

シンポジウム 2

ノシセプチン・ノシスタチン研究の最前線

S-7

ノシセプチン・ノシスタチンによる痛覚反応

○伊藤誠二¹、芦高恵美子¹、南 敏明²

¹関西医科大学医化学教室

²大阪医科大学麻酔科学教室

ノシセプチンおよびノシスタチンは、同じ前駆体 *prepronociceptin* から切り出されるペプチドで、ノシセプチンとノシスタチンはいずれも脊髄後角の第 I、II 層に局在する¹。今回、脊髄におけるノシセプチンおよびノシスタチンの効果を検討し以下の知見を得た。

ノシセプチンによる痛覚反応

髄腔内投与したノシセプチンは、痛覚過敏反応とアロディニアを誘発する²。一次求心性神経の痛覚伝達に関与する神経伝達物質はサブスタンス P とグルタミン酸が知られているが、ノシセプチンによる痛覚過敏反応は、サブスタンス P 受容体拮抗薬 CP-96,345 および CP-99,994 で拮抗されるが、アロディニアは拮抗されない(図 1)。一方、ノシセプチンによるアロディニアは、グルタミン酸 NMDA 受容体拮抗薬 D-AP5 で拮抗されるが、痛覚過敏反応は拮抗されない。グルタミン酸 NMDA 受容体は ζ (NR1) と ϵ (NR2) のサブユニットからなり、 ζ は ϵ と機能的なチャネルを形成する。 ϵ サブユニットは $\epsilon 1-4$ (NR2A-D) の 4 種類のサブタイプが存在し、脊髄に局在が認められるのは、 $\epsilon 1, 2$ と 4 であり、 ϵ サブユニット欠損マウスで長期生存可能なのは、 $\epsilon 1, 3$ と 4 である。 $\epsilon 1$ および $\epsilon 4$ サブユニット欠損マウスを用いてノシセプチンによる痛覚反応を検討した。ノシセプチンによるアロディニアは、野性型マウス、NMDA 受容体 $\epsilon 4$ サブユニット欠損マウスで出現したが、 $\epsilon 1$ 欠損マウスでは出現しなかった(図 2)。ノシセプチンによる痛覚過敏反応は、野性型マウス、NMDA 受容体 $\epsilon 1, \epsilon 4$ 欠損マウスで出現した。以上の結果から、ノシセプチンによるアロディニアは、NMDA 受容体 $\epsilon 1$ サブユニットを、痛覚過敏反応は、サブスタンス P 受容体を介して出現することが明らかになった³。

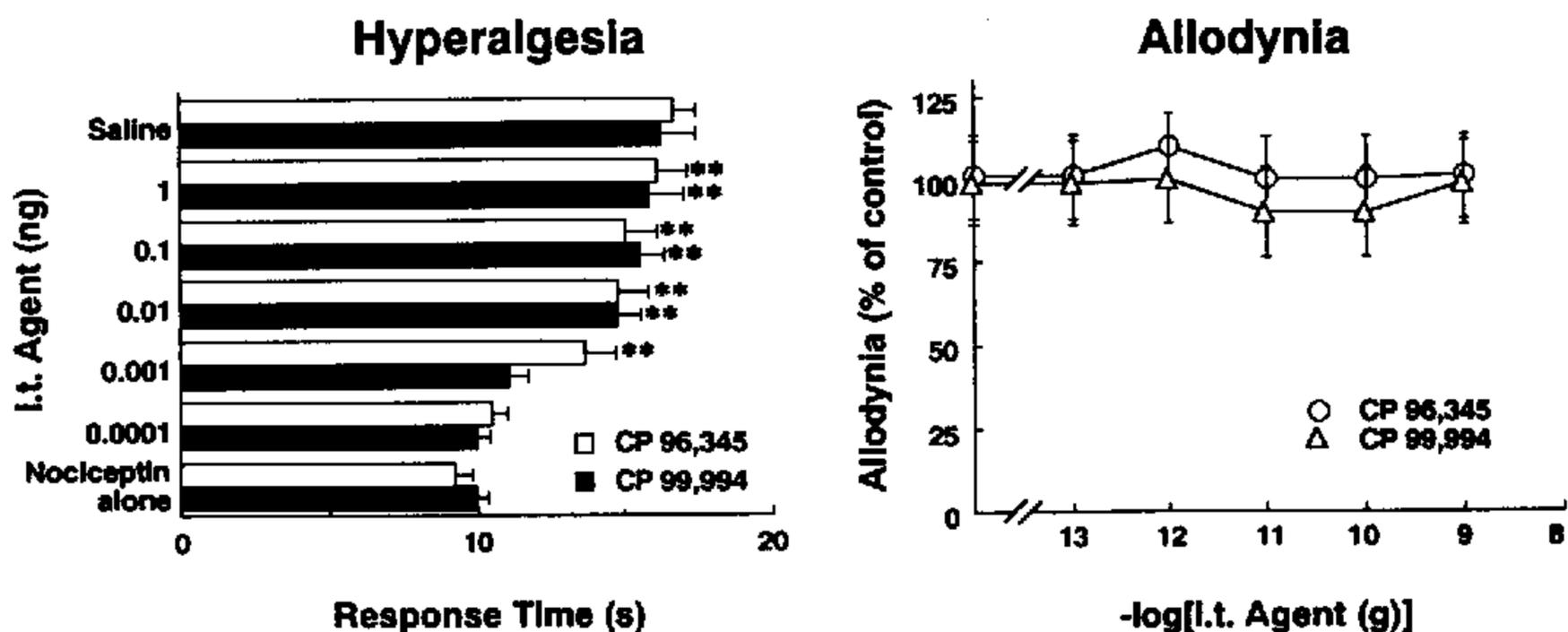


図1 ノシセプチンによる痛覚反応に対する SP 受容体拮抗薬の効果
 ノシセプチン (50 pg) と様々な用量のサブスタンス P 受容体拮抗薬を同時に髄腔内投与して 10 分後にアロディニアを、15 分後に痛覚過敏反応を評価した。

