

## 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 25 年 5 月 17 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791461

研究課題名（和文） 全身麻酔薬の作用機序解明を目指した TRP 受容体に対する全身麻酔薬の影響解析

研究課題名（英文） Analysis of effects of general anesthetics on TRP receptors aiming at elucidation of action mechanisms of general anesthetics

研究代表者

寺田 忠徳（TERADA TADANORI）

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：10399206

研究成果の概要（和文）：全身麻酔薬は TRP 受容体機能を増強することが示され、麻酔作用への関与は否定的であった。一方、慢性疼痛に対する治療薬、抗うつ薬デュロキセチンが TRP 受容体サブタイプ、TRPM8 受容体機能を抑制することが示された。TRPM8 受容体は、神経障害性疼痛の症状、冷感アロディニア発症との関連性が示唆されているが、今回の結果はデュロキセチンの作用機序の一つである可能性を示しており、今後のさらなる研究によって新たな鎮痛薬開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We demonstrated that general anesthetics enhanced TRP receptors function, suggesting that effects of general anesthetics on TRP receptors are not related to anesthetic effects. On the other hands, we found that antidepressant, duloxetine for neuropathic pain inhibits the function of TRPM8 receptor, which is one of TRP receptor subtypes. It has been proposed that TRPM8 receptor is related to cold allodynia that is one of neuropathic pain symptom, indicating that inhibition of TRPM8 function may be one of action mechanisms of duloxetine. Development of new analgesics for neuropathic pain can be expected by further investigations about this effect.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：麻酔学

## 1. 研究開始当初の背景

（1）全身麻酔薬は古くから臨床的に使用されている薬物であるが、その詳細なメカニズムについては不明な点が多い。アセチルコリン受容体や抑制系神経伝達に関わる GABA 受容体に対する麻酔薬結合部位が特定されてきたが、麻酔作用のターゲットとなる蛋白質

は特定されておらず、複数の神経受容体チャネルが関係しているという仮説もある。さらに近年ではノックアウトマウスを用いた研究など、作用機序解明のための有用な手法も増えてきたが、その全貌については解明されていない。

(2) 一方、TRP (transient receptor potential) 受容体は、多くのサブタイプが発見され、侵害刺激受容に深く関わるイオンチャネルとして、すなわち疼痛機序の一つとして注目されている。中でも TRPV1、TRPV2、TRPM8、TRPA1 は感覚神経細胞に多く発現しており、侵害刺激受容や疼痛発現に大きく関わっていると考えられているが、これまでのところ、全身麻酔薬のこれら TRP 受容体サブタイプへの影響についてはほとんど知られていない。

## 2. 研究の目的

全身麻酔薬の作用機序解明に貢献するため、侵害刺激受容に重要であることが注目されている TRP 受容体サブタイプ、TRPV1、TRPV2、TRPM8、TRPA1 に対する全身麻酔薬の影響を解析することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) アフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いた 4 種の TRP 受容体に対する全身麻酔薬の影響解析

TRPV1、TRPV2、TRPM8、TRPA1 の cRNA をアフリカツメガエル卵母細胞に注入し、チャネルを発現させ、全身麻酔薬によって活性化されるかどうかを Voltage-Clamp 法によって電気生理学的に解析する。

(2) ラット脊髄後根神経節 (DRG) と脊髄後角膠様質 (SG) に発現する TRP 受容体に対する全身麻酔薬の影響解析

痛覚伝達に重要と考えられている DRG 細胞と、熱情報を伝える C 繊維が終末する SG 細胞を用い、これに発現している TRPV1、TRPV2、TRPM8、TRPA1 に対する全身麻酔薬の影響を、Patch-Clamp 法によって電気生理学的に解析する。

(3) ノックアウトマウスによる行動薬理的解析

TRPV1、TRPV2、TRPM8、TRPA1 それぞれのノックアウトマウスを作成し、全身麻酔薬の影響 (不動化作用、鎮静作用、鎮痛作用) を、野生型マウスへの影響と併に行動薬理学的手法を用いて解析し、比較検討する。

## 4. 研究成果

(1) アフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いた TRPV1 受容体に対する全身麻酔薬の影響解析

TRPV1 受容体の cRNA をアフリカツメガエル卵母細胞に注入し発現させ、Voltage-Clamp 法による電気生理学的的手法により、カプサイシンによって活性化された電流に対する全

身麻酔薬、イソフルラン、セボフルランの影響を調べた。その結果、これら全身麻酔薬は活性化された電流を増大させた。

(2) アフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いた TRPM8 受容体に対する鎮痛薬の影響解析

