

総 説

μ オピオイド受容体の多様性

溝口 広一

Variability of μ -Opioid Receptors

Hirokazu MIZOGUCHI

*Department of Physiology and Anatomy, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Tohoku Medical and Pharmaceutical University.*

(Received November 20, 2018)

The μ -opioid receptors are target receptors for narcotic analgesics. Although there is critical variability on their pharmacological effects between narcotic analgesics, only one μ -opioid receptor (MOR-1) DNA has been cloned. After the cloning of MOR-1 cDNA, many exons have been identified in the MOR-1 gene. With many exons in their gene, the MOR-1 has synthesized with a large number of splice variants. In the present review, the splice variants of MOR-1 and the possible physiological functions for specific splice variants have been discussed.

Key words — μ -opioid receptor, splice variants, analgesia, narcotic analgesics, pain

1. はじめに

疼痛は、非常に不快な感覚刺激であると共に、生体に侵害が加えられたことを知らせる重要な警告信号でもある。しかし、持続する強い痛みは苦痛以外の何物でもなく生活の質を著しく低下させることから、鎮痛薬による疼痛緩和が行われる。臨床における疼痛緩和においては、痛みの質や程度により様々な鎮痛薬が使用されており、比較的軽度な疼痛には非ステロイド性消炎鎮痛薬 (NSAID) が、中等度の疼痛には非麻薬性オピオイド鎮痛薬や弱オピオイドの麻薬性鎮痛薬が、ガン性疼痛や術後痛などの重篤な疼痛には強オピオイドの麻薬性鎮痛薬が用いられている。現在日本で用いられている麻薬性鎮痛薬には、morphine, oxycodone, fentanyl, remifentanyl, hydromorphone, methadone, tapentadol など鎮痛活性の非常に強力な強オピオイドと codeine, pethidine など鎮痛活性が比較的低い弱オピオイドが存在し、また、非麻薬性オピオイド鎮痛薬としては、tramadol, buprenorphine, pentazocine などが用いられている。オピオイドの作用するオピオイド受容体は、主に μ オピオイド受容体、 δ オピオイド受容体、 κ オピオイド受容体、ORL-1 (opioid receptor like-1) 受容体の4種のサブタイプに分類されるが、pentazocine 以外の上記オピオ

ド鎮痛薬は共に μ オピオイド受容体の作動薬であり、その鎮痛作用は μ オピオイド受容体を介して発現する。これら μ オピオイド受容体作動薬であるオピオイド鎮痛薬は、その鎮痛作用や鎮咳作用といった主作用および、嘔気・嘔吐、便秘、呼吸抑制、依存性などの副作用において、薬物間で様々な特徴的違いを示す。現在臨床では、オピオイド鎮痛薬間の薬理作用におけるこの相違を逆に利用したオピオイドローテーションが行われている。しかし、同じ μ オピオイド受容体を介して発現する薬理作用に、オピオイド鎮痛薬間で多様な差が生じる原因については、 μ オピオイド受容体の多様性による可能性が一部示唆されているものの、いまだ明確にはなっていない。

2. μ オピオイド受容体

オピオイド受容体は、morphine をはじめとするオピオイドが作用する受容体の総称である。薬物の作用点として受容体の概念が導入されて以来、morphine の作用点としてその存在は想定されていたが、その存在が初めて実験的に実際に確認されたのは1970年代初頭である。1971年から1973年にかけて複数の研究グループが、放射性標識をした各種オピオイドの結合実験を行うことにより、オピオイド受容体の存在を確認した。1971年にGoldsteinら¹⁾は、マウス脳に [³H]levorphanol の特異的結合部位が存在することを明らかにし、そ

