

内因性カンナビノイドによる逆行性シナプス伝達調節のメカニズム

谷村 あさみ, 橋本谷 祐輝, 狩野 方伸

マリファナの精神神経作用は、その活性成分が脳内のカンナビノイド受容体に結合して引き起こされるが、カンナビノイド受容体の内因性のリガンド（内因性カンナビノイド）が、シナプスにおいて逆行性シグナル伝達を担うことが2001年に明らかにされ、その働きについての理解が急速に進展した。内因性カンナビノイドは、シナプス後部のニューロンで産生され、シナプス前終末に局在する1型カンナビノイド受容体を逆行性に活性化し、神経伝達物質の放出を短期あるいは長期に抑制する。この分野の最近の進展として内因性カンナビノイド産生酵素のノックアウトマウスが作製・解析され、長年の疑問であった逆行性シグナル伝達を担う内因性カンナビノイドの分子実体が解明されたことがあげられる。さらに近年、形態学的研究からカンナビノイドシグナル関連分子のシナプスでの詳細な局在が明らかにされてきた。本稿ではそれらの最近の知見も含め、内因性カンナビノイドによる逆行性シナプス伝達調節について概説する。

1. はじめに

大麻草 (*Cannabis sativa*) の加工品、マリファナは古くから医療やリラクゼーションに用いられてきた。マリファナの摂取は、幻覚、高揚感、不安の軽減、鎮痛、運動障害など様々な精神神経作用を引き起こす。これらの作用はマリファナに含まれる脂溶性の Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール (Δ^9 -THC) が脳内のカンナビノイド受容体に作用して発現する。この受容体は脳内で作られる本来のリガンド（内因性カンナビノイド）によって活性化され、様々な生理機能に関与しているが、 Δ^9 -THCはその機能を攪乱することによって、上記のような精神神経作用を及ぼすと考えられる。内因性カンナビノイドの主要な生理機能として、シナプス伝達の制御が注目されてきたが、特にこの10年でそのメカニズムの解明が飛躍的に進んだ。本稿で

は内因性カンナビノイドによるシナプス伝達調節について、最近の知見も交えて概説する。

2. 内因性カンナビノイド

1964年に Δ^9 -THCが大麻から抽出され、強い精神神経作用を引き起こすことが明らかとなった (図1)¹⁾。1990年になって、 Δ^9 -THCを結合する $G_{i/o}$ タンパク質共役型受容体（カンナビノイド受容体（後述））が同定され、脳内に広範に存在することが示された。この事実は、体内で作られるカンナビノイド受容体に結合する内因性のリガンド（内因性カンナビノイド）が存在することを示唆していた。検索の結果、1992年に*N*-アラキドノイルエタノールアミド（アナンダミド）が、1995年に2-アラキドノイルグリセロール（2-AG）が内因性カンナビノイドとして同定された²⁻⁴⁾ (図1)。現在、他にもいくつかの分子が内因性カンナビノイドの候補として報告されているが、アナンダミドと2-AGが主要な内因性カンナビノイドであると考えられている。2-AGはカンナビノイド受容体の full agonist である。また、アナンダミドはカンナビノイド受容体の partial agonist であり、バニロイド受容体のアゴニストとしても働くことが知られている⁵⁾。

アナンダミドは生化学的に、二つの酵素反応によって膜のリン脂質から産生されると考えられている (図2)。ま

東京大学大学院医学系研究科 機能生物学専攻 神経生理学分野 (〒113-0033 文京区本郷7-3-1 東京大学大学院 医学系研究科 教育研究棟 6階)

Mechanisms of endocannabinoid-mediated retrograde modulation of synaptic transmission

Asami Tanimura, Yuki Hashimoto-dani and Masanobu Kano (Department of Neurophysiology, Division of Functional Biology, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan)

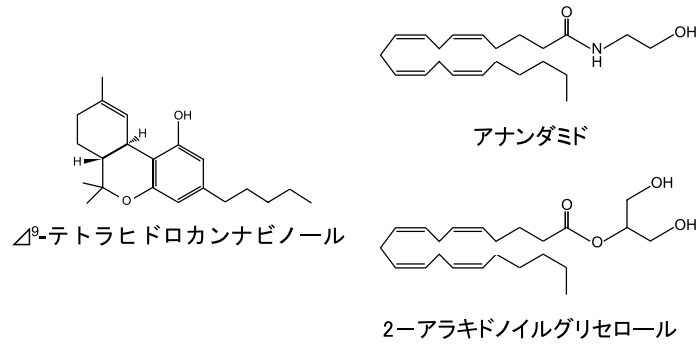


図1 Δ^9 -テトラヒドロカンナビノールと主要な2種類の内因性カンナビノイドの構造式

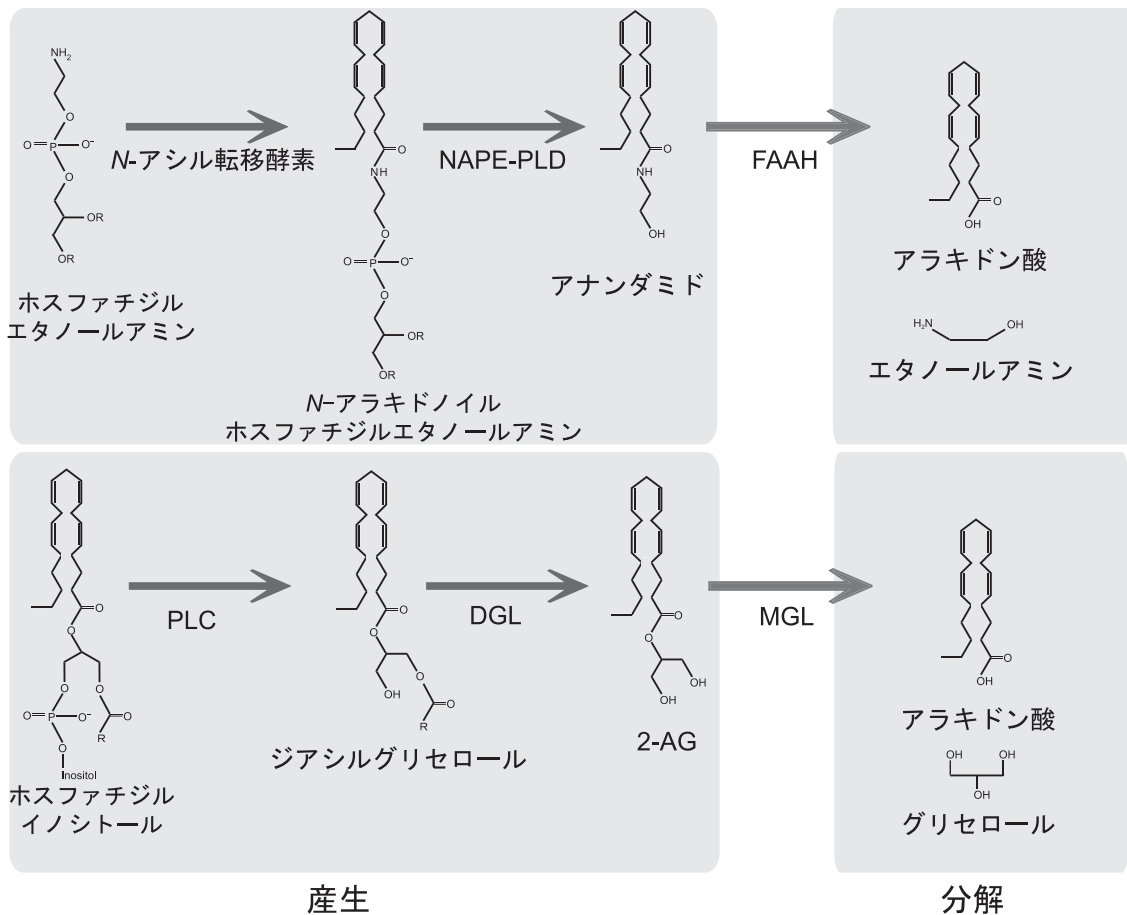


図2 内因性カンナビノイドの産生と分解経路

アナндаミド（上段）はホスファチジルエタノールアミンから2段階の酵素反応によって産生され、脂肪酸アミド加水分解酵素（FAAH）によって加水分解される。NAPE-PLD：*N*-アシルホスファチジルエタノールアミン加水分解ホスホリパーゼD

