

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 25 日現在

機関番号：15201
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21591972
 研究課題名（和文） μ オピオイドの脊髄鎮痛と耐性における受容体細胞内動態の役割を明らかにする
 研究課題名（英文） Clarify the role of mu receptor endocytosis in spinal analgesia and opioid tolerance
 研究代表者
 齊藤 洋司 (SAITO YOJI)
 島根大学・医学部・教授
 研究者番号：50162243

研究成果の概要（和文）：オキシコドン、これまで報告されている選択的 μ 受容体作動薬であるオピオイドペプチド (DAMGO) やモルヒネとは異なった受容体細胞内動態を示しており、受容体細胞内陥入の役割を明らかにする一助になると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Oxycodone induced mu opioid receptor endocytosis in different manner, such as DAMGO or morphine. It was thought that this result could clarify the role of mu opioid receptor endocytosis in spinal analgesia and opioid tolerance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：オピオイド作動薬、 μ オピオイド受容体細胞内動態、耐性、脊髄鎮痛

1. 研究開始当初の背景

脊髄におけるオピオイドの耐性形成に関しては我々の研究も含め (Saito Y, Kaneko M, Kirihara Y, et al.: Interaction of intrathecally infused morphine and lidocaine in rats (part II). Anesthesiology 89(6):1464-1470, 1998; Saito Y, Kaneko M, Kirihara Y, et al.: Characteristics of tolerance to somatic and visceral antinociception after

continuous epidural infusion of morphine in rats. Anesth Analg 87(6): 1340-1345, 1998)、多くの研究が行われており耐性形成により鎮痛効果が低下する過程で知覚過敏が惹起されることが証明されている (Mao J, Sung B, Ji RR, et al.: Chronic morphine induces downregulation of spinal glutamate transporters: implications in morphine tolerance and abnormal pain sensitivity.

J Neurosci 22(18): 8312-8323, 2002; Mao J: Opioid-induced abnormal pain sensitivity: implications in clinical opioid therapy. Pain 100:213-217, 2002; Xu X-J, Colpaert F, Wiesenfeld-Hallin Z: Opioid hyperalgesia and tolerance versus 5-HT_{1A} receptor-mediated inverse tolerance. TRENDS in Pharmacological Sciences 24(12):634-639, 2003)。特にこの知覚過敏の機序として脊髄感作が重視されている。一方、麻薬耐性の細胞内機序を説明する上で μ オピオイド受容体の細胞内陥入が注目されている。しかしながら、これまでの研究では、 μ オピオイド受容体の細胞内陥入は細胞膜上の受容体数が減少し耐性を促進するという報告 (Ferguson SS: Evolving concepts in G protein-coupled receptor endocytosis: the role in receptor desensitization and signaling. Pharmacol Rev 53(1): 1-24, 2001) と μ オピオイド受容体の細胞内陥入は受容体を再活性化することで耐性形成を抑制する報告 (Deo RC, Groft CM, Rajashankar KR, et al.: Recognition of the rotavirus mRNA 3' consensus by an asymmetric NSP3 homodimer. Cell 108(1): 71-81, 2002) があり、一定の結論がでていない。また、耐性形成時の μ オピオイド受容体の細胞内陥入は非耐性形成時と比較して変化のないことも報告されている (Trafton JA, Basbaum AI: [d-Ala², N-MePhe⁴, Gly^{-o15}] enkephalin-induced internalization of the micro opioid receptor in the spinal cord of morphine tolerant rats. Neuroscience 125(3):541-543, 2004)。このように、 μ オピオイド受容体細胞内陥入の役割は未だ解明されていない。耐性形

成時の μ オピオイド受容体発現量に関しても一致した見解がなく、不明な点が多い。

オピオイド耐性形成時の知覚過敏の機序として細胞内のカルシウム動態、NMDA受容体、サイトカインが関わっていることが示されているが (Dorgul A, Zagli U, Tulunay FC: The role of T-type calcium channels in morphine analgesia, development of antinociceptive tolerance and tolerance and dependence to morphine, and morphine abstinence syndrome. Life Sci 71(6): 725-734, 2002; Gardell LR, Wang R, Burgess SE, et al.: Sustained morphine exposure induces a spinal dynorphin-dependent enhancement of excitatory transmitter release from primary afferent fibers. J Neurosci 22(15): 6747-6755, 2002 Johnston IN, Milligan ED, Wieseler-Frank J, et al.: A role for proinflammatory cytokines and fractalkine analgesia, tolerance, and subsequent pain facilitator induced by chronic intrathecal morphine. J Neurosci 24(33): 7353-7365, 2004)、 μ オピオイド受容体の細胞内陥入との関連から検討した研究はない。また、NMDA受容体拮抗薬やガバペンチン (Li X, et al.: A murine model of opioid-induced hyperalgesia. Mol Brain Res 86: 56-62, 2001 Gilron I, Biederman J, Jhamandas K, et al.: Gabapentin blocks and reverses antinociceptive morphine tolerance in the rat paw-pressure and tail-flick tests. Anesthesiology 98(5):1288-1292, 2003)により μ オピオイド耐性を抑制することが示されているが、これら薬剤による耐性抑制時にオピオイド受容体細胞内陥

