

麻薬性鎮痛薬の脊髄レベルにおける鎮痛機序

— その1 オピオイドレセプターサブタイプの面からの検討 —

表 圭 一

札幌医科大学麻酔学講座 (主任 並木昭義 教授)

Luke M. KITAHATA and J. G. COLLINS

エール大学麻酔科 (主任 Prof. P. G. BARASH)

Analgesic Mechanism of Opioid Analgesics at the Spinal Level

— 1 Investigation of the Role of Opiate Receptor Subtypes —

Keiichi OMOTE

Department of Anesthesiology, Sapporo Medical College

(Chief : Prof. A. NAMIKI)

Luke M. KITAHATA and J. G. COLLINS

Department of Anesthesiology, Yale University School of Medicine

(Chief : Prof. P. G. BARASH)

ABSTRACT This study was undertaken to examine the antinociceptive role of mu, delta and kappa opiate receptor subtypes which could be involved in spinal morphine suppression of noxiously evoked activity of spinal wide dynamic range (WDR) neurons. We extracellularly recorded the activity of a single WDR neuron evoked by noxious radiant heat (51°C) in decerebrate, spinally transected cats.

In the first study, spinally administered morphine (n=22), DAGO (selective mu agonist, n=28), DADL (delta/mu agonist, n=17) and DPDPE (selective delta agonist, n=25), but not U-50,488H (selective kappa agonist, n=11), produced a significant suppression of the evoked activity in time and dose-dependent manners. In addition, intravenous naloxone (non-selective opiate antagonist) reversed the suppressive effects of all opiates studied. Intravenous ICI174,864 (selective delta antagonist) reversed the effect of DPDPE.

The purpose of the second study was to evaluate the relative role of mu and delta opiate receptors in morphine suppression of noxiously evoked activity. Pretreatment with spinal β -FNA (selective mu antagonist) antagonized the suppressive effects of spinal DAGO, but not that of DPDPE. Following β -FNA pretreatment, the suppression of morphine (200 or 400 μ g) was partially antagonized, however, when ICI174,864 was co-administered with morphine in β -FNA pretreated animals, there was even greater antagonism of the neuronal suppression by morphine at these dosages.

In the third study, we investigated the interaction between mu and delta receptors at the spinal level. Ineffective and effective dosage of DAGO (1 or 1.5 μ g, respectively) were combined with an ineffective dosage of DPDPE (30 μ g). The spinal combination of DAGO and DPDPE produced synergistic suppressive effects.

These results indicate that both mu and delta opiate receptors can modulate the input of somatic nociceptive information in the spinal dorsal horn and that morphine is capable of suppressing the evoked activity of WDR neurons as a result of interaction with delta receptors in addition to mu

receptors at the spinal level. Furthermore, the synergism of mu and delta agonist suggests that the antinociceptive effects of morphine, which possess both mu and delta receptor agonists, could be a result of this synergism due to activation of both mu and delta receptors.

(Received February 9, 1990 and accepted February 27, 1990)

Key words: Spinal cord, Wide dynamic range neuron, Opiate receptor

1 緒 言

臨床研究や動物実験において、麻薬性鎮痛薬のくも膜下または硬膜外投与が、侵害疼痛刺激に対して有効にその痛みを抑制することが示されてきた。この効果は、脊髄内におけるオピエイトアゴニストとオピエイトレセプターの相互作用によるものである。Martin *et al.*¹⁾は、慢性脊髄犬を用いた実験で、薬理的に3つのオピエイトレセプターサブタイプ(ミュウ、カッパ、シグマ)の存在を示唆した。Lord *et al.*²⁾は、エンケファリンに対する別のレセプターサブタイプの存在を同定し、デルタレセプターと名付けた。その後、中枢神経系においてミュウ、デルタそしてカッパレセプターの存在が認められるようになった³⁻⁵⁾。最近、種々の選択性の高いアゴニストやアンタゴニストの合成に成功し⁶⁻¹¹⁾、オピエイトレセプターサブタイプの機能を評価することが可能となってきた。モルフィンなどの麻薬性鎮痛薬の鎮痛作用は中枢神経におけるミュウレセプターを介したものであるとされていたが、最近、特に脊髄レベルにおいてはデルタレセプターを介する鎮痛効果も示唆されてきている¹²⁻¹⁴⁾。

麻薬性鎮痛薬のくも膜下または硬膜外投与における鎮痛効果に関するレセプターサブタイプを明確にすることは、脊髄オピエイト鎮痛機構を体系化し理解する上で重要なことである。また最近、モルフィンとクロニジンなどのアルファアゴニストの相乗鎮痛効果が示されてきており、臨床的にもその応用が大きく期待されている。オピエイトとモノアミン系アゴニストの相互作用の機序解明への一方向づけとして、相乗作用に関わるオピエイトレセプターサブタイプを同定することもまた麻薬性鎮痛薬の鎮痛機序を解明する上で重要なことである。

論文は、モルフィンをはじめとする麻薬性鎮痛薬の脊髄投与における侵害疼痛刺激に対する鎮痛機序を解明することを目的とし、2部に分けて論じる。第1部では、ミュウ、デルタおよびカッパオピエイトレセプターサブタイプアゴニストが体性侵害刺激に対する侵害受容ニューロンの反応にどう影響するか、また、モルフィ

ンの鎮痛効果における各サブタイプレセプターの関与度を調べた。第2部では、各種オピエイトレセプターアゴニストとモノアミン系アゴニストの相互作用を検討した。この第1部では、

- (1) 各種レセプターサブタイプアゴニストの侵害輻射熱刺激に対する脊髄後角内 wide dynamic range (以後、“WDR”と略す)ニューロン神経発射活動への抑制効果
- (2) モルフィンのミュウおよびデルタレセプターを介する抑制作用の検討
- (3) ミュウおよびデルタアゴニスト間の相互作用について実験を行なうことにした。

