狩野方伸. 逆行性シグナル伝達における同期性検出器としてのホスホリパーゼC $\beta$ の役割. 第83回日本生理学会大会、2006年3月28-30日.
11. 河村吉信、深谷昌弘、前島隆司、吉田隆行、三浦会里子、渡辺雅彦、少作隆子、狩野方伸. 海馬および小脳における興奮性シナプス伝達のカンナビノイド受容体1型による修飾. 第83回日本生理学会大会、2006年3月28-30日.

### (3) 出版物

1. Kano, M. Ohno-Shosaku, T., Maejima, T. and Yoshida, T. Endocannabinoid-mediated modulation of excitatory and inhibitory synaptic transmission. In "Excitatory-Inhibitory Balance: Synapses, Circuits, Systems," edited by Hensch and Fagiolini, Kluwer Academic/Plenum Publishers, pp99-109, 2003年
2. 少作隆子、狩野方伸. マリファナ類似物質の逆行性伝達物質としての役割. *Molecular Medicine*, Vol. 41, 中山書店, pp1087-1094, 2004年
3. Ohno-Shosaku, T., Maejima, T., Yoshida, T., Hashimoto, K., Fukudome, Y. and Kano, M. Control of synaptic transmission in the CNS through endocannabinoid-mediated retrograde signaling. In "Dendritic Neurotransmitter Release," edited by Mike Ludwig, Springer Science+Business Media, Inc., pp269-281, 2005年
4. 橋本谷祐輝、少作隆子、狩野方伸. 脳内マリファナ類似物質発生のメカニズム. *生化学*, 日本生化学会発行, Vol. 78, pp126-130, 2006年2月.

### 3. 研究成果

#### (1) 研究の背景・目的

中枢ニューロン間シナプス伝達の神経活動依存的調節機構は、記憶・学習などさまざまな脳機能において重要な役割を担っている。このような活動依存的調節機構に、シナプス後ニューロンから放出され、シナプス前ニューロンに作用する因子、いわゆる逆行性伝達物質 (retrograde messenger) が関与していることは以前より知られていたが、その実体は長い間不明であった。2001年に、我々のグループおよび他の2つの研究グループがほぼ同時に、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を明らかにし、世界の研究者の注目を集めた。その後、内因性カンナビノイドがシナプス後ニューロンの脱分極やI型代謝型グルタミン酸受容体の活性化により放出され、それがシナプス前終末のCB1カンナビノイド受容体に作用し、伝達物質の放出を抑制することが、脳のさまざまな領域において次々と報告されるようになった。このように、内因性カンナビノイドが脳の広い範囲において逆行性シグナルとして働いていることは明らかであるが、内因性カンナビノイドとして知られている物質 (anandamide、2-AG、noladin ether) のうちどの物質が実際に逆行性シグナルとして働いているのか、また、内因性カンナビノイドはどのような合成経路により生成され放出されるのか、については依然不明であった。そこで本研究において、逆行性シグナルとして働く内因性カンナビノイドを同定し、その生成・放出メカニズムを明らかにすることを試みた。

#### (2) 研究方法

**実験材料:** 主に新生仔ラットの培養海馬ニューロンを用いて実験を行った。海馬を取り出し細かく刻んだ後にピペッティングにより細胞をバラバラにし、ポリオルニチンでコーティングした培養皿に移し、37°C、5% CO<sub>2</sub>の条件で1-2週間培養したものを実験に用いた。また、一部の実験では、マウスの培養海馬ニューロンやラットおよびマウスの海馬あるいは小脳スライス標本を用いて実験を行った。

**EPSC/IPSCの記録:** シナプスを形成している2個のニューロンをパッチ電極で共にホール・セル・クランプし、一方を刺激し、他方よりシナプス後電流を記録した。記録されるシナプス後電流には、グルタミン酸作動性の興奮性シナプス後電流 (EPSC) と GABA作動性の抑制性シナプス後電流 (IPSC) の2種類あるが、両者は時間経過、逆転電位、阻害剤の効果の違いにより容易に区別することができる。

