

【ポスターセッション】

セッション2：オピオイド鎮痛物質

- P8 **内因性抗鎮痛系の活性化に及ぼす通電鍼刺激の影響**
深澤洋滋、岸岡史郎、前田武彦、清水典史、山本千鶴子、山本博之
和歌山県立医科大学薬理学教室
Effects of electroacupuncture on the activation of endogenous anti-analgesic system in rats
Yohji Fukazawa, et al, Department of Pharmacology, Wakayama Medical University 64-68
- P9 **U50488Hによる熱性痛覚過敏の機序 - μ 及びORL1受容体との関連の検討 -**
関山祐詩¹、内海潤²、角田俊信¹、花岡一雄¹
¹東京大学医学部附属病院麻酔科・痛みセンター、²東レ株式会社医薬企画部
Thermal Hyperalgesia Following Peripheral U50488H Administration Is Not Mediated by
 μ -opioid or ORL1 Receptors Systems, Hiroshi Sekiyama, et al, Department
of Anesthesiology and Pain Relief Center, The University of Tokyo Hospital 69-72
- P10 **神経傷害モデルマウスにおける末梢性モルヒネ鎮痛効果の欠如**
川島敏子、植田弘師、井上誠
(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学研究室)
Lack of peripheral morphine analgesia in nerve injury type of neuropathic model mice
Toshiko Kawashima, et al, Division of Molecular Pharmacology and Neuroscience,
Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences 73-75
- P11 **エンドモルフィン誘発性抗侵害作用におけるD-Pro²-エンドモルフィンの**
選択的拮抗性について
櫻田忍¹、内山弘子¹、渡邊広行¹、溝口広一¹、藤村努、村山季美枝、櫻田司²
¹東北薬科大学機能形態学教室、順天堂大学医学部、²第一薬科大学生化学
Endomorphins analogues containing D-Pro² antagonizes endomorphin antinociception in mice
Shinobu Sakurada, et al, Department of Physiology and Anatomy,
Tohoku Pharmaceutical University 76-80
- P12 **モルフィンの副作用におけるモルフィンとモルフィノンの比較**
石田隆、大石哲也、塚原邦浩、山野茂、竹之下玲子、喜多秀樹、土岐智
福岡大学薬学部衛生科学教室
Possible involvement of morphinone in appearance of side effects of morphine
Takashi Ishida, et al, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University 81-84
- P13 **モルヒネとモルヒネ-6-グルクロナイドの脳室内投与後の脳内分布の相違**
黄倉崇、込山則行、齋藤正典、藤井亜紀、中西美智、山田静雄、木村良平
静岡県立大学薬学部薬剤学教室
Differential brain distribution of morphine and morphine-6-glucuronide after the
intracerebroventricular injection in rats, Takashi Okura, et al,
Department of Biopharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka 85-89
- P14 **ラビット手術麻酔モデルの開発 - 超短時間作用性 μ -agonist, remifentanilによる検討 -**
林田真和、福永篤翁、目野亜希、関山祐詩、有田英子、花岡一雄
東京大学医学部附属病院麻酔科・痛みセンター
A rabbit model for the study of surgical anesthesia-Validation with ultra-short acting
 μ -agonist: remifentanil-, Masakazu Hayashida, et al, Department of Anesthesiology
and Pain Relief Center, The University of Tokyo Hospital 90-95
- P15 **超短時間作用性 μ -agonist: remifentanilの急性耐性発現 - ラビットモデルにおける検討 -**
林田真和、福永篤翁、目野亜希、関山祐詩、有田英子、花岡一雄
東京大学医学部附属病院麻酔科・痛みセンター
Acute tolerance development in ultra-short acting μ -agonist: remifentanil in a rabbit model of
surgical anesthesia/analgesia -, Masakazu Hayashida et al, Department of Anesthesiology
and Pain Relief Center, The University of Tokyo Hospital 96-99

内因性抗鎮痛系の活性化に及ぼす通電鍼刺激の影響

深澤洋滋、岸岡史郎、前田武彦、清水典史、山本千鶴子、山本博之
和歌山県立医科大学 薬理学教室

Effects of electroacupuncture on the activation of endogenous anti-analgesic system in rats

Yohji Fukazawa, Shiroh Kishioka, Takehiko Maeda, Norifumi Shimizu,
Chizuko Yamamoto, Hiroyuki Yamamoto
Department of Pharmacology, Wakayama Medical University

Summary: Several lines of evidence imply that there exists an endogenous anti-analgesic system which is involved in the modulation of opioid analgesia. In this experiment, we designed to evaluate the site and the duration of anti-analgesic action induced by electroacupuncture (EA), and the effects of *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist, MK-801, on the anti-analgesic effect. Male Sprague-Dawley rats were exposed to EA (ST-36 or LI-4; 0.1-msec duration at 3 Hz for 45 min), and pain thresholds were assessed by the hind-paw pressure test. The analgesic effect of subcutaneous morphine following EA was significantly attenuated while the electrical stimulation applied to non-acupoint showed no reduction of the analgesia. The attenuation was inversely proportional to the time-interval between EA and morphine injection. When morphine was injected at 120 min after the termination of EA, the anti-analgesic effect induced by EA completely diminished. The analgesic effect of intrathecal, but not intracerebroventricular, morphine was attenuated by EA. The pretreatment with intrathecal MK-801 not only diminished EA-induced antinociception, but also inhibited the attenuation of intrathecal morphine analgesia following the EA. These results suggest that the spinal cord plays a crucial role in the anti-analgesic system induced by EA stimulation, and the NMDA receptor may be involved in the activation of EA-induced anti-analgesic system.

緒言

オピオイドの鎮痛作用を減弱させる内因性物質として、コレシストキニン、Phe-Met-Arg-Phe (FMRF) アミド、ダイノルフィンおよびノシセプチンなどが報告され、生体内に内因性抗鎮痛系が存在することが示唆されてきた¹⁾。この内因性抗鎮痛系の生理学的意義についてはオピオイドの耐性形成に関する可能性が考えられているが²⁾、その活

性の機序については明らかにされていない。われわれはこれまで、電撃フットショックストレスにより内因性オピオイド系が関与する抗侵害刺激作用が惹起されるのみでなく、その後、一過性にモルヒネ鎮痛が減弱することを明らかにし³⁾、内因性オピオイド系の賦活化と内因性抗鎮痛系の活性化の間には密接な関係が存在する可能性を示唆してきた。一方、内因性オピオイド系が関与する抗侵害刺激作用が経穴通電鍼刺激により惹起されることが

