

博士(医学) 秋田久美

学位論文題名

The kappa opioid agonist U-50,488H antagonizes respiratory effects of mu opioid receptor agonists in conscious rats.

Muオピオイド作用薬によって誘導される呼吸抑制作用に対する kappaオピオイド作用薬U-50,488Hの影響

学位論文内容の要旨

I 研究目的

アヘンルカロイドに代表されるオピオイド系鎮痛剤は紀元前より臨床使用されている薬物ではあるが、呼吸抑制作用や循環抑制作用を十分に排除できないため、今も特異的に鎮痛効果のみを得ることができる薬剤やより安全な投与法の開発が望まれている。オピオイド受容体は、多彩な生物活性を有するmu、kappa、deltaに大きく分類されるが、鎮痛発現規序や中枢性呼吸調節機構において各々がどの様な役割を担っているかは明確ではない。本研究ではmu受容体作用薬とkappa受容体作用薬の呼吸への影響を同定すると共に、muとkappa受容体間の相互関係について覚醒非拘束状態のラットにおいて検討した。

II 対象と方法

対象として雄Sprague-Dawleyラット(体重350-400g)を用いた。実験前日にKetamine hydrochlorideとxylazineの混合液(各々70mg/kg、6mg/kg、i.m.)による麻酔下で、ラットの尾動脈と外頸静脈とにポリエチレン製カニューレを挿入した。外頸静脈に挿入したカニューレの先端は上大静脈に位置させた。さらに側脳室内への薬物投与のために右側脳室にカニューレを差込み接着剤で頭蓋に固定した。

外頸静脈カニューレはmicrotransducerからmultichannel recorderに連結して胸腔内圧の変化を記録し、1分間の胸腔内圧変動頻度を呼吸数とした。尾動脈カニューレは

cardiovascular analyzerと連結した別のtransducerに接続し、動脈圧と心拍数の測定と記録に用いられた。また、同カニューレより動脈血300ulを採取し動脈血中pH、PO₂(PaO₂)、PCO₂(PaCO₂)を測定した。循環血漿量減少を防ぐため、動脈血採取後速やかに同量の5%ブドウ糖液を外頸静脈カニューレより投与した。

Muオピオイド作用薬はmorphine sulfateと[D-Ala²,N-Methyl-Phe⁴,Gly-ol] (DAMGO)、kappa受容体作用薬としてU-50,488H、kappa受容体拮抗薬としてnor-binaltrophimine(nor-BNI)を用いた。薬物は全て生理的食塩水(生食)に溶解し必要量が5ulとなるよう調製され、ラットの側脳室へ投与した。対照薬は同量の生食とした。

全経過を通じラットはホームケージの中で自由に運動できる状態にあった。DAMGO投与前に動脈圧・心拍数・呼吸数を測定し動脈血の採取を行い、投与後は60分まで経過を観察した。コントロール群には同量の生食を投与した。同様にMorphineについても投与後120分まで測定した。Nor-BNIはU-50,488Hの15分前に投与した。

データーはanalysis of variance for repeated measureで処理し、有意差はNewman-Keul's testで検定した。

III 結果

1) DAMGO(0.6、1.2、2.5、10nmol)をラットに投与すると、有意に動脈血pH、PaO₂は低下し、PaCO₂は上昇した。これらの作用は10分以内に発現し投与後30分まで持続し、用量依存性を示した。

2) Morphine(20、30nmol)の投与にてもDAMGOと同様な変化が観察された。

3) U-50,488H(20、200nmol)を投与しても呼吸状態に有意な変化は認められなかった。また、nor-BNI(25nmol)投与でも変化は認められなかった。

4) DAMGO(2.5nmol)投与15分前にU-50,488H(200nmole)で前投与した群では、pH、PaO₂は有意に高く、PaCO₂の上昇も抑えられた。U-50,488H(200nmol)はmorphine(30nmol)のpH、PaO₂、PaCO₂への影響も同様に抑制した。

5) Nor-BNI(25nmol)を投与した後にU-50,488H(200nmol)とDAMGO(2.5nmol)を15分間隔で投与したラット群ではDAMGOに対するU-50,488Hの拮抗作用は認められず、DAMGOによる有意なpH、PaO₂の低下とPaCO₂の上昇が誘導された。

IV 考察

次々に開発されるmuオピオイド受容体作用薬の性状を詳細に研究するうちに、中枢性鎮痛効果や呼吸抑制効果など多彩な薬理作用に関与すると考えられるmu受容体は単一ではなく複数のサブタイプに分類できるのではないかという仮説が検討され始めた。実際、delta受容体作用薬とmorphineを合わせて投与するとmorphineの鎮痛作用は減弱し、呼吸抑制のみが認められたと報告され、mu受容体のうちdelta受容体作用薬とも結合可能なサブタイプ(mu₁)が痛覚伝達機構に影響し、delta受容体作用薬と結合できないサブタイプ(mu₂)が呼吸調節に関与すると推論されている。一方、呼吸調節機構におけるkappa受容体作用薬の役割やkappa-mu受容体間の関係は明らかになっていない。