2-アラキドノイルグリセロール（2-AG）（下段）はホスファチジルイノシトールから2段階の酵素反応によって産生され、モノアシルグリセロールリパーゼ（MGL）によって加水分解される。PLC：ホスホリパーゼC
DGL：ジアシルグリセロールリパーゼ

一开始に、*N*-アシル転移酵素によって、ホスファチジルエタノールアミン（PE）から*N*-アラキドノイルPEが産生される。次に、*N*-アシルホスファチジルエタノールアミン加水分解ホスホリパーゼD（NAPE-PLD）による働

きで*N*-アラキドノイルPEが加水分解されて、アナндаミドとホスファチジン酸が産生される⁶⁾。アナндаミドの産生はカルシウム濃度の上昇に依存することが生化学的実験で報告されており、カルシウムが*N*-アシル転移酵素の

活性化を引き起こすと考えられている。最近、NAPE-PLD ノックアウトマウスが作製され、アナンダミド量が調べられたが、このノックアウトマウスではアナンダミドの産生に異常が認められなかった⁷⁾。そのため、生体内では上記と別のルートによってもアナンダミドが産生されると考えられるが、その経路についてはまだ明らかになっていない。

生化学的には、2-AGは複数の経路で産生されうるが、生体内では次の経路が主要であると考えられている(図2)。2-AGの源は、アラキドン酸を含む膜のリン脂質、特にホスファチジルイノシトール4,5-二リン酸である。第一段階として、ホスホリパーゼCによって膜のリン脂質からジアシルグリセロール(DG)が産生される。次に、ジアシルグリセロールリパーゼ(DGL)によってDGから2-AGが産生される⁸⁾。

3. 内因性カンナビノイドの分解

内因性カンナビノイドは、加水分解によって代謝される(図2)⁹⁾。加水分解酵素の一つである脂肪酸アミド加水分解酵素(FAAH)はシナプス後部ニューロンに局在し、主にアナンダミドを分解する。アナンダミドはFAAHによってアラキドン酸とエタノールアミンに分解される。また、シナプス前終末内に局在するモノアシルグリセロールリパーゼ(MGL)は、2-AGを加水分解する酵素である。2-AGはMGLによって、アラキドン酸とグリセロールに分解される。最近、新たに2-AGを分解する酵素としてABHD6とABHD12が同定された¹⁰⁾。このうち、ABHD6はシナプス後部ニューロンの細胞膜に存在し、2-AGを分解すると考えられている。2-AGの85%がMGLによって分解され、残りがおそらくABHD6によって分解されると考えられている。マウスのミクログリア由来のBV-2細胞でABHD6をノックダウンすると、加水分解された2-AG量が減少することが報告されている¹¹⁾。また、アナンダミドと2-AGはシクロオキシゲナーゼ-2(COX-2)による酸化反応によっても代謝される¹⁰⁾。

4. カンナビノイド受容体

1990年に最初のカンナビノイド受容体(CB₁受容体)の遺伝子がクローニングされた¹²⁾。カンナビノイド受容体は、7回膜貫通型のG_{i/o}タンパク質共役型受容体であり、現在CB₁とCB₂の2種類が同定されている。CB₁受容体は主に中枢神経系の細胞に発現しており、CB₂受容体は主に免疫系の細胞に発現している。CB₁受容体は、脳に広く発現しており、特に高次脳機能を司る大脳皮質、記憶の中核である海馬、恐怖・情動行動を司る扁桃体、運動機能を調節している大脳基底核や小脳といった脳部位に豊富に発現している⁸⁾。神経細胞では、細胞体や樹状突起における発現は弱く、神経終末に豊富に存在しており、以下で詳述す

るようにシナプス伝達の制御に深く関わっている。

グルタミン酸受容体等の一般的な神経伝達物質受容体のリガンド結合部位が細胞外ドメインにあるのに対して、CB₁受容体のリガンド結合部位は脂質二重膜内の膜貫通領域にある¹³⁾。このことは、脂質分子である内因性カンナビノイドが細胞膜に溶け込んだのちに膜内を側方移動しCB₁受容体を活性化させることを示唆している。神経終末でのCB₁受容体の活性化はG_{i/o}タンパク質を介して電位依存性カルシウムチャンネルを抑制、あるいは電位依存性および内向き整流性カリウムチャンネルを活性化する⁸⁾。その結果、神経伝達物質の放出が抑制され、シナプス伝達が抑えられる。CB₁受容体はリガンドに長く暴露されると、脱感作が起きることや、発現量が低下することが知られている。海馬培養細胞を使った実験では、CB₁受容体のアゴニストを長期間投与するとCB₁受容体の発現量が低下することが報告されている¹⁴⁾。また、アゴニストの長期間投与によって、CB₁受容体が細胞膜上で神経終末のシナプス部からシナプス外へ移動することが報告されている¹⁵⁾。これらCB₁受容体のダウンレギュレーションは神経回路の活動の恒常性を保つための機構であると考えられている。

最近、オーファン受容体の一つであるGPR55受容体が、カンナビノイド受容体的一种であるかどうか議論されている。GPR55受容体はΔ⁹-THCによって活性化される¹⁶⁾が、CB₁受容体のアゴニストとして広く用いられている合成カンナビノイドであるWIN55,212-2を投与してもGPR55受容体の活性化が見られないことが知られている。この受容体が真にカンナビノイド受容体として機能するかどうか、今後の研究が待たれる。

5. 内因性カンナビノイドによる逆行性シナプス伝達抑圧

CB₁受容体が同定され、内因性カンナビノイドが生化学的に検索されていた頃、Llanoらは、電気生理学的実験で、小脳のプルキンエ細胞を脱分極させると、抑制性シナプスの神経伝達物質であるGABAの放出が抑制されるという現象を1991年に報告した¹⁷⁾。GABAの放出の抑制は、シナプス後部ニューロンのカルシウムイオン濃度上昇を阻害することで消失する。したがって、シナプス後部ニューロンのカルシウムイオン流入が引き金になり、なんらかの分子がシナプス後部ニューロンから放出され、それがシナプス前終末に逆行性に作用してGABAの放出を抑制していることが示唆された。翌年、海馬でも同様の現象が発見された¹⁸⁾。その逆行性伝達物質の正体としてグルタミン酸や一酸化窒素等が候補に挙げられていたが、決定的な証拠に欠けていた。ほぼ10年が経過した2001年に、逆行性伝達物質の正体が内因性カンナビノイドであるということ、私たちの研究室を含む3研究室が同時に報告した¹⁹⁻²¹⁾。