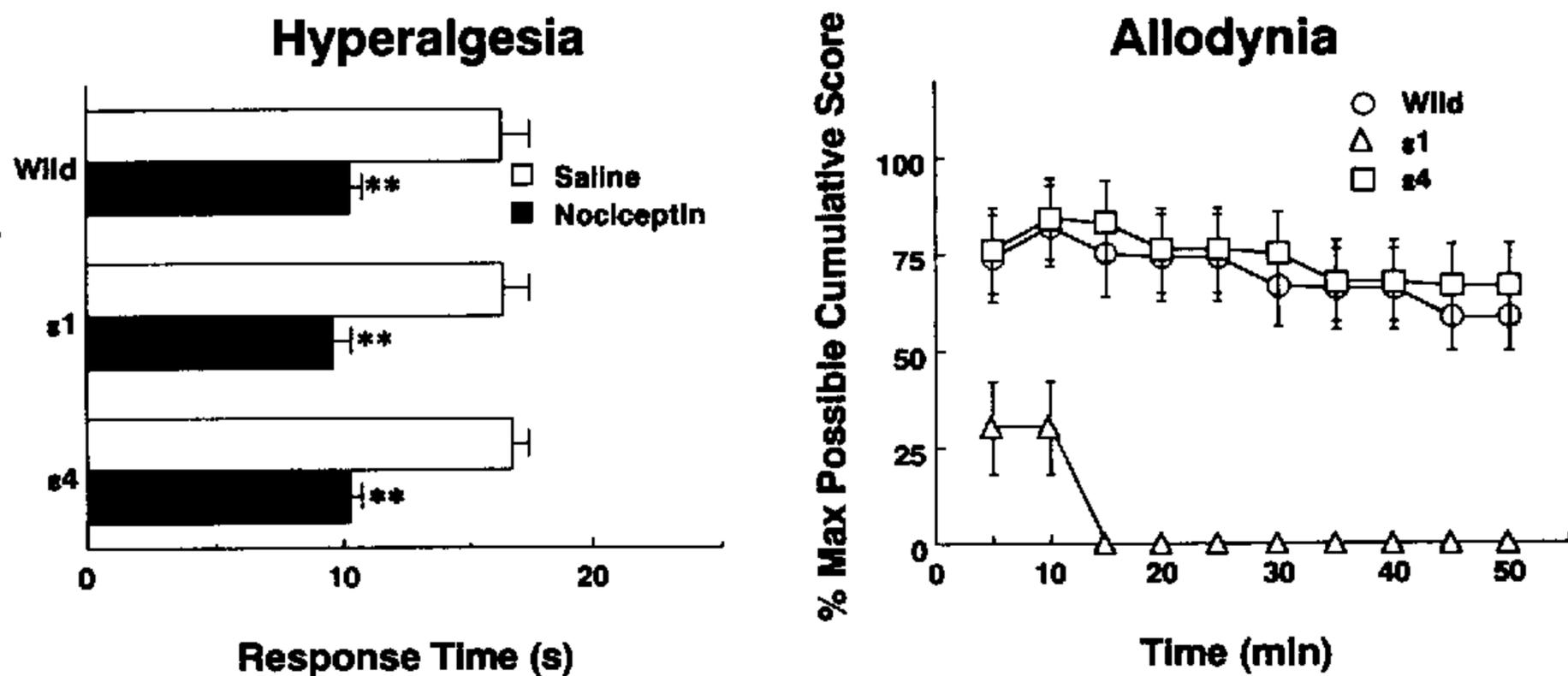


図2 NMDA 受容体 ϵ 欠損マウスにおけるノシセプチンによる痛覚反応
 NMDA 受容体 $\epsilon 1^{-/-}$ および $\epsilon 4^{-/-}$ マウスにノシセプチン (50 pg) を髄腔内投与した。

ノシスタチンによる鎮痛作用

ウシノシセプチン前駆体 prepronociceptin は 176 個のアミノ酸からなり、プロセシグペプチドにより、ノシセプチン以外に bPNP-2 から bPNP-5 の 4 種類のペプチドの存在が予想された。それらのペプチドはそれ自体では痛覚過敏反応やアロディニアを誘発しなかったが、bPNP-3 はノシセプチンのアロディニアを用量依存的に抑制したことから、ノシスタチン (nocistatin) と名付けた。ノシスタチンはノシセプチンだけでなく PGE₂ および PGF_{2α} のアロディニアも抑制する (図 3)¹。

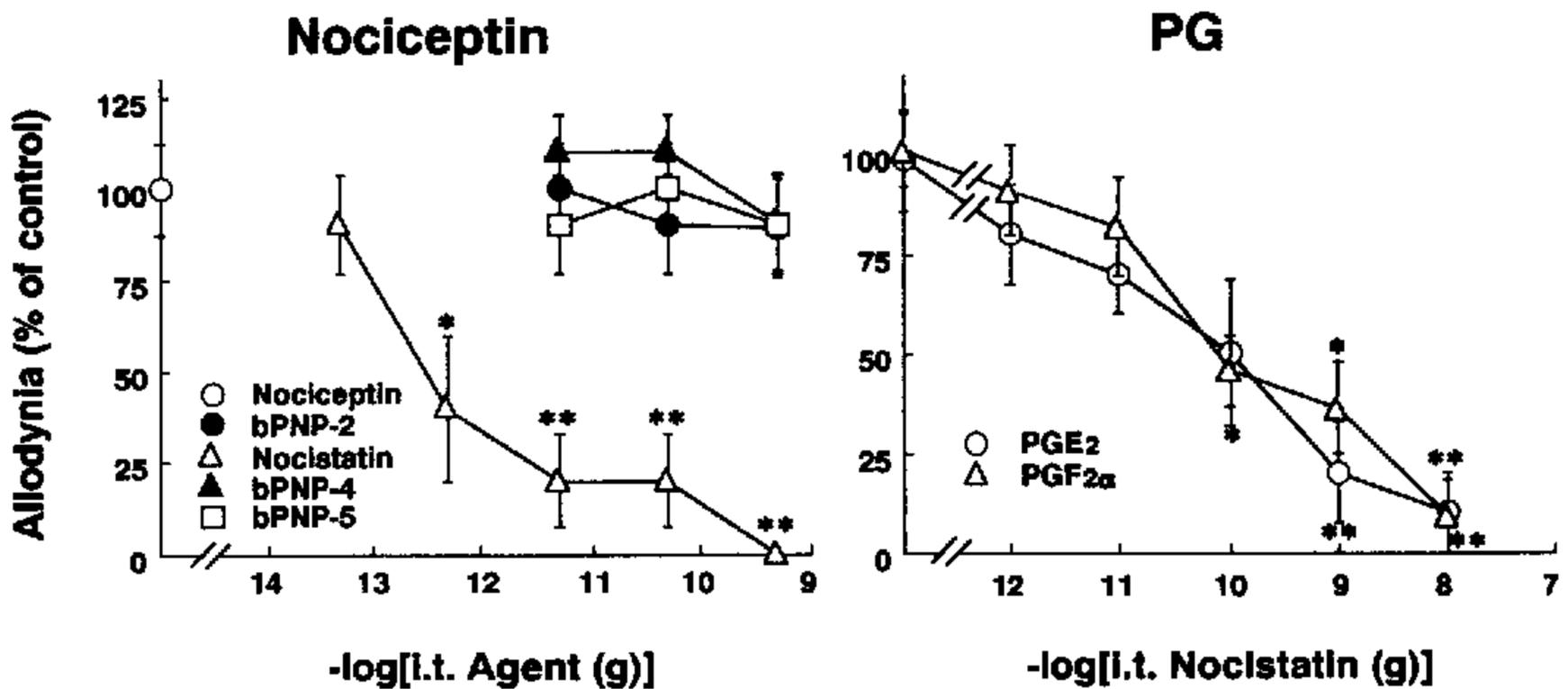


図 3 ノシスタチンによるアロディニアの抑制

ノシセプチン (50 pg)、PGE₂ (10 ng) または PGF_{2α} (1 μg) と様々な用量のノシスタチン、bPNP-2、bPNP-4、bPNP-5 を同時に髄腔内投与してそれぞれ 10、5、15 分後にアロディニアを評価した。

マウスホルマリンテストに対するノシセプチンおよびノシスタチンの効果

ノシスタチンはホルマリンテストの第 1 相および第 2 相ともに抑制し (図 4)、ノシスタチンの鎮痛効果はナロキソンで拮抗できなかった。一方、低用量 (pg オーダー) のノシセプチンはホルマリンテストの第 2 相を増強させたが、この作用はノシスタチンで抑制できた。高用量 (μg オーダー) のノシセプチンはホルマリンテストの第 1 相およ

び第 2 相ともに抑制したが、この作用はノシスタチンで拮抗できなかった (図 5)⁴。髄腔内投与のノシスタチンおよび低用量のノシセプチンは、運動麻痺を生じなかったが、3 μg のノシセプチンでは明らかな下肢麻痺が出現した。

ノシセプチンの発痛および鎮痛作用は議論の余地があるが⁵、ノシセプチンおよびノシスタチンの産生がどのように調節され、痛みをコントロールしているのか検討していきたい。

