

2-アラキドノイルグリセロール：マリファナ受容体の内在性リガンド

杉浦 隆之

マリファナには多彩な生物活性があるが、その多くは、受容体を介したものであることが明らかになってきた。この受容体（マリファナ受容体）は、正式にはカンナビノイド受容体と呼ばれている。カンナビノイド受容体には、神経系を中心に発現しているCB1受容体と炎症・免疫系を中心に発現しているCB2受容体の2種類がある。最近、これらの受容体が生体内で重要な役割を演じているということが明らかになってきた。カンナビノイド受容体の内在性リガンドとしては、これまでにアナンダミドと2-アラキドノイルグリセロールの二つが同定されているが、構造活性相関を調べた実験の結果などから、真の内在性リガンドは2-アラキドノイルグリセロールであると考えられるようになってきている。本稿では2-アラキドノイルグリセロールに焦点をあて、その作用・代謝・生理的意義等についてふれる。

1. はじめに

マリファナを吸引すると、時間感覚・空間感覚の混乱、視覚・聴覚の鋭敏化、陶酔感、幻覚、離人感、こみあげてくる笑い、空腹感、口渇、眠気、結膜の充血、眼圧低下など様々な反応が引き起こされる。マリファナが持っているこれらの作用は、 Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール (Δ^9 -tetrahydrocannabinol, Δ^9 -THC) (図1) を中心とする一連の化合物 (カンナビノイドと総称する) によるものであることが1960年代にイスラエルのMechoulamらによって明らかにされた¹⁾。しかし、カンナビノイドがどのようにしてその活性を発揮するのか、そのメカニズムは長い間不明であった。細胞膜に対する非特異的な作用によるのではないかと考えられたこともあったが、1988年にDevaneら²⁾が合成カンナビノイドであるCP55940 (図1) を用いて、カンナビノイドに対する特異的な結合部位がラット脳シナプトソームに存在することを示したことから、モルヒネな

どの場合と同様に、特異的な受容体 (マリファナ受容体、正式にはカンナビノイド受容体という) を介して作用していると考えられるようになった。

カンナビノイド受容体としては現在までに2種類の受容体 (CB1受容体およびCB2受容体) 遺伝子がクローニングされている (表1)。これらの受容体は、生理的に重要な役割を演じているものであるということが、最近、明らかにされつつある。一方、内在性リガンドとしては、1992年にアナンダミドが³⁾、次いで1995年には2-アラキドノイルグリセロールが同定された^{4,5)}。いずれもアラキドン酸を含有する一種の中性脂質である。当初は、アナンダミドに関する研究が大きく先行していたが、最近の研究により、アナンダミドではなく2-アラキドノイルグリセロールの方が真の内在性リガンドであると考えられるようになってきた。本稿ではカンナビノイド受容体と、その内在性リガンドである2-アラキドノイルグリセロールの意義・役割を中心に概説する。

2. カンナビノイド受容体

CB1受容体遺伝子は、Matsudaらによって1990年にラット大脳皮質のcDNAライブラリーからクローニングされた⁶⁾。CB1受容体は7回膜貫通、Gタンパク質 (Gi/Go) 共役型の受容体で、ヒトの場合、472個のアミノ酸からなっている。CB1受容体は、脳、精巣、肺、小腸、血

帝京大学薬学部衛生化学教室 (〒229-0195 神奈川県相模原市相模湖町寸沢嵐)

2-Arachidonoylglycerol: an endogenous cannabinoid receptor ligand

Takayuki Sugiura (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University, Sagamiko, Sagamihara, Kanagawa 229-0195, Japan)

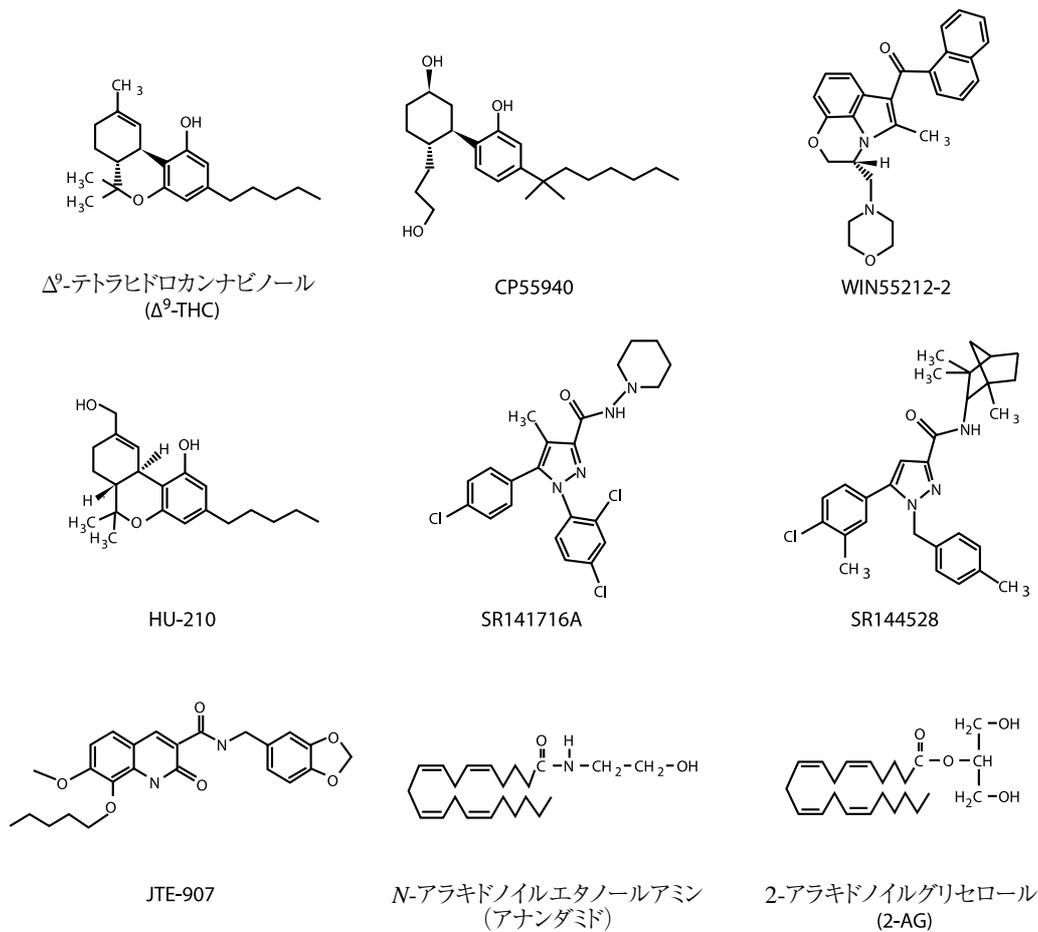


図1 カンナビノイド受容体アゴニストおよびアンタゴニストの構造

表1 カンナビノイド受容体 (CB1, CB2)

	CB1 受容体	CB2 受容体
分類	7 回膜貫通 G タンパク質共役型	7 回膜貫通 G タンパク質共役型
アミノ酸	472 (ヒト)	360 (ヒト)
共役する G タンパク質	Gi/Go	Gi/Go
アデニル酸シクラーゼ	↓	↓
MAP キナーゼ	↑	↑
電位依存性 Ca ²⁺ チャンネル	↓	
内在性リガンド	2-AG, アナンダミド?	2-AG
合成アゴニスト	CP55940, HU-210, WIN55212-2	CP55940, HU-210, WIN55212-2
アンタゴニスト/インバースアゴニスト	SR141716A	SR144528, JTE-907
存在	神経 (主として前シナプス), 精巣, 肺, 小腸, 血管等	脾臓, 扁桃腺, リンパ節 (細胞としては B 細胞, マクロファージ, ナチュラルキラー細胞等)

管, 腎臓など全身に広く分布しているが, 特に多く発現しているのは脳である. 脳においては, CB1 受容体はグルタミン酸受容体や GABA 受容体に次いで多量に発現している (G タンパク質共役型の受容体としては脳で最も多量に発現している受容体であると言われている). 特に多く発現している部位は, 黒質, 線条体, 淡蒼球, 小脳の分子

層, 海馬, 大脳皮質などで, 主として前シナプスに発現しており, 神経伝達物質の放出を Gi/Go を介して抑制的に制御している. CB1 受容体はその分布などから, 運動の調節や記憶・学習といった脳の高次機能の調節に関与するものであると考えられている. CB1 受容体のノックアウトマウスは野生型に比べて痙攣を起こしやすい⁷⁾. また,

運動量が低下しており⁸⁾、側座核や扁桃体等における長期抑圧 (long-term depression, LTD) が消失している^{9,10)}。記憶力の増強も観察されている¹⁰⁾。

CB2 受容体遺伝子は、1993年に Munro らによって HL-60 細胞の cDNA ライブラリーからクローニングされた¹¹⁾。CB1 受容体と CB2 受容体との間には 44% のホモロジーがある (膜貫通部分に関しては 68%)。CB2 受容体も CB1 受容体と同様、7 回膜貫通、G タンパク質 (Gi/Go) 共役型の受容体で、ヒトの場合、360 個のアミノ酸からなっている。CB2 受容体は、脾臓や扁桃腺、リンパ節に多く発現している。その他の組織における発現レベルは低い。CB2 受容体は、その分布から、炎症細胞や免疫細胞の分化や機能の調節に関与していると考えられているが、十分なことはまだ分かっていない。

CB1 受容体と CB2 受容体以外のカンナビノイド受容体の存在を示唆する報告が幾つかなされている。薬理学的知見から、受容体は CB1 受容体と CB2 受容体以外に少なくともあと 3 種類は存在する可能性がある。しかしそれらの分子の実体はまだ明らかにはなっていない。G タンパク質共役型の受容体である GPR55 がカンナビノイド受容体であるとの報告 (学会発表と特許) があるが、論文としては報告されておらず、本当にカンナビノイドに対する受容体であるのかは不明である。

