

## 内因性カンナビノイドによる逆行性シナプス伝達の 脳機能・脳病態における役割の解明

Research on the roles of endocannabinoid-mediated retrograde synaptic transmission in physiology and pathophysiology of the brain

狩野 方伸 (KANO MASANOBU)

東京大学・大学院医学系研究科・教授



### 研究の概要

脳内に存在するマリファナ類似物質（内因性カンナビノイド）はシナプスの後部から前部に“逆行性”に働いて、シナプス伝達を調節している。本研究では、この逆行性伝達の機構と、記憶・学習等の脳機能や神経細胞の過剰興奮等の脳病態における役割の解明を目指し、電気生理学、形態学、分子細胞生物学、行動神経科学的といった様々な研究手法を用いて研究を進めている。

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：分子・細胞神経科学、シナプス可塑性

### 1. 研究開始当初の背景

脳内に存在するマリファナ類似物質（内因性カンナビノイド：eCB）はシナプスにおいて逆行性伝達物質として働く。即ち、活動依存的にニューロンから放出され、シナプス前終末のカンナビノイドCB<sub>1</sub>受容体に作用してシナプス伝達を抑える。申請者らの研究を中心として、シナプス後部からのeCBの合成・放出は、脱分極による細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇、G<sub>q/11</sub>結合型受容体の活性化、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇とG<sub>q/11</sub>結合型受容体活性化の相乗作用、の3つによって起こることがこれまでに明らかとなった。一方で、eCB系は、記憶・学習、不安・うつ、薬物依存、食欲調節、鎮痛、脳障害時の細胞保護など、様々な脳機能に関与することが明らかにされてきた。

### 2. 研究の目的

培養ニューロン、脳スライス標本、動物個体脳、といった階層の異なる標本を対象に、主として電気生理学的手法により、eCB系のシナプス伝達調節の機構とそれぞれの脳部位に特有のeCB系の役割を調べる。さらに、eCB系の分子の様々な遺伝子改変マウスの脳機能の異常を解析する。これら一連の研究により、eCB系の脳機能に果たす役割の包括的理解を目指す。

### 3. 研究の方法

第一に、海馬培養神経細胞などの単純な *in vitro* 標本を用いた電気生理学的解析により、

eCB系を駆動しうる新たなシグナルを探求し、eCB系を調節する機構の解明を目指す。第二に、脳の各部位におけるeCB系の「個性」を明らかにするため、スライス標本を対象とした電気生理学的解析により、興奮性及び抑制性シナプスのeCBによる修飾作用を定量的に解明し、種々の遺伝子改変マウスでのeCB系の変化を実測する。第三に、逆行性シナプス伝達が *in vivo* の動物個体脳の神経活動に与える影響を、ニューロンの活動や細胞内カルシウム応答を指標にし、種々の遺伝子改変マウスと野生型マウスを比較することで明らかにする。第四に、eCBによる逆行性シナプス伝達が、脳の各部位において、正常な脳機能や脳病態において果たす役割を解明する。eCBシグナル伝達系の様々な遺伝子改変マウスを用い、学習・記憶、不安、薬物依存、抗痙攣作用等について研究する

### 4. これまでの成果

(1) 小脳プルキンエ細胞、海馬ニューロン及び線条体中型有棘細胞において、eCBによる一過性抑圧 (eCB-STD) が、2-アラキドノイルグリセロール(2-AG)の合成酵素 (DGLα) の欠損マウスにおいて完全に消失していたが、DGLβ欠損マウスでは正常であった。また、小脳、海馬、線条体の2-AG含有量はDGLα欠損マウスでは正常マウスに比べて20%程度に減少していたが、DGLβ欠損マウスでは正常であった。これらの結果から、

逆行性シグナルを担う eCB は DGLα によって作られる 2-AG であることが確定した。

(2) 海馬培養ニューロンにおいて、Protease-activated receptor 1 (PAR1)の活性化によって 2-AG が放出され、逆行性のシナプス伝達抑制が起こることを発見した。

(3) 海馬培養ニューロンにおいて、新たな DGL 阻害剤 OMDM-188 を用いて一連の電気生理学的解析を行い、2-AG は刺激が加わると、その都度 DGL によって合成され、放出される可能性を示した。

(4) 2-AG の分解酵素モノアシルグリセロールリパーゼ(MGL)の小脳顆粒細胞特異的欠損マウスの電気生理学的および形態学的解析から、小脳では、2-AG はシナプス非特異的に分解され、逆行性シナプス伝達の持続時間が調節されていることが明らかになった。

