

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591834

研究課題名（和文） オピオイド製剤による二量体化オピオイド受容体脱感作機構の解析

研究課題名（英文） Internalization profiles of dimerized opioid receptors ; Implication for the mechanism of tolerance

研究代表者

北條 美能留 (Hojo Minoru)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：00380957

研究成果の概要（和文）：

オピオイド鎮痛、耐性に重要な役割を果たしていると考えられる二量体化受容体のみをアッセイできるシステムを用いて、本邦で用いられているオピオイド製剤が二量体化オピオイド受容体にどのように作用するのか、その分子メカニズムを解析した。モルヒネ、オキシコドン、フェンタニルでは単量体 μ 受容体と μ - δ 二量体化受容体 internalization 様式が異なることを見出した。さらに受容体リサイクルに関しても異なることを証明した。

研究成果の概要（英文）：

We demonstrated distinct recycling profiles of μ - δ OR heterodimer by each opioid in addition to distinct internalization and recycling profiles by each opioid.

These result suggest that the differences in internalization and recycling profiles of the μ - δ OR heterodimer may in part of explain the distinct tolerance of each opioid.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
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：疼痛管理学

1. 研究開始当初の背景

がん性疼痛や慢性難治性疼痛におけるモルヒネの長期使用は、耐性や依存性などの副作用対策が喫緊の課題となる。モルヒネ耐性の分子機構は現在もなお完全には解明されていない。近年オピオイド受容体を含むいくつかのG蛋白共役型受容体(G protein-coupled receptors, GPCR)が二量体として生体に存在することが報告された。重要なことは、二量体化オピオイド受容体の薬

理活性は単量体受容体とは異なることである。この違いがオピオイド耐性に関与するかどうか不明である。本邦においては、モルヒネ、オキシコドン、フェンタニルという作用の異なるオピオイド製剤が使用されているが、各オピオイド製剤が二量体化オピオイド受容体にどのように作用するか、全く不明である。(Sergi Ferre, et al. TRENDS in Neurosciences. Vol.30 440-446; 2007)

μ 受容体を完全に欠損するノックアウトマウスでは、 δ オピオイド受容体そのものは全く発現に影響ないにも関わらず、 δ 選択的アゴニストであるデルトロフィン II の鎮痛効果が激減するとの報告がある (Hutcheson DM, et al. Eur J Neurosci. 2001; 13: 153-161)。この事実は、生体内では μ および δ 受容体に何らかの相互作用が存在することを示唆し、私たちはこのメカニズムに δ - μ 二量体化オピオイド受容体が関与していると考えている。すなわち生体内において、二量体化オピオイド受容体は耐性形成やオピオイド鎮痛のメカニズムに重要な役割を担っていると思われる。オピオイド受容体などの GPCR ファミリーは、種々の神経伝達物質、ホルモン、成長因子などの多彩な細胞外シグナルを細胞に伝える重要な受容体であり、GPCR をターゲットとした薬物は、現在臨床で用いられている薬物の 50% 以上を占める。近年、GPCR が機能するために、受容体が二量体を作ることが必要なものが存在することがわかってきた。また、二量体化 GPCR は単量体 GPCR とは異なる薬理学特性を持つことが示され、オピオイド受容体は 1999 年 κ と δ 受容体が二量体を形成し、かつ二量体化受容体は単独の受容体の薬物特性とは異なることがわかり、生体での薬物特性はこれら二量体の存在を考慮すべきであるという報告がなされた。その後 δ - μ 、 μ - nociceptin 受容体などの二量体が存在することが相次いで報告された。

2. 研究の目的

がん性疼痛治療で使用されている各種オピオイド製剤は時に耐性を形成し、その様式は製剤により異なる。その一因として、各製剤によるオピオイド受容体の internalization (細胞内移行) ならびに recycling (再感作) 様式の違いが関与している可能性がある。