の後1973年に、Snyderら²⁾は^[3H]naloxoneを、Simonら³⁾は^[3H]etorphinを、そしてTerenius⁴⁾は^[3H]dihydromorphineをそれぞれ用い、ラット脳中にその特異的結合部位の存在を明らかにした。彼らが発見した特異的結合部位が、今でいう μ オピオイド受容体であり、morphineの頭文字のMを用いて μ オピオイド受容体と名付けられている。上記放射性標識オピオイドは、 μ オピオイド受容体の他に δ オピオイド受容体や κ オピオイド受容体にも親和性を示すことから、1981年に μ オピオイド受容体に最も選択的な薬物としてDAMGO ([D-Ala²,NMePhe⁴,Gly-ol⁵]enkephalin)が合成された⁵⁾後は、^[3H]DAMGOの特異的結合部位を μ オピオイド受容体とするようになった。この^[3H]DAMGOを用いた結合実験により、 μ オピオイド受容体は脳や脊髄といった中枢神経系のみならず、心臓、肺、腸管などの末梢神経系にも広範に分布していることが明らかになっている。Morphineなどの μ オピオイド受容体作動薬は、特異的部位に存在する μ オピオイド受容体を刺激することにより、鎮痛作用(脊髄、大脳皮質、視床、中脳水道周囲灰白質)、呼吸抑制作用(孤束核)、腸管運動抑制作用(腸管)、自発運動亢進作用(黒質)、鎮静作用(大脳皮質)、陶酔作用(腹側被蓋野)、心抑制作用(孤束核、心臓)など様々な薬理効果を発現すると考えられている。

μ オピオイド受容体の発見から約10年の時を経て、 μ オピオイド受容体にはサブクラスが存在することが報告された。1980年にPasternakら⁶⁾は、オピオイドペプチドとオピオイドアルカロイドの双方に等しく高い親和性を示す μ オピオイド受容体を μ_1 オピオイド受容体、オピオイドペプチドよりもオピオイドアルカロイドにより高い親和性を示す μ オピオイド受容体を μ_2 オピオイド受容体として、 μ オピオイド受容体を2つのサブクラスに分類した。また彼らは、 μ_1 オピオイド受容体選択的拮抗薬であるnaloxonazineを開発し、⁷⁾ μ_1 オピオイド受容体は上位中枢(脳)鎮痛作用、陶酔作用、acetylcholineやprolactinの放出制御作用、摂食促進作用に、一方、 μ_2 オピオイド受容体は脊髄鎮痛作用、呼吸抑制作用、腸管運動抑制作用に関与することを明らかにしている。⁸⁾ μ_1 オピオイド受容体・ μ_2 オピオイド受容体の理論は、自然発症的に μ_1 オピオイド受容体が著しく減少(ほぼ欠損)しているCXBKマウスにおいても確認されて

いる。⁹⁾しかし、 μ_1 オピオイド受容体および μ_2 オピオイド受容体に相当する受容体の遺伝子は、いまだ発見されていない。

3. μ オピオイド受容体の遺伝子クローニングとその多様性

1992年にEvansら¹⁰⁾およびKiefferら¹¹⁾が δ オピオイド受容体(DOR-1)遺伝子をクローニングして以来、オピオイド受容体に関する研究においても遺伝子工学の実験手法が多く取り入れられるようになった。DOR-1がクローニングされた翌年1993年には、Yasudaら¹²⁾により κ オピオイド受容体(KOR-1)遺伝子が、さらにChenら、¹³⁾Wangら¹⁴⁾やFukudaら¹⁵⁾により μ オピオイド受容体(MOR-1)遺伝子がクローニングされ、また、1994年にはORL-1受容体(ORL1)遺伝子がクローニングされた¹⁶⁾ことにより、現在同定されている4種のオピオイド受容体の構造(アミノ酸配列)が全て明らかとなった。MOR-1は398個のアミノ酸残基からなる受容体であり、DOR-1、KOR-1、ORL1と共にその構造中に7つの細胞膜貫通領域を持つ。細胞膜貫通領域のアミノ酸残基は他のオピオイド受容体と相同性が極めて高く、受容体全体での相同性も約60%と高い。MOR-1は他のオピオイド受容体と同様に、Gi/Go蛋白と共役した受容体であり、その受容体刺激により抑制性のシグナルを発生させることが確認されている。また、クローニングされたMOR-1遺伝子は、4つのエクソン(エクソン1~エクソン4)を含んでおり、エクソン1は細胞外N末端領域と1回目細胞膜貫通領域を、エクソン2は2回目細胞膜貫通領域~4回目細胞膜貫通領域を、エクソン3は5回目細胞膜貫通領域~7回目細胞膜貫通領域を、そしてエクソン4は細胞内C末端領域をそれぞれコードしていることが明らかとなっている。

前述したように、従来 μ オピオイド受容体は、作動薬・拮抗薬に対する感受性の違いから μ_1 オピオイド受容体と μ_2 オピオイド受容体に細分化されていた。しかし、実際に遺伝子が発見され、クローニング・単離・同定が行われた μ オピオイド受容体は、いまだMOR-1のみである。それでは、各種オピオイド鎮痛薬で認められている薬理作用の多様性は、どのようにして発現するのか。その疑問は、MOR-1遺伝子がクローニングされた翌年1994年に、Bareら¹⁷⁾によりMOR-1のspray

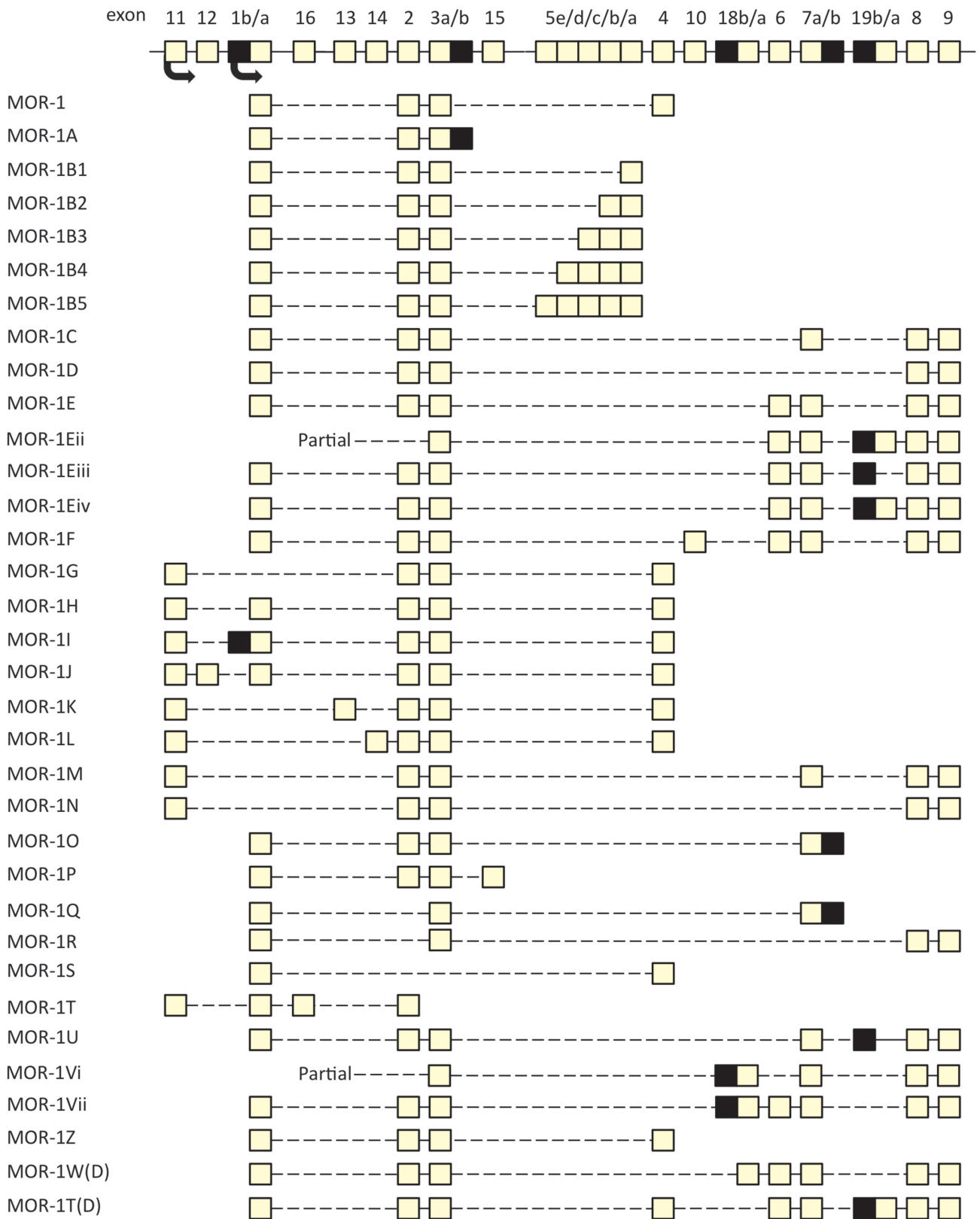


Fig. 1. Schematic of MOR-1 splicing in the mouse.

バリエーションとして MOR-1A が発見されたことに端を発し、早急に解決へと向かった。スプライスバリエーションとは、遺伝子に複数のエクソンが含まれている場合、遺伝子から転写された mRNA 前駆体

からイントロンが切り落とされて mRNA が産生される際に、エクソンも切り落とされることにより発現する多様性のことである。前述したように、MOR-1 は発見された当初、その遺伝子にエクソン

1~エクソン4の4つのエクソンを含む受容体とされていたが、Bareらはエクソン4相応部分が欠落したスプライスバリエントとしてMOR-1Aを発見した。一方Hölltら¹⁸⁾は、MOR-1の遺伝子中に新しいエクソンとしてエクソン5を発見し、エクソン5を含むスプライスバリエントとしてMOR-1Bを発見した。その後Panら^{19,22)}により、MOR-1の遺伝子中に大量のエクソンが発見され、それらエクソンに関連した大量のMOR-1スプライスバリエントが発見されている。MOR-1のスプライスバリエントは、特にマウスにおいて研究が進んでおり、現在19個のエクソンに基づく34種類のMOR-1スプライスバリエントの存在が報告されている (Fig. 1).²³⁾ その他にも、配列の一部が発見されただけでその全配列がまだ確定していない新規MOR-1スプライスバリエントの候補も多数存在しており、現在も新たなエクソンが発見される毎にMOR-1スプライスバリエントの種類も増加している。一方、ラットやヒトにおいてもマウスのMOR-1スプライスバリエントに相当するスプライスバリエントは存在し、現時点でラットでは17種類、ヒトでは20種類のMOR-1スプライスバリエントが報告されている。²³⁾

発見されたMOR-1スプライスバリエントの大部分は、MOR-1と同様に7回細胞膜貫通構造を持つ受容体であるが、一部のMOR-1スプライスバリエントはエクソン1が欠損した6回細胞膜貫通構造を持つ受容体である。一方、エクソン2およびエクソン3が欠損したり、エクソンの途中にストップコドンが存在することにより、結果的に1回細胞膜貫通構造となってしまうMOR-1スプライスバリエントも少数ながら存在する。これら7回細胞膜貫通構造を持たないMOR-1スプライスバリエントが、MOR-1と同様に単量体で機能するか否かに関しては、いまだ明らかになっていない。MOR-1、DOR-1やKOR-1といったオピオイド受容体は、単量体(モノマー)で機能する一方、G蛋白共役型の同種受容体や異種受容体と二量体(ホモダイマーやヘテロダイマー)を形成し、それら二量体は単量体と比較して、薬物の結合特性や受容体としての機能特性が著しく異なることが知られている。^{24,25)} このような二量体は、オピオイド受容体同士だけでなく、 β 受容体など全く異種の受容体との間でも存在する。²⁶⁾ MOR-1の複雑な多様性は、MOR-1スプライスバリエント自身の多様性に加え

て、MOR-1スプライスバリエント同士あるいは種々の受容体との様々な二量体によっても生じているのかもしれない。

4. 各種MOR-1スプライスバリエントの生理機能

MOR-1スプライスバリエントの存在が明らかとなつてから、既に20年以上経過しているが、その生理機能に関してはいまだほとんど明らかとなっていない。個別のMOR-1スプライスバリエントに選択的な薬物が存在しないことと、各MOR-1スプライスバリエントを個別に機能低下させることが技術的に困難であることが原因である。MOR-1スプライスバリエントは、数種以外のほぼ全てがエクソン2とエクソン3を含んでおり、エクソン1による1回目細胞膜貫通領域ならびに細胞外N末端領域とエクソン4以降のC末端細胞内領域に多様性が存在する。また、大部分のMOR-1スプライスバリエントはエクソン1を含んでおり、morphineを筆頭とした全ての麻薬性鎮痛薬や μ オピオイド受容体作動薬は、このエクソン1を含んだMOR-1スプライスバリエントに選択的である。そのため、エクソン1を含んだMOR-1スプライスバリエントの発現細胞を用いても、既存の麻薬性鎮痛薬や μ オピオイド受容体作動薬の間に際立った選択性の違いは認められない。²⁷⁾ また、エクソン1を含んだMOR-1スプライスバリエントに含まれている各種エクソンは、必ず複数のMOR-1スプライスバリエントに含まれているため、エクソン選択的に個別のMOR-1スプライスバリエントを機能低下させることは不可能であり、また個々のMOR-1スプライスバリエントに対する選択的抗体も存在しない。これらの要因から、MOR-1スプライスバリエントの機能解析は不可能と判断され、その研究は一時下火となっていた。しかし著者らは、エクソン1を含まないMOR-1スプライスバリエント内には、単独のMOR-1スプライスバリエントにしか含まれていない3種類のエクソン(エクソン12, エクソン13, エクソン14)が存在することに着目して研究を行うことにより、3種のMOR-1スプライスバリエント(MOR-1J, MOR-1K, MOR-1L)の生理機能の一端を見いだすことに成功した。これら3種のMOR-1スプライスバリエントは、既存の μ オピオイド受容体作動薬に非感受性の受容体であり、これらMOR-1スプライスバリエントをエクソン選択的に発現抑制しても、既存の

μ オピオイド受容体作動薬の脊髓鎮痛作用は影響を受けない。²⁸⁾ 一方、新規ペプチド性 μ オピオイド受容体作動薬 amidino-TAPA (N ^{α} -amidino-Tyr-D-Arg-Phe- β -Ala) は、既存の μ オピオイド受容体作動薬とは異なり、脊髓で内因性オピオイドペプチド (dynorphin A, dynorphin B, α -neo-endorphin, [Leu⁵]enkephalin) を遊離する作用を持つ²⁹⁾ が、その脊髓鎮痛作用はこれら3種の MOR-1 スプライスバリエントをエキソン選択的に発現抑制することにより著しく抑制される。²⁸⁾ 詳細な検討により、amidino-TAPA は脊髓のこれら3種の MOR-1 スプライスバリエントを介して鎮痛作用を発現するが、その鎮痛作用には MOR-1J を介した dynorphin A 遊離、MOR-1K を介した dynorphin B 遊離と α -neo-endorphin 遊離、MOR-1L を介した dynorphin A 遊離と [Leu⁵]enkephalin 遊離が関与していることが明らかになっている。³⁰⁾ このように、既存の μ オピオイド受容体作動薬に非感受性の特異的 MOR-1 スプライスバリエントは、エキソン1を含有する麻薬性鎮痛薬感受性の MOR-1 スプライスバリエントとは異なる、特異的生理機能を持っているかもしれない。

5. 夢の鎮痛薬を創製するためのターゲット受容体

麻薬性鎮痛薬は、 μ オピオイド受容体を介して強力な鎮痛作用を発現する一方、強い精神依存性を持っており、この精神依存性による乱用が世界的に問題となっている。この麻薬性鎮痛薬の精神依存性は、 μ オピオイド受容体刺激を介して発現する陶酔感により形成される。中脳腹側被蓋野から大脳辺縁系側坐核へ投射している dopamine 神経は、快・不快に関与しており、麻薬性鎮痛薬は、腹側被蓋野の dopamine 神経細胞体を抑制的に制御している γ アミノ酪酸 (GABA) 神経上に存在する μ オピオイド受容体を刺激し、GABA 神経抑制による脱抑制により側坐核での dopamine 遊離を増加させる。³¹⁾ この側坐核での dopamine 遊離増加が陶酔感を惹起し、精神依存性が形成される。一方、側坐核の dopamine 神経終末には dynorphin 神経が投射しており、dopamine 遊離を抑制的に制御している。それ故 κ オピオイド受容体作動薬は、dopamine 遊離抑制による嫌悪作用を引き起こし、また併用することにより μ オピオイド受容体作動薬の陶酔感を打ち消すことが知られている。³¹⁾ この現象を基に、麻薬性鎮痛薬と κ オピオイド受容

体作動薬の併用による「依存性のない夢の鎮痛薬」の開発が試みられたが、当時上梓されていた κ オピオイド受容体作動薬は全て μ オピオイド受容体拮抗作用を持っていたことから、「夢の鎮痛薬」とはならなかった。一方、新規 μ オピオイド受容体作動薬 amidino-TAPA は、前出したように既存の麻薬性鎮痛薬とは異なり、内因性 κ オピオイドペプチド (dynorphin A, dynorphin B, α -neo-endorphin) を遊離する作用を持つ。 μ オピオイド受容体刺激により側坐核での dopamine 遊離を増加させる一方、遊離した内因性 κ オピオイドペプチドが側坐核の κ オピオイド受容体を刺激することによってその遊離増加を打ち消すため、amidino-TAPA は μ オピオイド受容体作動薬であるにもかかわらず、精神依存性を示さないことが明らかとなっている。³²⁾ この内因性 κ オピオイドペプチドの遊離に関わる amidino-TAPA 感受性の MOR-1 スプライスバリエントは、MOR-1J と MOR-1L であり、これら MOR-1 スプライスバリエントは、依存性のない夢の鎮痛薬を開発する上でのターゲットとなり得る受容体と考えられる。

6. おわりに

MOR-1 スプライスバリエントの機能解析は、実質的にはまだ始まったばかりである。しかし数少ない先行研究において、morphine 等の麻薬性鎮痛薬に非感受性の MOR-1 スプライスバリエントは、従来 μ オピオイド受容体で認められていた生理機能とは異なる生理機能に関与していることが示唆されている。MOR-1 スプライスバリエントの機能解析は、臨床応用可能な新たな生理機能の発見につながるかもしれない。

謝辞 本研究を遂行するにあたりご指導を賜りました、機能形態学教室の前教授である櫻田忍客員教授に衷心より御礼申し上げます。また、同教室の渡辺千寿子准教授をはじめご協力いただきました同教室の歴代諸氏に厚く御礼申し上げます。

本論文の文献 28~30 および 32 に関わる研究は、科学研究費補助金基盤研究 C (21600013, 24590731, 15K08678) の助成により行われました。