その後の研究により、神経活動依存的にシナプス後部ニューロンで内因性カンナビノイドが産生され、それが逆行性シグナルとして働き、シナプス前終末に局在するCB₁受容体を活性化することで神経伝達物質の放出を一過性に抑制することが解明された。この現象を逆行性のシナプス伝達抑圧と呼ぶ。

以下にこれまでの研究で明らかにされた内因性カンナビノイド産生を誘導する機構について詳述する。

①シナプス後部ニューロンの強い脱分極によるカルシウムイオン流入 (図3, a)

シナプス後部ニューロンに強い脱分極刺激を加えると、電位依存性カルシウムチャンネルが開き、カルシウムイオンが細胞内に流入する。細胞内のカルシウムイオン濃度が数μMに達すると内因性カンナビノイドが産生され、逆行性シナプス伝達抑圧が起きる。この現象は、興奮性シナプスで起きる場合を depolarization-induced suppression of excitation (DSE)、抑制性シナプスで起きる場合を depolarization-

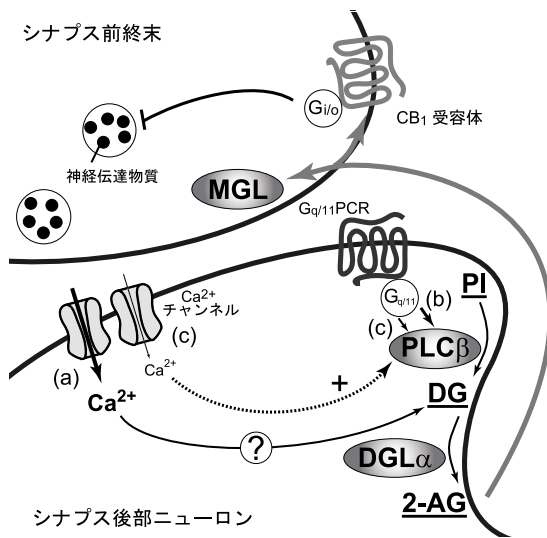


図3 2-AGによる逆行性シナプス伝達抑圧の模式図

(a) 強い脱分極によるカルシウムイオン流入による2-AG産生。電位依存性カルシウムチャンネルを介したカルシウムイオンの流入によって2-AGがDGLα依存的に産生される。

(b) G_{q/11}タンパク質共役型受容体の活性化による2-AG産生。G_{q/11}タンパク質共役型受容体 (G_{q/11}PCR) の活性化によって、PLCβが駆動され、ホスファチジルイノシトール (PI) からジアシルグリセロール (DG) が産生される。DGからDGLαを介して2-AGが産生される。

(c) 弱い脱分極によるカルシウムイオン流入と弱い受容体の活性化との相乗効果による2-AG産生。単独では2-AG産生を引き起こさない程度のカルシウム濃度上昇と弱いG_{q/11}PCRの活性化が同時に起きると、PLCβの活性がカルシウムイオンによって増強されることで、2-AGが産生される。

それぞれの経路で産生された2-AGは、逆行性にシナプス前終末のCB₁受容体を活性化し、神経伝達物質の放出を抑制する。また、シナプス前終末内でMGLによって分解される。

induced suppression of inhibition (DSI) という。

DSE/DSIを引き起こす内因性カンナビノイドが、アナンダミドであるのか2-AGであるのかについては、長い間、決着がつけられていなかった。これまでの多くの研究では、2-AGの産生酵素であるDGLの阻害剤を用いてDSE/DSIにおける2-AGの関与が調べられてきた。しかし、阻害剤の特異性の問題や使用方法の違いのために、研究者間によって相反する結果が報告されていた²²⁻²⁵。

私たちは、DGLのノックアウトマウスを作製することでこの論争に終止符を打った²⁶。DGLにはDGLαとDGLβの二つのサブタイプがある²⁷。我々は、DGLαとDGLβそれぞれのノックアウトマウスを作製し、小脳、海馬、線条体の興奮性と抑制性シナプスでDSE/DSIがノックアウトマウスで消失しているかどうかを検証した。その結果、DGLαノックアウトマウスでは上記の三つの脳部位においてDSE/DSIが完全に起きなくなっていること、一方で、DGLβノックアウトマウスではDSE/DSIが正常に起きることを明らかにした。すなわちDGLαによって産生される2-AGがDSE/DSIを引き起こす逆行性のメッセンジャーであることを証明した。なお、Gaoらも私たちとほぼ同時に、DGLαノックアウトマウスによって海馬におけるDSIが消失していることを報告した²⁸。脱分極刺激によって流入したカルシウムイオンがどのようにしてDGLαを介する2-AG産生を誘導するのかについては不明であり、この点に関してはさらなる研究が必要である。

②G_{q/11}タンパク質共役型受容体の活性化 (図3, b)

グループI代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR1/5) やM₁/M₃ムスカリン受容体といったG_{q/11}タンパク質共役型受容体の活性化でも、内因性カンナビノイドが産生され、シナプス伝達抑圧が引き起こされる^{29,30}。シナプス後部ニューロンのカルシウムイオン濃度上昇をキレートしても影響を受けないことから、この場合の内因性カンナビノイド産生にカルシウム濃度上昇は必要ない。上記受容体が活性化されるとその下流にあるPLCが活性化され、PLC-DGLαの経路で内因性カンナビノイドである2-AGが産生される。オキシトシン受容体やセロトニンの5-HT₂受容体といったG_{q/11}タンパク質共役型受容体の活性化によっても2-AGが産生されることが視床下部や延髄の下オリーブ核で報告されている^{31,32}。また最近、私たちは、海馬の分散培養細胞で、同じくG_{q/11}タンパク質共役型受容体であるprotease-activated receptor-1の活性化でも2-AGの産生が起き、抑制性シナプスにおいて逆行性シナプス伝達抑圧が起きることを報告した³³。

③カルシウムイオン濃度上昇と $G_{q/11}$ タンパク質共役型受容体活性化の相乗効果 (図3, c)

弱い脱分極や、アゴニストによる閾値以下の弱い受容体の活性化という、それぞれ単独では2-AGの産生が起きないような刺激でも、両者を同時に与えると2-AGが効率よく産生され、逆行性シナプス伝達抑圧が起きる。これは、PLCの活性がカルシウムによって促進されるために、弱い受容体の活性化でも2-AGが産生されることによる^{30,34)}。実際の生理的な条件下では、シナプス前部の活動上昇による伝達物質放出とそれに続くシナプス後部の $G_{q/11}$ タンパク質共役型受容体の活性化と、シナプス後部ニューロンの活動上昇による脱分極とそれによる細胞内カルシウム濃度上昇が同時に起こることは頻繁にみられると考えられる。

特に興奮性シナプスにおいては、放出されたグルタミン酸によって、シナプス後部の mGluR1/5 の活性化と細胞内カルシウム濃度上昇が同期することが頻繁に起こりうることを考慮すると、この「相乗効果による逆行性シナプス伝達抑圧」が最も生理的な現象であると予想される。

内因性カンナビノイドによる逆行性シナプス伝達抑圧は様々な脳部位で認められるが、各脳部位のシナプス形態と CB_1 受容体や DGL α 等の内因性カンナビノイド関連分子の発現分布によって、内因性カンナビノイドシグナルの様相は少しずつ異なる⁸⁾。そこで、主な脳部位における内因性カンナビノイドによる短期シナプス可塑性について概説する。