2 実験方法

2・1 実験動物および標本作製

本実験は、雄または雌の成ネコ(体重3—4.2 kg)を用いた。全身麻酔下(ハロセン—笑気—酸素)、気管切開を施行し人工呼吸器にて換気した。外頸静脈および総頸動脈カニューレーションを行い、輸液、薬物投与または動脈圧測定に用いた。中脳網様体を電氣的に凝固して除脳化し、麻酔薬の投与を中止した。上位中枢からの抑制系の影響を除くために胸椎 T11 または T12 のレベルで脊髄を切断した。腰椎 L4 から L6 までのレベルにて椎弓切除を行い、硬膜を切開・反転して脊髄を露出した後、37℃の生理食塩水にて浸した。血圧、体温、呼気炭酸ガス濃度をモニターし、生理学的範囲内に維持した。

2・2 WDR ニューロンの導出・同定および記録方法

単位ニューロン活動を記録するために、水圧式微動駆動装置を用いて腰部脊髄膨大部の後角ヘタングステン製の微小電極(先端の太さ1—2 μm, 9—12 MΩの電極抵抗)を挿入し、ニューロン活動を脊髄後角 Rexed の第 V 層付近に求めた。Negative-positive の単一 soma spike を単位ニューロン活動として導出し、受容野への刺激の強さを増すに従い反応が大きくなるという特徴をもとにして WDR ニューロンを同定した。侵害輻射熱(51℃, 8秒間)を受容野の中心部に与え、このニューロンの発射活動を一秒毎の神経発射数で記録

し、それを対照とした。フィードバック機構をもつ熱電対を受容野の中心にとりつけ、刺激温度を一定に保つようにした。

2・3 薬物投与

2・3・1 投与したオピオイドアゴニストとアンタゴニスト

脊髄投与した全てのオピオイドアゴニストは投与直前に生理食塩水にて溶解したものをを用いた。以下の薬物がこの研究で使われた。硫酸モルフィン (Mallinckrodt 社製), DAGO ([D-Ala², MePhe⁴, Gly-ol] enkephalin, Peninsula Labo. 社製), DPDPE ([D-Pen², D-Pen⁵] enkephalin, Peninsula Labo. 社製), DADL ([D-Ala², D-Leu⁵] enkephalin, Cambridge Research Biochem. 社製), U-50,488H (trans-3, 4-dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidiny)] cyclohexyl] benzenacetamide, Upjohn 社製), β -funaltrexamine (β -FNA, Research Biochem. 社製), ICI174,864 (allyl₂-Tyr-Aib-Aib-Phe-Leu-OH, Cambridge Research Biochem. 社製), 塩酸ナロキソン (Manati 社製)。

2・3・2 (実験1)モルフィンおよび各レセプターサブタイプアゴニストの脊髄後角内 WDR ニューロン神経発射活動への抑制効果

成ネコ 103 匹を使用した。輻射熱刺激による WDR ニューロンの神経発射活動を記録した後、モルフィン 25, 200 または 400 μ g, ミュウ選択性アゴニスト DAGO 1, 1.5, 10 または 20 μ g, デルタ選択性アゴニスト DPDPE 30, 100 または 200 μ g, デルタ/ミュウアゴニスト DADL 20, 100 または 250 μ g, カッパ選択性アゴニスト U-50,488H 2.5, 10 または 25 μ g を脊髄上に投与した。投与後、輻射熱刺激による単一ニューロンの神経発射活動を 3 分毎に 30 分間記録した。31 分後、非選択性オピオイドアンタゴニストであるナロキソン 100 μ g またはデルタ選択性アンタゴニスト ICI174,864 200 μ g を静脈内注入 (以後, “静注” と略す) 投与し、その 3 分後に発射活動を記録した。

2・3・3 (実験2)モルフィンのミュウおよびデルタレセプターを介する抑制作用の検討

成ネコ 32 匹を使用した。硬膜切開、反転した時点で、ミュウ選択性アンタゴニストの β -FNA 100 μ g を脊髄上に投与した。ニューロンを導出した後、対照として神経発射活動を記録し、DAGO 10 μ g, DPDPE 200 μ g, モルフィン 200 または 400 μ g を脊髄上に投与した。モルフィン投与においては 30 分後、ICI174,864 200 μ g を静注投与した。他のニューロンにおいて、 β -FNA 前

処置後、モルフィン 200 または 400 μ g と ICI174,864 100 μ g を脊髄上に同時投与し、神経発射活動を記録した。なお、 β -FNA 投与とオピオイドアゴニスト投与の間隔は 2 時間以上とした。

2・3・4 (実験3)ミュウ選択性およびデルタ選択性アゴニスト間の相互作用

成ネコ 12 匹を使用した。ミュウとデルタレセプター間の相互作用を調べるために、ミュウ選択性アゴニストである DAGO とデルタ選択性アゴニストである DPDPE を用いてその相乗作用を検討した。DAGO 1 μ g と DPDPE 30 μ g, または、DAGO 1.5 μ g と DPDPE 30 μ g を組み合わせ脊髄上に同時投与した。WDR ニューロンの発射活動を 30 分間記録し、31 分後にナロキソン 100 μ g を静注投与した。

2・4 データ解析

導出されたニューロンのスパイクや皮膚表面のアナログ温度はデジタル信号に変換され、コンピュータに入力した。同時に、単位時間あたりの神経発射数 (impulses/second) や受容野温度をポリグラフに記録した。コンピュータプログラム Spike 2 (Cambridge Eletronic Design 社製) にて解析を行った。統計学的計算はコンピュータプログラム SYSTAT (Systat 社製) を用いて行なった。個々のデータは % 抑制または % 対照値で表わし、各薬物群のデータ数値は平均値土標準誤差 (mean \pm S. E.) で表わした。オピオイドアゴニストの投与量によるニューロン神経活動抑制の比較、時間の経過による変化は一元配置または二元配置分散分析を用いて、また、アンタゴニストの拮抗作用は paired Student's t-test にて、相乗作用の実験では unpaired Student's t-test にて統計処理を行った。なお、5% 以下の危険率をもって有意差ありとした。

