

神経回路の興奮性に対する CB₂ 受容体の役割の解明

研究代表者 菅谷 佑樹 ¹⁾
研究分担者 狩野 方伸 ¹⁾
研究分担者 崎村 建司 ²⁾

1) 東京大学大学院医学系研究科 2) 新潟大学脳研究所

研究要旨

近年、カンナビノイド CB₂ 受容体が中枢神経系においても発現し、何らかの機能を持っている可能性が示唆されている。本研究では、遺伝子改変技術により作出した CB₂ 受容体コンディショナルノックアウトマウスや CB₂ 受容体の薬理学的阻害を用いて、神経回路の興奮性における CB₂ 受容体の役割を明らかにすることを目的とした。野生型マウスにおける CB₂ 受容体単独の薬理学的阻害では、カイン酸誘発発作に影響が認められなかったが、CB₁ ノックアウトマウスでは CB₂ 受容体の薬理学的阻害によって発作が重篤化した。また、野生型マウスにおいて CB₁ 受容体との共阻害によりてんかん焦点の形成を促進する効果が認められた。この結果から、CB₂ 受容体が神経回路の興奮性を抑制する可能性が示唆された。現在、CB₂ 受容体の中枢神経系における機能をより詳細に明らかにするために CB₂ コンディショナルノックアウトマウスを作成中である。

A. 研究目的

内因性カンナビノイドは生体において合成される脂質メディエーターであり主に神経系、免疫系において重要な役割を担っていると考えられている。神経系に強く発現しているカンナビノイド CB₁ 受容体はシナプス伝達を逆行性に抑制し学習や情動、食行動、神経細胞保護に重要な役割を果たしていることが報告されている。もう一つのカンナビノイド受容体である CB₂ 受容体は免疫系細胞に発現し、免疫反応を抑制していることが報告されている。しかし近年、CB₂ 受容体が中枢神経系に発現し、神経細胞の機能を調節している可能性を示す報告が多くされている。ただ、CB₂ 受容体の抗体染色は世界的にいまだ成功しておらず、神経細胞特異的ノックアウトマウスを用いた研究もないことから、神経細胞における発現と機能は明らかになっていない。本研究はカンナビノイド CB₂ 受容体について、新潟大学脳研

究所の崎村教授と共同で神経細胞特異的ノックアウトマウスを作出し、行動学的、生理学的、解剖学的解析を行い、CB₂ 受容体の中枢神経系における役割を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法（倫理面への配慮を含む）

興奮性細胞特異的に CB₂ 受容体を欠損したマウスを作出する目的で、CB₂ floxed マウスを C57BL/6 系統で作出し、興奮性細胞で Cre を発現する Emx1-Cre マウスと交配する。これらのマウスを用いて電気生理学的、行動学的に解析する。特に CB₂ 受容体の活性化が回路の異常興奮やてんかん発作を抑制する可能性があるとの結果が得られていることから、カイン酸や電気刺激によるてんかん誘発試験を行う。並行して、CB₂ 受容体シグナルの急性阻害と長期阻害では異なる影響があることが報告されていることから、薬理学的な急性阻害を行い、

同様に解析する。

C. 研究結果

現在、 CB_2 floxedマウスを樹立に成功し、薬剤耐性カセットの除去を行っている。今後、Creマウスと交配し、解析対象の動物を作出して解析に供する。

ノックアウトマウスの作成と並行して、 CB_2 受容体の薬理的な阻害による CB_2 受容体の役割の検討を行った。その結果、野生型C57BL/6Nマウスでは CB_2 受容体阻害薬を投与してもカイニン酸誘発性てんかん発作に影響は認められなかったが、 CB_1 受容体ノックアウトマウスでは CB_2 受容体阻害薬の投与によりカイニン酸誘発性てんかん発作開始までの潜時が短縮し、死亡率が有意に上昇した。内因性カンナビノイド2アラキドノイルグリセロールを産生できないマウス(DGL α ノックアウトマウス)でも CB_1 受容体ノックアウトマウスより発作潜時が短く高い死亡率が認められた。したがって、2アラキドノイルグリセロールによる CB_2 受容体の活性化がてんかん発作の悪化を阻止している可能性が示唆された。また、長期間の発作誘発によるてんかん回路の形成も CB_1 受容体と CB_2 受容体の共阻害によって促進した。

D. 考察

以上の結果から、 CB_2 受容体シグナリングは神経回路の興奮性を抑制し、てんかん発作重積による死亡率を低下させる働きがあると考えられた。さらにてんかんの進行に伴う回路変化の過程にも影響する可能性が示唆された。本実験では全身投与による薬理的阻害を用いており、作用を発現している細胞種の特定ができなかった。これまでの報告によると中枢神経系の神経細胞での CB_2 受容体mRNAの発現が認められているが、抗体染色による受容体の発現パターンの解析に関しては信頼性の高い報告がない。今後は、ノックアウトマウスをもちいた抗体の作成などを通じて、解剖学的な発現パターンを明らかにするとともに、コンディショナルノックアウトマウスを用いてスライス電気生理による詳細な機能解析が必要である。

E. 結論

CB_2 受容体の活性化は神経回路の異常興奮を抑える可能性が示唆された。今後はコンディショナルノックアウトマウスを用いた細胞特異的な CB_2 受容体の欠失による機能解析が必要である。

F. 研究発表（上記課題名に関するもの）

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Gordon Research Conference: Cannabinoid Function in the CNS・2015年5月24-29日・ルッカ、イタリア

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし