



Title	モルヒネの作用発現における cAMP およびカリウムチャンネルの関与について
Author(s)	内田, 吉保
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39238
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	うち だ よし やす 内 田 吉 保
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 6 2 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 1 2 月 2 6 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	モルヒネの作用発現における cAMP およびカリウムチャネルの 関与について
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松矢 篤三 (副査) 教 授 松浦 英夫 教 授 齋藤 喜八 講 師 松本 憲

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

モルヒネの作用機序は神経細胞の活動抑制にあり、その結果みられる最も顕著な現象が鎮痛作用である。モルヒネが神経細胞に作用すると細胞内へのカルシウムの流入が抑制され、神経伝達物質の遊離が抑えられる機構が考えられている。しかしながらモルヒネが受容体に結合してからカルシウム動態を変化させる細胞内情報伝達系には複雑な機構の介在が示唆されている。本研究ではモルヒネの作用における cAMP 生成系とカリウムチャネルの関与について海馬切片を用いて検討を加え、受容体刺激に続く神経伝達物質の遊離抑制の機構の解明を試みた。

[研究方法]

1) ラット脳海馬切片の作成、および電気生理学的実験

SD系ラットを断頭後、350 μ m の脳切片を氷冷 Krebs - Ringer 液 (KR 液) 中で作成した。電気生理学的実験は 35℃ の KR 液中で 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) 神経膜標本の調製、および結合実験

ラット脳海馬切片を 0.32M 蔗糖溶液中でホモジナイズし遠心分離後、粗シナプス分画を得て、10mM Tris - 塩酸緩衝液 (pH7.4) による低張処置を行い神経膜標本とした。50mM Tris - 塩酸緩衝液で 50 - 800pM の ^3H - ニトレンジピン存在下で 25℃, 90 分間結合実験を行った。

3) Hot - plate 鎮痛実験

Hot - plate 鎮痛試験は 55℃ に加温した Hot - plate にマウスをのせ、後肢の stamping までの時間 latency time (LT) を計測する。モルヒネの腹腔内投与後に各薬物を脳室内投与し、20 分後および 30 分後の LT を計測してコントロールの LT と共に鎮痛度を計算した。

[実験結果]

1) フィールド電位に対するモルヒネおよびジブチリルcAMP (db-cAMP) の作用

10^{-4} M モルヒネによってフィールド電位は145%に増強され、またdb-cAMP およびGTP 結合蛋白を活性化するフッ素添加アルミニウムでは濃度依存的に抑制された。モルヒネとdb-cAMP 共存下ではモルヒネの作用が消失したが、モルヒネとフッ素添加アルミニウムを同時に作用させた場合にはモルヒネの作用がみられた。3-メルカプトプロピオン酸で切片を処理してバスケット細胞でのGABA産生を抑制すると、モルヒネ、db-cAMP とともに作用が消失した。

2) モルヒネの作用に対するカリウムチャネル遮断薬の影響

(1) 電気生理学的実験

5×10^{-5} M のモルヒネによりフィールド電位は133%に増強されるが、同時に 10^{-5} M のグリベンクラミドを加えるとモルヒネの作用は拮抗された。

(2) 膜標本への ^3H -ニトレンジピン結合実験

モルヒネにより ^3H -ニトレンジピンの結合親和性が低下することが知られているが、 10^{-4} M のモルヒネによる結合親和性の変化はカリウムチャネル遮断薬である 10^{-4} M のテトラメチルアンモニウムと 10^{-5} M のグリベンクラミドにより拮抗された。

3) Hot-plate 鎮痛試験

モルヒネを10mg/kg および5mg/kg腹腔内投与すると、30分後の鎮痛度は70.7%と39.4%であった。モルヒネ10mg/kg に対してdb-cAMP を $1 \mu\text{g} / 4 \mu\text{l}$ 脳室内投与すると鎮痛度は30分後には47.1%に低下した。またモルヒネ5mg/kg に対して、cAMP 依存性プロテインキナーゼを抑制するH-8 を $3 \mu\text{g} / 4 \mu\text{l}$ 脳室内投与すると、鎮痛度は30分後には50.5% に増加した。

[総括および結論]

1) ラット脳海馬切片ではモルヒネは受容体刺激に続いてGTP 結合蛋白を介してアデニルシクラーゼを抑制し、神経伝達物質の放出を抑えることにより作用を示すことが明らかになった。

2) モルヒネのカルシウムチャネルに対する作用においてカリウムチャネルが関与しており、カリウムチャネルの開口がカルシウムチャネルを間接的に抑制することが確かめられた。

3) 脳切片における実験結果を生理的環境下で確認するために鎮痛実験を行った。モルヒネの鎮痛作用はcAMP により拮抗され、cAMP 系を抑制することによって鎮痛作用を示すことが確かめられた。

以上の結果よりモルヒネはGTP 結合蛋白を介してアデニルシクラーゼを抑制すること、その結果カルシウムチャネルの開口を経てカルシウムチャネルを抑制すること、続いて神経伝達物質の放出を抑制することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、モルヒネの受容体刺激に続く神経伝達物質の遊離抑制の機構の解明の一端として、モルヒネの作用におけるcAMP 生成系とカリウムチャネルの関与についてラット脳海馬切片を用いて神経薬理学的に検討を加えたものである。

その結果、ラット脳海馬切片においてモルヒネの受容体刺激はGTP 結合蛋白を介してアデニルシクラーゼを抑制することによりバスケット細胞からのGABA 遊離を抑制することが明らかとなった。この過程において細胞内cAMP の減少はカリウムチャネルの開口を経てカルシウムチャネルを抑制することにより神経伝達物質の遊離を抑制することが示唆された。

この業績は、モルヒネの作用発現における細胞内情報伝達機構を明らかにすることにより、疼痛制御に新たな可能性を与えるものである。よって、本研究者は博士(歯学)の学位を得るに十分な資格があるものと認める。