また、オピオイド受容体はヘテロ二量体を形成し、その薬理学的特性は単量体とは異なることが知られている。

各種オピオイド製剤を用い、二量体化オピオイド受容体に対する作用を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 各製剤による μ オピオイド受容体 (μ OR) ならびに二量体化 μ - δ オピオイド受容体 (μ - δ OR) の internalization/recycling 様式を、共焦点レーザーおよび Fluorescence resonance energy transfer (FRET) により解析した。

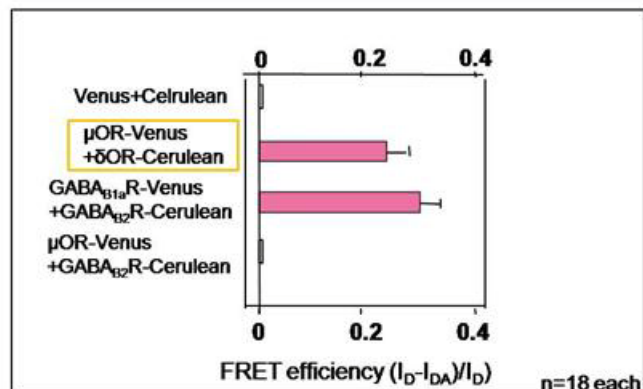
(2) これらの様式は疼痛下では異なっている可能性があり、内因性オピオイドペプチドである β -endorphin 存在下でも、同様に検討した。

4. 研究成果

(1) 各種オピオイド製剤刺激前、internalization 後、recycling 後において、 μ OR、 δ OR が二量体を形成しているか、FRET を用いて評価した。

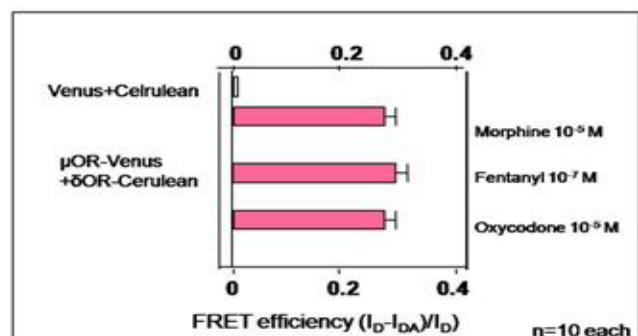
図はそれぞれ FRET 効率を示す。

① 薬物刺激前



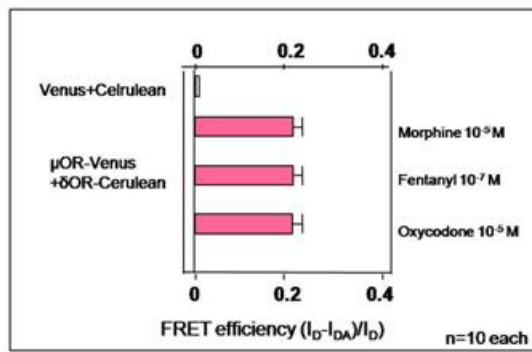
μ OR と δ OR は二量体を形成し細胞膜上に発現していることが証明された。