3 実験成績

3・1 (実験1)オピオイドレセプターサブタイプアゴニストの WDR ニューロンへの影響

3・1・1 導出された WDR ニューロン

本研究において、侵害輻射熱刺激により発射活動を認めたニューロンは、すべて WDR ニューロンであった。なお、2 つの WDR ニューロンにおいて、薬物の含まない生理食塩水を脊髄上に投与し、30 分間、これらのニューロンの刺激に対する反応を調べたが、神経発射活動の増強や疲労などは認められなかった。

3・1・2 モルフィンおよびオピオイドサブタイプアゴニストの脊髄投与によるWDRニューロンの活動に及ぼす影響

Fig. 1のAにモルフィン200 μ gの脊髄投与によるWDRニューロンの神経発射活動の変化を示した。輻射熱刺激による神経活動はモルフィン投与30分後には有意に抑制され、ナロキソン100 μ g静注投与により拮抗された。

各オピオイドレセプターサブタイプアゴニストの神経発射活動に及ぼす影響をFig. 1のB, C, Dにその症例を示した。ミュー選択性アゴニストDAGO, デルタ選択性アゴニストDPDPEおよびデルタ/ミューアゴニストDADL, すなわち, ミュー, デルタまたは両方のレセプターに親和性のあるアゴニストの脊髄投与はWDRニューロンの神経発射活動を抑制した。一方, カップバ選択性アゴニストであるU-50,488Hは水溶解限界の25 μ gにても明らかなニューロン抑制は認められ

なかった。Fig. 2は, モルフィン(n=22), DAGO(n=28), DPDPE(n=25), DADL(n=17)およびU-50,488H(n=11)の量-抑制相関図である。U-50,488H以外の各オピオイドの相関は直線関係にある。抑制効果の強度はDAGO>DADL>モルフィン=DPDPE>>>U-50,488Hであった。

3・1・3 各オピオイドサブタイプアゴニストの抑制作用に対するナロキソンおよびICI174,864の拮抗作用

ナロキソン(n=4)またはICI174,864(n=4)の単独静注投与による神経発射活動への影響を検討したところ, アンタゴニスト自身ではWDRニューロン活動に対して興奮も抑制も示さなかった。

ナロキソン100 μ g静注投与はモルフィン200 μ g, DAGO10 μ g, DADL100 μ gの抑制作用に拮抗し, ICI174,864200 μ g静注投与はDPDPEの作用に拮抗した(Fig. 1)。各オピオイドによるニューロンの発射活動の抑制に対するナロキソンおよびICI174,864静注投与の拮抗作用をFig. 3にまとめた。ナロキソン(上段)は, オピオイドアゴニストによる神経活動抑制作用に拮抗したが, ICI174,864(下段)はDPDPEの作用のみに拮抗した。

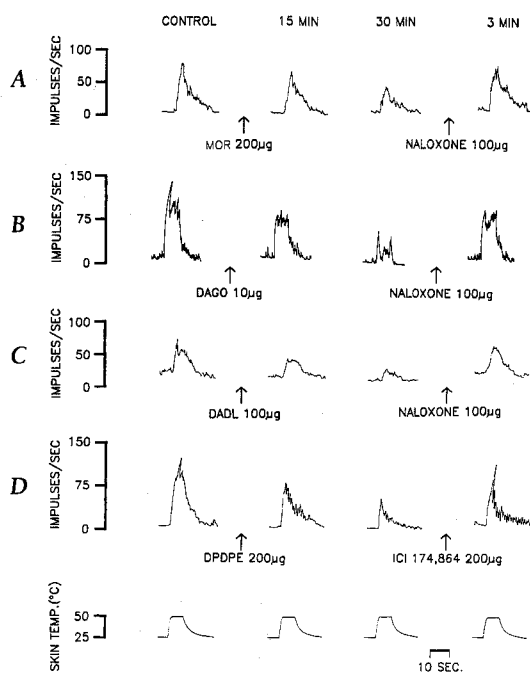


Fig. 1 Effects of morphine sulfate(MOR), DAGO, DADL and DPDPE administered spinally on the noxiously evoked activity of a single WDR neuron. Spinal MOR (A), DAGO (B), DADL (C) and DPDPE (D) suppressed the evoked activity. Naloxone (A, B, C) and ICI174,864 (D) reversed these suppressive effects. The lowest traces represent the skin temperature recorded at the center of the receptive field of each neuron.

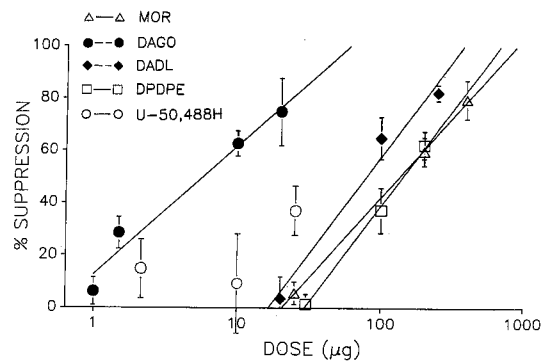


Fig. 2 The dose-suppression regression lines for morphine(MOR, n=22), DAGO(n=28), DADL(n=17), DPDPE(n=25) and U-50,488H(n=11). The regression lines represent the percent suppression seen 30 minutes after spinal administration of opiate agonists. MOR ($Y=62.2 \log X-82.7$, $r=0.99$, $p<0.05$), DAGO ($Y=55.9 \log X+11.5$, $r=0.94$, $p<0.05$), DADL ($Y=73.5 \log X-89.5$, $r=0.95$, $p<0.05$), DPDPE ($Y=73.0 \log X-107.0$, $r=0.99$, $p<0.05$), U-50,488H ($r=0.36$, $p>0.1$).