**カンナビノイド放出量の推定:** 海馬の抑制性シナプスにはカンナビノイド感受性のものと非感受性のものがある。カンナビノイド感受性の場合、シナプス後ニューロン



より内因性カンナビノイドが放出されると IPSC の振幅が減少する。そこでこの IPSC の振幅の変化を指標にして内因性カンナビノイドの放出を検出した。

**細胞内  $Ca^{2+}$  濃度測定:** fura-2 (蛍光  $Ca^{2+}$  指示薬) をパッチ電極を介して細胞内に注入し、CCD カメラを用いて 340nm および 380nm の励起光を交互に照射し 510nm の蛍光強度 (F340 と F380) を測定した。細胞内  $Ca^{2+}$  濃度は F340/F380 比より算出した。

**PLC 活性の測定:** phospholipase C (PLC) の産物である diacylglycerol (DAG) により活性化される TRPC6 チャンネルの cDNA を培養海馬ニューロンの核に注入し強制発現させ、TRPC6 チャンネル電流の大きさを指標にして PLC 活性をリアルタイムでモニターした。

### (3) 研究結果

#### 内因性カンナビノイド 3 種の作用の比較

内因性カンナビノイドとしては anandamide (N-arachidonoyl ethanolamide)、2-AG (2-arachidonoylglycerol)、noladin ether (2-arachidonoylglyceryl ether) の 3 つの物質が報告されている。しかし、この内のどれが実際に逆行性シグナルとして働いているのかについてはまだ明らかとはなっていない。そこで、まず、これらの物質の作用を比較する実験を行った。実験材料としては、ラット培養海馬ニューロンを用い、抑制性シナプス伝達を抑制する作用について調べた。その結果、2-AG が最も効果が強いことがわかった。また、2-AG の効果のみが完全に可逆的であった。以上の結果と、脳における 2-AG 含有量の高さから判断すると、実際に逆行性シグナルとして働く内因性カンナビノイドは 2-AG である可能性が最も高いと考えられた。

#### M1/M3 ムスカリン受容体活性化による内因性カンナビノイドの放出

我々はすでに、I 型代謝型グルタミン酸受容体の活性化により内因性カンナビノイドが放出されることを報告してきた。この受容体は Gq 共役型受容体であることから、他の Gq 共役型受容体の活性化によってもカンナビノイド放出が引き起こされる可能性が考えられる。そこで、ムスカリン性アセチルコリン受容体についてその可能性を検討した。

ムスカリン受容体には Gi/o に共役した M2/M4 受容体と Gq に共役した M1/M3/M5 受容体が存在する。この内、海馬には M1, M2, M3 受容体が多く発現していることが知られている。そこで、M2 受容体アンタゴニストである gallamine 存在下でムスカリン受容体アゴニストである oxotremorine M (oxo-M) を投与し、カンナビノイドが放出されるかどうか調べた。その結果、カンナビノイド感受性 IPSC のみ振幅の減少が観察され、また、その効果はカンナビノイド・アンタゴニスト AM281 処理により完全に消失するこ

とがわかり、gallamine 非感受性のムスカリン受容体の活性化により、カンナビノイドが放出されると考えられた。さらに、この効果は M1 ノックアウトマウスおよび M3 ノックアウトマウスでは消失しないが、M1/M3 ダブルノックアウトマウスでは完全に消失した。以上の結果より、M1/M3 ムスカリン受容体の活性化は内因性カンナビノイド放出を引き起こすと結論した。(添付論文 2, Eur J Neurosci 19: 2682-2692, 2004 参照)

### 代謝型受容体を介するカンナビノイド放出の PLC $\beta$ 依存性

以上のように、I 型代謝型グルタミン酸受容体や M1/M3 ムスカリン受容体などの Gq 共役型受容体の活性化により内因性カンナビノイドが放出されることが明らかとなった。これらの受容体は Gq 蛋白質を介して PLC $\beta$  を活性化させることが知られている。また、内因性カンナビノイドの 1 つ 2-AG は主に膜のリン脂質より PLC と DAG lipase により生成されたと考えられている。したがって、これらの受容体を活性化させると、PLC $\beta$  が活性化され、それにより生成される DAG がさらに DAG lipase の働きにより 2-AG となり細胞外に放出され逆行性シグナルとして働く、という可能性が考えられる。そこでこの可能性を検証するために、PLC $\beta$ 欠損マウスを用いて実験を行った。PLC $\beta$ には 4 つのアイソザイムがあるが、実験に用いる海馬ではその内の PLC $\beta$ 1 が優先的に発現している。そこで、野生型マウスおよび PLC $\beta$ 1 欠損マウスからそれぞれ海馬ニューロンを取り出し培養し、I 型代謝型グルタミン酸受容体や M1/M3 ムスカリン受容体などの Gq 共役型受容体活性化による内因性カンナビノイドの放出を比較した。その結果、これらの受容体活性化による内因性カンナビノイドの放出 (IPSC の抑圧) は野生型マウスのニューロンではラットの場合と同様に見られるのに対し、PLC $\beta$ 1 欠損マウスでは消失していることが判明した。したがって、Gq 共役型受容体活性化による内因性カンナビノイドの放出には PLC $\beta$ が必要であると結論した。また、PLC は anandamide の生成に関与しないと考えられていることから、以上の結果は逆行性シグナルとして働く内因性カンナビノイドが 2-AG であることを強く示唆する。(添付論文 5, Neuron 45: 257-268, 2005 参照)