② internalization 後



Internalization した μ OR と δ OR は二量体を形成し、細胞内に移行していることが証明された。

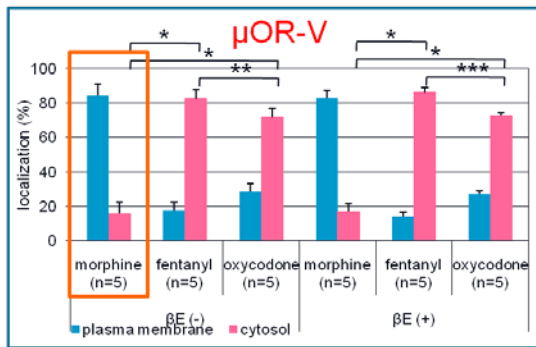
③ recycling 後



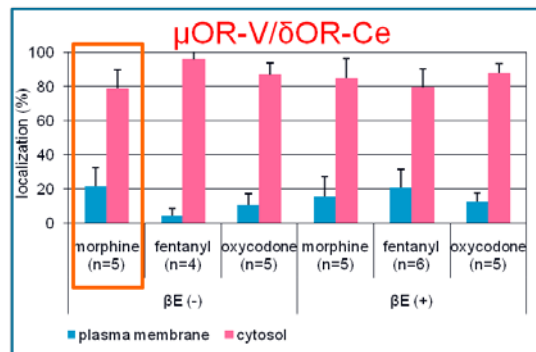
recycling 後も二量体として細胞膜上に再感作していることがわかった。

(2) モルヒネ、フェンタニル、オキシコドンを用い、μオピオイド受容体 (μOR) ならびに二量体化μ-δオピオイド受容体 (μ-δOR) の internalization/recycling 様式の違いを明らかにする。

① Internalization (μオピオイド受容体)

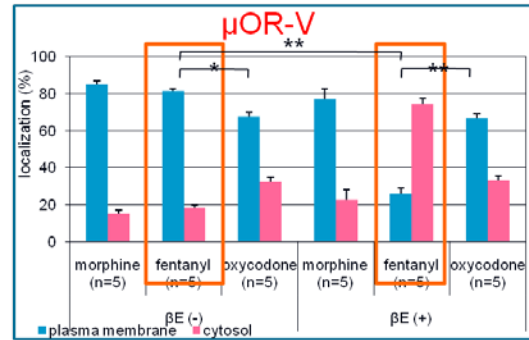


Internalization (二量体化μ-δオピオイド受容体)

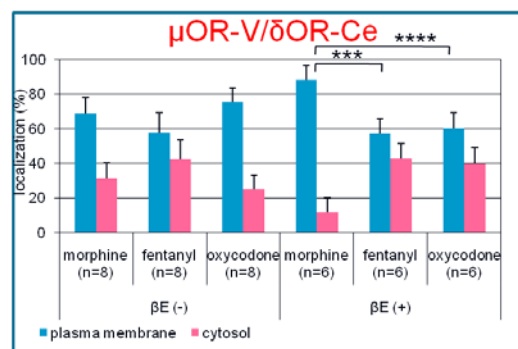


モルヒネ刺激ではμオピオイド受容体単量体では internalization はおこらなかったが、二量体化 μ-δ オピオイド受容体では internalization された。内因性オピオイドペプチドである β-endorphin 存在下でも、同様に検討したが、変化はなかった。

② recycling (μオピオイド受容体)



β-endorphin 存在下では、μオピオイド受容体の recycling 障害が認められた。



二量体化μ-δオピオイド受容体では、各種オピオイド製剤で違いは認められなかった。

μOR および二量体化μ-δオピオイド受容体の internalization/recycling 機構は各種オピオイド製剤により異なっており、このことが耐性形成機序が異なる一因であると考えられた。また、フェンタニルによる μOR の recycling 機構は、β-endorphin 存在下で大きく異なり、慢性疼痛下で耐性形成機序が異なっている可能性が示唆された。

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 2件)
- ① Imai S, Sudo Y, Nakamura A, Ozeki A, Asato M, Hojo M, Devi LA, Kuzumaki N, Suzuki T, Uezono Y, Narita M
Possible involvement of β-endorphin in a loss of the coordinated balance of μ-opioid receptors trafficking processes by fentanyl. Synapse. 2011 Mar 21. doi: 10.1002/syn.20930. 査読有
 - ② Ando Y, Hojo M, Kanaide M, Takada M, Sudo Y, Shiraishi S, Sumikawa K, Uezono

Y
S(+)-Ketamine suppresses
desensitization of γ -aminobutyric
acid type B receptor-mediated
signaling by inhibition of the
interaction of γ -aminobutyric acid
type B receptors with G
protein-coupled receptor kinase 4 or
5. *Anesthesiology*. 2011
Feb;114(2):401-11. 査読有