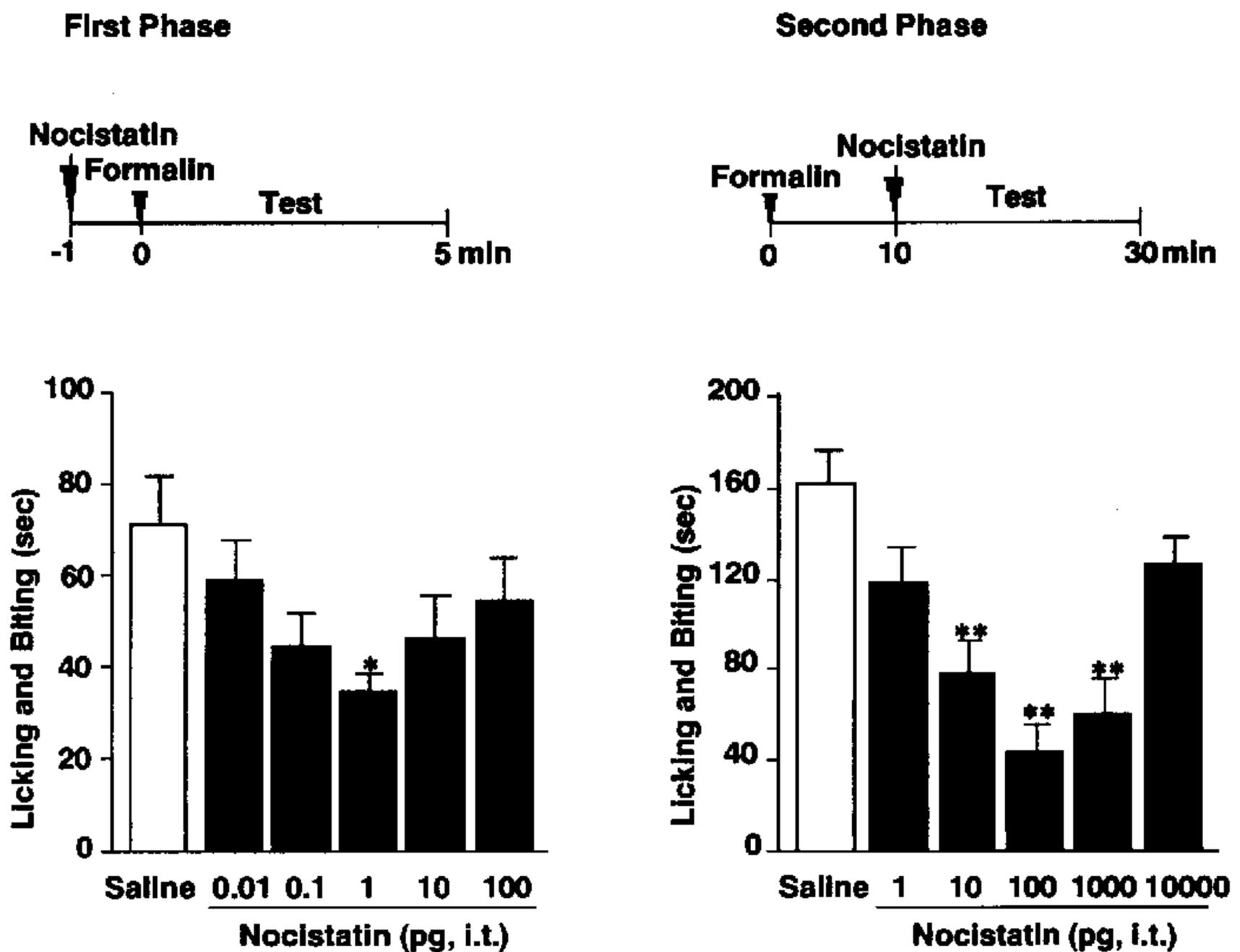


図 4 マウスホルマリンテストに対するノシスタチンの効果

第 1 相: ホルマリン投与 1 分前にノシスタチンを髄腔内投与した。

第 2 相: ホルマリン投与 10 分後にノシスタチンを髄腔内投与した。

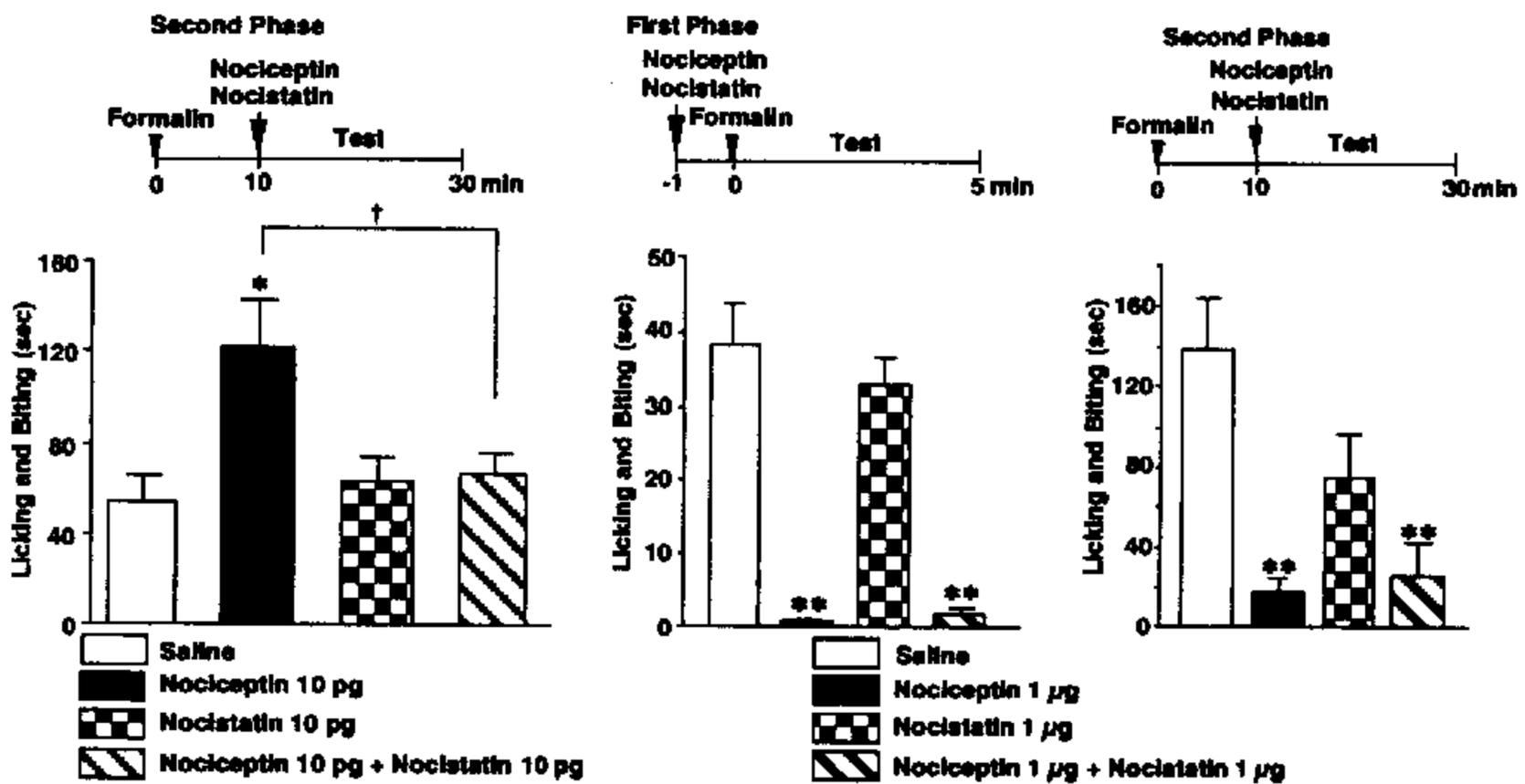


図 5 マウスホルマリンテストに対するノシセプチンの効果

- A: 1% マウスホルマリンテストに対する低用量のノシセプチンの効果
 B: 2% マウスホルマリンテストに対する高用量のノシセプチンの効果 (第 1 相)
 C: 2% マウスホルマリンテストに対する高用量のノシセプチンの効果 (第 2 相)