### 受容体活性化と脱分極の相乗効果のメカニズム

強い脱分極による細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度の大きな上昇は内因性カンナビノイドの放出を引き起こすことが知られている。また、以上のように、Gq 共役型受容体の強い活性化も内因性カンナビノイドの放出を引き起こす。興味深いことには、単独ではカンナビノイド放出を引き起こさないような弱い脱分極と、I 型代謝型グルタミン酸受容体の弱い活性化が同時に起こるとカンナビノイドが放出されることが報告されている。そこで、この両者の相乗効果について詳しく検討した。

まず、M1/M3 ムスカリン受容体に I 型代謝型グルタミン酸受容体と同様の働きがあるかどうか調べた。単独ではカンナビノイド放出を引き起こさない弱い脱分極とムスカリン受容体の弱い活性化を組み合わせると、I 型代謝型グルタミン酸受容体の場合と同様に、カンナビノイドが放出されることがわかった。この現象は M1/M3 ダブルノックアウトマウスでは完全に消失した。以上の結果より、I 型代謝型グルタミン酸受容体や M1/M3 ムスカリン受容体のような Gq 共役型受容体の弱い活性化と弱い脱分極が同時に起こると内因性カンナビノイドが放出されると考えられた。(添付論文 1, Eur J Neurosci 18:106-116, 2003 参照)

次に、この現象のメカニズムについて検討した。上述のように、Gq 共役型受容体の活性化によるカンナビノイド放出には PLCβ が関与していることから、この PLCβ の活性化が生理的範囲の細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇により促進されるのではないかと考え、その可能性について検討した。TRPC6 チャネル電流の大きさを指標にし、Gq 共役型受容体アゴニスト (I 型代謝型グルタミン酸受容体アゴニストである DHPG、あるいはムスカリン受容体アゴニストである oxo-M) 投与による PLCβ の活性化の細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度依存性を調べたところ、生理的範囲において Ca<sup>2+</sup>濃度が高いほど PLCβ は強く活性化されることがわかった。したがって、PLCβ は Gq 共役型受容体の活性化と脱分極が同時に起こると強く活性化され、内因性カンナビノイドの放出を引き起こすと考えられた。(添付論文 5, Neuron 45: 257-268, 2005 参照)

### シナプス刺激によるカンナビノイド放出のメカニズム

以上をまとめると、内因性カンナビノイド放出を引き起こすものとしては、(1) 強い脱分極による大きな細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇、(2)、I 型代謝型グルタミン酸受容体や M1/M3 ムスカリン受容体のような Gq 共役型受容体の強い活性化、(3) 弱い脱分極と弱い Gq 共役型受容体活性化の同期、の 3 つの経路があると考えられる。そこで、生理的条件下でのシナプス刺激により引き起こされるカンナビノイド放出は、この 3 つの内のどの経路によるものかについて検討した。

実験には小脳スライス標本を用いた。平行線維刺激により誘発される EPSC (PF-EPSC) をプルキンエ細胞より記録し、その振幅の変化を指標にしてカンナビノイドの放出を検出した。平行線維を高頻度で刺激すると、内因性カンナビノイドが放出され PF-EPSC の振幅が一過性に減少することはすでに報告されている。そこでこの現象の PLCβ 依存性および Ca<sup>2+</sup>依存性を調べたところ、平行線維刺激によるカンナビノイド放出には PLCβ の活性化と細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度上昇の両方が必要であることが判明した。したがって、シナプス刺激によるカンナビノイド放出は主に 3 番目の経路、すなわち、弱い脱分極と弱い

