

平成30年6月14日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20082

研究課題名(和文)シグマ1受容体の脊髄後角における鎮痛作用機序の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the analgesic mechanism of the sigma 1 receptor in the dorsal horn of the spinal cord.

研究代表者

山本 豪 (Yamamoto, Goh)

新潟大学・医歯学総合病院・特任助教

研究者番号：40710463

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：脊髄横断スライス標本を用いて、シグマ1受容体作動薬であるDHEASおよびPRE-084の脊髄後角における痛覚伝達路への作用を電気生理学的手法により検討した。その結果、DHEASは脊髄後角第Ⅱ層の痛覚伝達路において、興奮性シナプス伝達を増強し、抑制性シナプス伝達を抑制することが分かった。一方PRE-084には脊髄後角ニューロンへの明らかな作用を認めなかった。

研究成果の概要(英文)：We investigated the effect of DHEAS and PRE-084, which are sigma 1 receptor agonists, on excitatory synaptic transmission in the dorsal horn neurons of the adult rat spinal cord using electrophysiological technique. We demonstrated that DHEAS enhanced excitatory transmission and suppressed inhibitory transmission in spinal lamina II neurons, resulting in showing pronociceptive effects on the spinal cord. On the other hand, PRE-084 showed no obvious effect on spinal dorsal horn neurons.

研究分野：麻酔

キーワード：シグマ1受容体 デヒドレエピアンドロステロンサルフェート PRE-084 脊髄後角

1. 研究開始当初の背景

シグマ受容体は、1970年代にオピオイド受容体のひとつとして発見された¹⁾が、その作動薬に鎮痛作用がなく、むしろオピオイドの作用を減弱することから、現在は非オピオイド受容体であるとされている。シグマ受容体はシグマ1、シグマ2受容体に分類され、1990年代にシグマ1受容体がクローニングされ、選択性の高い作動薬が開発されたことで研究が飛躍的に進められた。

シグマ1受容体は中枢および末梢神経系に分布しており、特に痛覚伝達に關する脊髄後角では浅層の小型神経細胞に多く集積している²⁾ことから、その後疼痛制御への作用についても研究が行われるようになった。例えば、シグマ1受容体ノックアウトマウスではホルマリントテスト第相の疼痛行動が抑制されること³⁾、シグマ1受容体拮抗薬を全身投与すると、第相の疼痛行動を強く抑制すること⁴⁾が報告されている。このホルマリントテスト第相はNMDA受容体、特に脊髄に存在するNMDA受容体が關与すると言われている。つまり、シグマ1受容体はNMDA受容体を修飾することによって、脊髄の中枢性感作に重要な役割を果たしていることが示唆される。しかし、どのようにNMDA受容体を修飾するのか、またそれ以外の機序についても明らかでない。

2. 研究の目的

脊髄後角ニューロンに対し、シグマ1受容体の内因性リガンドとされるデヒドロエピアンドロステロンサルフェート (DHEAS) と選択的シグマ1受容体作動薬であるPRE-084を投与した時の興奮性シナプス後電流および抑制性シナプス後電流の変化をみることで、シグマ1受容体の脊髄後角ニューロンにおける役割を電気生理学的に明らかにする。

3. 研究の方法

Wistar系成熟雄性ラット(週齢6~8週)を用い以下の手順で電気生理学的実験を行った。

ラットより脊髄横断スライスを作成した。このスライス標本を記録用チェンバーに移して、34~36℃に加温したクレブス液で灌流した(15 mL/min)。クレブス液の組成(mM)は、NaCl 117, KCl 3.6, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.2, NaH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25, D-glucose 11.5とした。

脊髄横断スライスの下部からの透過光で觀察される後角第層の膠様質は、明るい部位として容易に視認できた。その膠様質ニューロンから先端電極抵抗約10MΩのガラス微小電極を用いて、実体顕微鏡下にブラインドホールセルパッチクランプ記録を行った。ガラス微小電極内液の組成(mM)は、Cs-sulfate 110, CaCl₂ 0.5, MgCl₂ 2, EGTA 5, HEPES 5, TEA 5, ATP-Mg 5とした。