3. カンナビノイド受容体アゴニストとアンタゴニスト

カンナビノイド受容体にアゴニストあるいはアンタゴニストとして作用する薬物が、これまでに多数報告されている (図 1)。CP55940 や HU-210 は合成カンナビノイドで、これらはカンナビノイド受容体 (CB1, CB2) に対してアゴニストとして作用する。カンナビノイドではないが、CB1 受容体や CB2 受容体に対してアゴニストとして作用するものに、アミノアルキルインドール化合物である WIN55212-2 があり、実験で広く使用されている。WIN 55212-2 の光学異性体である WIN55212-3 にはアゴニストとしての活性はほとんどない。カンナビノイド受容体アンタゴニストとしては、CB1 受容体アンタゴニストである SR141716A や AM251、CB2 受容体アンタゴニストである SR144528 や JTE-907 などがある。その多くはインバースアゴニストとして作用すると言われている。これらのアンタゴニストは特異性が高く、カンナビノイド受容体やその内在性リガンドの生理的役割を解明する上で極めて有用である。

4. 内在性カンナビノイド受容体リガンド

受容体が同定されたことから、内在性リガンドの探索が行われた。その結果、1992年に、Mechoulam らのグループによってアラキドン酸とエタノールアミンが酸アミド結

合した物質、*N*-アラキドノイルエタノールアミン (アナンダミド) (図 1) がブタの脳から単離された³⁾。アナンダミドはカンナビノイド受容体に対する強い結合活性を持っており、様々な系でカンナビノイド様作用を示す。例えば、*in vitro* の系では、アデニル酸シクラーゼの阻害、N 型および P/Q 型の電位依存性 Ca²⁺チャネルの阻害、K⁺チャネルの開口、MAP キナーゼの活性化、電気刺激したマウス精管の収縮の抑制などを、*in vivo* では、自発運動量の低下や、体温の低下、鎮痛、カタレプシーなどを引き起こす¹²⁾。ただ、アナンダミドのアゴニストとしての活性は概して弱く、最大反応を与えないことが多い。つまり、アナンダミドはカンナビノイド受容体に対しては一種の部分アゴニストとして作用するということになる。しかし、受容体の真の内在性リガンドが部分アゴニストであるということは不自然である。また、筆者ら¹³⁾や Schmid ら¹⁴⁾が正常なラットの脳に含まれているアナンダミドの量を調べたところ、その量は極めて低いレベルでしかないことが明らかとなった (数 pmol/g 組織~数十 pmol/g 組織)。実際、*N*-アシルエタノールアミンは、ホスファチジルエタノールアミンのアミノ基に、リン脂質の 1 位に結合している脂肪酸 (その多くは飽和脂肪酸である) が転移して生成する *N*-アシルホスファチジルエタノールアミンが、ホスホリパーゼ D¹⁵⁾ の作用によって分解を受けて生成することが明らかとなっている。しかし、この経路では、アラキドン酸 (多くはリン脂質の 2 位に結合している) 含有の *N*-アシルエタノールアミン (*N*-アラキドノイルエタノールアミン、すなわちアナンダミド) は極めて生成しにくい。これらの事実、アナンダミドが、カンナビノイド受容体 (CB1, CB2) の真の内在性リガンドであるということに疑問を抱かせるものであった。

一方、筆者は 2-アラキドノイルグリセロール (2-arachidonoylglycerol, 2-AG) (図 1) にもカンナビノイド受容体に対する結合活性があるのではないかと考え、1993年に 2-AG に関する研究を開始した。何故、グリセロール骨格を持つ分子である 2-AG を思いついたかということ、テキサス大学の Hanahan 研究室に留学していた時に、合成した *N*-アシルエタノールアミンリン酸とリゾホスファチジン酸が、血小板の共通の受容体 (リゾホスファチジン酸受容体) に結合するというのを観察しており、ちょうど論文¹⁶⁾を準備中だったからである。*N*-アシルエタノールアミンリン酸とリゾホスファチジン酸は、紙の上で書いた構造式ではよく分からないが、立体的な構造はよく似ている。リンがはずれたもの (*N*-アシルエタノールアミンとモノアシルグリセロール) でも同じことが言えるはずである。2-AG は市販されていなかったのがグリセロールとアラキドン酸から合成し、シナプトソームへの結合を調べてみた。その結果、2-AG にラット脳シナプトソームのカン

ナビノイド受容体への結合活性があることを見出した。ただ、その結合活性は $K_i=15\mu\text{M}$ とやや弱いものであった。また、ラットの脳からモノアシルグリセロールを精製し、その脂肪酸組成を調べたところ、アラキドン酸が比較的多量に含まれていることが明らかとなった。アラキドン酸含有のモノアシルグリセロールの量は 3.25nmol/g で、これは同じ組織中のアナンダミドの量の数百倍に相当する。これらの結果は1994年に札幌で開かれた日本脂質生化学研究会で発表した¹⁷⁾。その後、結合活性が弱く見えるのは、結合実験のインキュベーションの間に分解を受けるためではないかと考え、DFP (diisopropylfluorophosphate) の存在下で結合実験を行ってみることにした。その結果、 $K_i=2.4\mu\text{M}$ という結果が得られた。 K_i がこの程度なら、組織中に存在するレベルの2-AGでも十分活性を発揮できるはずである。この結果は、1995年の国際神経化学会議のサテライトシンポジウムで発表したあと、分析データと一緒にして同じ年の *Biochem. Biophys. Res. Commun.* に公表した⁴⁾。驚いたことに、Mechoulamも同じサテライトシンポジウムで2-AGにカンナビノイド受容体に対する結合活性のあることを発表した。彼らは同年の *Biochem. Pharmacol.* に結果を公表した⁵⁾。

しかし、2-AGは、当時、他の研究者の関心をそれほど集めなかった。その理由は、誰もアナンダミドの意義を信じて疑わなかったこと、アナンダミドの薬理作用に関する論文が次から次へと出てくる状況で、多くの人がそちらの方に気を取られていたためではないと思われる。Mechoulamも、自身がアナンダミドの発見者でもあるためか、以後、数年間は2-AGに関する研究成果を発表していない。ということで我々はしばらくの間、激しい競争をすることなく、自分達で合成した2-AGを使って、2-AGに関する研究を独自に進めることができた。

まず、生物活性を調べることにしたが、手軽にできるよい実験系はなかなか見つからなかった。ある日、NG108-15細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度に及ぼすリゾホスファチジン酸の影響を調べる実験をしていたとき、ために2-AGも加えてみた。もし、論文や総説をちゃんと読んでいたらこのような実験はしなかったかもしれない。というのは、カンナビノイド受容体 (CB1, CB2) を発現させたCHO細胞にカンナビノイド受容体アゴニストを加えても、受容体を介した細胞内 Ca^{2+} 濃度の変動は見られないという報告がすでであったからである¹⁸⁾。ところが、2-AGを加えた直後、見事な一過的な細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が観察された。そこで、次に、同じキュベットにもう一度2-AGを加えてレスポンスが起こるかどうかが調べてみた。しかし、細胞は今度は全く反応しなかった。これは脱感作が起こったことを意味する。合成カンナビノイド受容体アゴニストであるWIN55212-2を加えてみたところ、2-AGとよく似たレス

ポンスが観察された。ところが、WIN55212-2の光学異性体で、アゴニストの活性が全くないWIN55212-3を加えた場合にはレスポンスは全く観察されなかった。また、CB1受容体のアンタゴニストであるSR141716Aで細胞を前処理したところ、2-AGやWIN55212-2によるレスポンスは完全に消失した。これらの結果は、2-AGがCB1受容体に作用して Ca^{2+} レスポンスを引き起こしたことを明確に示すものであった。結果を急いで論文¹⁹⁾にまとめたあと、この系を使って2-AGの構造活性相関を徹底的に調べることにした。

その結果、次のようなことが明らかとなった。1) パルミチン酸やオレイン酸、リノール酸、 α -および γ -リノレン酸、ドコサヘキサエン酸を含有する2-モノアシルグリセロールには活性は全くない。n-3系の脂肪酸であるエイコサペンタエノエン酸含有の2-モノアシルグリセロールには弱いながら活性が認められる。n-9系のエイコサトリエン酸 (ミード酸) を含有する2-モノアシルグリセロールには2-AGに匹敵する活性がある。n-3系やn-6系のエイコサトリエン酸を含有する2-モノアシルグリセロールの活性はそれほど強いものではない。2) 2-AGの異性体である1(3)-AGの活性は2-AGのそれに比べて10分の1程度と低い。3) グリセロールをエチレングリコールに変えると、活性は大幅に低下する。4) エステル結合をエーテル結合に変えたもの (2-AG ether) の活性も、2-AGのそれに比べるとはるかに弱い。5) エステル結合を酸アミド結合に変えた化合物 (N-アラキドノイルセリノール) には活性はほとんどない。6) アナンダミドも弱い部分アゴニストとしてしか作用しない。7) Δ^9 -THCもアナンダミドと同様、部分アゴニストである。これらの結果は、2-AGの構造 (アラキドン酸部分、グリセロール骨格部分、エステル結合部分) がCB1受容体によって厳密に認識されていることを示唆するものであった^{20,21)}。筆者らは、次に、CB2受容体を発現しているHL-60細胞を用いて構造活性相関を詳しく調べた。その結果、CB1受容体の場合と同様に、2-AGの構造がCB2受容体によって厳密に認識されているという結論が得られた²²⁾。これらの実験結果をもとに、筆者らは、CB1受容体とCB2受容体の真の内在性リガンドは、アナンダミドではなく2-AGであるという説を提唱するに至った^{20~22)}。

図2は2-AGの真空中における最安定構造の一つを少し変化させたものと、カンナビノイドの一種である11-OH- Δ^9 -THC (Δ^9 -THCより強い活性を示す) の構造を並べたものである。2-AGはフレキシブルな分子であるため、環境に応じて色々な構造を取りうるが、その中には11-OH- Δ^9 -THCなどのカンナビノイドの構造に、どこことなく似ているものがあるということが分かる。2-AGとカンナビノイドは、決して似ても似つかないものではない。

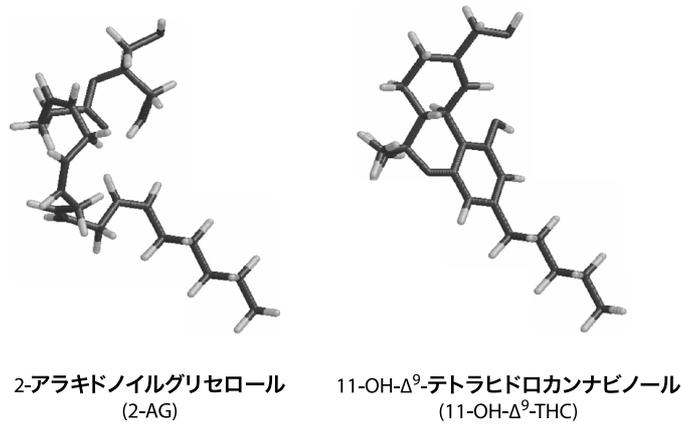


図2 2-AGと11-OH- Δ^9 -THCの構造

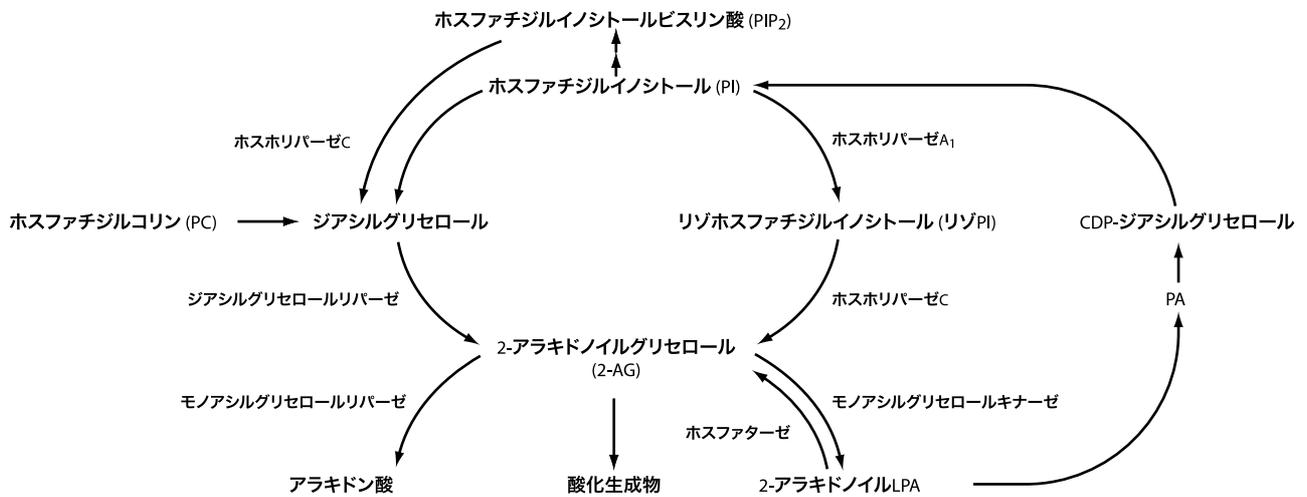


図3 2-AGの生合成経路および分解経路
LPA, リゾホスファチジン酸; PA, ホスファチジン酸

2-AGが真の内在性リガンドであるという説に対しては、アナンダミドを研究している人からの反発等もあったが、2-AGが市販されてからは、2-AGを研究する人の数も徐々に増え、2-AGが完全アゴニストとして作用すること、アナンダミドは部分アゴニストとして作用することなどが受け入れられつつある²³⁻²⁵⁾。筆者らは、2-AGがカンナビノイド受容体を介してERK (extracellular signal-regulated kinase)を活性化することも見出ししているが²⁶⁾、この場合も、Ca²⁺レスポンスの場合と同様、2-AGが完全アゴニストとして作用するのに対して、アナンダミドは弱い部分アゴニストとして作用することが分かった。まだすべての人が認めているわけではないが、CB1受容体とCB2受容体は、本来は2-AG受容体であると筆者らは考えている。アナンダミドの受容体が存在するとしたら、それはCB1受容体やCB2受容体とは別の、まだ未知の受容体ということになる。

ところで、以前、内在性カンナビノイド受容体リガンド

の新たな候補として、*O*-アラキドノイルエタノールアミン (virodhamine)²⁷⁾や2-AGのエーテル型アナログである2-AG ether (noladin ether)^{28,29)}が報告されたことがある。しかし、*O*-アラキドノイルエタノールアミンについては、生体内に存在する量が著しく少ないこと、弱い部分アゴニストであることなどから、生体内で内在性リガンドとして機能している可能性は極めて低いと思われる。2-AGのエーテル型アナログの方は、実験データの信頼性が低いこともあって、現在では顧みられていない。

5. 2-AGの生合成機構と分解機構

2-AGには複数の生成ルートがある。最も主要と考えられるのが、イノシトールリン脂質代謝亢進などの際に生成するアラキドン酸含有のジアシルグリセロールが、ジアシルグリセロールリパーゼ (diacylglycerol lipase, DAGリパーゼ)によって分解されることにより生成するルートである(図3)。イノシトールリン脂質を分解してジアシルグリセ

ロールを供給するホスホリパーゼCについては、周知の通り多くの研究がすでになされており、多数の遺伝子がクローニングされている。一方、DGリパーゼは、以前、血小板から精製されていたが³⁰⁾、その遺伝子は、比較的最近になってクローニングされた³¹⁾。BisognoらによってクローニングされたDGリパーゼは、アミノ酸配列がよく似た α (1042アミノ酸)と β (672アミノ酸)の二つで、至適pHは7付近にあり、10,000 \times gの膜画分に存在する。活性は Ca^{2+} により促進され、*p*-hydroxy-mercuri-benzoateや HgCl_2 などによって阻害を受ける。酵素タンパク質は発生の初期には軸索に分布しているが、成熟するに従って後シナプスに強く発現するようになるという。

2-AGがイノシトールリン脂質から、上記のルートによって生成するであろうということは、2-AGに関する最初の報告⁴⁾の時から予想されていたことであるが、最近、場合によってはイノシトールリン脂質以外のリン脂質も、2-AGの母体となっているという可能性が浮上してきた。後述するように、炎症局所では2-AGのレベルが上昇しているが、同時に2-AG以外の2-モノアシルグリセロールの生成も認められた³²⁾。生成した2-モノアシルグリセロールの脂肪酸組成を調べたところ、アラキドン酸以外にオレイン酸やリノール酸が多量に含まれていた。このことは、2-モノアシルグリセロールの原料となるジアシルグリセロールが、必ずしもイノシトールリン脂質由来のものに限らないことを意味する。詳細はまだ不明であるが、いくつかの状況証拠から、ホスファチジルコリンなどから2-AGを含む各種2-モノアシルグリセロールが、ジアシルグリセロールを経て生成している可能性が考えられている。

2-AGの生成ルートとしては、上記のジアシルグリセロールを経て生成するルートのほか、ホスホリパーゼA₁の作用により生成したアラキドン酸含有の2-アシル型のリゾリン脂質が、ホスホリパーゼCによって分解されて生成するルートもある。このルートが実際に生体内で機能しているという直接的な証拠はまだ得られていないが、シナプトソーム画分に高い酵素活性が認められているので³³⁾、神経系で機能している可能性は十分考えられる。一方、2-AGは、アラキドン酸含有の2-アシル型のリゾホスファチジン酸が脱リン酸化されることによっても生成する(図3)。筆者らはラットの脳に、グリセロール骨格の2位にアラキドン酸を含有するリゾホスファチジン酸が存在すること(0.84nmol/g組織、リゾホスファチジン酸の5.4%を占める)、ラット脳ホモジネートとグリセロール骨格の2位にアラキドン酸を含有するリゾホスファチジン酸をインキュベートすると、2-AGが生成することなどを確認している³⁴⁾。

2-AGの生成に関しては、このように多くの生成ルートが存在するため、生体内の局所で、実際にどのようなルー

トを経て2-AGが生成しているのかを正確に知ることは必ずしも容易ではない。ただ、間違いなく言えることは、どのようなルートで生成するにしても、イノシトールリン脂質などのリン脂質の2位にはアラキドン酸が多量に含まれているため、2-AGは生成しやすい状況になっているということである。これはリン脂質の1位に結合しているアラキドン酸(実際には非常に少ない)を利用して作られるアナンドミドの場合とは大きく異なっている点である^{35~37)}。

2-AGはモノアシルグリセロールリパーゼ(monoacylglycerol lipase, MGリパーゼ)により分解されてアラキドン酸とグリセロールになる(図3)。MGリパーゼは、幾つかのグループ^{38,39)}によってクローニングされている。ラット脳のMGリパーゼ³⁹⁾は303個のアミノ酸からなり、マウス脂肪細胞のMGリパーゼ³⁸⁾との間には92%のホモロジーがある。興味深いことに、MGリパーゼは、CB1受容体が多量に発現している海馬、小脳、大脳皮質などに多く発現しており、しかも前シナプスに存在しているという。この酵素を過剰発現させた神経細胞では2-AGの量が低下していること³⁹⁾、RNAiを用いて発現を抑制すると2-AGの量が増加する⁴⁰⁾ことなどから、実際の細胞において2-AG量の調節に重要な役割を演じているものであることが確認された。ただ、MGリパーゼはこれ以外に複数存在する可能性が高いので、MGリパーゼの役割の全容を明らかにするためには、それらすべてをクローニングして調べる必要があるであろう。

2-AGはアナンドミドを分解する酵素である脂肪酸アミドヒドロラーゼ(fatty acid amide hydrolase, FAAH)によっても分解され、アラキドン酸とグリセロールになることが分かっている^{41,42)}。しかし、FAAHは、本来、*N*-アシルエタノールアミンの分解酵素⁴³⁾であるので、2-AGの分解に実際にどれだけ寄与しているかは不明である。

2-AGは分解されてアラキドン酸とグリセロールになるほか、リン酸化されるとアラキドン酸含有のリゾホスファチジン酸になる。前述したように、グリセロール骨格の2位にアラキドン酸を含有するリゾホスファチジン酸は、脱リン酸化されて2-AGになるので、両者は比較的容易に相互変換しうることになる。2-AGとリゾホスファチジン酸は、異なる受容体(カンナビノイド受容体とリゾホスファチジン酸受容体)に作用するが、場合によっては機能的に何らかの係があるのかもしれない。

2-AGは、遊離アラキドン酸と同様、シクロオキシゲナーゼ等により代謝され、プロスタグランジン類のグリセロールエステルに変換されることが示されている⁴⁴⁾。生成が確認されているものとしては、プロスタグランジンE₂のグリセロールエステル、プロスタサイクリンのグリセロールエステルなどがある。ただ、これらの化合物の持つ生物活性は2-AGのそれと比べると弱い。また、実際の細

胞において、量的にどの程度生成しているのかという点もまだよく分かっていない。これらの化合物に生理的に特別な意義があるのかどうか、今後、早急に明らかにする必要があるだろう。

6. 組織中の2-AG量

哺乳類の組織に存在している2-AGの量は、組織によっても多少異なるが、数nmol/g組織といったところである^{35,37,45}。例えば、ラットの脳の場合、3~4nmol/g組織という値が報告されている^{4,46}。しかし、生体内における2-AGのレベルはもっと低いものである可能性がある。液体窒素に漬けて全身を凍結させたラットの脳の2-AG量は0.23nmol/g組織であった⁴⁷。凍結させなかったラットの脳の2-AGレベルがこれよりはるかに高いレベルであったのは、脳を取り出すなどの過程で、2-AGが生成してしまったためであろう。実際、筆者らは、ラットの頭部を切断したあと、脳内の2-AGの量が速やかに上昇することを確認している⁴⁸。このように、操作中に人工産物として生成してしまう可能性があるため、2-AGの分析に際しては、脂質抽出までの操作時間をできるだけ短くするなどの工夫が必要である。2-AGは代謝回転が極めて早い物質である。脳の各部位の2-AG量を測定した実験結果がこれまでに多数報告されているが、それらの値が生理的なレベルを反映しているかどうか、かなり疑わしいと言わざるを得ない。

7. 神経系におけるカンナビノイド受容体と2-AGの生理的意義

2-AGはCB1受容体を発現させた細胞のアデニル酸シクラーゼを阻害し、細胞内サイクリックAMPレベルを低下させる⁵。また、2-AGは分化したNG108-15細胞の脱分極に伴う細胞内Ca²⁺イオン濃度の上昇を抑制する⁴⁹ほか、ラット海馬スライスの長期増強(long-term potentiation, LTP)を抑制し⁵⁰、神経伝達を低下させる⁵¹。2-AGの作用としては、このほか、電位依存性Ca²⁺チャネルの抑制、K⁺チャネルの開口、神経伝達物質の放出抑制、電気刺激したマウス精管の収縮の抑制、体温低下、自発運動量の低下なども報告されている^{35-37,45,52}。ただ、これらの2-AGの作用の中には、2-AGが代謝されたあとの代謝産物が効いていると思われる場合もあるので、注意が必要である。

ところで、2-AGに関して最も注目すべき事柄は、2-AGが神経の興奮に伴って起こるイノシトールリン脂質などのリン脂質代謝亢進と、神経伝達を抑制的に制御しているカンナビノイド受容体の機能をリンクさせるという点である⁴。筆者らは、1998年刊行の*Essential Fatty Acids and Eicosanoids*において、シナプスにおける2-AGの役割に関して次のようなスキームを提唱した⁵³。神経が興奮して脱

分極・グルタミン酸の放出などが起きると、Gタンパク質が活性化されることにより、あるいは電位依存性Ca²⁺チャネル等を介して細胞内Ca²⁺イオン濃度が局所的に上昇することにより、ホスホリパーゼCが活性化され、イノシトールリン脂質などから、2-AGが速やかに生成する。2-AGは膜透過性の物質であるので、シナプス間隙に速やかに放出される。放出された2-AGは、主として前シナプスに存在するCB1受容体に作用して、電位依存性Ca²⁺チャネルを阻害することにより、神経伝達物質の放出を抑制し、神経の興奮にブレーキをかけることになる(図4)。2-AGは上述したとおり神経の興奮に伴って生成する物質であるが、神経の興奮に伴って生成する物質が、フィードバックして神経の興奮を抑制するとすれば、神経興奮の遮断機構として、極めて合理的である。筆者らは、ピクロトキシニンにラットに投与して脳を過剰興奮させると、それに伴って2-AGのレベルが速やかに数倍に上昇すること⁴⁷、シナプトソームを脱分極させると、2-AGが選択的に速やかに生成し、外に放出されることなどを確認した⁵⁴。神経伝達に伴ってイノシトールリン脂質などから生成する2-AGと、その受容体であるCB1受容体は、オートレセプターなどと共同して、神経伝達のネガティブフィードバック制御に一役買っている可能性が高い。筆者らは、このスキームを2000年刊行の*Chem. Phys. Lipids* カンナビノイド特集号中の総説においても発表した⁵²。

一方、2001年には、CB1受容体の内在性リガンドが、神経伝達の抑制的制御において重要な役割を演じているということの直接的な証明が電気生理学的手法を用いて示された。以前から、海馬や小脳等のニューロンにおいて、後シナプスを脱分極させると、後シナプスから逆行性のメディエーターが放出され、前シナプスからの神経伝達物質の放出が抑制されるという現象が報告されていた^{55,56}。この現象は、抑制性シナプスの場合はdepolarization-induced suppression of inhibition (DSI)と呼ばれ、興奮性シナプスの場合はdepolarization-induced suppression of excitation (DSE)と呼ばれている。少作と狩野らのグループ⁵⁷、WilsonとNicolle⁵⁸およびKreitzerとRegehr⁵⁹は、DSIやDSEがCB1受容体のアンタゴニストによって阻害されること、外から加えたWIN55212-2などのCB1受容体のアゴニストが、DSIやDSEにおける逆行性メディエーターの働きを代行しうることなどを示した。これらの論文は大きな反響を呼び、DSIやDSEのメディエーターは、内在性カンナビノイド受容体リガンドであると考えられるようになった。その本体が何であるのか、解明には多少時間がかかったが、狩野らのグループと筆者らのグループは、マウスやラットの小脳スライスを用い、DSEを起こす条件下で2-AGが確かに産生されていること、アナンダミドは生成していないこと、ホスホリパーゼCB4を欠損したマウスで

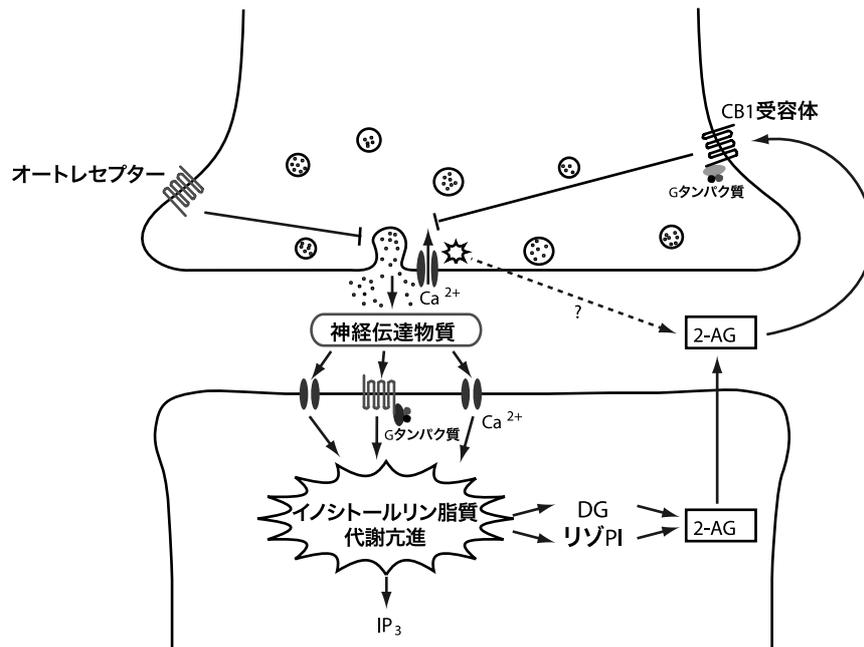


図4 シナプスにおけるカンナビノイド CB1 受容体と 2-AG の役割
DG, ジアシルグリセロール; PI, ホスファチジルイノシトール

は 2-AG の生成能が大幅に低下しているが、このマウスの小脳では DSE も著しく抑制されていることなどを示した⁶⁰。これらの結果は、DSE のメディエーターが、アナンダミドなどではなく、2-AG であるということを強く示唆するものである。この研究成果によって、シナプス伝達の調節における 2-AG の重要性は、実験的にも裏付けられた。なお、同様の結論は、ほぼ同じ頃、DG リパーゼや MG リパーゼの阻害剤を用いた実験を行った幾つかの研究グループによっても報告された^{61~64}。2-AG が DSI や DSE のメディエーターであることは、ほぼ間違いのないと思われる。

DSI や DSE は、持続時間が短いシナプス伝達の抑制機構であるが、LTD のように持続時間の長い現象においても、CB1 受容体とその内在性リガンドが重要な役割を演じている可能性が指摘されている。Robbe ら⁹は、内在性カンナビノイド受容体リガンドが、マウスの側座核において LTD を引き起こすことを報告した。同様の結果は、マウスの扁桃体¹⁰や線条体⁶⁵などでも観察されている。Edwards ら⁶⁶や Safo と Regehr⁶⁷は、ホスホリパーゼ C や DG リパーゼの阻害剤で処理することにより、ラット海馬やマウス小脳の LTD が抑制されることを示し、エフェクターとして働いている分子が 2-AG であることを明らかにした。2-AG がどのような機構により LTD を引き起こしているのか、また、2-AG によって引き起こされる LTD の生理的意義は何か、興味を持たれるところであるが、詳細は今後の研究を待たなければならない。