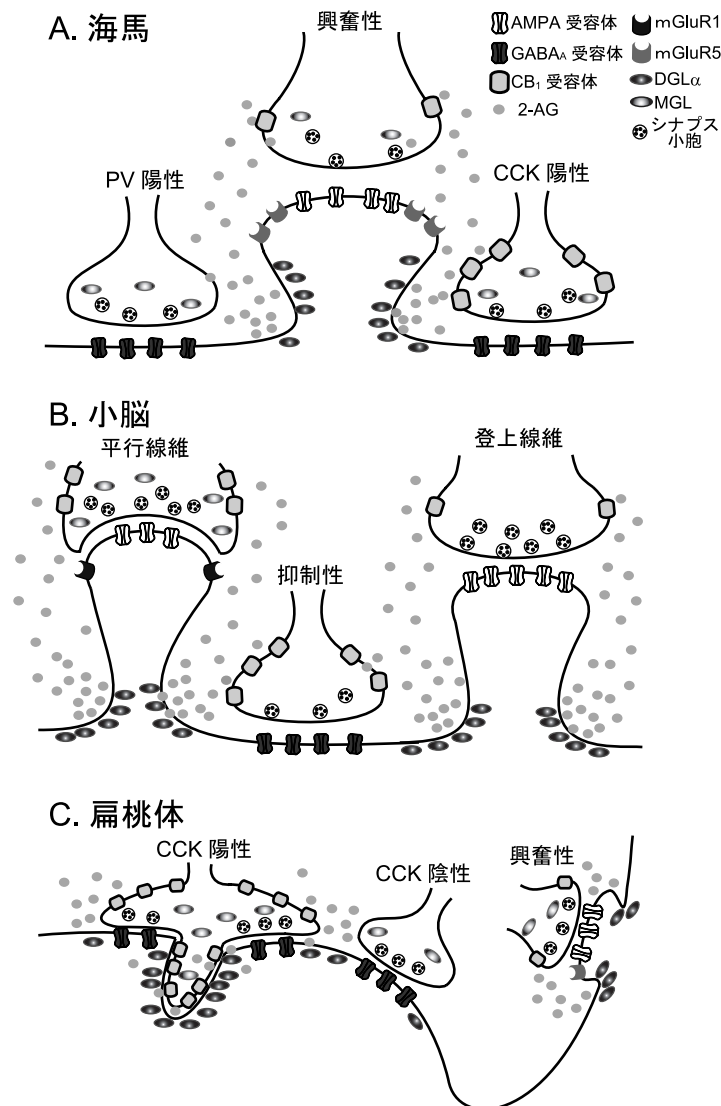


図4 海馬, 小脳, 扁桃体における内因性カンナビノイド関連分子の分布

上から, 海馬 (CA1 領域), 小脳皮質, 扁桃体基底核シナプスにおける, 内因性カンナビノイド関連分子の分布を示す。

・海馬 (図4, A)

海馬の抑制性介在ニューロンは、発現している分子の違いによってバルブアルブミン (PV) 陽性のものとコレシストキニン (CCK) 陽性のものに大きく分けられる。CB₁ 受容体は CCK 陽性介在ニューロンの終末に最も強く発現しており、PV 陽性の介在ニューロンには発現していない³⁵⁾。CA1 の錐体細胞上の興奮性シナプス終末には、CCK 陽性の抑制性シナプスに比べると弱いながらも CB₁ 受容体が発現している³⁶⁾。一方、DGL α は、CA1 錐体細胞樹状突起のスパインに最も豊富に発現している^{37, 38)}。MGL は、CB₁ 受容体が発現している CCK 陽性の抑制性ニューロンにも、CB₁ 受容体が発現していない PV 陽性の抑制性ニューロンにも発現しており、ともにシナプス前終末内部に局在している。興奮性シナプスのシナプス前終末や、グリア細胞にも MGL は発現している³⁹⁾。MGL が内因性カンナビノイドによる逆行性シナプス伝達抑圧において、そのシグナルの終結を制御していることは MGL を薬理的に阻害すると DSI が遷延することから明らかにされた^{40, 41)}。

海馬 CA1 錐体細胞と興奮性シナプス間の DSE は、DSI に比べると起きにくく、DSI 誘導より強い脱分極刺激が必要である⁴²⁾。このことは、CB₁ 受容体の発現パターンの特徴を表わしていると考えられる。海馬では、電位依存性カルシウムチャンネルを介するカルシウム流入以外に NMDA 受容体を介して流入するカルシウムによっても内因性カンナビノイドが産生され、逆行性シナプス伝達抑圧が起きることが報告されている⁴³⁾。

内因性カンナビノイドによる新しいシナプス可塑性として、最近、海馬のアストロサイトに発現している CB₁ 受容体が錐体細胞におけるシナプス可塑性を引き起こすことが報告された⁴⁴⁾。アストロサイトに発現している CB₁ 受容体は近傍の CA1 錐体細胞で産生された 2-AG によって活性化され、アストロサイトでのカルシウム濃度上昇を引き起こす。アストロサイトでカルシウムイオンが上昇すると、アストロサイトからグルタミン酸が放出され、CA1 錐体細胞に入力している興奮性シナプス前終末にある mGluR1 を活性化することで、神経伝達物質の放出を促進する。つまり、内因性カンナビノイドは産生された部位のシナプスでは神経伝達物質の放出を抑制し、他のシナプスではアストロサイトを介して神経伝達物質の放出を促進する働きをもつと考えられる。アストロサイトにおける CB₁ 受容体の発現とその機能については、まだ議論の余地があり今後の研究が待たれる。

・小脳 (図4, B)

小脳皮質は、顆粒細胞層、プルキンエ細胞層、分子層の3層からなる。プルキンエ細胞には、顆粒細胞の軸索が分子層で分岐してできる平行線維と、下オリーブ核が起点である登上線維が興奮性シナプスを形成している。また、分

子層にあるバスケット細胞と星状細胞が抑制性のシナプスを形成している³⁶⁾。CB₁ 受容体は平行線維の軸索に最も多く発現しているが、シナプス終末部に限局すると抑制性シナプスの前終末に最も豊富に発現しており、次いで平行線維終末に多く発現している³⁶⁾。また、プルキンエ細胞の細胞体にはごく弱い CB₁ 受容体の発現が見られる³⁶⁾。DGL α は、プルキンエ細胞の樹状突起に豊富に発現しており、特に、スパインのネックの部分に集積していることが特徴である³⁸⁾。興奮性シナプスでは、mGluR1 もスパインの縁に発現していることから、mGluR1 と DGL α が空間的に近くにあることで、2-AG の産生を効率よく行うことができる配置になっていると予測される。また、MGL は平行線維終末に最も多く発現している。一方、登上線維や抑制性シナプスの終末には、ほとんど MGL の発現が認められない⁴⁵⁾。

前述のように小脳は初めて DSI が観察された部位であり、DSE も平行線維、登上線維とプルキンエ細胞間の興奮性シナプスにおいて小脳で初めて報告された¹⁹⁾。

G_{q/11} タンパク質共役型受容体の活性化によって引き起こされる逆行性シナプス伝達抑圧は、登上線維とプルキンエ細胞間のシナプスにおいて私たちが最初に報告した²⁹⁾。mGluR1 のアゴニストである DHPG を投与すると、mGluR1 が活性化し下流の PLC β 4—DGL α の経路によって 2-AG が産生され逆行性シナプス伝達抑圧が起きる。同様のメカニズムで、抑制性シナプスや平行線維シナプスでも DHPG の投与によって逆行性シナプス伝達抑圧が起きることが確認された。