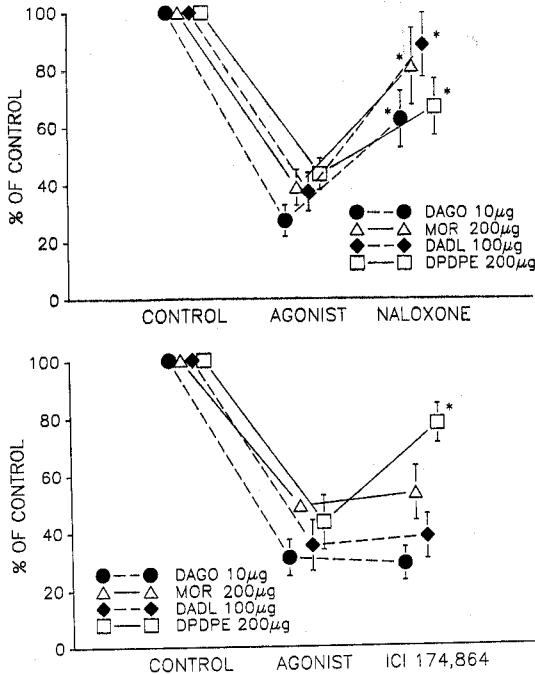


Fig. 3 Reversal effects of intravenous naloxone 100 µg (upper) and intravenous ICI174,864 200 µg (lower) on the WDR neuronal suppression of morphine (MOR, 200 µg), DAGO (10 µg), DADL (100 µg) and DPDPE (200 µg) administered spinally. Data represent the values at 30 minutes after opiate agonist administration and 3 minutes after intravenously administered naloxone or ICI174,864. * p < 0.05 compared with the values at 30 minutes after opiate administration.

3.2 (実験2)モルフィンの作用における各レセプターサブタイプの役割

3.2.1 β-FNA 前投与の DAGO, DPDPE の作用への影響

DAGO の脊髄投与による単一 WDR ニューロン活動の抑制に対する β-FNA 前投与の影響を表わす例を Fig. 4 に示した。DAGO は WDR ニューロンの活動を抑制しているが (上段), β-FNA 前投与されたニューロンでは DAGO は抑制を示さなかった。Fig. 5 (上段) に β-FNA 前投与の有無による WDR ニューロンに対する DAGO の抑制効果をまとめた。DAGO 単独投与 (n=10) ニューロン抑制作用に対し, β-FNA 前投与 (n=5) は完全に DAGO の抑制作用に拮抗した。

β-FNA 前投与の有無による DPDPE のニューロン抑制効果に対する影響を Fig. 6 に示した。DPDPE は, β-FNA 前投与の有無に関わらずに神経活動を抑制し

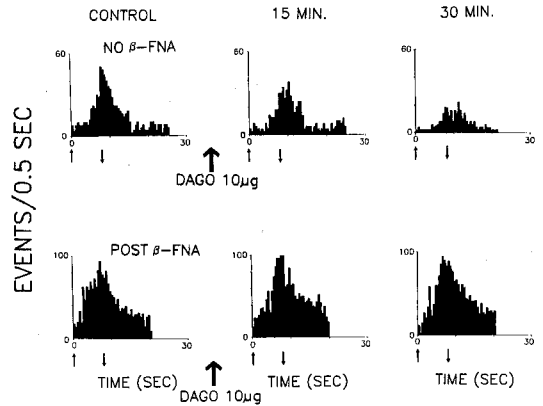


Fig. 4 Effects of DAGO with and without β-FNA pretreatment (lower traces and upper traces, respectively) on the noxiously evoked activity of two WDR neurons. Small arrows in each histogram indicate the beginning and end of the heat stimulation (51°C, 8 seconds).

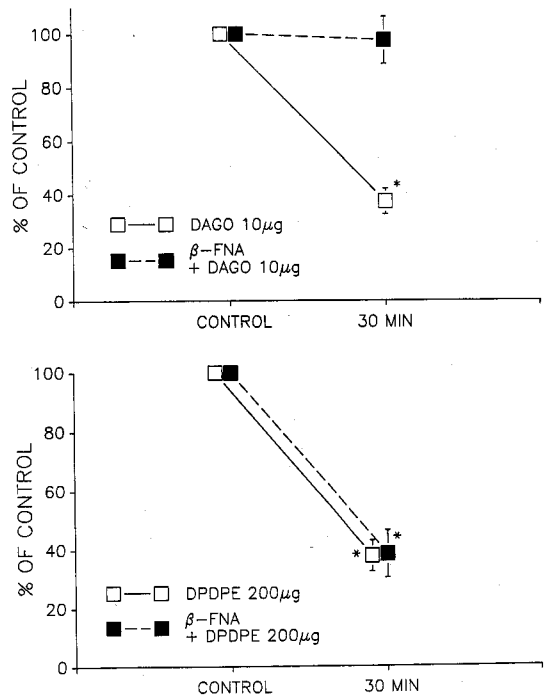


Fig. 5 The effects of DAGO (upper figure) and DPDPE (lower figure) with and without β-FNA pretreatment on the mean evoked activity of WDR neurons. Note the difference in the effect of β-FNA pretreatment between the suppression of DAGO and DPDPE. * p < 0.05 compared with control values.