Δ^9 -THC には傷害や虚血によって引き起こされる脳のダ

メージを軽減する作用のあることが以前より知られていた⁶⁸。同様の活性は WIN55212-2 などの合成カンナビノイドについても認められている。これらの事実は、CB1 受容体とその内在性リガンドが、脳において保護的な役割を演じていることを示唆するものである。CB1 受容体はグルタミン酸などの神経伝達物質の前シナプスからの放出を抑制的に制御しているので、CB1 受容体アゴニストが神経の過剰な興奮を抑制し、脳が受けるダメージを軽減するとしても不思議ではない。CB1 受容体をノックアウトしたマウスは痙攣を起こしやすくなっており、寿命もやや短い⁷。また、脳虚血に対する抵抗性が低下しているという⁶⁹。一方、ラットを断頭したり、ピクロトキシニンを投与して脳を過剰に興奮させたりすると、脳内の 2-AG 量が速やかに増加することを筆者らは観察している^{47,48}。前のスキームのところでも述べたように、2-AG は、前シナプスに発現している CB1 受容体に作用して神経伝達物質の放出を抑制し、脳が過剰に興奮してダメージを受けるのを防いでいるのであろう。Panikashvili ら⁷⁰は、2-AG を脳内に投与することにより、傷害を与えた後の脳の浮腫や梗塞が小さく抑えられること、海馬ニューロンの細胞死が減少すること、障害からの回復が早まることなどを報告している。

CB1 受容体は鎮痛にも関与していることが知られている。 Δ^9 -THC やアナンダミドは、*in vivo* で鎮痛効果を発揮する⁷¹。ただ、アナンダミドは、カンナビノイド受容体だけでなくバニロイド受容体（唐辛子の成分であるカプサイシンが結合する受容体）にも結合するので、観察されたア

ナンダミドの鎮痛効果が、カンナビノイド受容体を介したものであるかどうかは不明である。一方、Hohmannら⁷²⁾は、MGリパーゼの阻害剤であるURB602をラットの中脳中心灰白質に投与すると鎮痛効果が表れることを示し、2-AGが実際に痛みの調節に関与しているということを証明した。

神経系とCB1受容体に関しては、このほか、視床下部における食欲の調節に2-AGなどの内在性カンナビノイド受容体リガンドが関与しているという報告もなされており⁷³⁾、多くの研究者の関心を集めている。CB1受容体のノックアウトマウスは、野生型マウスに比べて餌の摂取量が減っているという⁷³⁾。興味深いことに、CB1受容体は、脳における食欲の調節だけでなく、末梢におけるエネルギーバランスにも関与している可能性がある。Jbiloら⁷⁴⁾は、SR141716Aが、CB1受容体を介して脂肪細胞の縮小化と脂肪分解の亢進を起すことを示した。このことは、内在性カンナビノイド受容体リガンドが、脂肪細胞の代謝に深く関与していることを示唆するものである。CB1受容体のアンタゴニストであるSR141716Aには、体重を減少させる効果のあることが判明し、最近、抗肥満薬（商品名アコンプリア、一般名リモナバン）としてヨーロッパなどで認可されたが、この効果は、どうやら当初予想されたような食欲の抑制によるものではなく、脂肪細胞の代謝を変化させたことによるものらしい。

ところで、マリファナの活性成分の Δ^9 -THCであるが、この物質はCB1受容体の部分アゴニストである。すなわち、受容体に結合してもGタンパク質を十分に活性化することができない。また、2-AGとは異なり、速やかには分解されない物質である。そのため、一旦、受容体に結合すると、受容体を占拠するため、生理的なリガンドである2-AGが、そのあと作用しにくくなる。 Δ^9 -THCには幻覚等を引き起こす作用があるが、それらの少なくとも一部（幻覚など）は、CB1受容体を活性化したための結果ではなく、本来のリガンドである2-AGのCB1受容体アゴニストとしての働きを攪乱することにより引き起こされたものであろう。2-AGは、脳内で恒常的に生成・分解を繰り返している物質である。2-AGやCB1受容体の本来の役割は、生理的な現象である神経伝達の抑制的制御であって、決して幻覚や異常感覚等を起こすために存在しているのではない。

8. 炎症・免疫系におけるカンナビノイド受容体と2-AGの生理的意義

CB1受容体は脳に多量に発現しているほか、全身に比較的広く分布しているが、炎症・免疫系の細胞にはあまり発現していない。これらの細胞には、かわりにCB2受容体が多く発現している。CB2受容体が多く発現している

細胞は、Bリンパ球⁷⁵⁾、ナチュラルキラー細胞^{75,76)}、マクロファージ/単球^{75,77)}、好酸球⁷⁸⁾、マスト細胞⁷⁹⁾、樹状細胞⁸⁰⁾、ミクログリア⁸¹⁾などである。Tリンパ球における発現は低い⁷⁵⁾。また、好中球には全く発現していない⁷⁸⁾。リンパ節では皮質に多く発現している。一方、CB2受容体は、炎症・免疫系の細胞以外の細胞にはほとんど発現していない。これらの事実は、CB2受容体が炎症反応や免疫応答において、何か特別の役割を担っているということを示唆するものである。

Δ^9 -THCを動物に投与すると免疫応答の低下などがみられることから、CB2受容体は免疫の抑制に関与しているのではないかとこれまで漠然と考えられてきた。しかし、前述したように、 Δ^9 -THCはCB2受容体に対してごく弱い部分アゴニストあるいはアンタゴニストとして作用するので²²⁾、 Δ^9 -THCに免疫抑制作用や抗炎症作用があるからといって、内在性リガンドによるCB2受容体の活性化イコール免疫応答や炎症反応の抑制ということにはならない。むしろ、逆に、内在性リガンドは免疫応答や炎症反応を促進している可能性の方が高い。

筆者らはCB2受容体を発現しているHL-60細胞を用いて2-AGの作用を詳しく調べ、2-AGがCB2受容体を介してERK²⁶⁾やp38 MAPキナーゼ⁸²⁾を活性化すること、IL-8やMCP-1などのケモカインの産生を増大させることを見出した⁸³⁾。さらに、2-AGが、マクロファージ様に分化させたHL-60細胞を遊走させること⁷⁷⁾、アクチンの重合を促進すること⁸⁴⁾、細胞の接着を増強させること⁸⁵⁾、オプソニン化ザイモサンの貪食を亢進させること⁸⁶⁾などを明らかにした。また、2-AGが、ヒトの単球⁷⁷⁾や好酸球⁷⁸⁾、ナチュラルキラー細胞⁷⁶⁾を、効率良く遊走させることなども明らかにしている。2-AGによる遊走は、マウスの脾細胞⁸⁷⁾やミクログリア⁸¹⁾などについても報告されている。これらの事実は、2-AGとCB2受容体が、炎症反応や免疫応答に対して促進的に働いているということを強く示唆するものであった。

一方、2-AGが、マイトジェン刺激したマウスリンパ球の増殖を抑制あるいは促進するという報告⁸⁸⁾、IL-2産生を抑制するという報告⁸⁹⁾、TNF- α やIL-6などの産生を抑制するという報告^{90,91)}もこれまでになされている。これらをそのまま解釈すれば、2-AGは炎症や免疫に対して抑制的に働いていることになる。しかし、これらの実験の場合、観察されたレスポンスが、2-AGがCB2受容体に作用して起きたものであるかどうかは定かではない。インキュベーション時間が長い、あるいは*in vivo*に投与しているということなどを考えると、2-AGの効果は、2-AGそのものが作用した結果というより、2-AGが分解され代謝されて生成したアラキドン酸代謝物が作用した結果である可能性が高いと思われる。

筆者らは、さらに *in vivo* における CB2 受容体と 2-AG の役割について詳しく調べた³²⁾。その結果、TPA で誘発したマウス耳介の急性炎症モデルにおいて、2-AG 量の速やかな増大が見られること、アナンダミドの量は 2-AG の量に比べて著しく少なく、変化がほとんど見られないことなどが明らかとなった。注目すべきことに、CB2 受容体アンタゴニストである SR144528 を耳介に塗布することにより、TPA による耳介の腫脹や LTB_4 の産生、好中球の浸潤は強く抑制を受けた。また、マウス耳介に 2-AG を塗布することにより一過的な腫脹が観察されるが、この腫脹は SR144528 によって完全に抑制された。これらの事実は、CB2 受容体とその内在性リガンドである 2-AG が、急性炎症反応において重要な促進的役割を演じているということを示唆するものである³²⁾。

同様の結果は、オキサゾロンを塗布することによって作製したマウスのアレルギー性皮膚炎モデルについても観察された⁹²⁾。興味深いことに、感作したマウスにオキサゾロンをチャレンジする際に、同時に SR144528 を塗布すると 24 時間後の耳介の腫脹は抑制されるが、SR144528 を感作時に塗布しただけでも、チャレンジ後の耳介の腫脹は抑制を受けることが分かった。このことは、2-AG と CB2 受容体が、チャレンジ後の炎症だけでなく、抗原による感作のステップにも深く関与しているということを示唆するものである。一方、オキサゾロンを反復チャレンジすると、好酸球の浸潤を伴う慢性のアレルギー性炎症が引き起こされるが、SR144528 を塗布することにより、耳介の腫脹も、好酸球の浸潤も、ともに強く抑制されるということが明らかとなった。この結果は、2-AG と CB2 受容体が、好酸球の浸潤を伴う慢性のアレルギー性炎症の進展にも深く関わっていることを示唆するものである⁹²⁾。

CB2 受容体が炎症反応や免疫応答に促進的に働いていることを示唆する結果は、他の幾つかのグループによっても報告されている。岩村ら⁹³⁾は、CB2 受容体アンタゴニストあるいはインバースアゴニストである SR144528 や JTE-907 が、カラゲニンで誘発したマウス足蹠の浮腫を強く抑制することを報告している。このほか、ジニトロフルオロベンゼンで感作したマウスの耳介の腫脹を JTE-907 や SR144528 が抑制するという報告⁹⁴⁾、CB2 受容体のインバースアゴニストである Sch. 336 が、卵白アルブミンで感作したマウスの気道にアルブミンをチャレンジすることによって起こる肺への好酸球の浸潤を抑制するという報告⁹⁵⁾、JTE-907 がアトピー性皮膚炎モデルのマウスの掻痒を軽減するという報告⁹⁶⁾などもある。

一方、筆者らは、WIN55212-2 や CP55940 などの CB2 受容体アゴニストは、*in vitro* の assay 系では 2-AG と同様にアゴニストとして作用するが、動物に投与して炎症反応への影響を調べるといような実験では、アンタゴニスト

と同様の活性を発揮するというを見出した⁹⁷⁾。このことは一見意外であるが、よく考えてみるとそれほど不思議なことではない。WIN55212-2 や CP55940 は合成化学物質であるので、受容体に結合したあと、2-AG よりも分解、除去されにくい。そのため、炎症の場合などでは CB2 受容体を一旦活性化したあと、受容体をしばらく占拠し続けたり、あるいは脱感作を起こしたりして、生理的なりガンドである 2-AG が、CB2 受容体を連続的に活性化できないようにしてしまっているのであろう。

筆者らは、炎症反応における 2-AG と CB2 受容体の役割に関して次のような仮説を提唱している^{32, 45, 92, 98)}。細菌等の異物の侵入、あるいは傷害等により炎症・免疫系の細胞が活性化され、リン脂質代謝の亢進が起き、2-AG の産生と放出が起こる。放出された 2-AG は CB2 受容体を発現している他の炎症・免疫系の細胞に作用して、 LTB_4 や IL-8 などのケモカインの産生を増大させることにより、あるいはこれらの細胞を直接遊走させたり、細胞接着を増強させたりすることにより、炎症反応や免疫応答をエスカレートさせたり進行させたりする (図 5)。

一方、CB2 受容体の部分アゴニストである Δ^9 -THC やアンタゴニストである SR144528 は、CB2 受容体に強く結合し、生理的なりガンドである 2-AG が作用するのを妨害する。その結果、炎症反応や免疫応答にはブレーキがかかることになる (図 5)。もし、これが正しければ、CB2 受容体アンタゴニスト (おそらくアゴニストも) は、将来、新しいタイプの抗炎症薬、免疫抑制剤になる可能性がある。

CB1 受容体に比べると、CB2 受容体はこれまでそれほど注目されて来なかった。そのため、CB2 受容体の意義に関して現在までに得られている情報は、まだ十分なものとは言えない。CB2 受容体の役割の全容の解明にはさらなる研究が必要である。

9. 血管系におけるカンナビノイド受容体と 2-AG の生理的意義

2-AG は血管系においても重要な役割を演じている可能性がある。筆者らはヒト血管内皮細胞をトロンビン等で刺激すると 2-AG が速やかに生成し、放出されること、ヒト血管平滑筋細胞に CB1 受容体が発現していることなどを明らかにした⁹⁹⁾。同じ頃、Mechoulam のグループも、ラットの大動脈をカルバコールで刺激すると、2-AG が生成することを報告している¹⁰⁰⁾。CB1 受容体は K^+ チャネルを開口させるとともに、電位依存性 Ca^{2+} チャネルを抑制的に制御しているので、2-AG が血管内皮細胞から放出され、あるいは神経終末や血管平滑筋から放出されて血管平滑筋細胞の CB1 受容体に結合すれば、結果的に血管の弛緩が起こるのである。また、*in vivo* であれば血圧の低下が見られるはずである。Kunos らのグループと筆者らのグルー

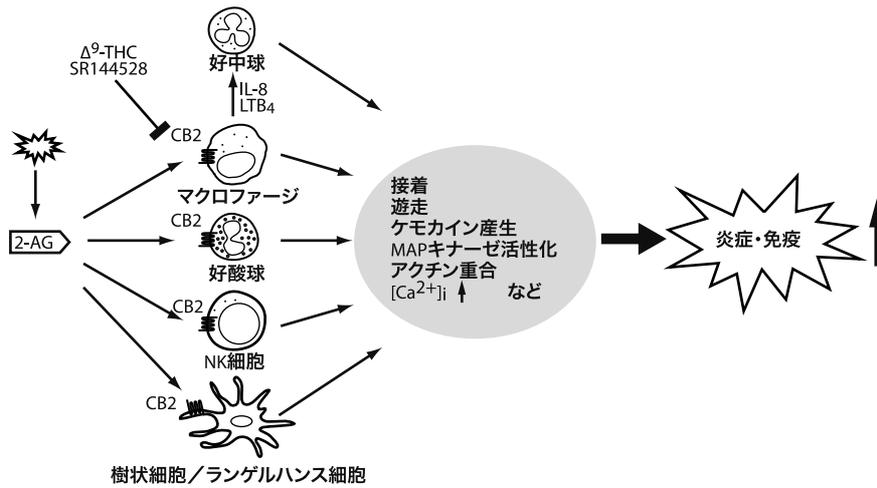


図5 炎症・免疫系におけるカンナビノイド CB2 受容体と 2-AG の役割
NK, ナチュラルキラー細胞

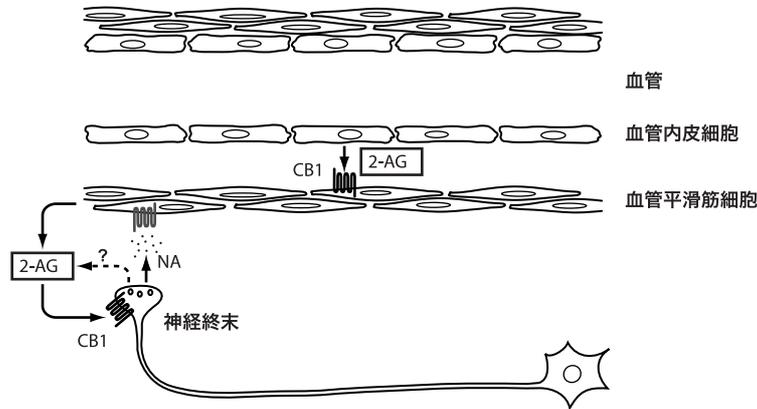


図6 血管系におけるカンナビノイド CB1 受容体と 2-AG の役割
NA, ノルアドレナリン

ブは、代謝的に安定な 2-AG のエーテル型のアナログ (2-AG ether) をマウスに投与すると、血圧の低下が見られること、SR141716A を投与することにより血圧の低下が見られなくなること、CB1 受容体のノックアウトマウスでは 2-AG ether の効果が見られないことなどを明らかにした¹⁰¹⁾。これらの結果は、2-AG と CB1 受容体が、血管のトーン調節に何らかの関与をしていることを示唆するものである (図 6)。一方、籠田ら¹⁰²⁾は、2-AG が、ノルアドレナリンで収縮させたウサギの動脈を弛緩させることを示した。こういった 2-AG の作用は、かねてよりその存在が指摘されてきた血管内皮由来過分極因子 (endothelial-derived hyperpolarizing factor, EDHF) のそれによく似ている。実際、EDHF は内在性カンナビノイド受容体リガンドではないかと疑われたこともあった¹⁰³⁾。しかし、EDHF の作用が SR141716A で阻害できないことから、2-AG は EDHF そのものではないと考えられる¹⁰²⁾。ただ、もし EDHF が複数の分子からなるものであるならば、その一部

である可能性は残っている。あるいは、2-AG は EDHF ではないが、それに類似した働きをする分子なのかもしれない。血管系に関しては、このほか、血管内皮細胞に CB1 受容体や CB2 受容体とは別のカンナビノイド受容体が発現しているというを示唆する報告もなされている¹⁰⁴⁾。血管系における 2-AG とカンナビノイド受容体の役割を完全に明らかにするためには、まだまだ詳細な研究が必要である。

10. その他の系におけるカンナビノイド受容体と 2-AG の生理的意義

小腸や大腸などの消化管にカンナビノイド受容体が発現していることが知られている。消化管に発現しているカンナビノイド受容体の生理的役割はまだよく分からないが、消化管の運動性に関係しているのではないかという説がある。腸を SR141716A で処理すると運動性が上昇するという¹⁰⁵⁾。一方、消化管における炎症に、カンナビノイド受容

体が何らかの関与をしているとの報告もある¹⁰⁶⁾。ただ、内在性リガンドに関する情報は少なく、消化管における2-AGのカンナビノイド受容体アゴニストとしての役割は今のところ不明である。

マリファナに眼圧低下作用があることはよく知られている。Laineら¹⁰⁷⁾は、2-AGの代謝的に安定なアナログである2-AG etherをウサギの眼に投与すると、眼圧が低下することを示した。2-AG etherの効果はSR141716Aによって阻害された。こういった知見から、眼圧の調節に、カンナビノイド受容体(特にCB1受容体)が何らかの関与をしているという可能性が指摘されている。ただ、内在性のリガンドが、生理的な眼圧の調節に、実際にどの程度関与しているかは明らかではない。

カンナビノイド受容体とその内在性リガンドは、このほか、内分泌系や生殖系においても重要な役割を演じている可能性が示唆されているが、詳しいことはまだ分かっていない。その説明は今後に残された課題である。

11. おわりに

カンナビノイド受容体に関する研究は、この数年で大きく進展した。カンナビノイド受容体とその内在性リガンドが、神経系や炎症・免疫系を始め、生体内の様々な細胞・組織で生理的に重要な役割を演じているということが次第に明らかになりつつある。その役割を一言で言うならば、細胞が活性化されてイノシトールリン脂質などのリン脂質代謝亢進が起きたということを、周りの細胞が感知するためのセンサーのような役割ということになるだろうか。イノシトールリン脂質代謝亢進の結果生じたジアシルグリセロールは、Cキナーゼ等を介して細胞内に情報を伝えるが、ジアシルグリセロールが更に分解を受けて生成する2-AGは、細胞外に放出され、カンナビノイド受容体を介して周りの細胞に情報を伝えることになる。カンナビノイド受容体は、このように重要な役割を担っている受容体であるが、「マリファナの受容体」として捉えられてしまったこともあって、一般の研究者の関心を集めることは、それほど多くなかったように思われる。カンナビノイド受容体に関してこれまでに得られている情報は、決して十分なものとは言えない。カンナビノイド受容体の生理的役割についての正確な情報は、カンナビノイド受容体やその内在性リガンドをターゲットとする新しいタイプの医薬品の開発のためにも不可欠である。近い将来、カンナビノイド受容体とその内在性リガンドである2-AGの生理的役割の全容が解明されることを期待したい。