Gq 共役型受容体活性化の同期、により引き起こされると考えられた。(添付論文 6, J Neurosci 25: 6826-6835, 2005 参照)

### Ca<sup>2+</sup>濃度上昇単独によるカンナビノイド放出のメカニズム

強い脱分極による大きな細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇により内因性カンナビノイドが放出されることは数年前より報告されているが、そのメカニズムについては確立されていない。そこで本研究において、薬理学的手法を用いてメカニズムの解明を試みた。

カンナビノイドの生合成経路を調べる実験によく用いられている酵素阻害剤について、まず、その副作用の有無について調べた。PLC 阻害剤の U73122、DAG lipase 阻害剤の RHC-80267、DAG kinase 阻害剤の DAG kinase inhibitor I、PA-hydrolase 阻害剤の propranolol には、それぞれ IPSC の振幅を減少させる副作用、あるいは、シナプス前終末のカンナビノイド感受性を低下させる副作用があることが判明した。したがって、本研究のように IPSC の振幅を指標とするような実験には使用できないことがわかった。一方、PLC 阻害剤の ET-18、DAG lipase 阻害剤の THL にはそのような副作用は見られなかった。そこで、脱分極により誘導されるカンナビノイド放出に対する ET-18 と THL の効果を調べたところ、共にカンナビノイド放出を抑制することが判明した。したがって、ET-18 感受性酵素 (おそらく PLC) と THL 感受性酵素 (おそらく PLC) が関与すると結論した。

脱分極により誘導されるカンナビノイド放出に関与する PLC のタイプとしては、Ca<sup>2+</sup>濃度依存性の強い PLC  $\delta$  の可能性が最も高いと考えられた。そこで PLC  $\delta$  ノックアウトマウスを用いて検討したが、カンナビノイド放出は抑制されなかった。また、PLC $\beta$  ノックアウトマウスにおいても脱分極によるカンナビノイド放出は抑制されなかった。したがって、これら以外のタイプの PLC が関与すると考えられた。

### 内因性カンナビノイド放出のメカニズム

本研究の結果より、内因性カンナビノイド放出メカニズムとして以下のことが明らかとなった。I 型代謝型グルタミン酸受容体や M1/M3 ムスカリン受容体のような Gq 共役型受容体が強く活性化されると、PLC $\beta$ が活性化され DAG が生成され、それが DAG lipase により 2-AG となり細胞外に放出される。また、強い脱分極により細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度が大きく上昇すると、ET-18 および THL および感受性の経路により内因性カンナビノイドが放出される。おそらく PLC $\beta$ や PLC  $\delta$  以外のタイプの PLC と DAG lipase が働き、2-AG が生成され放出されると考えられる。弱い脱分極と弱い Gq 共役型受容体活性化の同期によるカンナビノイド放出の場合は、PLC $\beta$ が両者の同期により強く活性化され DAG が生成

され、DAG lipase を介して 2-AG が生成され放出される。放出された 2-AG は逆行性シグナルとしてシナプス前終末の CB1 カンナビノイド受容体に作用し、伝達物質の放出を抑制し、シナプス伝達を抑制する。

#### (4) 今後の展望

カンナビノイド受容体およびカンナビノイド放出を引き起こす I 型代謝型グルタミン酸受容体や M1/M3 ムスカリン性アセチルコリン受容体は脳に広く分布する。また、カンナビノイド受容体の活性化は、興奮性伝達物質グルタミン酸や抑制性伝達物質 GABA のみならず、その他の様々な伝達物質の放出にも影響を及ぼす。したがって、内因性カンナビノイドによる活動依存的なシナプス伝達調節は、脳のさまざまな領域のさまざまなシナプスにおいて見られる基本的な現象であると考えられる。本研究により、シナプス後ニューロンの脱分極および Gq 共役型受容体の活性化に依存した内因性カンナビノイド放出のメカニズムはほぼ明らかとなったが、放出された内因性カンナビノイドの除去機構、および、その作用機序については未だ不明の点が多い。また、カンナビノイド・シグナルが個々の脳機能においてどのような役割を担っているのかについては、恐怖条件付けの消去過程に関与しているという報告を含め数編あるのみである。カンナビノイドシグナルの全貌の解明およびその脳機能における役割を明らかにするためには今後のさらなる研究が必要である。