



Title	オピオイドの薬理作用と細胞内情報伝達系に関する研究
Author(s)	大西, 徹郎
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37466">https://hdl.handle.net/11094/37466</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【 8 】

氏名・（本籍）	おお	にし	てつ	お
	大	西	徹	郎
学 位 の 種 類	歯	学	博	士
学 位 記 番 号	第	9 4 3 6		号
学位授与の日付	平 成	2 年	12 月	19 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学 位 論 文 題 目	オピオイドの薬理作用と細胞内情報伝達系に関する研究			
論文審査委員	(主査)			
	教 授	作田	正義	
	(副査)			
	教 授	猪木	令三	
	教 授	松浦	英夫	
	助教授	山本	隆	

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

モルヒネは、神経細胞内への $\text{Ca}^{2+}$ の流入を抑えることにより神経伝達物質の放出を抑制し、鎮痛作用を発揮すると考えられている。また $\text{Ca}^{2+}$ の動態に関しては、細胞内情報伝達係に重要な役割を果たすGTP結合蛋白が深く関与している。本研究はモルヒネ受容体刺激に続く細胞内情報伝達系、および $\text{Ca}^{2+}$ の動態の変動を調べ、モルヒネの作用機序を解明するために始められた。またモルヒネは容易に耐性を形成するが、その過程における細胞内情報伝達系の関与を明らかにすることも試みた。

### 〔研究方法〕

実験は主としてラット脳海馬切片、あるいは膜分画を用いて行なった。

#### 1) ラット脳海馬切片の作成、および電気生理学的実験

S Dラットを断頭後、300 $\mu\text{m}$ の脳切片を8℃のKrebs-Ringer液（以後KR液）中で作成した。電気生理学的実験は35℃のKR液中で海馬Schaffer collateralsを双極電極で刺激し錐体細胞から得られるフィールド電位を記録し指標とした。

#### 2) 神経膜の調製、および結合実験

ラット脳海馬を0.32 M蔗糖でホモジナイズし遠心分離後、粗シナプス分画を得て、10 mM Tris-塩酸緩衝液（pH 7.4）による低張処置を行ない神経膜標品とした。50 mM Tris-塩酸緩衝液中で100 - 1500 pMの $^3\text{H}$ -ニトレンジピン存在下で25℃、90分間結合実験を行なった。

### 〔実験結果〕

#### 1) ラット脳海馬切片の錐体細胞から得られるフィールド電位に対するモルヒネの作用

(1) 海馬切片の錐体細胞から得られるフィールド電位は  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  M のモルヒネにより濃度に依存して増強され、この作用はナロキソンにより拮抗された。増強効果は (D-Ala, D-Leu)-エンケファリン ( $\delta$  アゴニスト) がもっとも強く、エチルケトシクラゾシン ( $\kappa$  アゴニスト) は作用を示さなかった。また KR 液の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を上げるとモルヒネの作用が減弱し、下げるとその作用が増強された。

(2)  $10^{-4}$  M のモルヒネによるフィールド電位の増大作用は  $10^{-7}$ – $10^{-5}$  M の GTP  $\gamma$  S により濃度に依存して抑制され、その作用は非可逆性であった。

## 2) 海馬神経膜への $^3\text{H}$ -ニトレンジピンの結合に対するモルヒネの作用

(1) 海馬切片を KR 液中で  $10^{-4}$  M のモルヒネと  $37^\circ\text{C}$ 、5 分間反応させた後に神経膜への  $^3\text{H}$ -ニトレンジピンの結合を調べると、その一部が低親和性の結合に移行していた。 $10^{-5}$  M の GTP  $\gamma$  S やナロキソンによりモルヒネの作用は拮抗された。

(2) 切片を百日咳毒素で前処置した後にモルヒネと反応させても  $^3\text{H}$ -ニトレンジピンの結合は二相性に変化した。

## 3) モルヒネ慢性投与個体標品を用いた実験

(1) モルヒネ慢性投与ラットから作成した海馬切片ではモルヒネによるフィールド電位増大作用は消失し、神経膜への  $^3\text{H}$ -ニトレンジピンの結合は約 30 % の増加がみられた。

(2) マウス脳室内に百日咳毒素を投与した場合とモルヒネを連用した場合、いずれも疼痛閾値の低下と大脳皮質神経膜への  $^3\text{H}$ -ニトレンジピンの結合の増加がみられたが、両者の作用は相加的ではなかった。

## 〔総括および結論〕

1) 本実験において海馬のオピオイド受容体が主に  $\delta$  タイプのものであり、モルヒネの作用は  $\text{Ca}^{2+}$  により拮抗されることが明らかになった。また GTP アナログを用いた実験により、その作用に GTP 結合蛋白が関与することが示唆された。海馬切片のモルヒネ処置後、神経膜にみられる  $^3\text{H}$ -ニトレンジピンの低親和性の結合がモルヒネによる  $\text{Ca}^{2+}$  流入の抑制に相当するものであり、GTP  $\gamma$  S による GTP 結合蛋白の活性化により元に戻ることが考えられた。また百日咳毒素処置後でもモルヒネの作用は発現した。

2) モルヒネ慢性投与後は百日咳毒素により GTP 結合蛋白をリボシル化した場合と同様に疼痛閾値の低下と  $^3\text{H}$ -ニトレンジピンの結合の増加が見られた。

以上の結果よりモルヒネはカルシウムチャネルを制御している百日咳毒素非感受性 GTP 結合蛋白に対して抑制的に作用し、 $\text{Ca}^{2+}$  の流入抑制をおこして作用を発現し、モルヒネ耐性は百日咳毒素感受性 GTP 結合蛋白の機能低下による  $\text{Ca}^{2+}$  の流入増加の結果によるものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本論文はモルヒネの作用発現機序およびモルヒネ慢生投与後の同機序の変化をカルシウム動態を中心として、主にラット脳海馬切片を用いた電気生理学および生化学的実験により検討したものである。

その結果、モルヒネは百日咳毒素非感受性GTP結合蛋白を介してカルシウムチャネルの $\text{Ca}^{2+}$ に対する親和性を低下させて神経細胞内への $\text{Ca}^{2+}$ の流入を抑えることにより、バスケット細胞の神経終末からの伝達物質の放出を抑制することが明らかになった。さらにモルヒネ慢性投与後は百日咳毒素感受性GTP結合蛋白の機能低下によりカルシウムチャネルが開口し、その結果 $\text{Ca}^{2+}$ の流入が増大するためモルヒネの作用が減弱するものと考えられた。

この業績はモルヒネの作用発現機序、さらにモルヒネ耐性獲得後の変化を明らかにすると共に将来、癌性疼痛などの制御に新しい可能性を提示するものとして評価でき、歯学博士の学位請求に値するものと認められる。