謝辞

このテーマに関する筆者の研究は、帝京大学薬学部衛生化学教室でなされたものである。共同研究者である和久敬

蔵名誉教授、山下 純准教授、岸本成史講師(現 岩手医科大学准教授)、岡 沙織助教、五香麻衣子助手、近藤佐知子元助手、小林有里子元職員、小高友子元職員および大学院生に深謝します。また、共同研究をして下さった、徳島大学の徳村 彰教授、大阪大学の狩野方伸教授、生理学研究所の前島隆司博士、北陸大学の渡辺和人教授、米国NIHのKunos博士、イタリアCNRのDi Marzo博士にお礼申し上げます。

文 献

- 1) Gaoni, Y. & Mechoulam, R. (1964) *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 1646-1647.
- 2) Devane, W.A., Dysarz, F.A. III, Johnson, M.R., Melvin, L.S., & Howlett, A.C. (1988) *Mol. Pharmacol.*, **34**, 605-613.
- 3) 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.
- 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) 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., Pertwee, R.G., Griffin, G., Bayewitch, M., Barg, J., & Vogel, Z. (1995) *Biochem. Pharmacol.*, **50**, 83-90.
- 6) Matsuda, L.A., Lolait, S.J., Brownstein, M.J., Young, A.C., & Bonner, T.I. (1990) *Nature*, **346**, 561-564.
- 7) Zimmer, A., Zimmer, A.M., Hohmann, A.G., Herkenham, M., & Bonner, T.I. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 5780-5785.
- 8) Steiner, H., Bonner, T.I., Zimmer, A.M., Kitai, S.T., & Zimmer, A. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 5786-5790.
- 9) Robbe, D., Kopf, M., Remaury, A., Bockaert, J., & Manzoni, O.J. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 8384-8388.
- 10) Marsicano, G., Wotjak, C.T., Azad, S.C., Bisogno, T., Rammes, G., Cascio, M.G., Hermann, H., Tang, J., Hofmann, C., Zieglgansberger, W., Di Marzo, V., & Lutz, B. (2002) *Nature*, **418**, 530-534.
- 11) Munro, S., Thomas, K.L., & Abu-Shaar, M. (1993) *Nature*, **365**, 61-65.
- 12) Di Marzo, V., De Petrocellis, L., Bisogno, T., Berger, A., & Mechoulam, R. (2002) in *Biology of Marijuana* (Onaivi, E.S. ed.), pp. 125-173, Taylor & Francis, London.
- 13) Sugiura, T., Kondo, S., Sukagawa, A., Tonegawa, T., Nakane, S., Yamashita, A., Ishima, Y., & Waku, K. (1996) *Eur. J. Biochem.*, **240**, 53-62.
- 14) Schmid, P.C., Krebsbach, R.J., Perry, S.R., Dettmer, T.M., Maasson, J.L., & Schmid, H.H.O. (1995) *FEBS Lett.*, **375**, 117-120.
- 15) Okamoto, Y., Morishita, J., Tsuboi, K., Tonai, T., & Ueda, N. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 5298-5305.
- 16) Sugiura, T., Tokumura, A., Gregory, L., Nouchi, T., Weintraub, S.T., & Hanahan, D.J. (1994) *Arch. Biochem. Biophys.*, **311**, 358-368.
- 17) Sugiura, T., Itoh, K., Waku, K., & Hanahan, D.J. (1994) *Proc. Jpn. Conf. Biochem. Lipids*, **36**, 71-74.
- 18) Felder, C.C., Joyce, K.E., Briley, E.M., Mansouri, J., Mackie,

- K., Blond, O., Lai, Y., Ma, A.L., & Mitchell, R.L. (1995) *Mol. Pharmacol.*, **48**, 443-450.
- 19) Sugiura, T., Kodaka, T., Kondo, S., Tonegawa, T., Nakane, S., Kishimoto, S., Yamashita, A., & Waku, K. (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **229**, 58-64.
 - 20) Sugiura, T., Kodaka, T., Kondo, S., Nakane, S., Kondo, H., Waku, K., Ishima, Y., Watanabe, K., & Yamamoto, I. (1997) *J. Biochem.*, **122**, 890-895.
 - 21) Sugiura, T., Kodaka, T., Nakane, S., Miyashita, T., Kondo, S., Suhara, Y., Takayama, H., Waku, K., Seki, C., Baba, N., & Ishima, Y. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 2794-2801.
 - 22) Sugiura, T., Kondo, S., Kishimoto, S., Miyashita, T., Nakane, S., Kodaka, T., Suhara, Y., Takayama, H., & Waku, K. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 605-612.
 - 23) Gonsiorek, W., Lunn, C., Fan, X., Narula, S., Lundell, D., & Hipkin, R.W. (2000) *Mol. Pharmacol.*, **57**, 1045-1050.
 - 24) Hillard, C.J. (2000) *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **61**, 3-18.
 - 25) Savinainen, J.R., Jarvinen, T., Laine, K., & Laitinen, J.T. (2001) *Br. J. Pharmacol.*, **134**, 664-672.
 - 26) Kobayashi, Y., Arai, S., Waku, K., & Sugiura, T. (2001) *J. Biochem.*, **129**, 665-669.
 - 27) Porter, A.C., Sauer, J.M., Knierman, M.D., Becker, G.W., Berna, M.J., Bao, J., Nomikos, G.G., Carter, P., Bymaster, F. P., Leese, A.B., & Felder, C.C. (2002) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **301**, 1020-1024.
 - 28) Hanus, L.E., Abu-Lafi, S., Fride, E., Breuer, A., Vogel, Z., Shalev, D.E., Kustanovich, I., & Mechoulam, R. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 3662-3665.
 - 29) Fezza, F., Bisogno, T., Minassi, A., Appendino, G., Mechoulam, R., & Di Marzo, V. (2002) *FEBS Lett.*, **513**, 294-298.
 - 30) Moriyama, T., Urade, R., & Kito, M. (1999) *J. Biochem.*, **125**, 1077-1085.
 - 31) 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.
 - 32) Oka, S., Yanagimoto, S., Ikeda, S., Gokoh, M., Kishimoto, S., Waku, K., Ishima, Y., & Sugiura, T. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 18488-18497.
 - 33) Tsutsumi, T., Kobayashi, T., Ueda, H., Yamauchi, E., Watanabe, S., & Okuyama, H. (1994) *Neurochem. Res.*, **19**, 399-406.
 - 34) Nakane, S., Oka, S., Arai, S., Waku, K., Ishima, Y., Tokumura, A., & Sugiura, T. (2002) *Arch. Biochem. Biophys.*, **402**, 51-58.
 - 35) Sugiura, T., Kobayashi, Y., Oka, S., & Waku, K. (2002) *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, **66**, 173-192.
 - 36) Sugiura, T. & Waku, K. (2002) *J. Biochem.*, **132**, 7-12.
 - 37) Sugiura, T., Oka, S., Ikeda, S., & Waku, K. (2006) in *Endocannabinoids: The brain and body's marijuana and beyond* (Onaivi, E.S., Sugiura, T., & Di Marzo, V., eds.), pp. 177-214, Taylor & Francis, Boca Raton.
 - 38) Karlsson, M., Contreras, J.A., Hellman, U., Tornqvist, H., & Holm, C. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 27218-27223.
 - 39) 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.
 - 40) Dinh, T.P., Kathuria, S., & Piomelli, D. (2004) *Mol. Pharmacol.*, **66**, 1260-1264.
 - 41) Di Marzo, V., Bisogno, T., Sugiura, T., Melck, D., & De Petrocillis, L. (1998) *Biochem. J.*, **331**, 15-19.
 - 42) Goparaju, S.K., Ueda, N., Yamaguchi, H., & Yamamoto, S. (1998) *FEBS Lett.*, **422**, 69-73.
 - 43) Ueda, N. (2002) *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **68-69**, 521-534.
 - 44) Kozak, K.R. & Marnett, L.J. (2002) *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, **66**, 211-220.
 - 45) Sugiura, T., Kishimoto, S., Oka, S., & Gokoh, M. (2006) *Prog. Lipid Res.*, **45**, 405-446.
 - 46) Kondo, S., Kondo, H., Nakane, S., Kodaka, T., Tokumura, A., Waku, K., & Sugiura, T. (1998) *FEBS Lett.*, **429**, 152-156.
 - 47) Sugiura, T., Yoshinaga, N., Kondo, S., Waku, K., & Ishima, Y. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **271**, 654-658.
 - 48) Sugiura, T., Yoshinaga, N., & Waku, K. (2001) *Neurosci. Lett.*, **297**, 175-178.
 - 49) Sugiura, T., Kodaka, T., Kondo, S., Tonegawa, T., Nakane, S., Kishimoto, S., Yamashita, A., & Waku, K. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **233**, 207-210.
 - 50) Stella, N., Schweitzer, P., & Piomelli, D. (1997) *Nature*, **388**, 773-778.
 - 51) Ameri, A. & Simmet, T. (2000) *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **361**, 265-272.
 - 52) Sugiura, T. & Waku, K. (2000) *Chem. Phys. Lipids*, **108**, 89-106.
 - 53) Sugiura, T., Kondo, S., Kodaka, T., Nakane, S., Yamashita, A., Kishimoto, S., Waku, K., & Ishima, Y. (1998) in *Essential Fatty Acids and Eicosanoids* (Riemesma, R.A., Armstrong, R., Kelly, W., & Wilson, R., eds.), pp. 380-384, AOCs Press, Champaign.
 - 54) Sugiura, T., Yoshinaga, N., Kondo, S., Nakane, S., Kobayashi, Y., & Waku, K. (2000) *Proc. Jpn. Conf. Biochem. Lipids*, **42**, 95-98.
 - 55) Pitler, T.A. & Alger, B.E. (1994) *Neuron*, **13**, 1447-1455.
 - 56) Oka, S., Ishima, Y., Waku, K., & Sugiura, T. (2006) in *Endocannabinoids: The brain and body's marijuana and beyond* (Onaivi, E.S., Sugiura, T., & Di Marzo, V., eds.), pp. 133-149, Taylor & Francis, Boca Raton.
 - 57) Ohno-Shosaku, T., Maejima, T., & Kano, M. (2001) *Neuron*, **29**, 729-738.
 - 58) Wilson, R.I. & Nicoll, R.A. (2001) *Nature*, **410**, 588-592.
 - 59) Kreitzer, A.C. & Regehr, W.G. (2001) *Neuron*, **29**, 717-727.
 - 60) 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.
 - 61) Galante, M. & Diana, M.A. (2004) *J. Neurosci.*, **24**, 4865-4874.
 - 62) Jung, K.M., Mangieri, R., Stapleton, C., Kim, J., Fegley, D., Wallace, M., Mackie, K., & Piomelli, D. (2005) *Mol. Pharmacol.*, **68**, 1196-1202.
 - 63) Straiker, A. & Mackie, K. (2005) *J. Physiol.*, **569**, 501-517.
 - 64) Melis, M., Perra, S., Muntoni, A.L., Pillolla, G., Lutz, B., Marsicano, G., Di Marzo, V., Gessa, G.L., & Pistis, M. (2004) *J. Neurosci.*, **24**, 10707-10715.
 - 65) Gerdeman, G.L., Ronesi, J., & Lovinger, D.M. (2002) *Nat. Neurosci.*, **5**, 446-451.
 - 66) Edwards, D.A., Kim, J., & Alger, B.E. (2006) *J. Neurophysiol.*, **95**, 67-75.
 - 67) Safo, P.K. & Regehr, W.G. (2005) *Neuron*, **48**, 647-659.
 - 68) Guzman, M. (2005) in *Cannabinoids* (Pertwee, R.G., ed.), pp. 627-642, Springer, Berlin.
 - 69) Parmentier-Batteur, S., Jin, K., Mao, X.O., Xie, L., & Greenberg, D.A. (2002) *J. Neurosci.*, **22**, 9771-9775.
 - 70) Panikashvili, D., Simeonidou, C., Ben-Shabat, S., Hanus, L.,

