

東北薬科大学

審査学位論文（博士）要旨

氏名（本籍）	タカギ ヒロカズ 高木 宏和（新潟県）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	甲第 137 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条 1 項該当
学位論文題名	脊髄疼痛制御における μ 受容体サブタイプの多樣的関与に関する行動薬理学的検討
論文審査委員	主査 特任教授 櫻 田 忍
	副査 教授 大 野 勲
	副査 教授 丹 野 孝 一

脊髄疼痛制御における μ 受容体サブタイプの
多樣的関与に関する行動薬理学的検討

論文内容要旨

東北薬科大学大学院薬学研究科薬学専攻博士課程後期課程
機能形態学教室

高木 宏和

脊髄疼痛制御における μ 受容体サブタイプの 多樣的関与に関する行動薬理的検討

東北薬科大学大学院薬学研究科

機能形態学教室

高木 宏和

緒言

疼痛は、侵害受容器より一次知覚神経を伝導し、脊髄後角において脊髄疼痛伝達物質を介して、二次知覚神経へシナプス伝達される。発痛物質として知られる capsaicin (CAP) は、一次知覚神経上の TRPV₁ 受容体を活性化することにより、一次知覚神経から脊髄疼痛伝達物質である glutamate や substance P (SP) を遊離し、二次知覚神経上の NMDA 受容体や NK₁ 受容体を活性化することにより疼痛を惹起する。疼痛伝達が行われる脊髄後角には、 μ オピオイド受容体が豊富に存在しており、一次知覚神経上に存在する μ 受容体は疼痛伝達物質の遊離を阻害し、二次知覚神経上に存在する μ 受容体は二次知覚神経の脱分極を抑制する事で抗侵害作用を発現する事が明らかにされている。また、この μ 受容体にはサブタイプの存在が示唆されており、選択的 μ_1 受容体拮抗薬である naloxonazine (NLZ) に対する感受性の違いにより、 μ_1 受容体と μ_2 受容体に分類されている。しかし、脊髄疼痛制御における μ_1 受容体及び μ_2 受容体の機能的関与は未だ不明確である。

Endomorphin-1 (EM1) と endomorphin-2 (EM2) は哺乳類より単離同定された内因性 μ オピオイドペプチドである。EM1 と EM2 の構造は類似しており、3 位のアミノ酸配列が異なるだけであるが、その薬理学的特性、特に鎮痛特性は大きく異なり、EM1 は μ_2 受容体作動薬として、EM2 は μ_1 受容体作用薬として働くことが知られている。櫻田らは、EM1 および EM2 ならびに新規 μ_2 受容体作動薬である Tyr-W-MIF-1 を基に新規 μ 受容体拮抗薬の開発を試み、 μ_1 受容体拮抗薬として [D-Pro²]EM2 を、 μ_2 受容体拮抗薬として [D-Pro²]EM1 および [D-Pro²]Tyr-W-MIF-1 を開発している。これら選択的新規受容体拮抗薬を用いた研究により、 μ_1 受容体および μ_2 受容体がさらに細分化される可能性が示唆されている。

そこで本研究では、脊髄疼痛制御機構における μ 受容体サブタイプの機能

的関与を、NMDA、SP および CAP により誘発される疼痛に対する EM1 および EM2 の抗侵害作用を指標に解析した。

実験方法

実験には体重 22~26 g の ddY 系雄性マウスを使用した。脊髄くも膜下腔内投与 (i.t.) は Hylden and Wilcox らの方法に準じて行った。疼痛関連行動として Scratching・Biting・Licking (SBL) を、5 分間隔で 15 分間測定し、その累積時間で表した。実験は 1 群 10 匹で行い、実験結果は平均値と標準誤差で示した。統計学的検定は、一元配置分散分析で行った後、Dunnett test または Bonferroni test にて後検定を行った。危険率 5% 以下を有意差ありと判定した。

実験結果・考察

1-1 NMDA 誘発性疼痛関連行動に対する EMs の抗侵害作用

NMDA (300 pmol、i.t.) により投与後 5 分間に約 80 秒の疼痛関連行動が発現した。この疼痛関連行動は EM1 及び EM2 の同時併用投与により用量依存的に抑制された。NMDA 誘発性疼痛関連行動に対する EM1 の抗侵害作用は、 μ_2 受容体拮抗薬である [D-Pro²]EM1 により抑制されたが、 μ_1 受容体拮抗薬である [D-Pro²]EM2 では抑制されなかった。一方 EM2 の抗侵害作用は、[D-Pro²]EM2 により用量依存的に抑制されたが、[D-Pro²]EM1 によっては影響を受けなかった。以上の結果より NMDA 誘発性疼痛関連行動に対する EM1 および EM2 の抗侵害作用は、二次知覚神経上の [D-Pro²]EM1 感受性 μ_2 受容体および [D-Pro²]EM2 感受性 μ_1 受容体にそれぞれ作用し発現している事が明らかとなった。