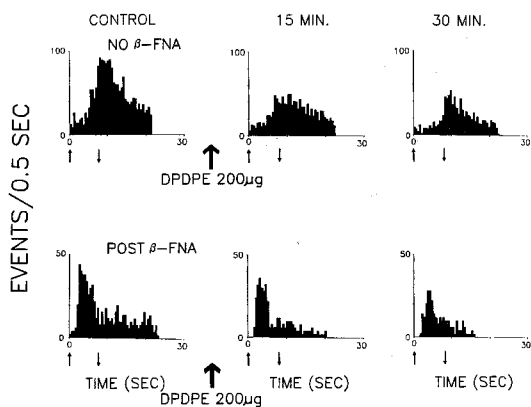


Fig. 6 Effects of DPDPE with and without β -FNA pretreatment (lower traces and upper traces, respectively) on the activity of two WDR neurons. Small arrows below each histogram indicate the beginning and end of the heat stimulation (51°C , 8 seconds).

た(上および下段)。Fig. 5(下段)は、DAGOとは対照的に、 β -FNA前投与($n=5$)は、DPDPEによるWDRニューロン活動抑制に影響を与えないことを示した。このように、 β -FNAの脊髄前投与は、デルタレセプターではなく、ミウレセプター活性化によるニューロン発射活動の抑制に選択的に拮抗した。

3.2.2 β -FNA前投与とICI174,864によるモルフィンの抑制作用への影響

Fig. 7はモルフィン $200\ \mu\text{g}$ による神経発射活動の抑制における β -FNA前投与やICI174,864の静注または脊髄投与の影響を示した3つのニューロン活動である。 β -FNA前投与のされていないニューロンでは、モルフィン $200\ \mu\text{g}$ は効果的に神経発射を抑制しているが(上段)、 β -FNA前投与されたニューロンでは部分的に拮抗され、モルフィン投与31分後のICI174,864 $200\ \mu\text{g}$ 静注投与により完全に拮抗された(中段)。別の β -FNA前投与されたニューロンにおいて、ICI174,864をモルフィンと同時に脊髄投与すると、モルフィンの作用は完全に拮抗された(下段)。Fig. 8にモルフィン投与における、 β -FNA前投与の有無、ICI174,864のモルフィンとの脊髄同時投与によるニューロン発射活動抑制への影響をまとめた。モルフィン $200\ \mu\text{g}$ または $400\ \mu\text{g}$ において、モルフィン単独投与(各々 $n=7$ または7)、 β -FNA前投与後のモルフィン投与(各々 $n=6$ または6)、 β -FNA前投与後のモルフィンおよびICI174,864の脊髄同時投与(各々 $n=5$ または5)の3群間には、有意($p<0.05$)な差が認められた。また、 β -FNA前投与されたニューロンにおけるモルフィンの抑制作用に対するICI174,864

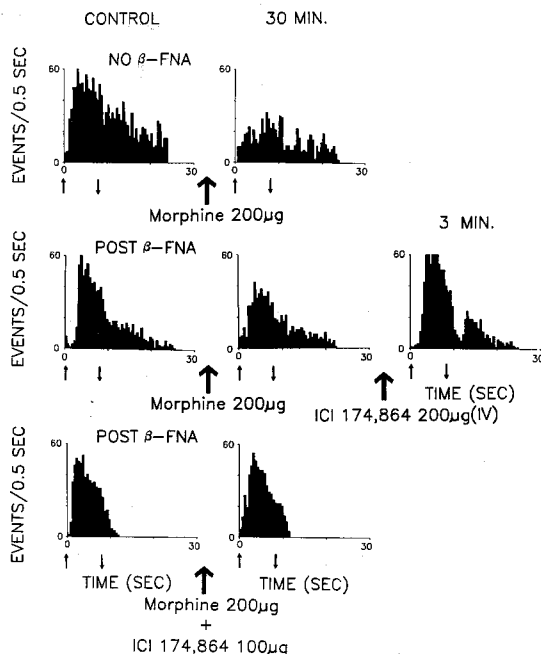


Fig. 7 Effects of β -FNA pretreatment and spinal or intravenous ICI174,864 on the neuronal suppression of morphine $200\ \mu\text{g}$ in 3 WDR neurons. Upper traces: $200\ \mu\text{g}$ of morphine administered spinally without β -FNA pretreatment. Middle traces: The suppressive effect of morphine $200\ \mu\text{g}$ with β -FNA pretreatment and antagonism by ICI174,864. Lower traces: Complete antagonism of β -FNA pretreatment and co-administration of ICI174,864 and morphine in morphine suppression. Small arrows below each histogram represent the beginning and end of the noxious heat stimulation (51°C , 8 seconds).

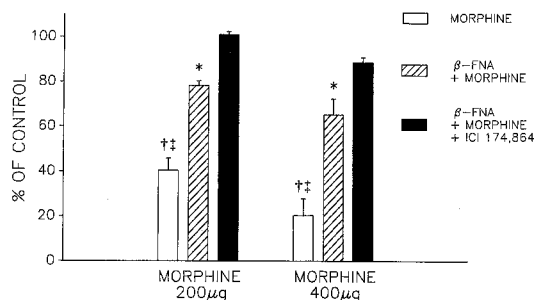


Fig. 8 Effects of β -FNA pretreatment and spinal co-administration of ICI174,864 on the neuronal suppression of spinal morphine (200 and $400\ \mu\text{g}$) at 30 minutes after morphine administration.

† $p<0.05$ compared with morphine after β -FNA pretreatment.

‡ $p<0.05$ compared with co-administration of morphine and ICI174,864 after β -FNA pretreatment.

* $p<0.05$ compared with co-administration of morphine and ICI174,864 after β -FNA.