TRPV1 受容体に対して、全身麻酔薬がその機能を増強させる作用があることが確認されたことから、全身麻酔薬の TRP 受容体に対する作用は、少なくとも麻酔作用へ関わる可能性が低いと考えられた。

そこで、TRP 受容体の鎮痛機序へのメカニズムを探るため、TRP 受容体に対する様々な鎮痛薬の影響を、アフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いて調べた。TRP 受容体のサブタイプのうち、TRPM8 に対する影響を調べた。TRPM8 は 17°C 以下の冷刺激、またはメンソールによる誘発性電流に対する種々の鎮痛薬 (トラマドール、ガバペンチン、プレガバリン) の影響を調べたところ、これらに対する影響はほとんど見られなかった。

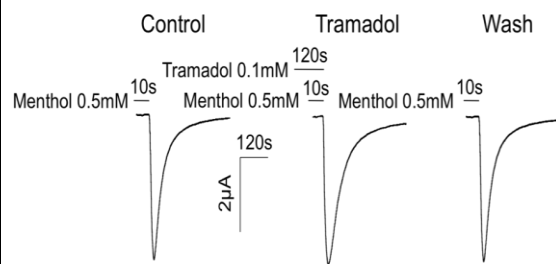


図1 TRPM8に対するトラマドールの影響

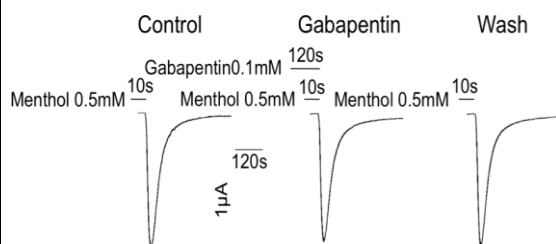


図2 TRPM8に対するガバペンチンの影響

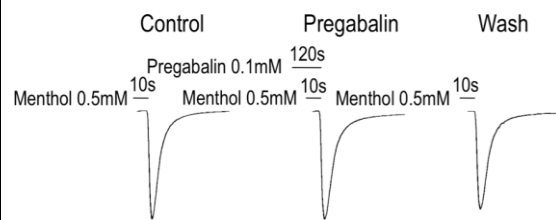


図3 TRPM8に対するプレガバリンの影響

(3) アフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いた TRPM8 受容体に対する抗うつ薬の影響解析

抗うつ薬は、慢性疼痛時において有効な鎮痛作用を発揮する場合があるが、その鎮痛機序については不明な点も多い。そこで、抗うつ薬（アミトリプチリン、イミプラミン、ノルトリプチリン、デュロキセチン）の TRPM8 に対する影響を調べたところ、これらの抗うつ薬は、メンソール 0.5mM による TRPM8 の誘発性電流を抑制した。特に、デュロキセチンの抑制効果が最も大きかった。