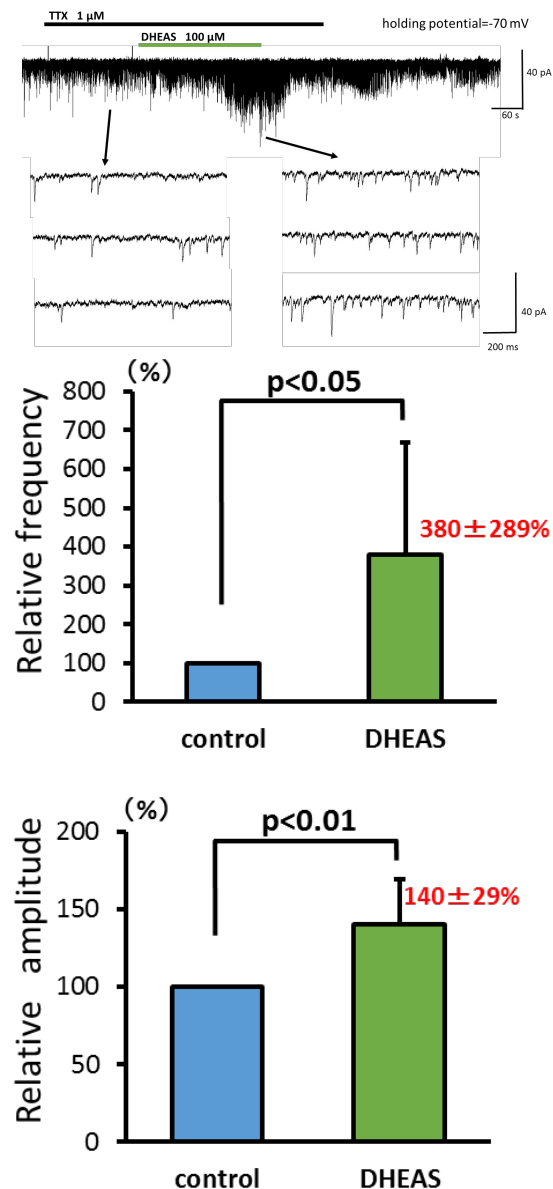
薬液の灌流はクレブス液と同ラインを用い、クレブス液に溶解して投与した。保持電位は興奮性シナプス後電流(excitatory postsynaptic current: EPSC)觀察時は-70 mV、抑制性シナプス後電流(inhibitory postsynaptic current: IPSC)觀察時は0 mVとした。得られた電流は、Axopatch 200B (Molecular Devices、米国)により増幅、Digidata 1322A (Molecular Devices、米国)によりA/D変換しコンピュータに記録後、pCLAMP10.4 (Molecular Devices、米国)およびMinianalysis 6.0 (Synaptosoft、米国)を用いて解析した。結果は平均±標準偏差で表した。Studentのt検定で統計処理を行い、p<0.05を有意差ありとした。

4. 研究成果

(1) DHEASの脊髄後角ニューロンへの作用

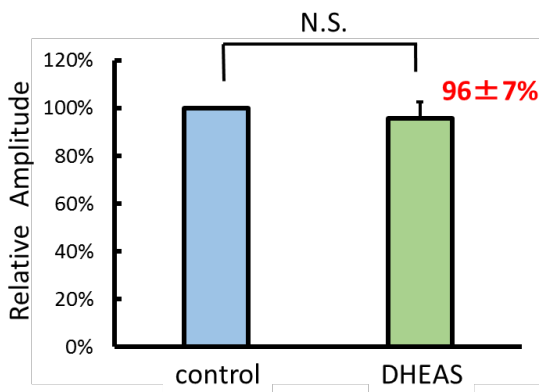
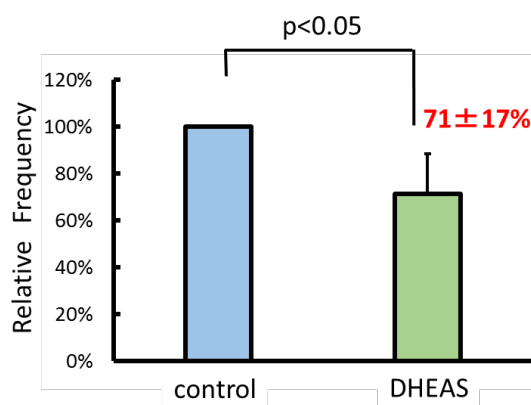
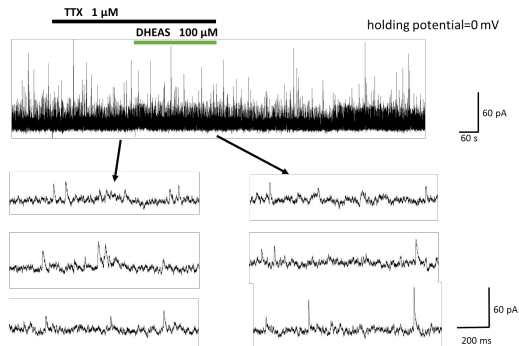
DHEASのminiature-EPSC(m-EPSC)に對する作用

電位依存性ナトリウムチャネル阻害薬であるTTX(1 μM)存在下において、DHEAS(100 μM)の灌流投与により、m-EPSCの頻度は有意に増加(対照比380 ± 289%、p<0.05)し、振幅は有意に増大(対照比140 ± 29%、p<0.01)した。