静注投与の拮抗作用は、モルフィン 200 μg ($n=5$) または 400 μg ($n=5$) について各々、対照値の $78 \pm 2\%$ から $105 \pm 6\%$ または $65 \pm 7\%$ から $80 \pm 7\%$ に有意 ($p < 0.05$) に回復した。

3.3 (実験3) ミュウとデルタレセプター間の相互関係

Fig. 2 の量-抑制相関直線で表すように、DAGO 1 μg 、DPDPE 30 μg は WDR ニューロン神経発射活動の抑制においては無効の量である。すなわち、DAGO 1 μg または DPDPE 30 μg は 30 分以内では何の抑制も示さない。この DAGO 1 μg または DPDPE 30 μg 単独投与の無効果とは対照的に、同量の DAGO と DPDPE の同時投与 ($n=6$) は神経活動を相乗的に抑制した ($p < 0.05$, Fig. 9)。同様に、DAGO を効果量である 1.5 μg に増加しても、無効果量の DPDPE 30 μg と同時投与 ($n=6$) すると相乗的に有意 ($p < 0.05$) な抑制効果を示した。

4 考 察

4.1 脊髓におけるオピエイトレセプターサブタイプの分布およびレセプターアゴニストの選択性について

脊髓におけるオピエイトレセプターサブタイプの分布は、ミュウ、デルタおよびカッパレセプターともに substantia gelatinosa に集中しているとされている¹⁵⁾。オピエイトレセプターは、一次求心性ニューロンに多く、シナプス前に作用するとするものや、二次ニューロンすなわち、シナプス後に優位に作用するという報告も多い¹⁶⁻¹⁸⁾。シナプス前では、ミュウではなくデルタレセプターサブタイプが作用しているという報告も

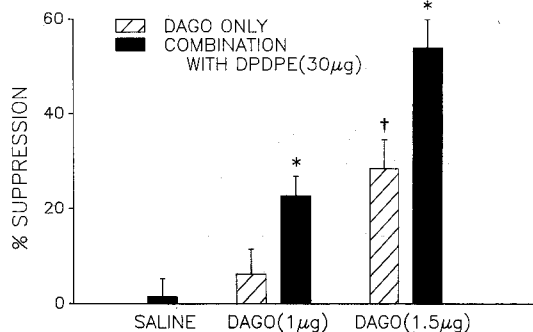


Fig. 9 Interaction of DAGO and DPDPE. Data are presented as the percent suppression at 30 minutes after spinal opiate administration.

* $p < 0.05$ compared with the suppression values of DAGO only.

† $p < 0.05$ compared with control values.

ある¹⁹⁾。

レセプターサブタイプの薬理学的研究における解釈の上でアゴニストのレセプターサブタイプ選択性の高さが重要である。多くのアゴニストが生成され、実験に使われてきているが、著者らは、ミュウ、デルタおよびカッパアゴニストとして現在最も選択性の高い DAGO, DPDPE, U-50,488H を用いた。DAGO はミュウレセプター選択性で、デルタレセプターに比べ 160-200 倍、カッパレセプターに比べ 1000 倍以上選択性が高い^{4,6)}。デルタアゴニストとしては、従来、DADL が多く使われてきたが、このペプチドのデルタ選択性はミュウレセプターに比較して、わずか 4-6 倍のみしか有さない²⁰⁻²²⁾。現在、デルタレセプターに対して最も選択性の高い DPDPE はミュウレセプターに比べて 250-1000 倍、カッパレセプターに比較して 1000 倍以上の選択性がある^{7,21)}。また、カッパレセプターに対しては、U-50,488H がミュウやデルタレセプターに比較して各々 150 倍、1300 倍もの選択性がある²⁰⁾。

4.2 モルフィンおよび各オピエイトレセプターサブタイプアゴニストの脊髓投与による WDR ニューロンの活動に及ぼす影響

本研究では、モルフィン、ミュウ選択性アゴニスト DAGO、デルタ選択性アゴニスト DPDPE をしてデルタ/ミュウアゴニスト DADL の脊髓投与は、WDR ニューロンの神経発射活動を投与量依存性に抑制した。しかし、カッパ選択性アゴニスト U-50,488H はそのような抑制を示さなかった。

非選択性オピエイトアンタゴニストのナロキソンは、オピエイトの神経活動の抑制作用に拮抗した。一方、デルタ選択性アンタゴニストである ICI174,864 は、DPDPE の作用のみに拮抗した。これは、DPDPE のニューロン発射活動抑制作用は、デルタオピエイトレセプターとデルタアゴニストの相互作用によるものであることを示している。

脊髓投与されたオピエイトは、substantia gelatinosa のオピエイトレセプターに作用し、そこから入力を受ける深層の WDR ニューロンの活動は抑制されるとされている²³⁾。そして、WDR ニューロンは脊髓視床路の起源の細胞で、侵害疼痛情報の伝達に大きく関与している^{24,25)}。従って、ミュウまたはデルタオピエイトレセプターに親和性のあるオピエイトアゴニストは侵害刺激による脊髓疼痛情報伝達を修飾している。

脳幹部など上位中枢の影響を除外して、麻薬性鎮痛薬の脊髓レベルにおける作用を調べるため、本研究では脊髓を切断した。脊髓切断に伴い、下位の侵害受容

ニューロンの活動は影響を受けるため、脊髄ネコで得られた WDR ニューロンの活動抑制作用と鎮痛効果とを直接的に結びつけるには問題があるかもしれない。しかし、本研究の実験成績は麻薬性鎮痛薬が少なくとも脊髄レベルで、痛覚求心路の痛覚情報伝達を遮断して鎮痛効果を生じることを示している。