入がどのような関わっているかについても研究されていない。

2. 研究の目的

我々はラットのモルヒネ耐性モデルを確立し、脊髄レベルにおける μ オピオイドの耐性形成について研究を進めてきた。 μ オピオイドの慢性投与において耐性形成は鎮痛効果の減弱として表現されるが、その機序には直接的な鎮痛効果の減弱に加えて、知覚過敏が同時に形成されていくことも明らかにした。一方、 μ オピオイドの鎮痛効果と μ オピオイド受容体の細胞内陥入の関係についても明らかにしてきた (Hashimoto T, Saito Y, Yamada K, Hara N, Kirihara Y, Tsuchiya M: Enhancement of morphine analgesic effect with induction of μ -opioid receptor endocytosis in rats. *Anesthesiology* 105(3):574-580, 2006)。これまでの研究成果を踏まえ、本研究は脊髄におけるオピオイド鎮痛と μ オピオイド耐性形成の機序の経時的变化と μ オピオイド受容体の細胞内動態から解明することを目的とした。

3. 研究の方法

すべての実験はラットを用いて行った。モルヒネ、フェンタニル、オキシコドンを経腔内投与あるいは皮下投与し、抗侵害受容効果は体性痛と内臓痛に分けて検討した。経腔内投与はくも膜下腔に留置したカテーテルを用いて行った。体性痛に対する疼痛閾値の測定はtail flick試験を用いて、内臓痛に対する疼痛閾値の測定はcolorectal distension試験を用いて行った。抗侵害受容効果は、percent maximum possible effect (%MPE)で評価した。また

μ オピオイド受容体の細胞内動態は、体性痛、内臓痛ともに十分な抗侵害受容効果を発現している薬剤投与10分後の時点において、ラットから切り出した脊髄を用いて免疫組織化学染色を行い、 μ オピオイド受容体が細胞内陥入を起している割合で評価した。

4. 研究成果

皮下投与した場合の体性痛に対するモルヒネ、オキシコドン、フェンタニルの各々のED50は、3.1、0.2、0.02(mg/kg)であった。また、内臓痛に対するそれは各々、3.2、0.6、0.02(mg/kg)であった。一方、経腔内投与した場合の体性痛に対するED50は各々、0.9、1.9、0.1(μ g)であり、内臓痛に対しては各々、0.8、9.6、0.2(μ g)であった。

μ オピオイド受容体細胞内動態については、これまでに、モルヒネは抗侵害受容効果を発現しているが、選択的 μ 受容体作動薬であるDAMGOやフェンタニルと異なり、 μ オピオイド受容体の細胞内陥入を生じないことが示されている。オキシコドンによって μ オピオイド受容体が細胞内陥入を起している割合については、本研究で検討した結果、体性痛、内臓痛ともに100%MPEを示すオキシコドン200 μ g経腔内投与10分後において、67.5%であった。オキシコドン2 μ g経腔内投与10分後では、体性痛は44.5%MPE、内臓痛は22.8%MPEであり、2 μ g経腔内投与10分後に受容体細胞内陥入を起している割合は8.8%であった。なお、生理食塩水投与10分後では8.0%であった。

今回はオピオイド作動薬の慢性投与を行うことができなかったが、オキシコドンは、これまでに我々が報告しているDAMGO

やモルヒネとは異なった受容体細胞内動態を示すことを初めて明らかにできた。このことは、受容体細胞内陥入の役割を明らかにし、オピオイド耐性形成に対する受容体細胞内動態の役割を解明する一助になると考えられた。今後は各オピオイド作動薬の慢性投与における耐性形成の程度と、その際の μ オピオイド受容体細胞内動態についての検討が必要である。

島根大学・医学部・講師
研究者番号：40325048

(3) 連携研究者
()

研究者番号：

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 1 件)

① 橋本龍也、齊藤洋司

基礎研究からみた各種オピオイドの特徴

第 21 回日本ペインクリニック学会中国四国
合同地方会

2011 年 5 月 14 日

高知市 総合あんしんセンター

[図書] (計 1 件)

- ① 橋本龍也、齊藤洋司：脊髄におけるオピオイド鎮痛の基礎. 垣花学・成田年編：オピオイド：基礎を知って臨床で使いこなす, 克誠堂出版(株)；印刷中

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齊藤 洋司 (SAITO YOJI)

島根大学・医学部・教授

研究者番号：50162243

(2) 研究分担者

橋本 龍也 (HASHIMOTO TATSUYA)

島根大学・医学部・講師

研究者番号：00372681

二階 哲朗 (NIKAI TETSURO)

島根大学・医学部・講師

研究者番号：20314643

今町 憲貴 (IMAMACHI NORITAKA)