[学会発表] (計 件)

1. 北條美能留 澄川耕二
一疼痛治療の新しいターゲット 疼痛治
療分子としての二量体化受容体
第 57 回日本麻酔学会 シンポジウム
2010. 6. 3 福岡
2. Cellular Signaling and internalization
Profiles of Heterodimerized Cannabinoid
CB1 and Opioid μ -Receptors: Implication of
Cannabinoid and Opioid Interaction at the
Receptor Levels. Hojo M, Sudo Y, Ando Y,
Takada M, Uezono Y, Sumikawa K
International anesthesia research society
2010 Annual meeting S-327 Honolulu Hawaii
2010. 3. 20
3. Internalization and recycling profiles
of μ - and μ - δ opioid receptors induced by
remifentanyl: Implication of acute
tolerance of remifentanyl Ando Y, Murata
H, Kurata S, Hojo M, Sumikawa K, Uezono Y
International anesthesia research society
2010 Annual meeting S-327 Honolulu Hawaii
2010. 3. 20
4. 上園保仁, 安藤優子, 北條美能留, 須藤
結香, 高田正史, 鈴木雅美, 白石成二
モルヒネ、フェンタニル、オキシコドンに
よる μ オピオイド受容体ならびに二量体化
 μ - δ オピオイド受容体の internalization
および recycling 機構の違い 受容体発現
細胞を用いた検討
第 62 回日本薬理学会西南部会 2009. 11. 27
(愛媛)
5. μ -CB₁ヘテロ二量体と、それぞれのホ

モ受容体とのインターナリゼーション様式
の違い

須藤結香, 北條美能留, 安藤優子, 白石成
二, 寺脇潔, 鈴木雅美, 上園保仁

第 83 回日本薬理学会年会、(大阪)

2009 年 3 月 17 日

6. Opioid Receptors Show Distinct
Internalization/Recycling Profiles in a
Cellular Chronic Pain Model.

Yuko Ando, Yasuhito Uezono, Masafumi
Takada, Minoru Hojo, Koji Sumikawa.

2009 American society of
Anesthesiologists (New Orleans) Annual
meeting program A127

7. 痛み克服の国際的研究教育拠点の形成
第 1 回国際シンポジウム (長崎、2009 年 3 月
13 日 - 14 日) シンポジウム発表

Visualization, biochemical and functional
analyses of μ -opioid and cannabinoid CB₁
receptors: implication of interaction
between morphine and cannabinoids at the
receptor levels

Yasuhito Uezono, Minoru Hojo, Yuka Sudo,
Yuko Ando, Takehiro Matsubara, Koji
Sumikawa

8. Distinct internalization and recycling
profiles of μ -opioid and dimerized μ - δ
opioid receptors in response to each
opioid

Yuko Ando, Minoru Hojo, Masafumi Takada,
Yuka Sudo, Koji Sumikawa, Yasuhito Uezono

「痛み克服の国際的研究教育拠点の形成」第
2 回シンポジウム (The 1st International
symposium on pain control and research in
Nagasaki) (Nagasaki, Mar 13rd-14th)

9. レミフェンタニル急性耐性と術後疼痛過
敏が疑われた高用量フェンタニルパッチの
1 症例 原田弥生、高田正史、北條美能留、
柴田伊津子、高橋俊次、三好宏、澄川耕二
九州麻酔科学会第 47 回大会 (長崎)
2009. 10. 10