参考文献

- 1) Okuda-Ashitaka E, Minami T, Tachibana S, et al : Nocistatin, a peptide that blocks nociceptin action in pain transmission. *Nature* 392 : 286-289, 1998.
- 2) Hara N, Minami T, Okuda-Ashitaka E, et al : Characterization of nociceptin hyperalgesia and allodynia in conscious mice. *Br J Pharmacol* 121 : 401-408, 1997.
- 3) Minami T, Okuda-Ashitaka E, Mori H, et al : Characterization of nociceptin/orphanin FQ-induced pain responses in conscious mice: neonatal capsaicin treatment and NMDA receptor GluR ϵ subunit knockout mice. *Neuroscience* 97 : 133-142, 2000.
- 4) Nakano H, Minami T, Abe K, et al : Effect of intrathecal nocistatin on the formalin-induced pain in mice versus that of nociceptin/orphanin FQ. *J Pharmacol Exp Ther* 292 : 331-336, 2000.
- 5) Ito, S., Okuda-Ashitaka, E., Imanishi, T., and Minami, T., Central roles of nociceptin/orphanin FQ and nocistatin: allodynia as a model of neural plasticity, *Prog. Brain Res.*, (2000) in press.

【実験方法】

実験には体重 21 - 24 g の ddY 系雄性マウスを用い、i.t. 投与用薬物は人工脳脊髄液 (CSF)、足蹠内 (i.pl.) 局所投与用薬物は生理食塩水にそれぞれ溶解した。I.t. 投与は Hylden と Wilcox の方法に準じ、無麻酔下で腰椎の 5 番と 6 番の間に注射針を挿入し、薬液を 5 μ l / mouse の割合で直接投与した。I.pl. 投与はマウス足蹠内へ 20 μ l / mouse の割合で投与した。抗侵害刺激効果の測定は、capsaicin 1.6 μ g / 20 μ l を i.pl. 投与し、投与部位に対する licking および biting 行動を指標に capsaicin 投与直後から 5 分間測定した⁴⁾。

【結果と考察】

1) Nociceptin および Nociceptin N-末端フラグメントの i.t. 投与による抗侵害刺激効果

Nociceptin の低用量 (fmol) を、i.t. 投与すると Substance P 投与時に見られるのと同様な SBL 行動と痛覚過敏反応を示した (Fig.2)。

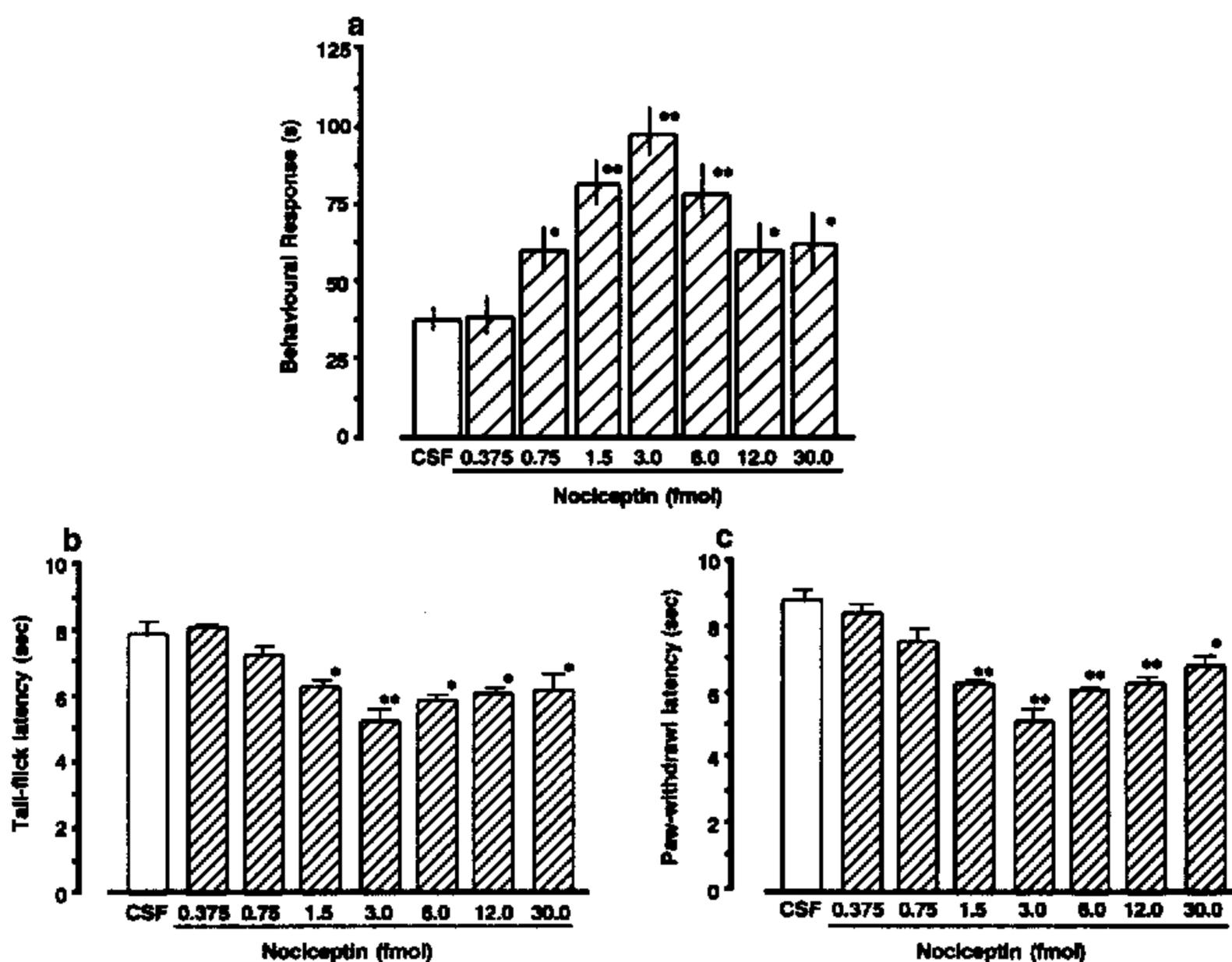


Fig. 2 Nociceptin-induced scratching, licking and biting (a), and hyperalgesia elicited by nociceptin in the tail-flick (b) and paw-withdrawal (c) tests. ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ when compared with CSF-controls.

Nociceptin による SBL 行動は、N-末端フラグメントによって拮抗された。特に Nociceptin の主要代謝産物である Nociceptin (1-13) は Nociceptin 誘発性 SBL 行動に対し等濃度によって有意に抑制することができる (Fig.3)。しかし、Nociceptin (1-13) は Substance P および NMDA 投与による SBL 行動に対しては無影響であり、Nociceptin の作用に対して選択的であった。一方、高濃度の Nociceptin (300-1200 pmol) を i.t. 投与すると、tail-flick や paw-withdrawal 反応の反応時間が延長した。しかし、Nociceptin によるこの抗侵害刺激効果は Nociceptin N-末端フラグメントによって拮抗されなかった。

化学的侵害刺激作用を示す capsaicin 法においても Nociceptin は比較的高用量の i.t. 投与によって 15分後 peak となる用量依存的抗侵害刺激効果を示した。N-末端フラグメントの (1-13) は Nociceptin よりもかなり弱く、ED₅₀ 値は Nociceptin の約 1/3 であった (Table 1)。アミド化された Nociceptin (1-13)NH₂ は Nociceptin の 10 倍以上の強度を示し、かつ持続的抗侵害刺激効果を示した。

