



Title	モルヒネ耐性形成における脳内カルシウムチャネルの変動に関する研究
Author(s)	末松, 基生
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39084">https://hdl.handle.net/11094/39084</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

氏名	末松基生
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第11832号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	モルヒネ耐性形成における脳内カルシウムチャネルの変動に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 作田 正義
	(副査) 教授 斎藤 喜八 教授 松浦 英夫 助教授 開 祐司

### 論文内容の要旨

#### <緒言>

末期癌の癌性疼痛に対する強力なペインコントロールには麻薬性鎮痛薬であるモルヒネが頻繁に使用され効果を得ている。しかし、投与を繰り返すとその鎮痛作用が減弱、すなわち耐性が発現する欠点も有している。モルヒネ鎮痛、耐性については現在までその受容体レベルでのメカニズムについては検討が進んでいるが、それ以後の細胞内情報伝達については未だ解明されていない部分が多い。本研究は、モルヒネ耐性形成時における神経細胞内情報伝達系の変化、特にカルシウム動態に着目し、神経細胞膜の電位依存性カルシウムチャネル(VDCC)の変化について詳細に検討を行い、その形成機構を考察した。また、モルヒネ依存状態からの離脱を促進することが知られている $\alpha_2$ -アドレナリン受容体作動薬のクロニジンを用いてモルヒネとの相互作用を検討し耐性形成機構を探る一助とした。

#### <研究方法>

##### [耐性動物の作成]

3週齢の雄性ICRマウスを使用し、薬物の慢性投与を行った。モルヒネは7日間1日2回の皮下注射にて用量を漸増しながら投与した。クロニジンは飲水中に混ぜ、14日間投与した。

##### [鎮痛試験]

各薬物のマウスに対する鎮痛作用及び慢性投与によるその変化を調べるために行った。薬物慢性投与を行わなかった群(以下、NT群)および各慢性投与群に対し、モルヒネまたはクロニジンを腹腔内前投与し、酢酸ライジング法により鎮痛効果を判定した。また、L型VDCCのブロッカーであるニフェジピンと、主にN型VDCCのブロッカーである $\omega$ -conotoxin GVIA(以下GVIA)の鎮痛作用も調べた。

##### [細胞内カルシウム濃度測定]

培養ヒト神経芽細胞腫SH-SY5Y細胞を用い、ARGUS-50/CAシステムにてカルバコール刺激による細胞内カルシウム濃度( $[Ca^{2+}]_i$ )の上昇に対するモルヒネ、クロニジンの作用を調べた。

##### [ $^{45}Ca$ 取り込み実験]

NT群および各慢性投与群マウス大脳皮質よりシナプトゾームを調製し、脱分極刺激による $^{45}Ca$ の取り込み量を測定した。

##### [VDCCブロッカーの結合実験]

NT 群, モルヒネ, クロニジン単回投与群, 各慢性投与群マウスより大脳皮質膜画分を調製し, それぞれに対する<sup>3</sup>H-PN200-110 (L型 VDCC ブロッカー), または<sup>125</sup>I-GVIA の総合量を測定し, Scatchard 解析を行った。また, photoaffinity labeling 実験により, <sup>125</sup>I-GVIA の総合した VDCC の同定を行った。

#### ＜結果及び考察＞

1. NT 群のマウスではモルヒネのみならずクロニジンも用量依存的に鎮痛作用を有し, 各慢性投与群においては各薬物に対する耐性が形成され, さらに両薬物間に交叉耐性が発現していたことから, 両薬物に共通の耐性形成過程が存在することが考えられた。(以下, 各慢性投与群をモルヒネ耐性群, クロニジン耐性群とする。)
2. モルヒネの鎮痛作用は神経細胞膜 K<sup>+</sup> チャネルを介した VDCC の抑制による神經伝達物質の放出抑制が大きく関与していると考えられている。ARGUS-50/CA システムによる解析ではモルヒネ, クロニジン共に [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> の上昇を濃度依存的に抑制し, 両薬物の鎮痛効果の共通の作用点であることが示唆された。
3. <sup>45</sup>Ca 取り込み実験により, 両耐性群とも脱分極時に外液からのシナプス前部へのカルシウム流入が通常に比べ有意に増加していることが明らかになった。この結果, 両薬物の耐性形成時には両薬物の持つ [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> の上昇抑制作用に対し相反的な状態にあることがわかった。
4. VDCC は L 型, N 型等のサブタイプに分類される。各々の VDCC ブロッカーの結合実験の Scatchard 解析および photoaffinity labeling 実験の結果モルヒネ耐性時には L 型, N 型 VDCC 数が共に増加し, クロニジン耐性時には N 型 VDCC 数は増加するが L 型 VDCC 数は減少することが明らかになった。
5. 各々の VDCC ブロッカーによる鎮痛試験を行ったところ, いずれも NT 群で用量依存的に鎮痛効果がみられたがニフェジピンの効果は軽度であった。モルヒネ耐性時に L 型 VDCC 数が増加する(結果 4)にも関わらずニフェジピンの鎮痛効果に変化がなかったこと, クロニジン耐性時に L 型 VDCC 数が減少していたことから耐性形成における L 型の VDCC の関与は少ないと考えられた。また, 両薬物耐性時に N 型 VDCC 数が増加し(結果 4), GVIA の鎮痛効果が減弱したことより, 耐性形成に N 型 VDCC が重要であることが示唆された。

#### ＜結論＞

モルヒネ耐性形成時には主として神経細胞膜の N 型 VDCC 数の増加により細胞内への Ca<sup>2+</sup> 流入が増加し鎮痛作用が減弱することが明らかになった。また異なる受容体(オピオイド, α<sub>2</sub>)を介しても同じ現象が起こっていることから, 耐性形成機構において受容体への結合以降のカルシウム動態の変動に至るまでの神経細胞内情報伝達系における変化が重要であることが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は, モルヒネの耐性形成機構解明を目的とした研究である。即ち, モルヒネの鎮痛・耐性の機構については, 現在までその受容体レベルでのメカニズムは検討されているが, それ以降の細胞内情報伝達機構については十分解明されていない。本研究ではモルヒネ耐性形成時のカルシウム動態の変動に着目し, 神経細胞膜の電位依存性カルシウムチャネル(VDCC)の変化について検討した。

その結果, モルヒネ耐性形成時には主として神経細胞膜の N 型 VDCC 数の増加により刺激時の細胞内へのカルシウムイオン流入が増加し, 鎮痛作用が減弱すること, 一方 L 型 VDCC の関与は少ないと明らかになった。

また, 耐性形成機構においては, 受容体への結合以降のカルシウム動態に至るまでの神経細胞内情報伝達系における変化が重要であることが示唆された。

本研究は, モルヒネ耐性形成機構の解明に新たな知見を加えたものであり, 博士(歯学)の学位を授与するに十分値するものと認められる。