DHEAS の miniature-IPSC (m-IPSC) に対する作用

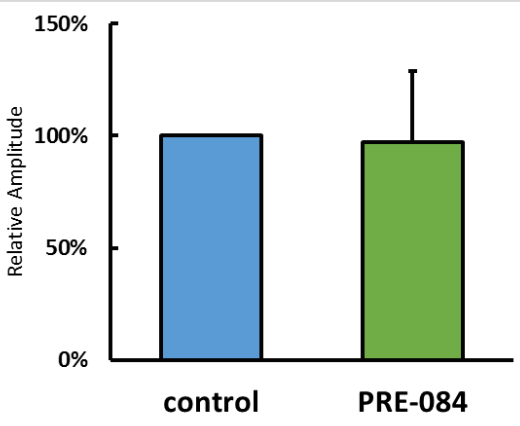
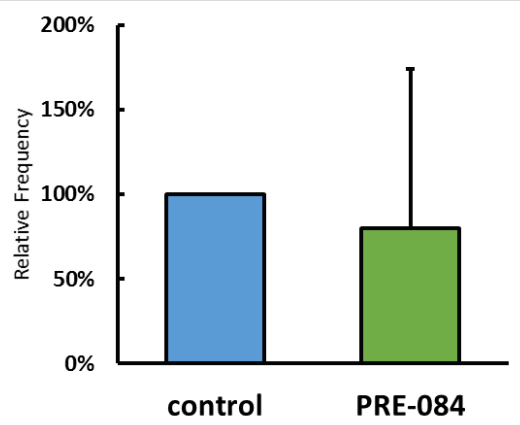
DHEAS (100 μ M) の灌流投与により、m-IPSC の頻度は有意に減少 (対照比 $71 \pm 17\%$ 、 $p < 0.05$) したが、振幅には有意な変化はなかった (対照比 $96 \pm 7\%$ 、n.s.)



(3) PRE-084 の脊髄後角ニューロンへの作用

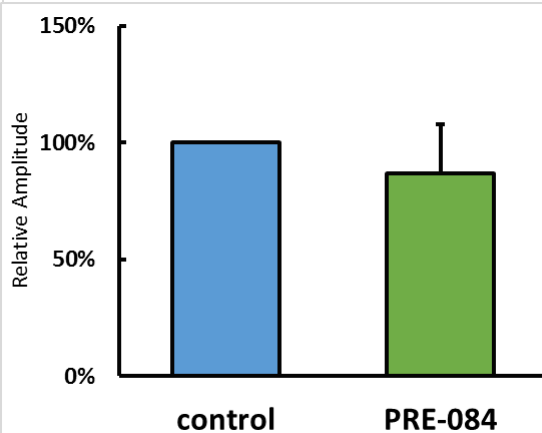
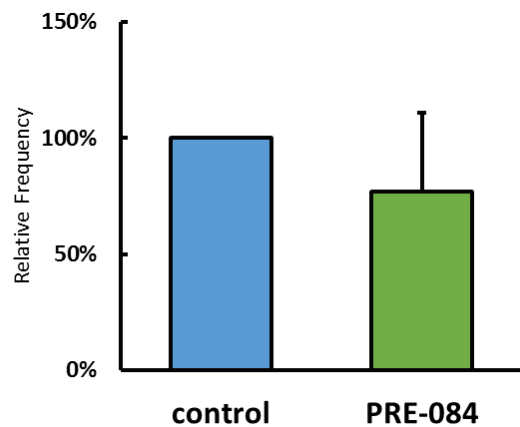
PRE-084 の miniature-EPSC (m-EPSC) に対する作用

電位依存性ナトリウムチャンネル阻害薬である TTX (1 μ M) 存在下において、PRE-084 (100 μ M) の灌流投与により、m-EPSC の頻度 (対照比 $80 \pm 94\%$ 、 $p = 0.12$) と振幅 (対照比 $97 \pm 32\%$ 、 $p = 0.46$) はともに有意に変化しなかった。



PRE-084 の miniature-IPSC (m-IPSC) に対する作用

PRE-084 (100 μ M) の灌流投与により、m-IPSC の頻度 (対照比 $77 \pm 34\%$ 、 $p = 0.49$) と振幅 (対照比 $87 \pm 21\%$ 、 $p = 0.25$) には有意な変化はなかった。



(引用文献)

- 1) Martin W, et al. NIDA Res Monogr: 27-30,1976
- 2) Alonso G, et al. Neuroscience 97: 155-170,2000
- 3)Kibaly C, et al. Faseb J 22: 93-104,2008
- 4) Cendan CM, et al. Eur J Pharmacol 511: 73-74,2005

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)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

山本 豪 (YAMAMOTO GOH)

新潟大学医歯学総合病院・特任助教

研究者番号：40710463

(2)研究分担者

(3)連携研究者

(4)研究協力者