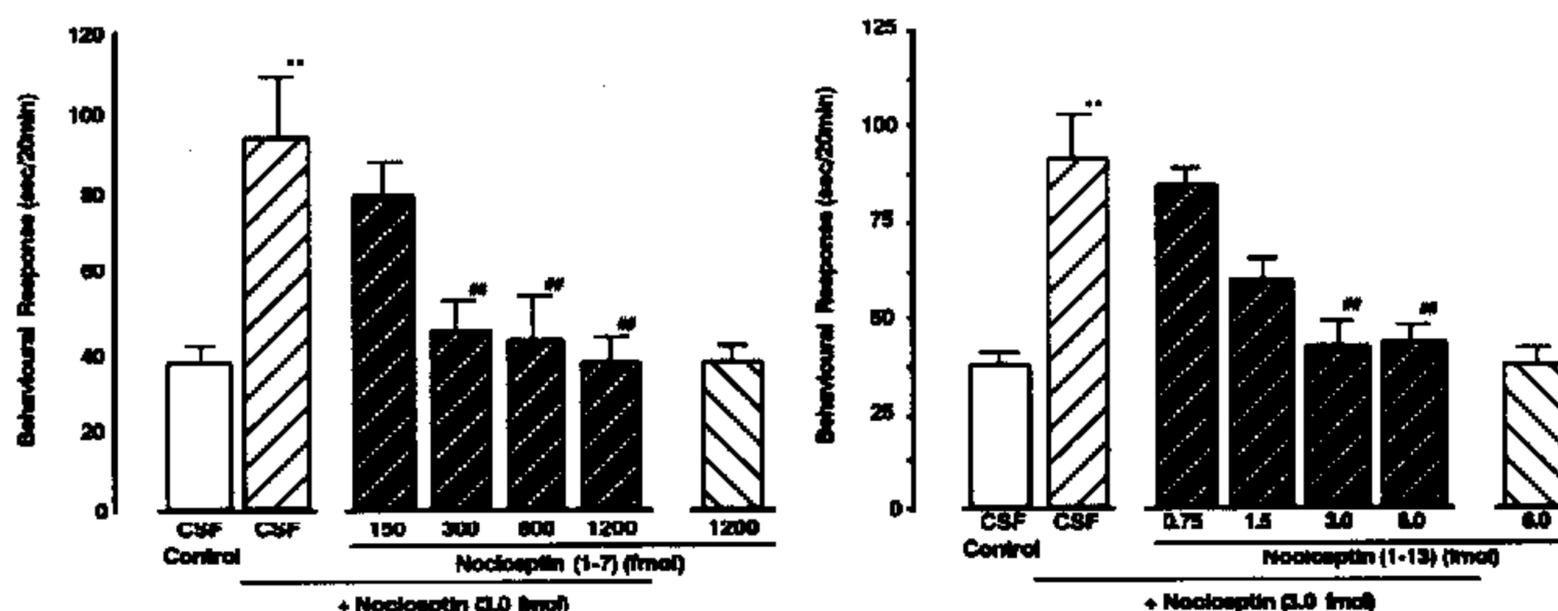


Fig. 3 Effect of nociceptin N-terminal fragments on nociceptin-induced scratching, licking and biting response. ** $P < 0.01$ when compared with CSF-controls. *** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ when compared with nociceptin (3.0 fmol) alone.

2) Nociceptin および Nociceptin N-末端フラグメントの足趾内局所投与による抗侵害刺激効果

Capsaicin 法により Nociceptin N-末端フラグメントの末梢性抗侵害刺激効果を Nociceptin と比較検討した。Nociceptin (30-240 pmol) を i.pl.投与すると、投与直後を peak とする用量依存的な抗侵害刺激効果が認められた (Table 1)。Nociceptin (1-13) も Nociceptin とほぼ同程度の抑制効果が認められた。Nociceptin (1-13)NH₂ はさらに強力、かつ持続的効果を示した。

Table 1 Antinociceptive potency of nociceptin, nociception(1-13) and nociception(1-13)NH₂ in the capsaicin test

Compounds	Spinal		Peripheral	
	ED ₅₀ (pmol)	Relative potency	ED ₅₀ (pmol)	Relative potency
Nociceptin	830 (558 - 1234)	1.0	160 (90 - 284)	1.0
Nociceptin (1-13)	2500 (1860 - 3361)	0.33	178 (94 - 335)	0.9
Nociception(1-13)NH ₂	66 (23 - 194)	12.6	84 (45- 116)	1.9
Morphine	173 (66- 457)	4.8	780 (318 - 1911)	0.2

Values in parenthesis are 95 % confidence limits.

【考察】

Nociceptin N-末端フラグメント i.t. 投与による抗侵害刺激効果については、すでに Nociceptin (1-7) および Nociceptin (1-11) を用いて報告されているものの、その効果はきわめて弱いものである⁵⁾。これらフラグメントを使用した理由として、マウス脳スライスによる実験で、Nociceptin は (1-7) や (1-11) に代謝分解されるとする Montiel⁶⁾ らの報告に基づいたものと推測される。しかし、マウス脊髄シナプス膜標品を用いた我々の研究結果では主要なN-末端代謝物として Nociceptin (1-13) を見出した³⁾。本実験により、Nociceptin および Nociceptin (1-13) の i.pl. 投与は明らかな抗侵害刺激効果を示し、i.t. 投与時より低用量で有効であることが判明した。しかも、i.pl. 投与された Nociceptin (1-13) は Nociceptin と同程度の効果を示した。したがって、中枢性抗侵害刺激効果以外に新たに、末梢部位を考慮に入れなければならない。N-末端フラグメントの (1-7) や (1-11) は nociceptin receptor や opioid receptor と結合性を示さないことから、Nociceptin (1-13) も他の部位に作用している可能性が考えられる。最近、マウス脳内に、Nociceptin (1-11) と高い親和性を示す結合部位の存在が見出されていることから⁷⁾、この部位を介しての作用が想定される。一方、本実験において Nociceptin (1-13)NH₂ i.t. 投与は Nociceptin よりも強い抗侵害刺激効果を示した。Nociceptin (1-13)NH₂ はラット脳内 Nociceptin receptor と結合することから⁸⁾、Nociceptin (1-13) とは異なり、脊髄内 Nociceptin receptor に対し強い agonist 作用を有するものと考えられる。

【文献】

- 1) Sakurada, T. et al. **Br. J. Pharmacol.** 127.1712-1718 (1999)
- 2) Sakurada, C. et al. **Brain Res.** 841. 85-92 (1999)
- 3) 桜田 誓ら, 第20回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム要旨集
p22-25 (1999)
- 4) Sakurada, T. et al. **Neuropharmacology** 31. 1279-1285 (1992)
- 5) King, M.A. et al. **Neurosci. Lett.** 223. 113-116 (1997)
- 6) Montiel, J. L. et al. **J. Neurochem.** 68. 354-361 (1997)
- 7) Mathis, J.P. et al. **Synapse.** 34. 181-186 (1999)
- 8) Dooley, C.T. and Houghten, R.A., **Life Sci.** 59. PL23-29 (1996)

山田清文¹、間宮隆吉¹、宮本嘉明¹、野田幸裕¹、竹島 浩²、鍋島俊隆¹

¹名古屋大院・医・医療薬学・病院薬剤部、²久留米大・生命研・細胞生物

はじめに

ノシセプチン(NOC)は 17 個のアミノ酸からなる内在性のオピオイド様ペプチドであり、痛覚の制御に関与していることが示唆されている [1,2]。一方、NOC を動物に投与すると種々の学習行動が障害されることから、NOC は学習記憶にも関与していると考えられる [3,4]。我々は NOC 受容体遺伝子欠損マウス (NOCR-KO マウス) [5] の学習行動および海馬の長期増強 (LTP) を解析し、NOCR-KO マウスでは学習記憶能が亢進していることを明らかにした [6,7]。本シンポジウムでは、NOC 神経系の学習記憶における役割とそのメカニズムについて NOCR-KO マウスを用いた研究を中心に紹介する。