1-2 SP 誘発性疼痛関連行動に対する EMs の抗侵害作用

SP (100 pmol、i.t.) により投与後 5 分間に約 60 秒の疼痛関連行動が観察された。この疼痛関連行動は EM1 及び EM2 の同時併用投与により用量依存的に抑制された。SP 誘発性疼痛関連行動に対する EM1 の抗侵害作用は、[D-Pro²]EM1 および [D-Pro²]EM2 によって抑制されなかったが、他の μ_2 受容体拮抗薬である [D-Pro²]Tyr-W-MIF-1 により用量依存的に抑制された。一方、

EM2 の抗侵害作用は、[D-Pro²]EM2 により用量依存的に抑制されたが、[D-Pro²]EM1 および[D-Pro²]Tyr-W-MIF-1 によつては影響を受けなかった。以上の結果より SP 誘発性疼痛関連行動に対する EM1 の抗侵害作用は二次知覚神経上の[D-Pro²]EM1 非感受性[D-Pro²]Tyr-W-MIF-1 感受性 μ_2 受容体に作用して、一方 EM2 の抗侵害作用は二次知覚神経上の[D-Pro²]EM2 感受性 μ_1 受容体に作用して発現している事が明らかとなった。

1-3 CAP 誘発性疼痛関連行動に対する EMs の抗侵害作用

CAP (200pmol、i.t.) により投与後 10 分間に約 100 秒の疼痛関連行動が発現した。この疼痛関連行動は EM1 及び EM2 の同時併用投与により用量依存的に抑制された。CAP 誘発性疼痛関連行動に対する EM1 の抗侵害作用は、[D-Pro²]EM1 により抑制されたが、[D-Pro²]EM2 では抑制されなかった。一方 EM2 の抗侵害作用は、[D-Pro²]EM2 により用量依存的に抑制されたが、[D-Pro²]EM1 によつては影響を受けなかった。以上の結果より、CAP 誘発性疼痛関連行動に対する EM1 の抗侵害作用は、[D-Pro²]EM1 感受性 μ_2 受容体を介し、EM2 の抗侵害作用は[D-Pro²]EM2 感受性 μ_1 受容体を介し発現している事が明らかとなった。また、CAP 誘発性疼痛関連行動に対する EM1 の抗侵害作用が[D-Pro²]EM1 感受性 μ_2 受容体を介し発現するのに対し、SP 誘発性疼痛関連行動に対する EM1 の抗侵害作用は[D-Pro²]Tyr-W-MIF-1 感受性 μ_2 受容体を介し発現することから、[D-Pro²]EM1 感受性 μ_2 受容体と [D-Pro²]Tyr-W-MIF-1 感受性 μ_2 受容体は共存していないと考えられる。すなわち CAP 誘発性疼痛関連行動に対する EM1 および EM2 の抗侵害作用は、それぞれ一次知覚神経上の[D-Pro²]EM1 感受性 μ_2 受容体および[D-Pro²]EM2 感受性 μ_1 受容体を介して、疼痛伝達物質の遊離を抑制する事により発現することが示唆された。

2 NLZ 前処置下における EMs の抗侵害作用。

非可逆的 μ_1 受容体拮抗薬である NLZ 前処置下における EM1 及び EM2 の抗侵害作用発現機序を、CAP 及び NMDA 誘発性疼痛関連行動を用いて検討した。CAP および NMDA 誘発性疼痛関連行動に対する EM2 の抗侵害作用は、NLZ (2-16mg/kg、s.c.) 前処置により用量依存的に抑制されたが、EM1 の抗

侵害作用は NLZ 前処置によっては影響を受けなかった。EM2 の抗侵害作用に影響を与えない低用量 NLZ (2mg/kg、s.c.) の前処置下における、EM2 の抗侵害作用発現機序を検討したところ、NMDA 誘発性疼痛関連行動に対する EM2 の抗侵害作用は、NLZ 非前処置下と同様に [D-Pro²]EM2 により抑制されたが、[D-Pro²]EM1 では抑制されなかった。一方 CAP 誘発性疼痛関連行動に対する EM2 の抗侵害作用は、NLZ 非前処置下とは異なり、[D-Pro²]EM1 により抑制され [D-Pro²]EM2 では抑制されなかった。以上の結果から、 μ_1 受容体 (NLZ 35mg/kg 感受性) には NLZ 超高感受性 μ_1 (NLZ 2mg/kg) が存在し、この受容体は一次知覚神経上に存在する事が明らかとなった。

結論

本研究において、脊髄 μ_1 受容体と μ_2 受容体には、それぞれ薬理学的特性が異なる亜型が存在することが明らかとなった。すなわち、 μ_1 受容体には従来の NLZ 感受性 μ_1 受容体の他に、NLZ 超感受性 μ_1 受容体が、 μ_2 受容体には [D-Pro²]EM1 感受性 μ_2 受容体の他に [D-Pro²]Tyr-W-MIF-1 感受性 μ_2 受容体が存在する事が明らかとなった。また、これら受容体の分布は一様ではなく、脊髄疼痛伝達制御において複雑に関与している事が明らかとなった。

主論文

H. Mizoguchi, H. Takagi, C. Watanabe, A. Yonezawa, T. Sato, T. Sakurada, S. Sakurada: Involvement of multiple μ -opioid receptor subtypes on the presynaptic or postsynaptic inhibition of spinal pain transmission. Peptides In press (DOI: 10.1016/j.peptides.2013.10.012).