小脳では、脱分極刺激や、薬剤投与による受容体の活性化だけではなく、シナプス刺激による内因性カンナビノイドシグナルが詳しく調べられている^{29, 34, 46)}。平行線維もしくは登上線維を高頻度で刺激すると平行線維応答、登上線維応答が一過性に減弱する。この現象は、mGluR1 の特異的阻害剤と AMPA 受容体のブロッカーによって阻害されることから mGluR1 の活性化と AMPA 受容体が必要であることが分かっている。平行線維にテタヌス刺激を加えることで、平行線維終末からグルタミン酸が大量に放出されるために、プルキンエ細胞の mGluR1 が活性化され、同時に AMPA 受容体の活性化によりプルキンエ細胞が脱分極し、カルシウムイオンが流入する^{34, 46)}。そこで、受容体の活性化とカルシウムイオンによる相乗効果で 2-AG が産生され、逆行性シナプス伝達抑圧が起きるというメカニズムが考えられている³⁴⁾。

・扁桃体 (図4, C)

扁桃体の基底核では、非常に特徴的なシナプスの構造と内因性カンナビノイド関連分子の分布がみられることが最近報告された。基底核の錐体細胞に入力している抑制性シナプスのうち、CCK 陽性の抑制性ニューロンは、シナプ

ス前終末の一部がシナプス後部ニューロンに食い込んだ形のシナプスを形成していることが分かった⁴⁷⁾。このシナプス構造は、陥入型シナプスと呼ばれている。CB₁受容体は、陥入型シナプスを形成する神経終末に最も豊富に発現しており、また、陥入部のシナプス後部にはDGL α が集積している。さらに、MGLも陥入型シナプスの前終末に最も豊富に発現している。一方、CCK陰性の抑制性シナプスは陥入型の構造をしておらず、CB₁受容体、DGL α 、MGLはほとんど発現していない。また、興奮性シナプスにおいては低レベルであるもののCB₁受容体、DGL α の発現が認められる⁴⁷⁾。基底核で見られる陥入型シナプスは、扁桃体の外側核の抑制性シナプスでは認められず、また、外側核ではCB₁受容体、MGLの発現ともに基底核よりも少ない。

扁桃体におけるDSIは、基底外側核でLovingerらのグループによって初めて報告された⁴⁸⁾。また、Yoshidaらは、基底核において、弱い脱分極刺激(0.5秒間0mV)で抑制性シナプス伝達の減弱(DSI)が強くなり始めるのに対し、DSEは同様の脱分極刺激では起きにくいことを示している⁴⁷⁾。これらの結果から、基底核の陥入型シナプスは、非常に効率よくカンナビノイドシグナルが働く構造と分子配置を備えているといえる。

6. 内因性カンナビノイドによる長期シナプス可塑性

以上述べてきた逆行性シナプス伝達抑圧は、数十秒程度持続する一過性の現象であるが、このような短期シナプス可塑性だけではなく、シナプス伝達効率が数十分にわたって低下する長期抑圧(long-term depression: LTD)にも内因性カンナビノイドが寄与することが明らかになった⁴⁹⁾。内因性カンナビノイドによるLTDは脳の様々な部位で報告されており、興奮性シナプスでは背側線条体、大脳皮質、側坐核、小脳、海馬、背側蝸牛神経核等で報告されている^{23,50-54)}。一方、抑制性シナプスでは、扁桃体と海馬での報告がある^{55,56)}。内因性カンナビノイドによるLTDを誘導するためには、LTD誘発刺激中に内因性カンナビノイドが産生されCB₁受容体が持続的に活性化されることが必須である。また、これまでに報告された内因性カンナビノイド依存性のLTDは、小脳プルキンエ細胞を除く脳部位の全てにおいて、シナプス前終末からの神経伝達物質放出の持続的抑圧によることが明らかになっている。ここでは、最も研究が進んでいる海馬の内因性カンナビノイド依存性LTDについて紹介する。

海馬CA1錐体細胞の抑制性シナプスにおいて、内因性カンナビノイド依存性LTDが起きることをChevalyereと

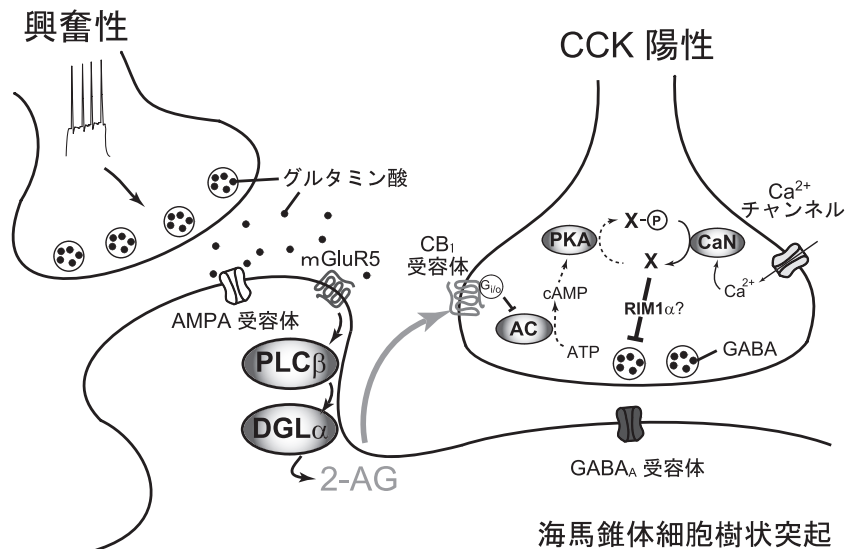


図5 海馬CA1における内因性カンナビノイド依存性LTD誘導を示す模式図
興奮性終末から放出されたグルタミン酸によって、興奮性シナプスにおいて、タイプ5代謝型グルタミン酸受容体(mGluR5)、PLC β 、DGL α を介して2-AGが産生される。産生された2-AGが、近傍のコレスチキニン(CCK)陽性抑制性介在ニューロンのCB₁受容体を活性化する。CB₁受容体の活性化は、その下流のアデニル酸シクラーゼ(AC)を抑制し、その結果cAMPの産生が抑制されるので、プロテインキナーゼ(PKA)の活動が低下する。そのためPKAによるタンパク質Xのリン酸化が抑制される。また同時にシナプス前部でのカルシウム濃度の上昇によって、カルシニューリン(CaN)が活性化される。CaNの活性化はタンパク質Xの脱リン酸化を引き起こす。現在のところ、タンパク質Xの脱リン酸化と、RIM1 α がLTD誘導に必要なことが分かっている。しかし、脱リン酸化されるタンパク質Xの正体と、RIM1 α の役割については、まだ明らかになっていない。

Castillo らが発見した²²⁾。この LTD は放射状層を高頻度刺激することによって抑制性シナプスで誘導される。彼らは、様々な薬理学的実験から mGluR1/5 と CB₁ 受容体の活性化がこの LTD に必須であることを明らかにした。mGluR1/5 の下流には、PLCβ-DGLα を介する 2-AG 産生経路がある。彼らはさらに、PLC と DGL を薬理的に阻害すると LTD が起こらないことを示した。以上のことから、高頻度刺激によって mGluR1/5 が活性化されると 2-AG が産生・放出され、抑制性シナプスに存在する CB₁ 受容体が活性化されて LTD が誘導されると考えられている。ここで疑問にあがるのは、LTD が発現する抑制性シナプスから放出される GABA は mGluR1/5 を活性化できないのに、何故 2-AG が産生されるのかということである。mGluR1/5 の活性化には、言うまでもなくグルタミン酸が必要である。放射状層には興奮性の軸索が豊富に存在していることから、この部位の高頻度刺激は興奮性シナプス終末からのグルタミン酸放出を引き起こし、その結果、mGluR1/5 が活性化されることで 2-AG の産生を誘導していることが予測された。実際に、興奮性の入力ほとんどない錐体細胞層を高頻度刺激しても LTD は誘発されなかったことから、LTD を誘導する 2-AG 産生源は興奮性シナプスであると考えられる。以上のことから、海馬 CA1 錐体細胞の抑制性シナプスにおける内因性カンナビノイド依存的 LTD は、興奮性シナプス部位で産生された 2-AG が抑制性シナプス終末にある CB₁ 受容体を活性化して起きる異シナプス性の LTD であると考えられている(図 5)。