文脈学習および音条件付け試験

マウスを実験装置 (30 x 25 x 17 cm) に入れ、1.5 分後より条件刺激として 85 dB の音刺激を 30 秒間与え、最後の 2 秒間には電気ショック (0.5 mA) を床グリッドから負荷した。電気ショックの負荷直後から 1 分間の無動時間を測定した。文脈学習記憶試験では、学習訓練の 1 または 7 日後、マウスを上記の実験装置に入れ 3 分間の無動時間を測定した。音条件付け試験では、学習訓練の 1 または 7 日後、マウスを上記の実験装置とは全く別のケージに入れ、2 分後より音条件刺激を 2 分間与えて無動時間を測定した。

海馬機能に依存した文脈学習記憶試験において、電気ショックを負荷した直後および 1 日後に電気ショックを受けた装置に戻した時、NOCR-KO マウスと野生型マウスとの間に無動時間の差は認められなかった。しかし、電気ショックの 7 日後には NOCR-KO

マウスは野生型に比較しては有意に長い無動時間を示した。一方、海馬機能に非依存的な音条件付けにおいては両群間の無動時間に差は認められなかった。したがって、NOCR-KO マウスにおける学習記憶の増強には海馬が重要な役割を果たしていることが示唆された。

NMDA 受容体結合

NOCR-KO マウスと野生型マウスの間で、脳ホモジュネートへの [^3H]MK-801 結合に差はなかった。しかし、グルタミン酸 (Glu) , グリシン (Gly) およびスベルミジン (SPD) の存在下で [^3H]MK-801 結合を測定すると、NOCR-KO マウスは有意に高い [^3H]MK-801 結合活性を示した。したがって、NOCR-KO マウスでは、NMDA 受容体刺激に伴うイオンチャネルの活性化が増強していることが示唆された。

NMDA 受容体刺激誘発性 [$^{45}\text{Ca}^{2+}$] 取込み

[^3H]MK-801 結合活性の増加の生理的な意義を検討するために、NMDA 受容体の刺激に伴う脳シナプトゾームへの [$^{45}\text{Ca}^{2+}$] 取込みの変化について検討した。NOCR-KO マウスと野生型マウスの間で、basal の [$^{45}\text{Ca}^{2+}$] 取込みに変化は認められなかった。しかし、Glu, Gly および SPD で刺激した場合、NOCR-KO マウスの [$^{45}\text{Ca}^{2+}$] 取込み活性は野生型マウスに比較して著明に増加した。また、この増強反応は MK-801 により完全に抑制された。したがって、NOCR-KO マウスでは機能的にも NMDA 受容体活性が亢進していることが示唆された。

カルシウムカルモジュリンキナーゼ (CaMK) II 活性およびリン酸化

最後に、NMDA 受容体の刺激に伴うシグナル伝達の変化について、特に学習記憶や海馬の LTP との関連が示唆されている CaMKII を指標に検討した。マウス海馬切片を作製し、NMDA, Gly および SPD と 37 °C でインキュベートした後、カルシウム依存性および非依存性の CaMKII 活性および CaMKII α のリン酸化について検討した。

NOCR-KO マウスでは、NMDA 受容体の刺激によりカルシウム非依存性の CaMKII 活性

が野生型マウスに比較して有意に増加した。このカルシウム非依存性 CaMKII 活性の増加は MK-801 により完全に拮抗された。リン酸化 CaMKII α 抗体を用いたウエスタン解析により、NOCR-KO マウスでは NMDA 受容体刺激による CaMKII α のリン酸化の増加が認められた。一方、野生型マウスにおいて NMDA 受容体刺激による CaMKII α のリン酸化は NOC により抑制された。

まとめ

本研究より、NOCR-KO マウスでは海馬に依存した学習記憶機能が亢進しており、この変化には NMDA 受容体/イオンチャネル複合体の活性化とその下流のシグナル伝達の増強が関与していることが示唆された。一方、これまでの電気生理学的研究[8]および本研究結果により、NOC はポストシナプス性に神経細胞の興奮性を抑制し、また NMDA 受容体のシグナル伝達を抑制することが示唆された。したがって、NOC 神経系は海馬の NMDA 受容体/イオンチャネル複合体を介したシグナル伝達に対して抑制的に作用することにより、学習記憶を制御している可能性がある。

参考文献

- [1] Meunier et al. (1995) *Nature* 377: 532-535.
- [2] Reinscheid et al. (1995) *Science* 270: 792-794.
- [3] Sandin et al. (1997) *Eur. J. Neurosci.* 9: 194-197.
- [4] Nabeshima et al. (1999) *Brain Res.* 848: 167-173.
- [5] Nishi et al. (1997) *EMBO J.* 16: 1858-1864.
- [6] Mamiya et al. (1998) *Brain Res.* 783: 236-240.
- [7] Manabe et al. (1998) *Nature* 394: 577-581.
- [8] Yu and Xie. (1998) *J. Neurophysiol.* 80: 1277-1284.

S-10 新規 ORL1 受容体拮抗剤 J-113397 の薬理的解析

○ 尾崎 諭司、川元 博、伊藤 良樹、岩沢 善一、太田 尚
万有製薬（株）つくば研究所

【緒言】

Nociceptin/ Orphanin FQ (NC/OFQ)の痛覚経路における作用に関する報告は、その投与部位、用量、その他の諸条件により結果が異なっており、NC/OFQ が痛覚を複雑に制御している可能性が示唆されている。上位中枢では主に侵害刺激への反応性増強の方向、また脊髄レベルにおいては、低用量では侵害刺激への反応性の増強、高用量では抑制と、双極性の薬理作用を示すことが報告されているが、果たして痛覚伝導における NC/OFQ の生理的役割が侵害刺激への反応性増強なのか抑制なのか未だ明らかにはなっていない。我々は NC/OFQ およびその受容体である ORL1 の生理機能を明らかにすることを目的に ORL1 受容体拮抗剤の探索を行い、我々の化合物ライブラリー中より ORL1 に親和性を有するものを見出した。今回、その誘導化により、強力かつ選択的な拮抗剤である J-113397 (1-[(3R,4R)-1-cyclooctylmethyl-3-hydroxymethyl-4-piperidyl]-3-ethyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one) (Fig.1) (Kawamoto *et al.*, 1999; Ozaki *et al.*, 2000) を創製したので、その活性および選択性、ならびに各種痛覚モデルにおける効果について報告する。

【実験方法】

In vitro における ORL1 受容体に対する親和性および選択性

ORL1, μ -, δ -, κ -オピオイド受容体を発現させた CHO 細胞膜画分を用いた受容体結合実験により確認した。放射標識リガンドとしては [125 I]Tyr¹⁴-nociceptin, [3 H]diprenorphine, [3 H]DADLE, [3 H]U-69593 を用いた。

In vitro における agonist/antagonist 作用の確認

各受容体を発現させた CHO 細胞膜画分を用いた [35 S]GTP γ S 結合により行

った。J-113397 の antagonist 活性の確認は NC/OFQ, DAMGO, DADLE, U-69593 による [³⁵S]GTPγS 結合増加作用に対する拮抗作用により確認した。

侵害刺激に対する J-113397 の効果

実験には ICR 系雄性マウス (20-25 g) および SD 系ラット (200-250 g) を用いた。NC/OFQ は脳室内に、J-113397 は背側部皮下より投与した。侵害刺激に対する反応性は、tail-flick 法(mouse)および hot plate 法(rat)、ホルマリン誘発疼痛試験(mouse)および Randall-Selitto 法によるカラゲニン誘発疼痛試験(rat)により評価した。