4・3 モルフィンの抑制作用における各オピオイドレセプターサブタイプ役割

4・3・1 ミュウおよびデルタ選択性アンタゴニストについて

β -FNA (β -funaltrexamine) は naltrexone の fumaramate methyl ester 誘導体で、長時間作用性・非可逆性で、ミュウレセプターに対し選択性の高いアンタゴニストの作用を示す^{13,26)}。また、短時間作用性のカッパレセプターを介したアゴニストとしての性格も有するが、侵害刺激として熱を用いた場合、 β -FNA はアゴニストとしては無効で、選択的にミュウレセプターを介するアンタゴニストとして作用を示す²⁶⁾。本研究において、輻射熱を侵害刺激としたところ、 β -FNA 脊髄前投与はミュウ選択性アゴニスト DAGO の WDR ニューロン活動に対する抑制作用に完全に拮抗した。しかし、同量の β -FNA は、デルタ選択性アゴニスト DPDPE の抑制作用には全く影響を及ぼさなかった。また、Fig. 3 (下段) に示したように、デルタ選択性アンタゴニスト ICI174,864 は DPDPE の WDR ニューロン活動抑制作用に拮抗したのに対し、DAGO の作用には影響を与えなかった。これら選択性の高いアンタゴニストはオピオイドレセプターサブタイプの機能の評価する上で、非常に価値のあるものとなる。

4・3・2 モルフィンとオピオイドレセプターサブタイプ

β -FNA 前投与がモルフィンの抑制作用を拮抗したのは、よく知られているモルフィンのミュウレセプターを介したニューロン活動抑制作用によるものである。しかし、この拮抗性は完全ではない。一方、DAGO による同程度のニューロン活動抑制作用は、 β -FNA 前投与により完全に拮抗された。ミュウ選択性アンタゴニスト β -FNA がミュウ選択性アゴニスト DAGO の作用に完全に拮抗し、モルフィンの作用に不完全に拮抗した事実は、脊髄レベルの鎮痛作用において、モルフィンはミュウ以外のオピオイドレセプターも介して作用していることを示している。この研究の重要な発見の一つは、モルフィンとデルタ選択性アンタゴニストである ICI174,864 の脊髄同時投与が、 β -FNA 前投与されたニューロンに対しモルフィンの作用にほぼ完全に拮

抗している点である。また、 β -FNA 前投与後、モルフィンによるニューロン活動抑制作用が ICI174,864 の静注投与によっても拮抗された点である。すなわち、 β -FNA により脊髄のミュウレセプターが不活化されている状態でも、モルフィンのニューロン活動抑制はデルタレセプターを介して作用しているのである。

4・4 モルフィンの有するミュウとデルタレセプターアゴニスト間の相互作用

Barrett and Vaught²⁷⁾ は上位中枢レベルで、デルタレセプターアゴニスト (DADL) がモルフィンの鎮痛作用を強めたと報告し、上位中枢においてミュウとデルタレセプターの同時活性化は、オピオイドの鎮痛作用を相乗的に増加をもたらすとした。

一方、脊髄レベルでは、その相乗作用に関する報告は非常に少ない。Larson *et al.*²⁸⁾ は、ラットの behavioral test にて、脊髄くも膜下デルタアゴニスト (Leu-enkephalin) 投与は、くも膜下モルフィンの鎮痛 ED₅₀ を有意に減少させたと報告した。本研究で示した電気生理学的方法によるミュウとデルタアゴニスト間の相乗作用は、彼らの結果を支持するものであった。従って、モルフィン脊髄投与は、ミュウとデルタの各々のレセプターを活性化させて WDR ニューロンの活動を抑制するのに加えて、ミュウとデルタレセプターの同時刺激による相乗作用が関わっている可能性が示唆される。

5 要 約

脊髄投与した麻薬性鎮痛薬の鎮痛機序を解明するためにオピオイドレセプターサブタイプの面から、脊髄後角侵害受容ニューロンに対するモルフィンおよび各オピオイドレセプターサブタイプアゴニストの影響を検討し、以下の結論を得た。

(1) モルフィンおよびミュウまたはデルタ選択性オピオイドサブタイプアゴニストの脊髄投与は、侵害輻射熱刺激による脊髄後角 WDR ニューロンの神経発射活動を抑制したが、カッパ選択性アゴニストは無効であった。

(2) 非選択性オピオイドアンタゴニストであるナロキソンは各オピオイドレセプターアゴニストの抑制作用に拮抗したのに対し、デルタ選択性アンタゴニストの ICI174,864 はデルタ選択性アゴニスト DPDPE の作用のみに拮抗した。

(3) ミュウ選択性アンタゴニストの β -FNA 脊髄前投与は、ミュウ選択性アゴニスト DAGO の抑制作用に完全に拮抗したが、DPDPE の作用に影響を与えなかつ

た。

(4) β -FNA 前投与はモルフィンの WDR ニューロンの発射活動抑制作用に部分的に拮抗し、 β -FNA 前投与後の ICI174,864 の脊髄または静注投与はモルフィンの作用にはほぼ完全に拮抗した。

(5) ミュウ選択性アゴニスト DAGO とデルタ選択性アゴニスト DPDPE の同時脊髄投与は、WDR ニューロンの神経活動を相乗的に抑制した。

以上より、侵害性体性刺激において、脊髄ではミュウのみならずデルタオピオイドレセプターの活性化が麻薬性鎮痛薬の鎮痛機構として作用しており、また、モルフィンの鎮痛機序はミュウおよびデルタレセプターを介した作用であるとともに、ミュウとデルタレセプターの同時活性化による相乗作用の機序も示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲いただきました並木昭義教授に深謝の意を表わします。

文 献

- Martin, W. R., Eades, C. G., Thompson, J. A., Huppler, R. E. and Gilbert, P. E.: The effects of morphine- and nalorphine-like drugs in the non-dependent and morphine-dependent chronic spinal dog. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** **197**, 517-532 (1976).
- Lord, J. A. H., Waterfield, A. A., Hughes, J. and Kosterlitz, H. W.: Endogenous opioid peptides: multiple agonists and receptors. **Nature(London)** **267**, 495-499 (1977).
- Chang, K. J. and Cuatrecasas, P.: Multiple opiate receptors: Enkephalins and morphine bind to receptors of different specificity. **J. Biol. Chem.** **254**, 2610-2618 (1979).
- Kosterlitz, H. W., Paterson, S. J. and Robson, L. E.: Characterization of the kappa-subtype of the opiate receptor in the guinea-pig brain. **Br. J. Pharmacol.** **73**, 939-949 (1981).
- Zukin, R. S. and Zukin, S. R.: The case for multiple opiate receptors. **Trends Neurosci.** **7**, 160-162 (1984).
- Handa, B. K., Lane, A. C., Lord, J. A. H., Morgan, B. A., Rance, M. J. and Smith, C. F. C.: Analogues of β -LPH₆₁₋₆₄ possessing selective agonist activity at μ -opiate receptors. **Eur. J. Pharmacol.** **70**, 531-540 (1981).
- Mosberg, H. I., Hurst, R., Hruby, V. J., Gee, K., Yamamura, H. I., Galligan, J. J. and Burks, T. F.: Bis-penicillamine enkephalins possess highly improved specificity toward δ opioid receptors. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **80**, 5871-5874 (1983).
- Piercey, M. F., Lahti, R. A., Schroeder, L. A., Einspahr, F. J. and Barsuhn, C.: U-50488H, a pure kappa receptor agonist with spinal analgesic loci in the mouse. **Life Sci.** **31**, 1197-1200 (1982).
- Cotton, R., Giles, M. G., Miller, L., Shaw, J. S. and Timms, D.: ICI174, 864: A highly selective antagonist for the opioid δ -receptor. **Eur. J. Pharmacol.** **97**, 331-332 (1984).
- Hirning, L. D., Mosberg, H. I., Hurst, R., Hruby, V. J., Burks, T. F. and Porreca, F.: Studies *in vitro* with ICI174, 864, [D-Pen², D-Pen⁵] enkephalin (DPDPE) and [D-Ala², NMePhe⁴, Gly-ol] enkephalin (DAGO). **Neuropeptides** **5**, 383-386 (1985).
- Portoghese, P. S., Larson, D. L., Sayre, L. M., Fries, D. S. and Takemori, A. E.: A novel opioid receptor site directed alkylating agent with irreversible narcotic antagonistic and reversible agonistic activities. **J. Med. Chem.** **23**, 233-234 (1980).
- Tung, A. S. and Yaksh, T. L.: *In vivo* evidence for multiple opiate receptors mediating analgesia in the rat spinal cord. **Brain Res.** **247**, 75-83 (1982).
- Yaksh, T. L.: *In vivo* studies on spinal opiate receptor systems mediating antinociception. I. mu and delta receptor profiles in the primate. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** **226**, 303-316 (1983).
- Przewlocki, R., Stala, L., Greczek, M., Shearman, G. T., Przewlocka, B. and Herz, A.: Analgesic effects of μ -, δ - and κ - opiate agonists and, in particular, dynorphin at the spinal level. **Life Sci.** **33**, 649-652 (1983).
- Gouarderes, C., Cros, J. and Quirion, R.: Autoradiographic localization of mu, delta and kappa opioid receptor binding sites in rat and guinea pig spinal cord. **Neuropeptides** **6**, 331-342 (1985).
- Fields, H. L., Emson, P. C., Leigh, B. K., Gilbert, R. F. T. and Iversen, L. L.: Multiple opiate receptor sites on primary afferent fibres. **Nature** **284**, 351-353 (1980).
- LaMotte, C., Pert, C. B. and Snyder, S. H.: Opiate receptor binding in primate spinal cord: distribution and changes after dorsal root section. **Brain Res.** **112**, 407-412 (1976).
- Zieglgansberger, W. and Bayerl, H.: The mech-

- anism of inhibition of neuronal activity by opiates in the spinal cord of cat. **Brain Res.** **115**, 111-128 (1976).
19. Mauborgne, A., Lutz, O., Legrand, J. C., Hamon, M. and Cesselin, F.: Opposite effects of δ and μ opioid receptor agonists on the in vitro release of substance P-like material from the rat spinal cord. **J. Neurochem.** **48**, 529-537 (1987).
 20. James, I. F. and Goldstein, A.: Site-directed alkylation of multiple opioid receptors 1. Binding selectivity. **Mol. Pharmacol.** **25**, 337-342 (1984).
 21. Corbett, A. D., Gillan, M. G. C., Kosterlitz, H. W., McKnight, A. T., Paterson, S. J. and Robson, L. E.: Selectivities of opioid peptide analogues as agonists and antagonists at the delta-receptor. **Br. J. Pharmacol.** **83**, 271-279 (1984).
 22. Wolozin, B. L. and Pasternak, G. W.: Classification of multiple morphine and enkephalin binding sites in the central nervous system. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **78**, 6181-6185 (1981).
 23. Duggan, A. W., Johnson, S. M. and Morton, C. R.: Differing distributions of receptors for morphine and Met⁵-enkephalinamide in the dorsal horn of the cat. **Brain Res.** **229**, 379-387 (1981).
 24. Willis, W. D., Trevino, D. L., Coulter, J. D. and Maunz, R. A.: Responses of primate spinothalamic tract neurons to natural stimulation of hindlimb. **J. Neurophysiol.** **37**, 358-372 (1974).
 25. Price, D. D. and Dubner, R.: Neurons that subserved the sensory-discriminative aspects of pain. **Pain** **3**, 307-338 (1977).
 26. Ward, S. J., Portoghese, P. S. and Takemori, A. E.: Pharmacological characterization in vivo of the novel opiate, β -funaltrexamine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** **220**, 494-498 (1982).
 27. Barrett, R. W. and Vaught, J. L.: The effects of receptor selective opioid peptides on morphine-induced analgesia. **Eur. J. Pharmacol.** **80**, 427-430 (1982).
 28. Larson, A. A., Vaught, J. L. and Takemori, A. E.: The potentiation of spinal analgesia by leucine enkephalin. **Eur. J. Pharmacol.** **61**, 381-383 (1980).
-
- 別刷請求先：
 (〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目
 札幌医科大学麻酔学講座 表 圭一