

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 28 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659742

研究課題名（和文） オピオイドの作用における toll-like receptor の関与

研究課題名（英文） Involvement of Toll-like receptors in the Actions of Opioids

研究代表者

角山 正博 (MASAHIRO KAKUYAMA)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：30273444

研究成果の概要（和文）：

モルヒネ耐性の成立におけるマイクログリア活性化に toll-like receptor 4 (TLR4) が関与するという仮説を検証するため、TLR4 ノックアウトマウスおよび TLR4 に変異を有する C3H/HeJ マウスを用いて検討した。ノックアウトマウス、変異マウスとものいずれにおいても、野生型マウスと同様のモルヒネ耐性が成立し、モルヒネによるマイクログリア活性化には TLR4 は関与しないことが示唆された。以上の結果は、モルヒネ耐性の成立にはマイクログリア活性化が関与するが、モルヒネによるマイクログリア活性化には TLR4 以外の機序が関与することを示唆している。

研究成果の概要（英文）：

To examine the hypothesis that the toll-like receptor 4 (TLR4) is involved in the morphine-induced activation of microglia, we analyzed morphine tolerance in TLR4 knockout mice and C3H/HeJ mice possessing mutated TLR4. It was shown that morphine tolerance was induced in both knockout and mutant mice similarly as wild-type mice, and suggested that TLR4 is not involved in morphine-induced activation of microglia. Our results suggest that morphine tolerance is mediated by microglia activated through the mechanism other than TLR4.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,700,000	810,000	3,510,000

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、モルヒネ、耐性、マイクログリア、ノックアウトマウス

1. 研究開始当初の背景

麻酔科学における疼痛管理の対象となる神経因性疼痛、周術期の大量オピオイド投与により生じると考えられる麻薬耐性は、従来神経細胞の機能修飾により成立すると考えられてきたが、最近では神経細胞だけではなくグリアがこれらの病態において果たす役割について注目されるようになってきた。マイクログリアの活性化を抑制する薬剤（ミノサイクリンなど）が麻薬耐性の成立を抑制することから、麻薬耐性にはマイクログリア活性化が関与するという報告があるが詳細は明らかではない。Hutchinsonらは、マイクログリアに発現するTLR4が多種類のオピオイドにより直接活性化されると報告している。しかしながら、彼らの報告によると、オピオイド鎮痛薬だけではなくオピオイド受容体アンタゴニストもマイクログリアを活性化して麻薬耐性を惹起することが予想されること、TLR4活性化に関してはオピオイド鎮痛薬では周知の事実である立体特異性が認められないとされており、オピオイドに関する従来の薬理学とは合致しない。実際に、Hutchinsonらのグループ以外からは、オピオイドがTLRに直接作用し

て活性化する結果は報告されていない。一方、オピオイドの本来の作用点であるオピオイド受容体がマイクログリアに発現しているかどうかについて、詳細に解析した報告はない。

2. 研究の目的

オピオイドの大量投与あるいは長期投与により惹起されるオピオイド耐性の成立機序については種々の報告があるが、一致した見解が得られていない。本研究では、オピオイドによるマイクログリア活性化機構に注目し、特にlipopolysaccharide (LPS) によるマイクログリア活性化機構として知られているtoll-like receptor(TLR)4に及ぼすオピオイドの作用を明らかにし、マイクログリア活性化がオピオイド耐性に果たす役割を解明することを目指す。

3. 研究の方法

マウスにおけるモルヒネの鎮痛効果をテイルフリック試験により評価した。モルヒネ60mg/kgを5日間連続でマウスに腹腔内投与し、モルヒネ耐性すなわち鎮痛効果の減弱を検討した。マイクログリア阻害薬ミノサイクリン

の投与がモルヒネ耐性に及ぼす影響を検討し、TLR4 変異マウスおよび TLR4 ノックアウトマウスにおけるモルヒネ耐性を野生型マウスと比較した。さらに、RT-PCR による CD11b 発現の定量により、モルヒネ投与によるマイクログリア活性化を評価した。

4. 研究成果

マウスにモルヒネを5日間投与し続けると、鎮痛作用は25%程度まで低下するが、マイクログリアの活性化を抑制するミノサイクリンを併用すると、鎮痛作用は60%程度にしか低下せず、モルヒネ耐性成立にマイクログリア活性化が関与することが確認された。また、モルヒネ投与によりマイクログリア活性化の指標である脊髄 CD11b の発現が増加することが RT-PCR により明らかになった。モルヒネによるマイクログリア活性化に toll-like receptor 4 (TLR4) が関与するという仮説を検証するため、TLR4 ノックアウトマウスおよび TLR4 に変異を有する C3H/HeJ マウスについて、モルヒネ耐性を検証した。ノックアウトマウス、変異マウスともいずれにおいても、野生型マウスと同様のモルヒネ耐性が成立し、モルヒネによるマイクログリア活性化には TLR4 は関与しないことが示唆された。以上の結果は、モルヒネ耐性の成立にはマイクログリア活性化が関与するが、モルヒネによるマイクログリア活性化には TLR4 以外の機序が関与することを示唆している。

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 1 件)

深川博志、小山智弘、角山正博、福田和彦、
Microglial activation involved in morphine tolerance is not mediated by toll-like receptor 4. J. Anesth. 27, 93-97 (2013)

[学会発表] (計 1 件)

深川博志、小山智弘、福田和彦 「モルヒネ耐性成立におけるマイクログリア活性化には toll-like receptor 4 は関与しない」 日本麻酔科学会第 58 回学術集会 2011.5.19 神戸

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

角山 正博 (KAKUYAMA MASAHIRO)

京都大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：30273444

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：