- Breuer, A., Mechoulam, R., & Shohami, E. (2001) *Nature*, **413**, 527–531.
- 71) Walker, J.M. & Hohmann, A.G. (2005) in *Cannabinoids* (Pertwee, R.G., ed.), pp. 509–554, Springer, Berlin.
- 72) Hohmann, A.G., Suplita, R.L., Bolton, N.M., Neely, M.H., Fegley, D., Mangieri, R., Krey, J.F., Walker, J.M., Holmes, P. V., Crystal, J.D., Duranti, A., Tontini, A., Mor, M., Tarzia, G., & Piomelli, D. (2005) *Nature*, **435**, 1108–1112.
- 73) Di Marzo, V., Goparaju, S.K., Wang, L., Liu, J., Batkai, S., Jarai, Z., Fezza, F., Miura, G.I., Palmiter, R.D., Sugiura, T., & Kunos, G. (2001) *Nature*, **410**, 822–825.
- 74) Jbilo, O., Ravinet-Trillou, C., Arnone, M., Buisson, I., Bribes, E., Peleraux, A., Penarier, G., Soubrie, P., Le Fur, G., Galiegue, S., & Casellas, P. (2005) *FASEB J.*, **19**, 1567–1569.
- 75) Galiegue, S., Mary, S., Marchand, J., Dussossoy, D., Carriere, D., Carayon, P., Bouaboula, M., Shire, D., Le Fur, G., & Casellas, P. (1995) *Eur. J. Biochem.*, **232**, 54–61.
- 76) Kishimoto, S., Muramatsu, M., Gokoh, M., Oka, S., Waku, K., & Sugiura, T. (2005) *J. Biochem.*, **137**, 217–223.
- 77) Kishimoto, S., Gokoh, M., Oka, S., Muramatsu, M., Kajiwara, T., Waku, K., & Sugiura, T. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 24469–24475.
- 78) Oka, S., Ikeda, S., Kishimoto, S., Gokoh, M., Yanagimoto, S., Waku, K., & Sugiura, T. (2004) *J. Leukoc. Biol.*, **76**, 1002–1009.
- 79) Skaper, S.D., Buriani, A., Dal Toso, R., Petrelli, L., Romanello, S., Facci, L., & Leon, A. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 3984–3989.
- 80) Matias, I., Pochard, P., Orlando, P., Salzet, M., Pestel, J., & Di Marzo, V. (2002) *Eur. J. Biochem.*, **269**, 3771–3778.
- 81) Walter, L., Franklin, A., Witting, A., Wade, C., Xie, Y., Kunos, G., Mackie, K., & Stella, N. (2003) *J. Neurosci.*, **23**, 1398–1405.
- 82) Sugiura, T., Kishimoto, S., Oka, S., Gokoh, M., & Waku, K. (2004) in *Arachidonate Remodeling and Inflammation* (Fonteh, A.N. & Wykle, R.L., eds.), pp. 211–237, Birkhauser Verlag, Basel.
- 83) Kishimoto, S., Kobayashi, Y., Oka, S., Gokoh, M., Waku, K., & Sugiura, T. (2004) *J. Biochem.*, **135**, 517–524.
- 84) Gokoh, M., Kishimoto, S., Oka, S., Mori, M., Waku, K., Ishima, Y., & Sugiura, T. (2005) *Biochem. J.*, **386**, 583–589.
- 85) Gokoh, M., Kishimoto, S., Oka, S., Metani, Y., & Sugiura, T. (2005) *FEBS Lett.*, **579**, 6473–6478.
- 86) Gokoh, M., Kishimoto, S., Oka, S., & Sugiura, T. (2006) *Proc. Jpn. Conf. Biochem. Lipids*, **48**, 29–32.
- 87) Jorda, M.A., Verbakel, S.E., Valk, P.J., Vankan-Berkhoudt, Y. V., Maccarrone, M., Finazzi-Agro, A., Lowenberg, B., & Delwel, R. (2002) *Blood*, **99**, 2786–2793.
- 88) Lee, M., Yang, K.H., & Kaminski, N.E. (1995) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **275**, 529–536.
- 89) Ouyang, Y., Hwang, S.G., Han, S.H., & Kaminski, N.E. (1998) *Mol. Pharmacol.*, **53**, 676–683.
- 90) Gallily, R., Breuer, A., & Mechoulam, R. (2000) *Eur. J. Pharmacol.*, **406**, R5–7.
- 91) Chang, Y.H., Lee, S.T., & Lin, W.W. (2001) *J. Cell Biochem.*, **81**, 715–723.
- 92) Oka, S., Wakui, J., Ikeda, S., Yanagimoto, S., Kishimoto, S., Gokoh, M., Nasui, M., & Sugiura, T. (2006) *J. Immunol.*, **177**, 8796–8805.
- 93) Iwamura, H., Suzuki, H., Ueda, Y., Kaya, T., & Inaba, T. (2001) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **296**, 420–425.
- 94) Ueda, Y., Miyagawa, N., Matsui, T., Kaya, T., & Iwamura, H. (2005) *Eur. J. Pharmacol.*, **27**, 520, 164–171.
- 95) Lunn, C.A., Fine, J.S., Rojas-Triana, A., Jackson, J.V., Fan, X., Kung, T.T., Gonsiorek, W., Schwarz, M.A., Lavey, B., Kozlowski, J.A., Narula, S.K., Lundell, D.J., Hipkin, R.W., & Bober, L.A. (2006) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **316**, 780–788.
- 96) Maekawa, T., Nojima, H., Kuraishi, Y., & Aisaka, K. (2006) *Eur. J. Pharmacol.*, **542**, 179–183.
- 97) Oka, S., Wakui, J., Gokoh, M., Kishimoto, S., & Sugiura, T. (2006) *Eur. J. Pharmacol.*, **538**, 154–162.
- 98) Sugiura, T., Oka, S., Gokoh, M., Kishimoto, S., & Waku, K. (2004) *J. Pharmacol. Sci.*, **96**, 367–375.
- 99) Sugiura, T., Kodaka, T., Nakane, S., Kishimoto, S., Kondo, S., & Waku, K. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **243**, 838–843.
- 100) Mechoulam, R., Frider, E., Ben-Shabat, S., Meiri, U., & Horowitz, M. (1998) *Eur. J. Pharmacol.*, **362**, R1–3.
- 101) Jarai, Z., Wagner, J.A., Goparaju, S.K., Wang, L., Razdan, R. K., Sugiura, T., Zimmer, A.M., Bonner, T.I., Zimmer, A., & Kunos, G. (2000) *Hypertension*, **35**, 679–684.
- 102) Kagota, S., Yamaguchi, Y., Nakamura, K., Sugiura, T., Waku, K., & Kunitomo, M. (2001) *Eur. J. Pharmacol.*, **415**, 233–238.
- 103) Randall, M.D., Alexander, S.P., Bennett, T., Boyd, E.A., Fry, J.R., Gardiner, S.M., Kemp, P.A., McCulloch, A.I., & Kendall, D.A. (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **229**, 114–120.
- 104) Jarai, Z., Wagner, J.A., Varga, K., Lake, K.D., Compton, D. R., Martin, B.R., Zimmer, A.M., Bonner, T.I., Buckley, N.E., Mezey, E., Razdan, R.K., Zimmer, A., & Kunos, G. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 14136–14141.
- 105) Pinto, L., Izzo, A.A., Cascio, M.G., Bisogno, T., Hospodar-Scott, K., Brown, D.R., Mascolo, N., Di Marzo, V., & Capasso, F. (2002) *Gastroenterology*, **123**, 227–234.
- 106) Izzo, A.A., Fezza, F., Capasso, R., Bisogno, T., Pinto, L., Iuvone, T., Esposito, G., Mascolo, N., Di Marzo, V., & Capasso, F. (2001) *Br. J. Pharmacol.*, **134**, 563–570.
- 107) Laine, K., Jarvinen, K., Mechoulam, R., Breuer, A., & Jarvinen, T. (2002) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **43**, 3216–3222.