10. 開腹手術において術中高用量レミフェ
ンタニルは術直後のフェンタニル必要量を
増加させる

高田正史、北條美能留、三好宏、上園保仁、
澄川耕二

日本麻酔科学会第 56 回学術集会 (神
戸) 2009. 8. 16-18

11. 医療用麻薬による μ オピオイド受容体
の細胞内移行と再感作の新たな知見: 疼痛下
におけるオピオイド鎮痛耐性発現の解釈と
誤解

安藤 優子、北條美能留、高田正史、成田年、
澄川耕二、上園保仁

日本麻酔科学会第 56 回学術集会(神戸)
2009. 8. 16-18

12. レミフェンタニルによる μ -オピオイド受容体の細胞内移行および再感作様式の解析 -フェンタニルとの比較および S(+)-ケタミン併用の影響-

倉田眞治、安藤優子、高田正史、北條美能留、大井久美子、上園保仁

日本麻酔科学会第 56 回学術集会(神戸)
2009. 8. 16-18

13. レミフェンタニルによる μ -オピオイド受容体の internalization および recycling 様式の検討: フェンタニルとの比較

安藤優子、倉田眞治、北條美能留、高田正史、須藤結香、大井久美子、澄川耕二、上園保仁
第 82 回日本薬理学会年会(横浜、2009 年 3 月 16 日 - 18 日)

14. μ オピオイド受容体とカナビノイド CB1 受容体はアゴニスト刺激に依存しない構成的な二量体を形成している

須藤結香、北條美能留、安藤優子、高田正史、松原岳大、金出政人、谷山紘太郎、澄川耕二、上園保仁

第 82 回日本薬理学会年会(横浜、2009 年 3 月 16 日 - 18 日)

15. Yuko Ando., Yasuhito Uezono, Masafumi Takada, Minoru Hojo, Koji Sumikawa.

Distinctive Roles of μ -, δ -, and Dimerized μ - δ Opioid Receptors in the Tolerance to Each Opioid. 2008 American society of Anesthesiologists (Orlando) Annual meeting program A112

16. Minoru Hojo, Yasuhito Uezono, Yuko Ando, Masafumi Takada, Koji Sumikawa. Heterodimerized μ -Opioid and Cannabinoid CB 1 Receptors Are Involved in Their Cross-Talk Analgesia. 2008 American society of Anesthesiologists (Orlando) Annual meeting program A114

17. Yuko Ando, Yasuhito Uezono, Masafumi Takada, Minoru Hojo, Yuka Sudo, Koji Sumikawa

Dimerized μ - δ opioid receptors show distinct profiles of internalization and recycling in response to each opioid agonist

First Congress of Asian Society for Neuroanesthesia and Critical care (Beijing, China2008)

18. モルヒネ受容体シグナル多様性の解析: 臨床でみられるモルヒネ製剤の作用・副作用のよりよき理解のために

上園保仁、北條美能留、安藤優子、高田正史
第 81 回日本薬理学会年会(横浜、2008. 3. 17-19)

19. μ オピオイド受容体はカナビノイド CB₁

受容体とヘテロ二量体を形成し、異なる細胞内シグナルを引き起こすオピオイドとマリファナの相互作用の基礎研究-

須藤結香、北條美能留、安藤優子、高田正史、上園保仁

第 2 回日本緩和医療薬学会(横浜
2008. 10. 18-19)

20. 各種医療用麻薬による耐性/副作用発現の違いは、細胞レベルでのオピオイド受容体シグナルの多様性がその一因である-基礎研究を通して-

上園保仁、北條美能留、安藤優子、須藤結香、高田正史

第 2 回日本緩和医療薬学会(横浜、2008. 10. 18-19)

〔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

北條美能留 (HOJO MINORU)

長崎大学医歯薬総合研究科・助教

研究者番号: 00380957

(2) 研究分担者

上園保仁 (UEZONO YASUHITO)

国立がんセンター研究所・がん患者病態生理研究部・部長

研究者番号: 20213340

(3) 連携研究者

曾良一郎 (SORA ICHIROU)

東北大学 医学研究科・教授

研究者番号: 40322713

高田正史 (TAKADA MASAFUMI)

長崎大学医歯薬総合研究科・助教

研究者番号: 00404244