【結果および考察】

In vitro における ORL1 受容体に対する親和性および選択性

J-113397 は濃度依存的に [¹²⁵I]Tyr¹⁴-nociceptin の ORL1 受容体への結合を阻害し、その IC₅₀ 値は 2.3 nM であった。μ-, δ-および κ-オピオイド受容体を用いた受容体結合実験においては強い親和性を示さず、IC₅₀ 値はそれぞれ、2.2 μM, >10 μM, 1.4 μM と算出された (Table 1)。以上より J-113397 は ORL1 受容体に高い親和性を有し、他のオピオイド受容体に 600 倍以上選択的であることが確認された。

In vitro における agonist/antagonist 作用の確認

J-113397 が拮抗剤なのか作動薬なのかを確認するため、in vitro での ORL1 および他の opioid 受容体発現細胞への [³⁵S]GTPγS 結合に対する J-113397 の効果を調べた。J-113397 は NC/OFQ による ORL1 受容体を介した [³⁵S]GTPγS 結合を濃度依存的に阻害し、その IC₅₀ 値は 5.3 nM であった (Table 1)。しかしながら μ-, δ-および κ-オピオイド受容体を用いた [³⁵S]GTPγS 結合実験においては強い阻害活性は認められず、それらの IC₅₀ 値は >1 μM であることが確認された。またすべての受容体において、J-113397 単独では [³⁵S]GTPγS 結合量の増加が認められず、これらの結果より J-113397 は他のオピオイド受容体にアゴニスト活性を有しない、ORL1 受

容体に選択的なアンタゴニストであることが明らかとなった。

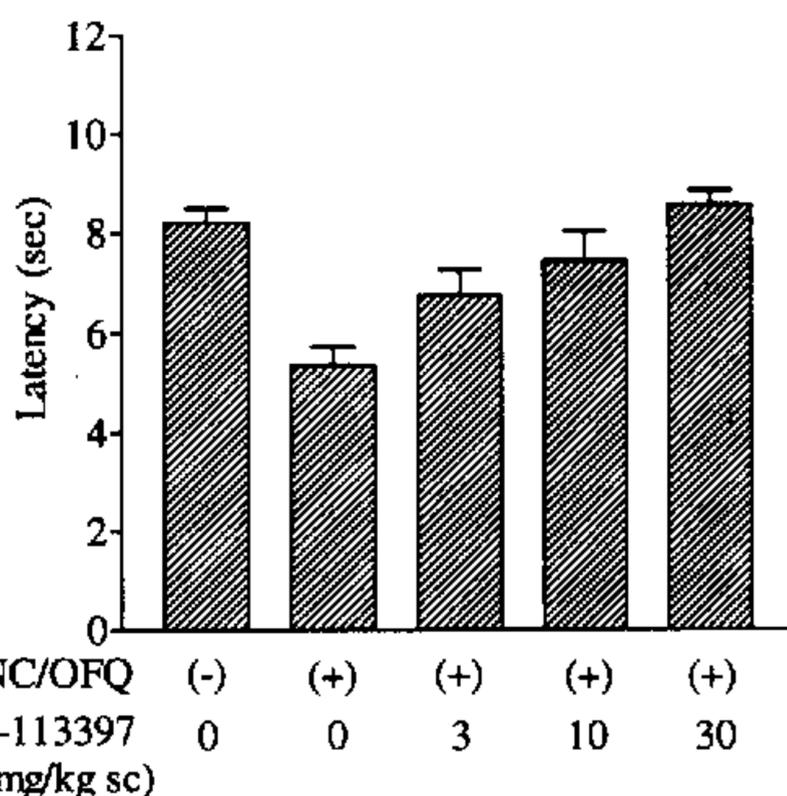
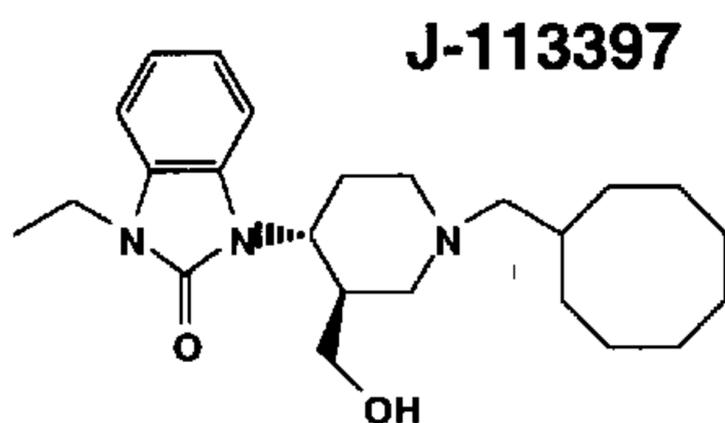


Fig.1. Structure of J-113397

Fig.2. Antagonistic effects of J-113397 on NC/OFQ-induced hyperalgesia in the tail-flick test

Table 1. *In vitro* binding affinity of J-113397

	binding affinity: IC ₅₀ (nM)				function (nM)
	ORL1	μ	κ	δ	IC ₅₀
J-113397	2.3	2200	1400	>10000	5.3

侵害刺激に対する J-113397 の効果

マウス tail-flick 試験において J-113397 は NC/OFQ (i.c.v.) による侵害刺激への反応性増強作用を用量依存的に抑制した (Fig.2)。しかしながら J-113397 単独では熱侵害刺激に対する反応性に変化は認められなかった。また、ラット hot plate 試験においても J-113397 は NC/OFQ (i.c.v.) による侵

害刺激への反応性の増強を用量依存的に抑制したが、J-113397 単独では熱侵害刺激に対する反応性に変化は認められなかった。一方、ホルマリンおよびカラゲニンによる炎症性疼痛モデルにおいては、J-113397 は単独で明らかな鎮痛作用を示した。また、これらのすべての試験系においてモルヒネは単独で明らかな鎮痛作用を示した。

【結論】

J-113397 は強力かつ選択的な ORL1 受容体拮抗剤であることが明らかとなった。*In vivo*において J-113397 は末梢投与により NC/OFQ による侵害刺激への反応増強を完全に抑制したことから、本拮抗剤が生体内においても拮抗作用を示すことが明らかとなった。更に J-113397 はモルヒネとは異なり炎症性疼痛モデルにおいてのみ有効であったことから、ORL1 受容体が炎症時の痛覚過敏反応に関与する可能性が示唆された。

【引用文献】

Kawamoto, H., Ozaki, S., Itoh, Y., Miyaji, M., Arai, S., Nakashima, H., Kato, T., Ohta, H., Iwasawa, Y., 1999. Discovery of the first potent and selective small molecule opioid receptor-like (ORL1) antagonist: 1-[(3*R*,4*R*)-1-cyclooctylmethyl-3-hydroxymethyl-4-piperidyl]-3-ethyl-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one (J-113397). *J. Med. Chem.* 42(25), 5061-5063.

Ozaki, S., Kawamoto, H., Itoh, Y., Iwasawa, Y., Ohta, H., 2000. A potent and highly selective nonpeptidyl nociceptin/orphanin FQ receptor (ORL1) antagonist: J-113397. *Eur. J. Pharmacol.* 387(3), R17-R18.