知られているが^{4, 5)}、これまで経穴通電鍼刺激と内因性抗鎮痛系の関係についての検討はされていない。

一次感覚神経に含有されている興奮性神経伝達物質のグルタミン酸が *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体を介して痛み情報の伝達に関与し、NMDA 受容体が脊髄後角神経に高密度に分布することが明らかにされている⁶⁾。また、抗鎮痛作用を有するノシセプチンの受容体欠損マウスでは、モルヒネ鎮痛に対する耐性形成能の減弱が認められている⁷⁾、この NMDA 受容体の拮抗薬がモルヒネ鎮痛に対する耐性形成を抑制することが報告されている⁸⁾。これらの結果は、NMDA 受容体が脊髄での抗鎮痛系活性化に関与している可能性を示唆するものである。

そこで今回、経穴通電鍼刺激と内因性抗鎮痛系の関係、ならびに内因性抗鎮痛系に及ぼす NMDA 受容体拮抗薬 (MK-801) の影響について検討した。

実験方法

実験には Sprague-Dawley 系雄性ラット (250–350 g) を使用した。

側脳室内投与のために、ペントバルビタール麻酔下に、定位脳固定装置にラットを固定し、bregma から外側 2 mm、尾側 1 mm の頭蓋表面にガイドカニューレを前もって植え込んだ。側脳室内投与は、1 週間の回復期間の後、ガイドカニューレを介してインジェクションカニューレを頭蓋表面から 5 mm 下方に挿入し、投与液量 10 μ l を 30 秒間で注入することによって行った。脊髄も膜下腔内 (i.t.) 投与は、ペントバルビタール麻酔下に、第 2・第 3 腰椎の椎間よりカニューレ (SP10) を吻側に 2 cm 挿入固定し、1 週間の回復期間の後、薬液 5 μ l とカニューレ内洗浄用の生理食塩液 14 μ l を 30 秒間で注入することにより行った。実験終了後、同じ手法で色素を注入し、正確に薬物が投与されていることを確認

した。

鎮痛作用の測定は後肢加圧法に従い、天秤式加圧装置を用いて後肢足背部を加圧し、足を引くか、またはもがき行動を指標として痛覚閾値圧 (重量; g) を 15 分間隔で測定した。後肢の組織損傷を防ぐため、最大負荷重量は 1500 g とした。鎮痛効果の指標は、痛覚閾値の経時変化および鎮痛曲線下面積 (AUC) とした。

通電鍼刺激は、左右の経穴相当部位または非経穴部位に鍼灸用ステンレス鍼を刺入し、3 Hz、0.1 msec duration の条件下で 45 分間通電することによりおこなった。経穴相当部位として前脛骨筋上部 1/3 (ヒト足三里穴相当部位: ST-36) および第 1 背側骨間筋中央部 ヒト合谷穴相当部位: LI-4) を、非経穴部位としては大殿筋中央部を用いた。

モルヒネの投与量は、皮下投与では 7 mg/kg、側脳室内投与では 25 μ g、i.t. 投与では 10 μ g とした。通電鍼刺激終了 15 分後にそれぞれの投与経路でモルヒネを投与し、モルヒネ鎮痛に及ぼす経穴または非経穴通電鍼刺激の影響を検討した。経穴通電鍼刺激の抗鎮痛作用に及ぼす通電鍼刺激-モルヒネ投与間隔の影響は、モルヒネの投与時間を通電鍼刺激終了 0 分後、15 分後、30 分後、60 分後または 120 分後として検討した。また、MK-801 は、皮下投与では通電鍼刺激開始 15 分前 (0.1 mg/kg) に、i.t. 投与では通電鍼刺激直前 (3.0 μ g) およびモルヒネ投与直前 (1.5 μ g) に処置し、経穴通電鍼刺激による抗侵害刺激作用および抗モルヒネ鎮痛作用に及ぼす MK-801 の影響を検討した。

結果

1. 経穴通電鍼刺激による抗侵害刺激作用

ST-36 の通電鍼刺激により痛覚閾値が徐々に上昇し、刺激開始 30 分後には痛覚閾値上昇が最大となり、それが刺激終了まで持続した。

刺激終了後、痛覚閾値は徐々に下降し、15分後には通電鍼刺激前の閾値にまで回復した (Fig. 1) LI-4 通電鍼刺激においても同様

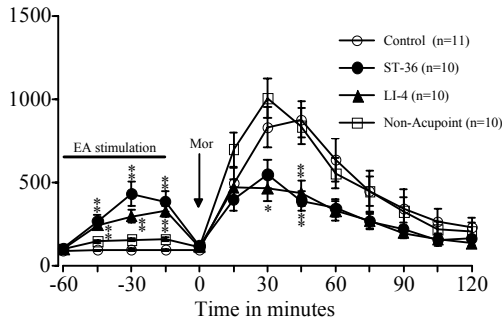


Fig. 1. The time course of the electroacupuncture (EA)-induced antinociception and morphine s.c. analgesia estimated by the hind-paw pressure test. EA was applied to acupoints (ST-36 or LI-4; 0.1-msec duration at 3 Hz for 45 min). Morphine (7 mg/kg, s.c.) was administered at the point indicated by an arrow. Each point represents the mean and vertical bars indicate the S.E.M. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. open circle.

な痛覚閾値の上昇および回復が観察され、両者の痛覚閾値の経時変化および AUC に差は認められなかった。しかし、非経穴刺激により痛覚閾値は上昇しなかった。

2. 経穴通電鍼刺激後のモルヒネ鎮痛

モルヒネ 7 mg/kg 皮下投与により、投与 30 分 45 分後を最大とし、120 分後にはコントロール値に回復する鎮痛作用の経時変化が認められた。ST-36 通電鍼刺激による抗侵害刺激作用消失後、すなわち経穴通電鍼刺激終了 15 分後に皮下投与したモルヒネの鎮痛作用は、通電鍼刺激を行わずに皮下投与したモルヒネの鎮痛作用に比べ有意に減弱した (Fig. 1)。この経穴通電鍼刺激後のモルヒネ鎮痛は、最大鎮痛効果の抑制として観察されたが、鎮痛作用の経時変化は影響を受けなかった。

LI-4 通電鍼刺激後においても、皮下投与モルヒネの鎮痛作用が減弱し、その減弱の程度および経時変化は ST-36 通電鍼刺激後のそれとほぼ同様であった。一方、非経穴刺激後の皮下投与モルヒネの鎮痛作用の経時変化および AUC は、通電鍼刺激を行わず皮下投与した

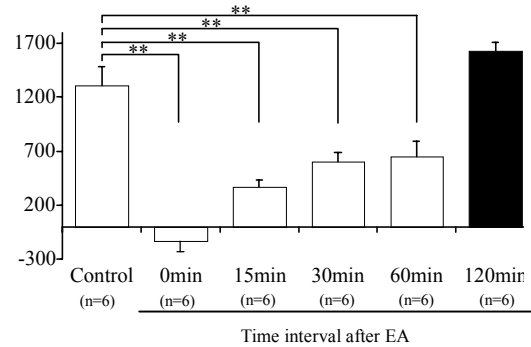


Fig. 2. Various time intervals between electroacupuncture (EA) stimulation and morphine administration. Morphine (7 mg/kg, s.c.) was administered at 0 – 120 min after the termination of EA stimulation. Analgesic effect was expressed as the area under the pain threshold curve (AUC). EA was applied by the stimulation of ST-36 point (0.1-msec duration at 3 Hz for 45 min). Each column represents the mean \pm S.E.M. of 6 animals. ** $P < 0.01$ vs. open column.