海馬の内因性カンナビノイド依存的 LTD では、LTD 誘導刺激後 5 分から 10 分間の CB₁ 受容体の活性化が引き金となり、シナプス前終末からの GABA の放出が長期的に低下することで生ずる。図 5 に示すように、これにはあるタンパク質の脱リン酸化と RIM1α、及び抑制性ニューロンの活動が必須であることが報告されている^{56,57)}。

最近、海馬歯状回の顆粒細胞に入力する貫通線維の興奮性シナプスにおいて、アナンダミドが TRPV1 受容体を介してシナプス後部ニューロン性に LTD を引き起こすことが報告された⁵⁸⁾。この LTD の誘導には CB₁ 受容体の活性化は不要で、シナプス後部ニューロンで産生されたアナンダミドがシナプス後部ニューロンに局在する TRPV1 受容体を活性化し、AMPA 受容体の細胞内への取り込みを引き起こすことによって生ずると報告されている。側坐核でもアナンダミドによって同様の LTD が起きることが同時に報告されている⁵⁹⁾。TRPV1 受容体の活性化から AMPA 受容体の取り込みまでのメカニズムはまだ不明であるが、このアナンダミドによる LTD は、これまで報告されてきた内因性カンナビノイドによる LTD とは独立して起こるとされている。

7. 内因性カンナビノイドの生理的役割

G_{q/11} タンパク質共役型受容体、PLC、DGLα、MGL 等の 2-AG の産生と分解に関わる酵素と CB₁ 受容体の発現量や分布が内因性カンナビノイド (2-AG) シグナルの調節に影響を与えることは、先に述べたとおりである。最近になって、内因性カンナビノイド関連分子の活性や発現を調節する分子、生育環境や経験等による 2-AG 産生や CB₁ 受容体の発現量の変化に関する報告が続いている。

生後 21 日齢のラットを社会的に隔離すると、海馬で CB₁ 受容体、DGL、MGL の mRNA レベルが上昇することが報告されている⁶⁰⁾。また、恐怖刺激を与えた翌日には、側坐核の中心核で CB₁ 受容体の発現量が上昇し、DSE がより強く起きるようになることも報告されている⁶¹⁾。視床下部では慢性的な拘束ストレスによって、ストレスホルモンであるコルチコステロン量が上昇すると、G_{q/11} タンパク質共役型受容体であるコルチコステロイド受容体を介する 2-AG の産生が増強される。そのため、視床下部で CB₁ 受容体の脱感作および発現量の低下が引き起こされ、結果として DSE/DSI が起こらなくなることが報告されている⁶²⁾。さらに、CB₁ 受容体の阻害剤を動物に投与しておくことと薬物依存になりにくいことから、薬物依存の形成に内因性カンナビノイドシグナルが重要な役割を果たすことが知られている⁶³⁾。エタノールをラットに与えると、報酬系回路の一部を担う側坐核で 2-AG 量が増加する。一方、モルヒネやヘロインは側坐核の 2-AG 量を減少させる^{64,65)}。2-AG 量が増減する原因の詳細は不明であるが、薬物の作用機序によって内因性カンナビノイドシグナルの役割が異なっていることが示唆される。これらの研究は、環境・経験依存的に内因性カンナビノイドシグナルが変化することで、神経細胞に入力する情報を調節していることを示唆しており、内因性カンナビノイドの生理的役割を考える上で非常に興味深いものである。

8. 内因性カンナビノイド関連分子ノックアウトマウス

ここでは、各内因性カンナビノイド関連分子に関するノックアウトマウスについて紹介する。

・CB₁ ノックアウトマウス

CB₁ ノックアウトマウスは 1999 年に Zimmer らと Ledent ら^{66,67)}によって、それぞれ独立に作製されて以来、カンナビノイドシグナル研究に広く用いられてきた⁶⁸⁾。最近では、細胞や部位特異的ノックアウトマウス作製技術の進展により、脳部位/細胞特異的に CB₁ をノックアウトしたマウスを用いた実験が報告されている⁶⁹⁻⁷¹⁾。1 例をあげると、食欲と内因性カンナビノイドとの関連を調べた研究において、前脳の興奮性ニューロン特異的に CB₁ をノック

アウトしたマウスは餌の摂取量が低下するのに対し、抑制性ニューロン特異的にCB₁をノックアウトしたマウスでは、反対に摂取量が増加することが報告されている⁶⁹⁾。これらの結果から、興奮性と抑制性のシナプスにおける内因性カンナビノイドシグナルのバランスが摂食行動の調節に必要であることが示唆される。以上のように、脳部位/細胞特異的CB₁ノックアウトマウスを用いることで、ある行動に、どの脳部位のカンナビノイドシグナルが関係するかを推測することが可能になりつつある。

・DGL α ノックアウトマウス・DGL β ノックアウトマウス
定常状態での脳サンプルにおける2-AGの量はDGL α ノックアウトマウスで激減しているのに対し、DGL β ノックアウトマウスの2-AG量は、野生型マウスと差がない。この結果から、2-AGの多くはDGL α によって産生されることが明らかになった。また、アナンダミドも、DGL α ノックアウトマウスの脳サンプルで減少していた^{26,28)}が、この原因は不明であり、今後の研究が待たれる。

前述のとおりDGL α を介して産生される2-AGが逆行性シナプス伝達抑圧を担うメッセンジャーとして働くことが電気生理学的に示された。一方、DGL β の役割や局在についてはよく分かっていないが、Gaoらは肝臓における2-AG量がDGL β ノックアウトマウスでは激減していることを報告しており²⁸⁾、DGL β は中枢神経系よりも末梢での2-AG産生に関与していることが考えられる。

・MGLノックアウトマウス

MGLノックアウトマウスの海馬では、CB₁受容体の脱感作および発現量の低下が起きていることが報告されている⁷²⁾。MGLノックアウトマウスの脳では2-AGの分解が滞るために、定常状態で2-AG量が野生型マウスに比べると顕著に増大しており、その結果CB₁受容体の脱感作および発現量の低下が起きていると考えられる。そのため、MGLノックアウトマウスの海馬では、カンナビノイドシグナルが減弱した状態になっている。

・FAAHノックアウトマウス⁷³⁾

FAAHノックアウトマウスでは、定常状態でのアナンダミド量が野生型より15倍に増えており、*N*-オレイン酸エタノールアミンや*N*-パルミトイルエタノールアミンといった*N*-アシルエタノールアミン類も同様に増加している。また、FAAHノックアウトマウスでは熱刺激による疼痛の反応性が野生型よりも鈍くなっている。その現象は、CB₁受容体の阻害剤を投与しておくことで消失することから、熱刺激による疼痛の反応性に内因性カンナビノイドシグナルが関与していることを示唆している。