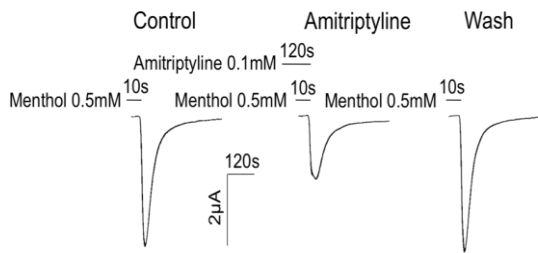


図4 TRPM8に対するアミトリプチリンの影響

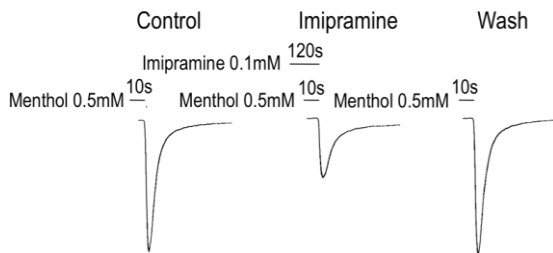


図5 TRPM8に対するイミプラミンの影響

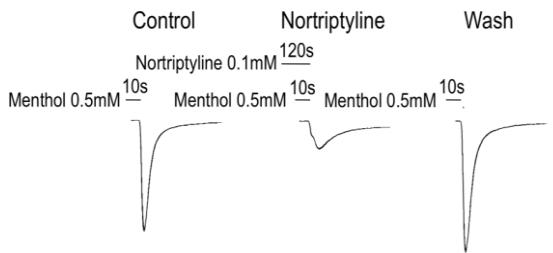


図6 TRPM8に対するノルトリプチリンの影響

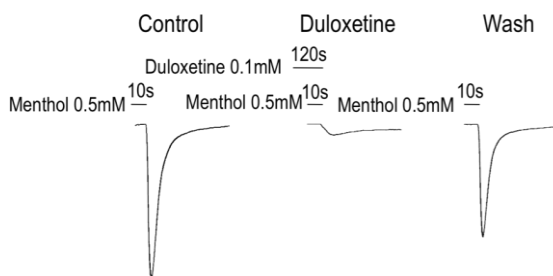


図7 TRPM8に対するデュロキセチンの影響

(4) TRPM8 受容体に対するデュロキセチンの抑制効果の濃度反応曲線

デュロキセチンが、TRPM8 受容体機能を最も強く抑制することが示されたため、メンソール 0.1mM による TRPM8 の誘発性電流に対する種々の濃度のデュロキセチンの効果を調べた。その結果、0.1、1、10、100  $\mu$ M デュロキセチンはメンソール誘発性 TRPM8 電流を  $84.3 \pm 2.4$ 、 $75.8 \pm 1.5$ 、 $33.4 \pm 2.4$ 、 $1.3 \pm 1.3$ % に有意に抑制し、濃度依存性の抑制効果が示された。

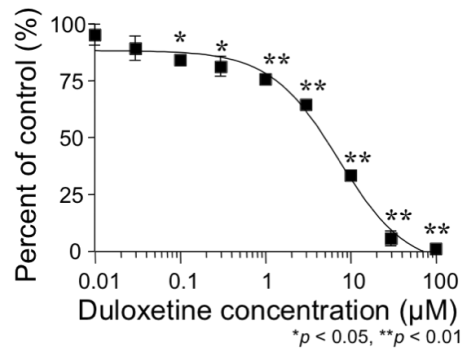


図8 TRPM8に対するデュロキセチンの濃度反応曲線

(5) TRPM8 受容体に対するデュロキセチンの抑制機序に関する解析

デュロキセチンの TRPM8 受容体に対する抑制機序について検討するために、10  $\mu$ M ~ 5mM のメンソール濃度反応曲線に対するデュロキセチン 10  $\mu$ M の抑制効果を解析した。その結果、デュロキセチンは最大反応量  $E_{max}$  を  $20 \pm 3$ % 減少させ、デュロキセチンの非存在下、存在下における slope factor と  $EC_{50}$  はそれぞれ、 $1.52 \pm 0.17$  と  $1.73 \pm 0.08$ 、 $0.56 \pm 0.04$   $\mu$ M と  $0.73 \pm 0.04$   $\mu$ M であり、デュロキセチンは slope factor を変化させずに  $EC_{50}$  を有意に増加させた。この結果よりデュロキセチンによる TRPM8 受容体機能の抑制は拮抗阻害ではないことが示された。

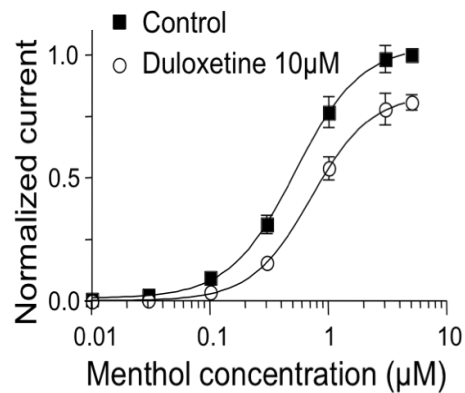


図9 TRPM8におけるMenthol濃度反応曲線に対するデュロキセチンの抑制効果

冷感アロディニアは、複合性局所疼痛症候群 CRPS、線維筋痛症や糖尿病性ニューロパチーなどの神経障害性疼痛における代表的な疼痛症状の一つであるが、その発症メカニズムについては解明されておらず、有効な治療薬も少ない。近年、この冷感アロディニアの発症において、TRPM8 受容体が重要な役割を果たしている可能性が示唆されており、また、冷感アロディニアに対するデュロキセチンの有効性を示す報告がなされた。

したがって、今回発見された TRPM8 受容体機能に対するデュロキセチンの抑制効果は、冷感アロディニアを緩和させるデュロキセチンの作用のメカニズムの一つである可能性が示唆された。今後、この効果のメカニズムについてさらなる研究を重ねることで、デュロキセチンの作用の解明につながると共に、神経障害性疼痛をはじめとした慢性疼痛に対する新たな鎮痛薬開発に貢献できることが期待される。

## 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)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

寺田 忠徳 (TERADA TADANORI)  
産業医科大学・医学部・助教  
研究者番号：10399206

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：