モルヒネの鎮痛作用のそれらとの間に差は認められなかった。

3. 経穴通電鍼刺激-モルヒネ投与間隔

ST-36 通電鍼刺激後のモルヒネ鎮痛 (皮下投与) 減弱作用における通電鍼刺激-モルヒネ投与間隔の関係について検討した。ST-36 通電鍼刺激によるモルヒネ鎮痛減弱作用は、通電鍼刺激終了直後のモルヒネ投与が最も強く、通電鍼刺激-モルヒネ投与間隔が延長するに従って徐々に鎮痛作用が回復した (Fig. 2)。通電鍼刺激終了 120 分後のモルヒネ投与による鎮痛作用は、通電鍼刺激を行わないコントロールのモルヒネの鎮痛作用と差は認められず、抗鎮痛作用は完全に消失した。

4. モルヒネ投与経路

経穴通電鍼刺激によるモルヒネ鎮痛減弱作用とモルヒネ投与経路の関係を検討した。ST-36 通電鍼刺激終了 15 後に i.t. 投与 (10 g) したモルヒネの鎮痛作用は有意に減弱されたが、脳室内投与 (25 g) したモルヒネのそれは減弱されなかった (Fig. 3)。LI-4 通電鍼刺激によっても i.t. 投与モルヒネの鎮痛作用は減弱されたが、脳室内投与モルヒネのそれは影響を受けなかった。

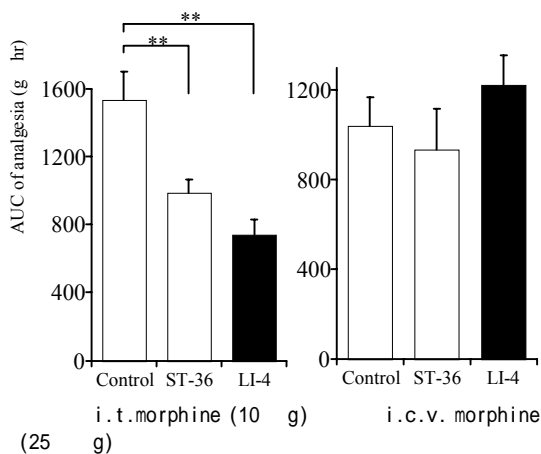


Fig. 3. Electroacupuncture (EA)-induced anti-analgesic effects on morphine and the routes of morphine administration. Morphine (10 □g, i.t. or 25 □g, i.c.v.) was administered 15 min after the termination of EA stimulation. Analgesic effect was expressed as the area under the pain threshold curve (AUC). EA was applied to acupoints (ST-36 or LI-4; 0.1-msec duration at 3 Hz, for 45 min). Each column represents the mean ± S.E.M. of 6 to 9 animals. ***P* < 0.01 vs. open column.

5. NMDA 受容体拮抗薬 (MK-801)

経穴通電鍼刺激による抗侵害刺激作用およびモルヒネ鎮痛減弱作用に及ぼす MK-801 の影響について検討した。MK-801 の i.t. (3.0 g+1.5 g) 処置により、0.3 1mg/kg 皮下投与時にみられる異常行動 (head weaving, circling behavior など) は惹起されなかった。

MK-801 の 3 g を通電鍼刺激直前に i.t. 処置すると、ST-36 通電鍼刺激による抗侵害刺激作用はほぼ完全に消失した (Fig. 4 A および B)。ST-36 通電鍼刺激は、i.t. 投与によるモルヒネ鎮痛を有意に減弱し、Fig. 3 の結果と一致した。MK-801 の i.t. 処置により、i.t. 投与モルヒネの鎮痛作用は有意ではないが減弱される傾向にあった。ST-36 通電鍼刺激に MK-801 の i.t. 処置を併用した後の i.t. 投与モルヒネの鎮痛作用は、MK-801 の i.t. 処置後の i.t. 投与モルヒネのそれとの間に有意な差はなく、逆に、MK-801 の処置をしていない通電鍼刺激後のモルヒネ鎮痛よりも、やや強く鎮痛作用が出現する傾向にあった (Fig. 4A

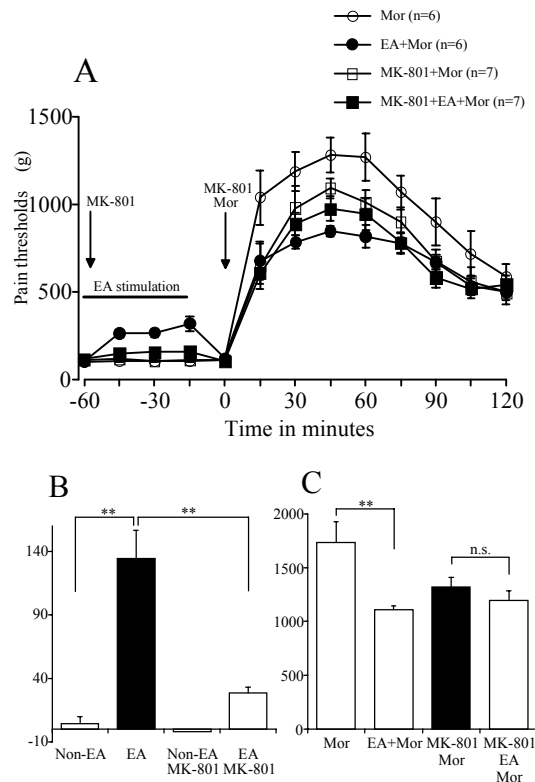


Fig. 4. Effects of MK-801 on electroacupuncture (EA)-induced anti-analgesic effects. A: The time course of the EA-induced antinociception and morphine (Mor) i.t. analgesia estimated by the hind-paw pressure test. B: The area under the pain threshold curve (AUC) of EA-induced antinociception. C: AUC of morphine analgesia. Morphine (10 □g, i.t.) was administered 15 min after the termination of EA stimulation. Rats were pretreated with MK-801 (3.5 □g, i.t.) just before EA and morphine (10 □g, i.t.) was administered in combination with MK-801 (1.5 □g, i.t.) 15 min after EA. EA was applied to ST-36 point (0.1-msec duration at 3 Hz for 45 min). Each point represents the mean and vertical bars indicate the S.E.M and each column represents the mean ± S.E.M of 6 to 7 animals. B: ***P* < 0.01 vs. filled column. C: ***P* < 0.01 vs. open column.

およびC)。

考察

経穴部位 (ST-36 または LI-4) の通電鍼刺激による痛覚閾値上昇は、通電開始 30 分後にはほぼ最大に達し、それが 15 分間持続した。通電鍼刺激終了後も鎮痛作用は徐々に減弱してはるものの、完全に回復するには約 15 分間必要とした。また、この経穴通電鍼刺激による抗侵害刺激作用は、オピオイド拮抗薬であるナロキソン処置により消失することから⁹⁾、通電鍼刺激による痛覚閾値上昇には、内因性

オピオイドペプチドの関与が示唆されている。この抗侵害刺激作用は、非経穴刺激では惹起されないで、これら経穴刺激に特異的な反応であると考えられる。

経穴通電鍼刺激によりモルヒネ皮下投与による鎮痛作用は減弱されたが、非経穴刺激ではその減弱は認められなかった。この経穴通電鍼刺激によるモルヒネ鎮痛減弱作用は、通電鍼刺激-モルヒネ投与間隔に逆相関し、通電鍼刺激終

了120分後のモルヒネ投与では鎮痛作用の減弱が認められなかった。これらの結果は、経穴通電鍼刺激により一過性に活性化する内因性抗鎮痛系が存在することを示唆するものであり、遊離された内因性オピオイドペプチドが抗鎮痛系の賦活に関与しているのかもしれない。この経穴通電鍼刺激後のモルヒネ鎮痛の減弱作用は、モルヒネのi.t.投与により惹起されたが、脳室内投与では認められず、経穴通電鍼刺激による内因性抗鎮痛系の活性化には、脊髄上部ではなく、脊髄が重要な役割を果たしているようである。

経穴通電鍼刺激による抗侵害刺激作用は、NMDA受容体拮抗薬であるMK-801のi.t.処置によりほぼ完全に消失したことから、経穴通電鍼刺激による抗侵害刺激作用の発現には、NMDA型グルタミン酸受容体に関与していると考えられる。モルヒネi.t.投与による鎮痛作用は、MK-801のi.t.処置により減弱傾向にあり、外因性オピオイドの鎮痛作用発現にもNMDA受容体に関与するとの報告に一致する¹⁰⁾。このMK-801処置後のモルヒネ鎮痛に比し、MK-801処置に経穴通電鍼刺激を併用すると、それ以上の有意なモルヒネの鎮痛は減弱は認められず、経穴通電鍼刺激後のモルヒネ鎮痛減弱作用には、NMDA型グルタミン酸受容体に関与している可能性が考えられる。

以上の結果より、脊髄には経穴通電鍼刺激により一過性に活性化される内因性抗鎮痛機構が存在し、その活性化には、NMDA型グルタ

ミン酸受容体に関与している可能性が示唆された。

引用文献

1. Wiesenfeld-Hallin Z, de Araujo Lucas G, Alster P, Xu XJ, Hokfelt T. Cholecystokinin/opioid interactions. *Brain Res.* 848(1-2):78-89, 1999
2. Rothman RB. A review of the anti-opioid peptide in morphine tolerance and dependence. *Synapse.* 12(2):129-138, 1992
3. Kishioka S, Maeda T, Fukunaga Y, Shimizu N, Miyamoto M, Fukazawa Y, Yamamoto H. Effect of foot-shock stress on morphine analgesia, tolerance and physical dependence in adrenalectomized rats. *Jpn J Pharmacol.* 82, Suppl. 1, 159P, 2000
4. Huang C, Wang Y, Chang JK, Han JS. Endomorphin and mu-opioid receptors in mouse brain mediate the analgesic effect induced by 2 Hz but not 100 Hz electroacupuncture stimulation. *Neurosci Lett.* 294(3):159-162, 2000
5. Kishioka S, Miyamoto Y, Nishida S, Fukunaga Y, Yamamoto H. Effect of a mixture of peptidase inhibitors (amastatin, captopril and phosphoramidone) on Met-enkephalin-, β -endorphin-, dynorphin-(1-13)- and electroacupuncture-induced antinociception in rats. *Jpn J Pharmacol.* 66: 337-345, 1994
6. Coggeshall RE, Carlton SM. Receptor localization in the mammalian dorsal horn and primary afferent neurons. *Brain Res Rev.* 24: 28-66, 1997
7. Ueda H, Yamaguchi T, Tokuyama S, Inoue M, Nishi M, Takeshima H. Partial loss of tolerance liability to morphine analgesia in mice lacking the nociceptin receptor gene. *Neurosci Lett.* 237(2-3): 136-138, 1997
8. Trujillo KA, Akil H. Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Science.* 251(4989): 85-87, 1991
9. Mayer DJ, Price DD, Raffi A. Antagonism of acupuncture analgesia in man by the narcotic antagonist naloxone. *Brain Res.* 121: 368-372, 1977
10. Heinricher MM, Schouten JC, Jobst EE. Activation of brainstem N-methyl-D-aspartate receptors is required for the analgesic actions of

morphine given systemically. Pain.
92(1-2):129-138, 2001

U50,488H による熱性痛覚過敏の機序

- 及び ORL1 受容体との関連の検討 -

関山裕詩、内海潤*、角田俊信、花岡一雄
東京大学医学部附属病院麻酔科・痛みセンター
東レ株式会社医薬企画部*

Thermal Hyperalgesia Following Peripheral U50488H Administration Is Not Mediated by μ -opioid or ORL1 Receptors Systems

Hiroshi Sekiyama, Jun Utsumi*, Toshinobu Sumida, Kazuo Hanaoka
Pain Relief Center, Department of Anesthesiology,
Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan
*Clinical Research Dept., Toray Industries, Inc. Tokyo, Japan

Summary: Evidence for the importance of peripheral opioid analgesic action is mounting, especially in inflamed tissues. However, we have observed evidence of thermal hyperalgesia following peripheral $[\kappa]$ 1-opioid agonist administration. One hypothesis is that thermal hyperalgesia following peripheral $[\kappa]$ 1-opioid agonist administration may be mediated by $[\mu]$ -opioid or ORL1 receptors systems. In this study, we investigated the role of $[\mu]$ -opioid or ORL1 receptors systems in the thermal hyperalgesia induced by peripheral $[\kappa]$ 1-opioid administration.

With approval of our Animal care and Use Committee, we used a modified Hargreaves test device to measure withdrawal latencies to radiant heat stimulation of thermally injured rat hind paw. Under halothane anesthesia, thirty animals received an intraplantar injection of 120 $[\mu]$ g of nor-BNI (a specific $[\kappa]$ 1-opioid receptor antagonist; n=10), 30 n mole of [F/G]NC ([Phe1 [PSI] (CH₂NH)Gly²]-nociceptin-(1-13)NH₂, an ORL1 receptor antagonist; n=10), or 1 n mole of CTOP (a specific $[\mu]$ -opioid receptor antagonist; n=10), 30min before intraplantar injection of 250 n mole U50 (U50,488H, a specific $[\kappa]$ 1-opioid receptor agonist) in a volume of 20 $[\mu]$ l of 10%DMSO. Twenty animals received vehicles (distilled water or Sterile 0.9% physiologic saline; each group n=10), 30min before intraplantar injection of U50. Halothane was discontinued and withdrawal latencies were tested every 15 minutes for two hours. Data was also presented as a difference score (DS), that is, the latency time of the normal paw subtracted from the latency time of the tested paw. Negative DS indicated the presence of hyperalgesia. Repeated measure ANOVA followed by Bonferroni test was used for statistical analysis.

Thermal hyperalgesia following peripheral $[\kappa]$ 1-opioid agonist, U50 was prevented by the pre- administration of peripheral nor-BNI(DS; -1.5 sec). Peripheral [F/G]NC and CTOP did not prevent the thermal hyperalgesia following peripheral U50 (DS; -9.1 sec and -8.2, respectively). Vehicles (distilled water and sterile 0.9% physiologic saline) did not have any effects on the thermal hyperalgesia following peripheral U50 (DS; -8.7 sec and -9.2, respectively).

It has been reported that the ORL1 receptor agonist, nociceptin indirectly stimulates nerve endings of nociceptive primary afferent neurons through a local SP release or that $[\mu]$ -opioid receptor activation leads to a sustained increase in

glutamate synaptic effectiveness at the N-methyl-D-aspartate receptor level, a system associated with central hypersensitivity to pain. However, the present study demonstrates that thermal hyperalgesia following peripheral [kappa]1-opioid agonist administration is not mediated by [mu]-opioid or ORL1 receptors systems.

緒言

近年、末梢オピオイド受容体を介した鎮痛効果に関する知見が集積しつつある。特に炎症下での有効性を示唆する報告が多い¹⁻⁴。受容体作動薬のみならず⁵κ-受容体作動薬の末梢鎮痛効果も認められている⁶。しかし、一方で opioid-induced hyperalgesia についての報告も散見され⁷、末梢性κ1受容体も熱性痛覚過敏に関与するという⁸。今回この末梢性熱性痛覚過敏の機序が受容体あるいは ORL1 受容体を介したものであるかを検討した。

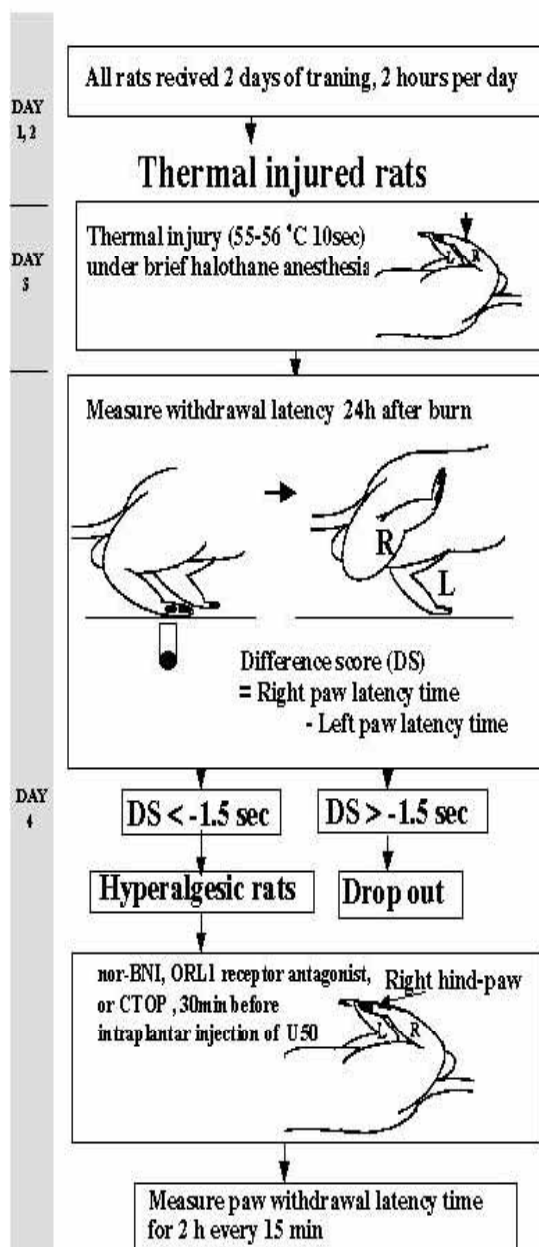
実験方法

体重 300-350g の雄性 SD 系ラットに 2 日間各 2 時間の baselining を施行した。その後右足底に熱傷(56 度 10 秒)を加えた。24 時間後 Hargreaves box にて右-左足底逃避潜時差 (difference score: DS)を測定し-1.5 秒以下の場合を痛覚過敏ラットとした。その後、受容体拮抗薬(1 n mole, CTOP), κ1 受容体拮抗薬(120 μg, nor-BNI), ORL1 受容体拮抗薬(30 n mole, [F/G]NC ([Phe1 [PSI] (CH₂NH)Gly²]-nociceptin-(1-13)NH₂))の各々前処置 30 分後、κ1 選択的作動薬 U50488H, 250 n mole を右足底に皮内注射し、熱刺激による DS を 15 分毎 2 時間測定した(図)⁹。なお、拮抗薬の溶媒として蒸留水及び生理食塩水を用いた。

統計処理には repeated ANOVA を用い、有意差が認められた場合 Posthoc test (Bonferroni Procedure)を施行した。P<0.05 にて有意差ありと判定した。

METHODS

Experimental Procedure



結果

蒸留水及び生理食塩水で前処置したのち U50 を皮内注した群の DS は各々 -8.7 ± 4.3 (秒)、 9.2 ± 2.7 (秒) であった。nor-BNI で前処置したのち U50 を皮内注した群の DS は -1.5 ± 3.5 (秒) であった。一方 ORL1 受容体拮抗薬及び CTOP で前処置したのち U50 を皮内注した群の DS は各々 -9.1 ± 4.9 (秒)、 8.2 ± 3.0 (秒) であった。以上の値は各群での最小の DS で全て 15 分値であった。

考察

最近、中枢や末梢に限らず opioid-induced hyperalgesia あるいは opioid-induced pain の報告が散見される^{7,8}。また、末梢性受容体が末梢鎮痛のみならず痛覚過敏にも関与している可能性が示唆されている。ORL1 受容体作動薬 nociceptin は間接的に一次求心性ニューロン神経終末から Substance P を放出することで痛覚過敏を起こす¹⁰。また μ 受容体においても Fentanyl は NMDA 受容体を介した痛覚過敏を起こす¹¹。

以前我々も熱性痛覚過敏モデルにおいて U50,488H を末梢投与した場合のが痛覚過敏をもたらすことを認めた。そこで「U50,488H の末梢性熱性痛覚過敏の機序が受容体あるいは ORL1 受容体を介したものである。」という仮説を立て検討した。

今回の結果より、U50,488H の末梢投与による熱性痛覚過敏は受容体拮抗薬、ORL1 受容体拮抗薬により影響を受けなかった。

結語

熱性炎症ラットにおいて末梢 κ 1 受容体による熱性痛覚過敏には ORL1 及び μ 受容体系は関与していないことが示唆された。

参考文献

1. Stein C: The control of pain in peripheral tissue by opioids. *N Engl J Med* 332: 1685-90,1995
2. Coggeshall, R.E., Carlton SM. Receptor localization in the mammalian dorsal horn and primary afferent neurons. *Brain Research - Brain Research Reviews* 24:28-6, 1997.
3. Stein C, Comisel K, Haimerl E, Yassouridis A, Lehrberger K, Herz A, Peter K: Analgesic effect of intraarticular morphine after arthroscopic knee surgery. *N Engl J Med* 325: 1123-6,1990
4. Likar R, Sittl R, Gragger K, Pipam W, Blatnig H, Breschan C, Schalk HV, Stein C, Schafer M: Peripheral morphine analgesia in dental surgery. *Pain*,76:45-50,1998
5. Nozaki-Taguchi N, Yaksh TL: Characterization of the antihyperalgesic action of a novel peripheral μ -opioid receptor agonist-loperamide. *Anesthesiology* 90: 225-34,1999
6. Ko MC, Butelman ER, Woods JH: Activation of peripheral opioid receptors inhibits capsaicin-induced thermal nociception in rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 289: 378-85, 1999
7. Colpaert FC., Mechanisms of opioid-induced pain and antinociceptive tolerance: signal transduction. *Pain*,Feb;95(3):287-8, 2002
8. Machelska H, Pfluger M, Weber W, Piranvisseh-Volk M, Daubert JD, Dehaven R, Stein C: Peripheral effects of the κ -opioid agonist EMD 61753 on pain and inflammation in rats and humans. *J Pharmacol Exp Ther* 290:354-61,1999
9. Collins JG, Shimada SG: Effects of a peripherally limited mu opiate agonist (ADL-2-1294) on hyperalgesia resulting from thermal injury. *APS Meeting Abstract*,134, 1998

10. Inoue M, Kobayashi M, Kozaki S, Zimmer A, Ueda H, Nociceptin/orphanin FQ-induced nociceptive responses through substance P release from peripheral nerve endings in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, Sep 1;95(18):10949-53, 1998
11. Celerier E, Rivat C, Jun Y, Laulin JP, Larcher A, Reynier P, Simonnet G, Long-lasting hyperalgesia induced by fentanyl in rats: preventive effect of ketamine. *Anesthesiology*, 92(2):465-72, 2000

神経傷害モデルマウスにおける 末梢性モルヒネ鎮痛効果の欠如

川島敏子、井上誠、植田弘師
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学研究室

Lack of peripheral morphine analgesia in nerve injury type of neuropathic model mice

Toshiko Kawashima, Makoto Inoue and Hiroshi Ueda
Division of Molecular Pharmacology and Neuroscience
Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

Summary : In clinic, neuropathic pain is reported insensitive to morphine. However, the mechanism of this morphine-insensitivity is not clear. Here, we demonstrate a possible mechanism of morphine-insensitivity to bradykinin (BK)-induced nociception after partial sciatic nerve injury by use of algogenic-induced nociceptive flexion test in mice. Intraplantar (i.pl.) injection of bradykinin induced dose-dependent nociceptive flexion responses in mice. After nerve injury, the dose-response curve of bradykinin were shifted at about 100 times lower doses. Peripheral morphine treatment (i.pl.) completely inhibited the BK-responses in sham-operated mice while it had no effect on the BK-induced nociception in nerve-injured mice. In sham-operated mice, the BK-induced nociception was blocked by intrathecal NK1 receptor antagonist, CP-99994. However, in nerve-injured mice, MK-801, but not CP-99994 blocked the BK-induced nociception suggesting a switch in spinal neurotransmitter for BK-nociception after injury. Neonatal capsaicin treatment, which degenerates small diameter primary afferents, abolished the BK-induced nociceptive responses in sham-operated mice, but not in injured ones further indicating a change in fiber type that mediates BK-nociception after injury. Pharmacological characterization by use of specific antagonists revealed that BK-responses in sham-operated mice were mediated through B2 receptor, while that in injured mice through B1 receptor. Altogether, these findings suggest that loss of morphine analgesia to BK-nociception after nerve injury could be attributed to the functional switch of fiber types that mediate BK-responses.

緒言

神経因性疼痛は難治性の慢性疼痛症候で、帯状疱疹後神経痛、カウザルギー、三叉神経痛、糖尿病性神経炎などをはじめ数多く認められる。しかし、最も強力な鎮痛薬として知られるモルヒネでさえも十分な鎮痛効果を示さないことが知られており、未だ理想的な治療薬が存在しないのが現状である。

今回、坐骨神経部分結紮マウスを用いて発痛物質誘発性屈曲反射試験 (ANF 試験) を行い、末梢性モルヒネ鎮痛効果の欠如とそのメカニズムを解析した。

実験方法

発痛物質誘発性屈曲反射試験 (ANF 試験)¹⁾
マウスを布製の袋に入れ、布にあけた穴から四肢を出し

それぞれの肢に糸を取り付けた。右後肢に取り付けた糸はアイソトニックトランスデューサーに連結し、それに接続されたレコーダーを利用して屈曲反射の軌跡を記録した。他の三肢に取り付けた糸は床に固定しマウスを空中に浮かせた状態で保持した。マウスの右後肢足蹠皮下にカニューレを挿入しこれより薬物を投与し数秒以内に生じる屈曲反応を侵害反応として評価した。

結果

当研究室では ANF 試験を用いて、神経線維の種類と脊髄における伝達物質から、一次知覚神経線維を 3 種類に分類した。サブスタンス P (SP)、ノシセプチン (N/OFQ)、ブラジキニン (BK) によって刺激される Type1 は脊髄で NK-1 受容体を駆動する C 線維、ATP によって刺激される Type2 は NMDA 受容体を駆動する C 線維、プロスタグランジン I₂ (PGI₂) によって刺激される Type3 はカプサイシン非感受性線維であり脊髄で NMDA 受容体を駆動する。坐骨神経部分結紮 1 週間を経たマウスにおいて、SP、N/OFQ などの Type1 反応は消失し、Type2 反応は Sham 群と比較して変化が見られず、Type3 は 100-1000 倍もの低用量で Sham 群と同程度の反応を示し、すなわち過敏応答が認められた。ところが、Type1 を刺激する発痛物質の中で唯一ブラジキニン (BK) のみは、坐骨神経部分結紮マウスにおいて反応の消失が認められず、Type3 反応同様の過敏応答を示した。Sham 群における BK 誘発性屈曲反応は足蹠皮下投与したモルヒネによって完全に抑制された。この反応は、足蹠皮下投与した B2 受容体拮抗薬、脊髄も膜下腔内投与した NK1 受容体拮抗薬、新生時カプサイシン処置によっても完全に抑制された。一方、坐骨神経部分結紮マウスにおける BK 反応はモルヒネによりほとんど抑制されなかった。更にこの反応は、Sham 群では全く影響を受けなかった B1 受容体拮抗薬と NMDA 受容体拮抗薬によって完全に抑制され、新生時カプサイシン処置による影響は無かった。

考察

本研究の結果から、神経傷害時には Type1 神経を介する反応が消失し、それに伴って Type3 反応が過敏となる

ことが示された。坐骨神経部分結紮マウスにおいて SP 含有一次知覚神経線維の退縮が生じること²⁾、また神経損傷により A 線維の sprouting が起こり脊髄後角の深層から表層への新たな侵入が起こること³⁾が報告されていることを考慮すると、今回の我々の知見から図 1 のような仮説を呈することができる。すなわち、脊髄において SP を遊離する C 線維である Type1 神経が傷害によって退縮し、カプサイシン非感受性線維である Type3 神経が突起伸展を起こすことによって、両者の反応性に変化が生じたのであろう。

更に、神経傷害後に BK 反応がモルヒネ非感受性となったメカニズムとしては、図 2 のようなモデルが考えられる。正常時、BK は Type1 一次知覚神経終末の B2 受容体に作用し、この反応は同じ線維に存在する μ オピオイド受容体にモルヒネが作用することによって完全に抑制された。しかし、神経傷害時にはモルヒネ非感受性の Type3 神経に存在する B1 受容体へと作用点をスイッチしたことが示唆された。このようなメカニズムが、神経因性疼痛時のモルヒネ非感受性の一因であると考えられる。

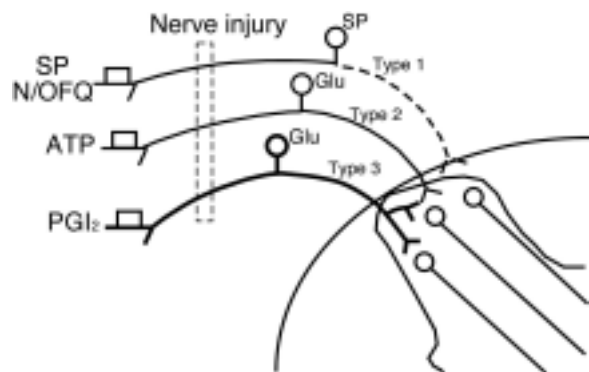


図 1 神経因性疼痛モデルにおける疼痛伝達機構の変化

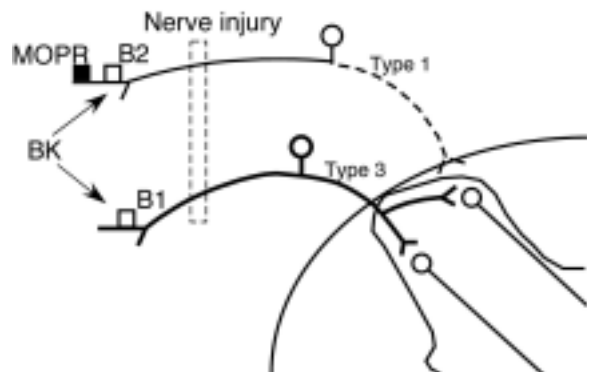


図 2 神経因性疼痛モデルにおける BK 誘発性侵害反応のモルヒネ非感受性機構

引用文献

- 1) Inoue M, Kobayashi M, Kozaki S, Zimmer A, Ueda H. Nociceptin/orphanin FQ-induced nociceptive responses through substance P release from peripheral nerve endings in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95:10949-10953, 1998
- 2) Malmberg and Basbaum. Partial sciatic nerve injury in the mouse as a model of neuropathic pain: behavioral and neuroanatomical correlates. *Pain*. 76: 215-222, 1998
- 3) Woolf CJ, Shortland P, Coggeshall RE. Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. *Nature*. 355: 75-78, 1992

エンドモルフィン誘発性抗侵害作用における D-Pro²-エンドモルフィンの選択的拮抗性について

櫻田 忍¹、内山弘子¹、渡邊廣行¹、溝口広一¹、藤村 努、村山季美枝、櫻田 司²

¹東北薬科大学機能形態学、順天堂大学医学部、²第一薬科大学生化学教室

Endorphins analogues containing D-Pro² antagonizes endorphin antinociception in ice

¹Shinobu Sakurada, ¹Hiroko Uchiyaa, ¹Hiroyuki Watanabe, ¹Hirokazu izoguchi,

²Tsutou Fujiura, ²Kiie urayaa, ³Tsukasa Sakurada

¹Department of Physiology and Anatoy, Tohoku Pharaceutical University,

²Division of Biocheical Analysis, Central Laboratory of edical Sciences, Juntendo University

³Department of Biocheistry, Daiichi College of Pharaceutical Sciences

Suary: The antagonistic actions of D-Pro²-endorphins on inhibition of the paw withdrawal response by endorphins were studied in ice. When D-Pro²-endorphin-1 (0.03-0.1 pol) was injected siultaneously with i.t. endorphin-1 (0.5 nol) or endorphin-2 (5 nol), antinociception induced by endorphin-1 was reduced significantly, whereas endorphin-2-induced antinociception was not affected by D-Pro²-endorphin-1. Antinociception induced by i.t. endorphin-2 (5.0 nol) was resuced significantly by its analogue, D-Pro²-endorphin-2 (100 pol), but not by D-Pro²-endorphin-1. These results suggest that endorphin analogues containing D-Pro² are able to discriinate the antinociceptive actions of μ_1 and μ_2 -opioid receptor agonists at the spinal cord level.