9. おわりに

内因性カンナビノイドがシナプス伝達を逆行性に調節していることが明らかになってから、その分子メカニズムの理解はかなり進んだ。しかし、未解決の問題も多い。例えば、内因性カンナビノイドはどのように放出され、CB₁受容体に作用するのかについては、明らかになっていない。内因性カンナビノイドのトランスポーターが存在するという研究報告もあるが、そのトランスポーターの分子実体は不明である。また最近では、活動依存的に2-AGは産生されるのではなく、シナプス後部ニューロンに貯め込まれた2-AGが、カルシウム流入をきっかけに放出されるとの仮説も立てられている。

内因性カンナビノイドの生理機能については、興味深い研究結果が次々に報告されている。これまでに、内因性カンナビノイド系は、記憶、認知、不安、痛み、肥満や依存症などに関与していることが分かっている。しかしながら、実際に生体内で内因性カンナビノイドシグナルが、いつどのように機能することで、行動の表出につながるのかはまだ不明な点が多い。生化学・分子生物学、電気生理学、行動学的解析を組み合わせることによって、内因性カンナビノイドシグナルとその脳機能における役割の総合的理解が進むことが期待される。

文 献

- 1) Gaoni, Y. & Mechoulam, R. (1964) *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 1646-1647.
- 2) Devane, W.A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R.G., Stevenson, L.A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., & Mechoulam, R. (1992) *Science*, 258, 1946-1949.
- 3) Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N.E., Schatz, A.R., Gopher, A., Almog, S., Martin, B. R., & Compton, D.R. (1995) *Biochem. Pharmacol.*, 50, 83-90.
- 4) Sugiura, T., Kondo, S., Sukagawa, A., Nakane, S., Shinoda, A., Itoh, K., Yamashita, A., & Waku, K. (1995) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 215, 89-97.
- 5) Starowicz, K., Nigam, S., & Di Marzo, V. (2007) *Pharmacol. Ther.*, 114, 13-33.
- 6) Cadas, H., di Tomaso, E., & Piomelli, D. (1997) *J. Neurosci.*, 17, 1226-1242.
- 7) Leung, D., Saghatelian, A., Simon, G.M., & Cravatt, B.F. (2006) *Biochemistry*, 45, 4720-4726.
- 8) Kano, M., Ohno-Shosaku, T., Hashimoto, Y., Uchigashima, M., & Watanabe, M. (2009) *Physiol. Rev.*, 89, 309-380.
- 9) Vandevoorde, S. & Lambert, D.M. (2007) *Chem. Biodivers.*, 4, 1858-1881.
- 10) Blankman, J.L., Simon, G.M., & Cravatt, B.F. (2007) *Chem. Biol.*, 14, 1347-1356.
- 11) Marrs, W.R., Blankman, J.L., Home, E.A., Thomazeau, A., Lin, Y.H., Coy, J., Bodor, A.L., Muccioli, G.G., Hu, S.S., Woodruff, G., Fung, S., Lafourcade, M., Alexander, J.P., Long, J.Z., Li, W., Xu, C., Moller, T., Mackie, K., Manzoni, O.J.,