本研究ではmuとkappa受容体リガンドの呼吸調節系への影響と両者の相互作用を、従来行われてきた呼吸数の変化ばかりでなく動脈血ガス分析結果や同時に生じる循環系への影響を合わせて評価した。その結果、選択的mu受容体作用薬DAMGOは非麻酔下ラットにおいて呼吸抑制効果を惹起しその効果はmorphineと同様であった。一方、選択的kappa受容体リガンドであるU-50,488Hとnor-BNIそれ自身はラットの呼吸循環系に何等影響を及ぼさなかった。これらの結果は、麻薬系鎮痛剤において生じる呼吸抑制作用がmu受容体を介して誘導されるという過去の報告と一致するばかりでなく、kappa受容体作用が中枢性呼吸調節機構では直接的には重要な役割を果さない事を明らかにした。しかしながら、前投与されたU-50,488HはDAMGOやmorphineの呼吸抑制作用に対し拮抗作用を示した。さらにこのU-50,488Hのmu受容体作用薬の呼吸抑制効果に与える影響がnor-BNIの前投与によってブロックされたことから、拮抗作用はmu受容体部位での薬物の競合などによって生じるのではなくkappa受容体を活性化させることで発現すると解釈された。

V 結語

U-50,488Hはmuオピオイド受容体呼吸抑制作用に対する拮抗作用を有し、この拮抗作用はkappa受容体を介するものと考えられた。

学位論文審査の要旨

主査 教授 川上 義和
副査 教授 斎藤 秀哉
副査 教授 劍物 修

学位論文題名

The kappa opioid agonist U-50,488H antagonizes respiratory effects of mu opioid receptor agonists in conscious rats.
Muオピオイド作用薬によって誘導される呼吸抑制作用に対する kappaオピオイド作用薬U-50,488Hの影響

目的：オピオイド系鎮痛剤は鎮痛作用ばかりでなく呼吸抑制作用や循環抑制作用など多彩な生物学的活性を有するが、最近これらの薬理作用とオピオイド受容体のタイプとの関連についての研究が発展した。中枢性鎮痛作用と呼吸抑制作用を惹起すると考えられているmuオピオイド受容体アゴニストとdeltaオピオイド受容体アゴニストの呼吸への影響とその相互関係は概に報告されているが、kappaオピオイド受容体アゴニストの呼吸調節における役割についてはこれまで報告されていなかった。

本論文では、muオピオイド受容体アゴニスト(DAMGO、morphine)、kappaオピオイド受容体アゴニスト(U-50,488H)、kappa受容体アンタゴニスト(nor-BNI)を非麻酔状態ラットの側脳室に投与して、muとkappa受容体によって生じる呼吸調節への影響を解析するとともに、両受容体間の相互作用についても検討した。

結果：DAMGOやmorphineを投与するとラットで動脈血pHとPaO₂の低下とPaCO₂の有意な上昇が認められ、muアゴニストで呼吸抑制作用が生じる事が確認された。また、その作用は用量依存性を示した。一方、U-50,488Hとnor-BNIはラットの呼吸状態に何の影響も与えなかった。しかし、U-50,488Hを前投与したラット群ではDAMGOとmorphineの呼吸への影響は抑えられ、呼吸調節機構の中ではkappa受容体アゴニストがmu受容体アゴニストの対する拮抗作用を有することが示された。

続いて、この拮抗作用がkappa受容体の薬理作用として生じるか否かを論じるためnor-BNIを用いた実験を行った。はじめにnor-BNI前投与でkappa受容体をブロックし

てからU-50,488Hを投与すると、DAMGOによってラットに明らかな呼吸抑制が誘導され、DAMGOの呼吸作用に対するU-50,488Hの拮抗作用は発現しなかった。このことからU-50,488Hの拮抗作用はmu受容体部位での薬物競合によって生じるのではなく、kappa受容体を介するU-50,488Hの薬理作用の一つであると考えられた。

結論：Kappaオピオイド受容体アゴニストはmuオピオイド受容体によって誘導される呼吸抑制効果に対し、kappa受容体を介する作用をもって拮抗することが推察された。

口頭発表にあたり、劔持教授より1) 投与した麻酔剤のオピオイド受容体への影響について、2) sigmaおよびepsilon受容体と呼吸との関係について、斎藤（秀）教授より1) 各薬剤投与後の呼吸数の変化について、2) nor-BNIの作用時間について質問があり、申請者はどの質問にも妥当に答えたように思う。

また、斎藤（秀）教授、劔持教授に個別に審査をしていただき、合格との御返事をいただいている。

これまでkappaオピオイド受容体の呼吸調節機構での作用については全く研究されておらず、本論文がkappa受容体の呼吸への影響ばかりでなくmu-kappa受容体間の相互作用の存在を確認し、その機序についても解析を試みたことは意義あるものと考えられた。よって、本論文は博士(医学)に相当するものと認めた。