S-11

脊髄におけるノシセプチンの疼痛モダリティー 特異的役割

○井上 誠、植田弘師

長崎大学薬学部分子薬理学教室

緒言

ノシセプチンは発痛あるいは鎮痛の相反する作用を有することが報告されており、我々も脊髄並びに末梢性知覚神経末終末において、用量に応じて侵害および抗侵害作用が示すことを報告している(1,2)。しかしながら、ノシセプチンの疼痛制御機構における生理的役割については十分な検討がなされていない。我々は最近、マウスにおける新しい末梢性疼痛試験法を確立し(1,3)、これまでの熱、機械、化学あるいはそれらの複合型といった痛みのモダリティーではなく、分子レベルでの痛みのモダリティーの分類を試み、異なる3種の疼痛伝達経路を明らかにした。Type 1はブラジキニン(BK)などによって刺激されるサブスタンス P (SP)含有ポリモーダル C 線維、type 2はATPなどによるSP非含有ポリモーダル C 線維、type 3はプロスタグランジン I₂ (PGI₂)などによるおそらく A δ 線維を介する伝達経路である。本研究ではこの分子特異的疼痛モダリティーにより、ノシセプチンの脊髄における生理的役割について、その受容体遺伝子欠損マウスおよび受容体拮抗薬を用いて、詳細に検討した。

結果および考察

1. ノシセプチン受容体遺伝子欠損マウスを用いたノシセプチンの生理的役割の解明

末梢性疼痛試験法を用い、BK (type1)、ATP (type2)および

PGI₂ (type3)誘発性侵害反応を遺伝子欠損マウスおよび野生型マウスで比較した。その結果、BK 誘発性侵害反応は遺伝子欠損マウスにおいて野生型マウスに比べ、1000 倍もの過敏反応が観察された。一方、ATP および PGI₂ 誘発性侵害反応は両者に有意な変化は認められなかった。BK 反応は脊髄において、SP を、一方、ATP および PGI₂ はグルタミン酸を伝達物質とすることを見出していることから、次に、脊髄クモ膜下腔内に SP あるいは NMDA を投与し、その侵害閾値を遺伝子欠損マウスおよび野生型マウスで比較した。その結果、SP 誘発性侵害反応に過敏応答が観察され、一方、NK1 受容体拮抗薬存在下での NMDA 反応は無影響であった。従って、脊髄において、ノシセプチン神経系は SP 含有ポリモーダル C 線維(type1)の受容ニューロンの下流に存在し、侵害情報を抑制する方向に働く可能性が示唆された。

2. ノシセプチン受容体拮抗薬を用いたノシセプチンの生理的役割の解明

上述したようにノシセプチン受容体遺伝子欠損マウスを用いその生理的役割が明らかになったが、遺伝子欠損マウスにおいては、発生あるいは成長過程において、代償機構が働く可能性があることから、次に脊髄クモ膜下腔内へのノシセプチン受容体拮抗薬の適用により、ノシセプチンの脊髄における生理的役割を検討した。その結果、やはり、末梢局所への BK 投与あるいは脊髄クモ膜下腔内への SP 投与による侵害反応は拮抗薬によって増幅された。ところが、末梢局所への ATP や PGI₂ あるいは脊髄クモ膜下腔内への NMDA (NK1 受容体拮抗薬存在下) 投与による侵害反応は顕著に抑制された。従って、脊髄においてノシセプチン神経系は、type1 の受容ニューロンの下流に存

在し、侵害情報を抑制するものと、グルタミン酸含有神経(type2および type3)の受容ニューロンの下流に存在し、侵害情報を興奮する方向に働くもののが存在することが明らかになった(図1)。また、受容体遺伝子欠損マウスでは、疼痛制御機構において、発生あるいは成長過程で何らかの代償機構が働くために結果が異なったものと推測される。

本研究結果から、ノシセプチンは脊髄において、痛みのモダリティーによって、相反する役割を担うことが明らかになった。

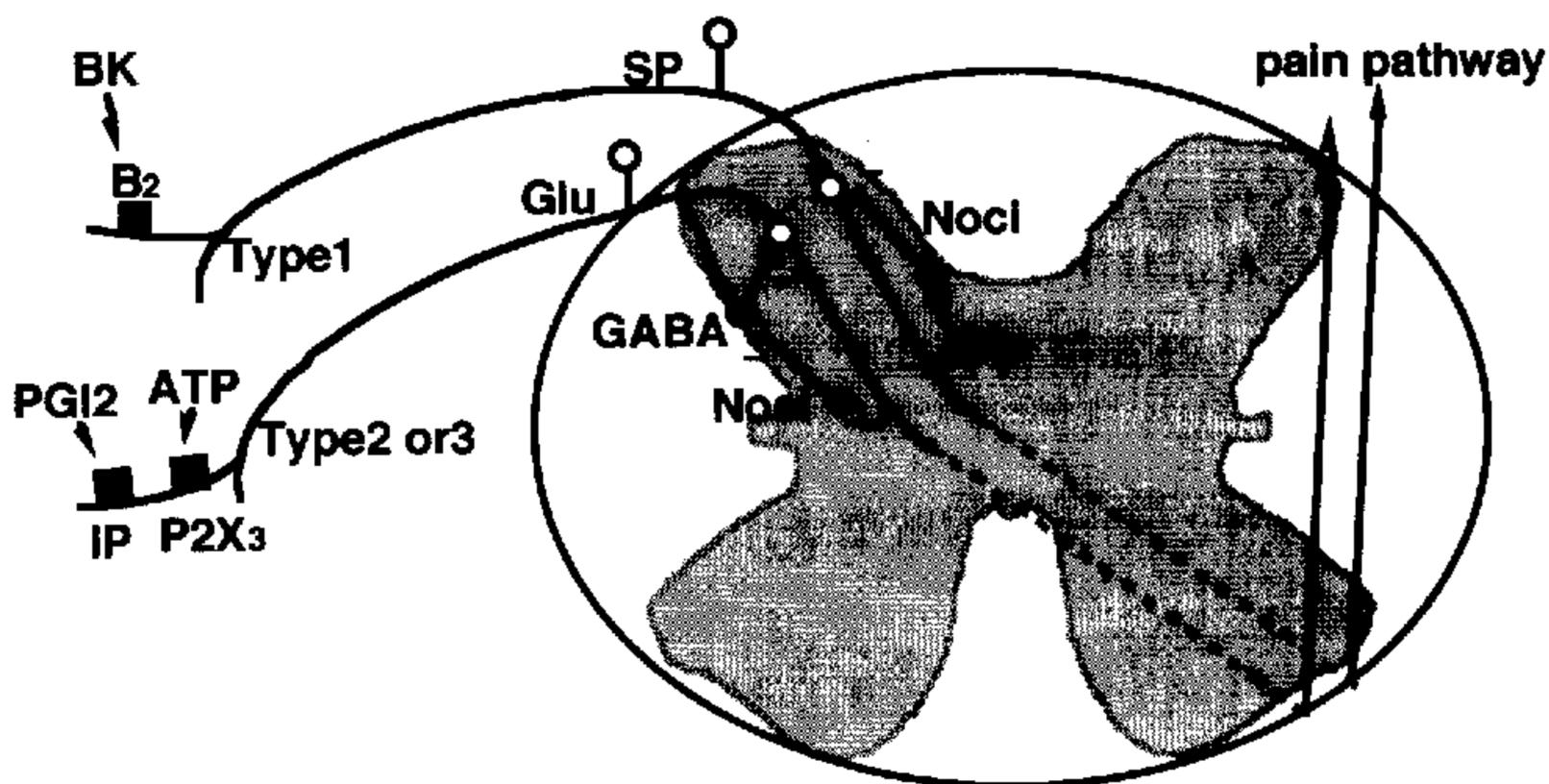


図1 脊髄におけるノシセプチンの疼痛モダリティー特異的役割

参考文献

1. INOUE M, Kobayashi M, Kozaki S, Zimmer A, UEDA H: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 10949-10953 (1998).
2. INOUE M, Shimohira I, Yoshida A, Zimmer A, Takeshima H, Sakurada T, UEDA H: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 291, 308-313 (1999).
3. UEDA H: *Jpn. J. Pharmacol.* 79,263-268 (1999).