- Cravatt, B.F., & Stella, N. (2010) *Nat. Neurosci.*, **13**, 951–957.
- 12) Matsuda, L.A., Lolait, S.J., Brownstein, M.J., Young, A.C., & Bonner, T.I. (1990) *Nature*, **346**, 561–564.
- 13) Song, Z.H. & Bonner, T.I. (1996) *Mol. Pharmacol.*, **49**, 891–896.
- 14) Coutts, A.A., Anavi-Goffer, S., Ross, R.A., MacEwan, D.J., Mackie, K., Pertwee, R.G., & Irving, A.J. (2001) *J. Neurosci.*, **21**, 2425–2433.
- 15) Mikasova, L., Groc, L., Choquet, D., & Manzoni, O.J. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **105**, 18596–18601.
- 16) Ryberg, E., Larsson, N., Sjogren, S., Hjorth, S., Hermansson, N.O., Leonova, J., Elebring, T., Nilsson, K., Drmota, T., & Greasley, P.J. (2007) *Br. J. Pharmacol.*, **152**, 1092–1101.
- 17) Llano, I., Leresche, N., & Marty, A. (1991) *Neuron*, **6**, 565–574.
- 18) Pitler, T.A. & Alger, B.E. (1992) *J. Neurosci.*, **12**, 4122–4132.
- 19) Kreitzer, A.C. & Regehr, W.G. (2001) *Neuron*, **29**, 717–727.
- 20) Ohno-Shosaku, T., Maejima, T., & Kano, M. (2001) *Neuron*, **29**, 729–738.
- 21) Wilson, R.I. & Nicoll, R.A. (2001) *Nature*, **410**, 588–592.
- 22) Chevaleyre, V. & Castillo, P.E. (2003) *Neuron*, **38**, 461–472.
- 23) Safo, P.K. & Regehr, W.G. (2005) *Neuron*, **48**, 647–659.
- 24) Szabo, B., Urbanski, M.J., Bisogno, T., Di Marzo, V., Mendiguren, A., Baer, W.U., & Freiman, I. (2006) *J. Physiol.*, **577**, 263–280.
- 25) Hashimoto-dani, Y., Ohno-Shosaku, T., Maejima, T., Fukami, K., & Kano, M. (2008) *Neuropharmacology*, **54**, 58–67.
- 26) Tanimura, A., Yamazaki, M., Hashimoto-dani, Y., Uchigashima, M., Kawata, S., Abe, M., Kita, Y., Hashimoto, K., Shimizu, T., Watanabe, M., Sakimura, K., & Kano, M. (2010) *Neuron*, **65**, 320–327.
- 27) Bisogno, T., Howell, F., Williams, G., Minassi, A., Cascio, M. G., Ligresti, A., Matias, I., Schiano-Moriello, A., Paul, P., Williams, E.J., Gangadharan, U., Hobbs, C., Di Marzo, V., & Doherty, P. (2003) *J. Cell Biol.*, **163**, 463–468.
- 28) Gao, Y., Vasilyev, D.V., Goncalves, M.B., Howell, F.V., Hobbs, C., Reisenberg, M., Shen, R., Zhang, M.Y., Strassle, B. W., Lu, P., Mark, L., Piesla, M.J., Deng, K., Kouranova, E.V., Ring, R.H., Whiteside, G.T., Bates, B., Walsh, F.S., Williams, G., Pangalos, M.N., Samad, T.A., & Doherty, P. (2010) *J. Neurosci.*, **30**, 2017–2024.
- 29) Maejima, T., Hashimoto, K., Yoshida, T., Aiba, A., & Kano, M. (2001) *Neuron*, **31**, 463–475.
- 30) Hashimoto-dani, Y., Ohno-Shosaku, T., Tsubokawa, H., Ogata, H., Emoto, K., Maejima, T., Araishi, K., Shin, H.S., & Kano, M. (2005) *Neuron*, **45**, 257–268.
- 31) Oliet, S.H., Baimoukhametova, D.V., Piet, R., & Bains, J.S. (2007) *J. Neurosci.*, **27**, 1325–1333.
- 32) Best, A.R. & Regehr, W.G. (2008) *J. Neurosci.*, **28**, 6508–6515.
- 33) Hashimoto-dani, Y., Ohno-Shosaku, T., Yamazaki, M., Sakimura, K., & Kano, M. (2011) *J. Neurosci.*, **31**, 3104–3109.
- 34) Maejima, T., Oka, S., Hashimoto-dani, Y., Ohno-Shosaku, T., Aiba, A., Wu, D., Waku, K., Sugiura, T., & Kano, M. (2005) *J. Neurosci.*, **25**, 6826–6835.
- 35) Marsicano, G. & Lutz, B. (1999) *Eur. J. Neurosci.*, **11**, 4213–4225.
- 36) Kawamura, Y., Fukaya, M., Maejima, T., Yoshida, T., Miura, E., Watanabe, M., Ohno-Shosaku, T., & Kano, M. (2006) *J. Neurosci.*, **26**, 2991–3001.
- 37) Katona, I., Urban, G.M., Wallace, M., Ledent, C., Jung, K.M., Piomelli, D., Mackie, K., & Freund, T.F. (2006) *J. Neurosci.*, **26**, 5628–5637.
- 38) Yoshida, T., Fukaya, M., Uchigashima, M., Miura, E., Kamiya, H., Kano, M., & Watanabe, M. (2006) *J. Neurosci.*, **26**, 4740–4751.
- 39) Gulyas, A.I., Cravatt, B.F., Bracey, M.H., Dinh, T.P., Piomelli, D., Boscia, F., & Freund, T.F. (2004) *Eur. J. Neurosci.*, **20**, 441–458.
- 40) Makara, J.K., Mor, M., Fegley, D., Szabo, S.I., Kathuria, S., Astarita, G., Duranti, A., Tontini, A., Tarzia, G., Rivara, S., Freund, T.F., & Piomelli, D. (2005) *Nat. Neurosci.*, **8**, 1139–1141.
- 41) Hashimoto-dani, Y., Ohno-Shosaku, T., & Kano, M. (2007) *J. Neurosci.*, **27**, 1211–1219.
- 42) Ohno-Shosaku, T., Tsubokawa, H., Mizushima, I., Yoneda, N., Zimmer, A., & Kano, M. (2002) *J. Neurosci.*, **22**, 3864–3872.
- 43) Ohno-Shosaku, T., Hashimoto-dani, Y., Ano, M., Takeda, S., Tsubokawa, H., & Kano, M. (2007) *J. Physiol.*, **584**, 407–418.
- 44) Navarrete, M. & Araque, A. (2010) *Neuron*, **68**, 113–126.
- 45) Dinh, T.P., Carpenter, D., Leslie, F.M., Freund, T.F., Katona, I., Sensi, S.L., Kathuria, S., & Piomelli, D. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **99**, 10819–10824.
- 46) Brown, S.P., Brenowitz, S.D., & Regehr, W.G. (2003) *Nat. Neurosci.*, **6**, 1048–1057.
- 47) Yoshida, T., Uchigashima, M., Yamasaki, M., Katona, I., Yamazaki, M., Sakimura, K., Kano, M., Yoshioka, M., & Watanabe, M. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **108**, 3059–3064.
- 48) Zhu, P.J. & Lovinger, D.M. (2005) *J. Neurosci.*, **25**, 6199–6207.
- 49) Hashimoto-dani, Y., Ohno-Shosaku, T., & Kano, M. (2007) *Neuroscientist*, **13**, 127–137.
- 50) Gerdeman, G.L., Ronesi, J., & Lovinger, D.M. (2002) *Nat. Neurosci.*, **5**, 446–451.
- 51) Robbe, D., Kopf, M., Remaury, A., Bockaert, J., & Manzoni, O.J. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **99**, 8384–8388.
- 52) Tzounopoulos, T., Kim, Y., Oertel, D., & Trussell, L.O. (2004) *Nat. Neurosci.*, **7**, 719–725.
- 53) Lafourcade, M., Elezgarai, I., Mato, S., Bakiri, Y., Grandes, P., & Manzoni, O.J. (2007) *PLoS. One*, **2**, e709.
- 54) Yasuda, H., Huang, Y., & Tsumoto, T. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **105**, 3106–3111.
- 55) Marsicano, G., Wotjak, C.T., Azad, S.C., Bisogno, T., Rammes, G., Cascio, M.G., Hermann, H., Tang, J., Hofmann, C., Zieglansberger, W., Di Marzo, V., & Lutz, B. (2002) *Nature*, **418**, 530–534.
- 56) Chevaleyre, V., Heifets, B.D., Kaeser, P.S., Sudhof, T.C., & Castillo, P.E. (2007) *Neuron*, **54**, 801–812.
- 57) Heifets, B.D., Chevaleyre, V., & Castillo, P.E. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **105**, 10250–10255.
- 58) Chavez, A.E., Chiu, C.Q., & Castillo, P.E. (2010) *Nat. Neurosci.*, **13**, 1511–1518.
- 59) Grueter, B.A., Brasnjo, G., & Malenka, R.C. (2010) *Nat. Neurosci.*, **13**, 1519–1525.
- 60) Robinson, S.A., Loiacono, R.E., Christopoulos, A., Sexton, P. M., & Malone, D.T. (2010) *Brain Res.*, **1343**, 153–167.
- 61) Kamprath, K., Romo-Parra, H., Haring, M., Gaburro, S., Doengi, M., Lutz, B., & Pape, H.C. (2010) *Neuropsychopharmacology*, **36**, 652–663.
- 62) Wamsteeker, J.I., Kuzmiski, J.B., & Bains, J.S. (2010) *J. Neurosci.*, **30**, 11188–11196.
- 63) Maldonado, R., Valverde, O., & Berrendero, F. (2006) *Trends*

- Neurosci.*, **29**, 225–232.
- 64) Vigano, D., Valenti, M., Cascio, M.G., Di Marzo, V., Parolaro, D., & Rubino, T. (2004) *Eur. J. Neurosci.*, **20**, 1849–1857.
- 65) Caille, S., Alvarez-Jaimes, L., Polis, I., Stouffer, D.G., & Parsons, L.H. (2007) *J. Neurosci.*, **27**, 3695–3702.
- 66) Ledent, C., Valverde, O., Cossu, G., Petitet, F., Aubert, J.F., Beslot, F., Bohme, G.A., Imperato, A., Pedrazzini, T., Roques, B.P., Vassart, G., Fratta, W., & Parmentier, M. (1999) *Science*, **283**, 401–404.
- 67) Zimmer, A., Zimmer, A.M., Hohmann, A.G., Herkenham, M., & Bonner, T.I. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **96**, 5780–5785.
- 68) Valverde, O., Karsak, M., & Zimmer, A. (2005) *Handb. Exp. Pharmacol.*, **168**, 117–145.
- 69) Bellocchio, L., Lafenetre, P., Cannich, A., Cota, D., Puente, N., Grandes, P., Chaouloff, F., Piazza, P.V., & Marsicano, G. (2010) *Nat. Neurosci.*, **13**, 281–283.
- 70) Jacob, W., Yassouridis, A., Marsicano, G., Monory, K., Lutz, B., & Wotjak, C.T. (2009) *Genes Brain Behav.*, **8**, 685–698.
- 71) Puighermanal, E., Marsicano, G., Busquets-Garcia, A., Lutz, B., Maldonado, R., & Ozaita, A. (2009) *Nat. Neurosci.*, **12**, 1152–1158.
- 72) Schlosburg, J.E., Blankman, J.L., Long, J.Z., Nomura, D.K., Pan, B., Kinsey, S.G., Nguyen, P.T., Ramesh, D., Booker, L., Burston, J.J., Thomas, E.A., Selley, D.E., Sim-Selley, L.J., Liu, Q.S., Lichtman, A.H., & Cravatt, B.F. (2010) *Nat. Neurosci.*, **13**, 1113–1119.
- 73) Cravatt, B.F., Demarest, K., Patricelli, M.P., Bracey, M.H., Giang, D.K., Martin, B.R., & Lichtman, A.H. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **98**, 9371–9376.
-