利益相反

開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Goldstein A., Lowney L.I., Pal B.K., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**, 1742–1747 (1971).
- 2) Pert C.B., Snyder S.H., *Science*, **179**, 1011–1014 (1973).
- 3) Simon E.J., Hiller J.M., Edelman I., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**, 1947–1949 (1973).
- 4) Terenius L., *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh)*, **32**, 317–320 (1973).
- 5) Handa B.K., Land A.C., Lord J.A., Morgan B.A., Rance M.J., Smith C.F., *Eur. J. Pharmacol.*, **70**, 531–540 (1981).
- 6) Pasternak G.W., Childers S.R., Snyder S.H., *Science*, **208**, 514–516 (1980).
- 7) Pasternak G.W., Childers S.R., Snyder S.H., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **214**, 455–462 (1980).
- 8) Pasternak G.W., Wood P.J., *Life Sci.*, **38**, 1889–1898 (1986).
- 9) Moskowitz A.S., Goodman R.R., *Brain Res.*, **360**, 108–116 (1985).
- 10) Evans C.J., Keith D.E. Jr., Morrison H., Magendzo K., Edwards R.H., *Science*, **258**, 1952–1955 (1992).
- 11) Kieffer B.L., Befort K., Gaveriaux-Ruff C., Hirth C.G., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 12048–12052 (1992).
- 12) Yasuda K., Raynor K., Kong H., Breder C.D., Takeda J., Reisine T., Bell G.I., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 6736–6740 (1993).
- 13) Chen Y., Mestek A., Liu J., Hurley J.A., Yu L., *Mol. Pharmacol.*, **44**, 8–12 (1993).
- 14) Wang J.B., Imai Y., Eppler C.M., Gregor P., Spivak C.E., Uhl G.R., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 10230–10234 (1993).
- 15) Fukuda K., Kato S., Mori K., Nishi M., Takeshima H., *FEBS Lett.*, **327**, 311–314 (1993).
- 16) Mollereau C., Parmentier M., Mailleux P., Butour J.L., Moisand C., Chalon P., Caput D., Vassart G., Meunier J.C., *FEBS Lett.*, **341**, 33–38 (1994).
- 17) Bare L.A., Mansson E., Yang D., *FEBS Lett.*, **354**, 213–216 (1994).
- 18) Zimprich A., Simon T., Höllt V., *FEBS Lett.*, **359**, 142–146 (1995).
- 19) Pan Y.X., Xu J., Bolan E., Abbadie C., Chang A., Zuckerman A., Rossi G., Pasternak G.W., *Mol. Pharmacol.*, **56**, 396–403 (1999).
- 20) Pan Y.X., Xu J., Bolan E., Chang A., Mahurter L., Rossi G., Pasternak G.W., *FEBS Lett.*, **466**, 337–340 (2000).
- 21) Pan Y.X., Xu J., Mahurter L., Bolan E., Xu M., Pasternak G.W., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 14084–14089 (2001).
- 22) Pan Y.X., Xu J., Bolan E., Moskowitz H.S., Xu M., Pasternak G.W., *Mol. Pharmacol.*, **68**, 866–875 (2005).
- 23) Pasternak G.W., Pan Y.X., *Pharmacol. Rev.*, **65**, 1257–1317 (2013).
- 24) Cvejic S., Devi L.A., *J. Biol. Chem.*, **272**, 26959–26964 (1997).
- 25) Gomes I., Jordan B.A., Gupta A., Trapaidze N., Nagy V., Devi L.A., *J. Neurosci.*, **20**, RC110 (2000).
- 26) Jordan B.A., Trapaidze N., Gomes I., Nivarthi R., Devi L.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 343–348 (2001).
- 27) Pasternak G.W., *Neuropharmacology*, **47**, 312–323 (2004).
- 28) Mizoguchi H., Watanabe C., Higashiya T., Takeda S., Moriyama K., Yonezawa A., Sato T., Komatsu T., Sakurada T., Sakurada S., *Eur. J. Pharmacol.*, **651**, 66–72 (2011).
- 29) Mizoguchi H., Watanabe C., Watanabe H., Moriyama K., Sato B., Ohwada K., Yonezawa A., Sakurada T., Sakurada S., *Eur. J. Pharmacol.*, **560**, 150–159 (2007).
- 30) Mizoguchi H., Watanabe C., Higashiya T., Takeda S., Moriyama K., Aoki Y., Kon-no T., Takagi H., Yonezawa A., Sato T., Sakurada T., Sakurada S., *Eur. J. Pharmacol.*, **711**, 80–86 (2013).
- 31) Herz A., Spanagel R., “The Pharmacology of Opioid Peptides,” ed. by Tseng L.F., Harwood Academic Publishers GmbH, Singapore, 1995, pp.445-462
- 32) Mizoguchi H., Watanabe C., Osada S., Yoshioka M., Aoki Y., Natsui S., Yonezawa A., Kanno S., Ishikawa M., Sakurada T., Sakurada S., *Psychopharmacology (Berl)*, **212**, 215–225 (2010).