(5) 側坐核の中型有棘細胞においても、興奮性及び抑制性シナプスにおいて逆行性シナプス伝達物質は 2-AG であった。

(6) DGLα 欠損マウスの側坐核中型有棘細胞では、興奮性シナプス電流の AMPA 受容体成分と NMDA 受容体成分の比 (AMPA/NMDA 比)が野生型マウスに比べて有意に上昇しており、NMDA 受容体成分の減衰が早いことから、NMDA 受容体機能の低下が示唆された。

(7)自由行動下の DGLα 欠損マウスの海馬歯状回では有意にシナプスの長期増強(LTP)が増大していたが、海馬 CA1 における LTP に異常は認めなかった。

(8) DGLα 欠損マウスでは不安のレベルが亢進し、モルヒネによる薬物依存が起こらないが、てんかん焦点形成が起こりやすかった。

(9) DGLα 欠損マウスでは、連合学習課題である匂いパターン記憶課題とモリス水迷路課題は正常だが、非連合学習課題である匂い馴化は促進していた。したがって、2-AG は非連合学習を抑制していると考えられる。

(10) MGL 欠損マウスでは、モリス水迷路試験において、記憶の獲得は正常であるが、消去が有意に促進していた。

(11) DGLα のプルキンエ細胞特異的欠損マウスでは、小脳依存性運動学習である瞬目反射条件付けが高齢のマウスにおいて有意に障害されていた。また、MGL の ブロッカーを投与したマウスでは、瞬目反射条件付けの獲得は正常だが消去が起きにくかった。この結果、2-AG シグナルは小脳依存性の運動学習に促進的に作用することが明らかとなった。

## 5. 今後の計画

(1) 2-AG の加水分解産物の神経活動に対する影響とその機構の研究

(2) eCB 系による NMDA 受容体機能調節の機構解明

(3) 2-AG が大脳皮質局所神経回路の形成と活動調節に果たす役割の解明

(4) 大脳基底核の eCB 系の運動学習における役割の研究

(5) 分界条床核の抑制性シナプス伝達の 2-AG による逆行性伝達抑制と痛みによる情動記憶との関連の研究

(6) eCB 系の抗炎症作用の分子機構に関する研究

## 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

(1) 発表論文

1) Nakayama, H., Miyazaki, T., Kitamura, K., Hashimoto, K., Yanagawa, Y., Obata, K., Sakimura, K., Watanabe, M., Kano, M.: GABAergic inhibition regulates developmental synapse elimination in the cerebellum. **Neuron**, in press.

2) Takahashi, N., Kitamura, K., Matsuo, N., Mayford, M., Kano, M., Matsuki, N., Ikegaya, Y.: Locally synchronized synaptic inputs. **Science**, 335: 353-356, 2012.

3) Hashimoto, K., Tsujita, M., Miyazaki, T., Kitamura, K., Yamazaki, M., Shin, H-S., Watanabe, M., Sakimura, K., Kano, M.: Postsynaptic P/Q-type Ca<sup>2+</sup> channel in Purkinje cell mediates synaptic competition and elimination in developing cerebellum. **Proc Natl Acad Sci USA** 108: 9987-9992, 2011.

4) Uchigashima, M., Yamazaki, M., Yamasaki, M., Tanimura, A., Sakimura, K., Kano, M., Watanabe, M.: Molecular and morphological configuration for 2-arachidonoylglycerol-mediated retrograde signaling at mossy cell-granule cell synapses in the dentate gyrus. **J Neurosci** 31: 7700-7714, 2011.

5) Hashimoto, Y., Ohno-Shosaku, T., Yamazaki, M., Sakimura, K., Kano, M.: Neuronal protease-activated receptor 1 drives synaptic retrograde signaling mediated by the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. **J Neurosci** 31: 3104-3109, 2011.

6) Tanimura, A., Yamazaki, M., Hashimoto, Y., Uchigashima, M., Kawata, S., Abe, M., Kita, Y., Hashimoto, K., Shimizu, T., Watanabe, M., Sakimura, K., Kano, M.: The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol produced by diacylglycerol lipase α mediates retrograde suppression of synaptic transmission. **Neuron** 65: 320-327, 2010.

英文論文総数： 31 編 (上記 6 編を含む)

(2) 受賞

第 13 回 時實利彦記念賞 (平成 23 年 9 月 15 日)

(3) ホームページ等

<http://plaza.umin.ac.jp/~neurophy/>