緒言

新規の内因性オピオイドペプチドであるエンドモルフィン-1およびエンドモルフィン-2がウシ脳およびヒト脳から単離・同定され、両ペプチドは受容体結合実験から μ -受容体に極めて高い親和性を示すことが報告されている¹⁾。

エンドモルフィン-1およびエンドモルフィン-2を脳室内および脊髄くも膜下腔内に投与すると、熱刺激および機械刺激に対して強力な抗侵害

作用を発揮し^{2,-4)}、さらに、炎症痛や神経因性疼痛に対しても強力な鎮痛作用を発揮するのである。これらの作用はいずれもオピオイド受容体アンタゴニストであるナロキソンによって拮抗される。

一方、 μ -受容体は μ_1 および μ_2 の2つのサブタイプに分類されてきた。 μ (μ_1 および μ_2) 受容体アンタゴニストの β -フナルトレキサミンおよび μ 受容体選択的アンタゴニストであるナロキソネイジンをを用いた薬理学的手法によって分類されている。

本実験では、内因性 μ -オピオイドアゴニストであるエンドモルフィン-1およびエンドモルフィン-2が μ -受容体サブタイプのいずれの受容体を介して抗侵害作用を発揮するか、 β -フナルトレキサミンおよびナロキシネイジンをを用いて検討した。

さらに、エンドモルフィン-1およびエンドモルフィン-2のdiastereoisomersである[D-Pro²]-エンドモルフィン-1および[D-Pro²]-エンドモルフィン-2が特異的な拮抗作用を示すことが認められた。

実験方法

実験には ddY 系雄性マウス (22 25g) を使用した。抗侵害効果は、Paw-withdrawal 法を用いて評価した。マウス右後肢足蹠に熱刺激を加え、逃避反応を示すまでの潜時を仮性疼痛閾値として評価した。マウスはあらかじめ刺激に対して 2.5 - 3.5 秒で反応するものを選択して用いた。また、刺激部位への損傷を最小限にするために、刺激時間は 10 秒とした。得られた測定値より、% of axiu possible effect (%PE) を算出した。

マウス脊髄くも膜下腔内への投与は Hylden と Wilcox の方法を用いて行った。なお、 β -フナルトレキサミンおよびナロキシネイジンはエンドモルフィンおよび DAGO 投与 24 時間前に s.c. 処理した。

実験結果

μ -受容体選択的アンタゴニストの β -フナルトレキサミン (40 g/kg, s.c.) 前処理後、エンドモルフィン-1 (5 nol, i.t.)、エンドモルフィン-2 (5 nol, i.t.) および DAGO (20 pol, i.t.) をそれぞれ投与すると、いずれも有意な抗侵害作用の減弱が認められた (Fig. 1)。

さらに、 μ 受容体選択的アンタゴニストであるナロキシネイジン (35 g/kg, s.c.) の前処理によってエンドモルフィン-2の抗侵害作用は著しく減弱したのに対してエンドモルフィン-1および DAGO の抗侵害作用にはなんら影響をおよぼさなかった (Fig. 2)。

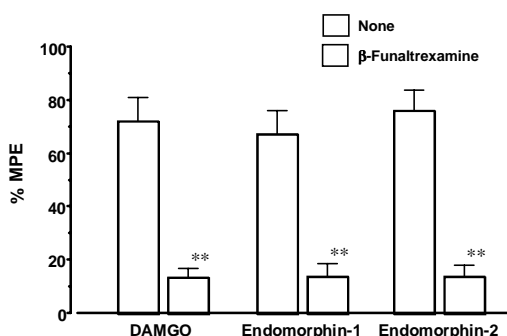


Fig.1 Effects of pretreatment with β -funaltrexamine on i.t. endomorphin-1, endomorphin-2 and DAGO -induced antinociception in the paw withdrawal test. A single dose of β -funaltrexamine was administered s.c. 24 h before peptide. Antinociceptive effects were measured 5 min after i.t. administration of the endomorphins or 10 min after i.t. DAGO. Each value represents the mean \pm S.E. for 10 mice. * P < 0.01 compared to each agonist alone.

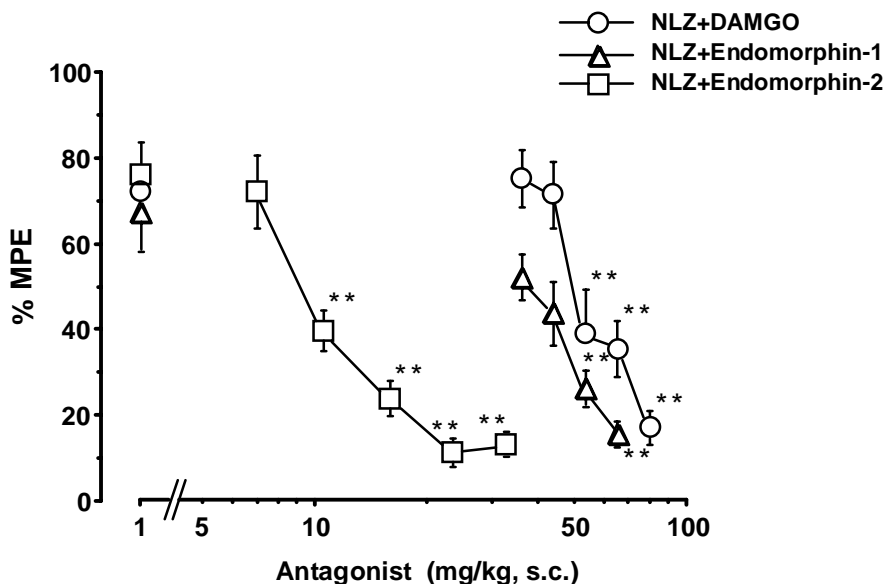


Fig. 2. Effects of naloxonazine on i.t. endorphin-1-, endorphin-2- and DAMGO-induced antinociception in the mouse paw-withdrawal test. Graded doses of naloxonazine (NLZ) were administered s.c. 24 h before i.t. administration of endorphin-1, endorphin-2 and DAMGO. Antinociceptive effects were measured 5 min after i.t. administration of endorphins or 10 min after i.t. DAMGO. Each column represents the mean \pm S.E. for 10 mice. $P < 0.01$ compared to each agonist alone.

エンドモルフィン-1およびエンドモルフィン-2の diastereoisomers である[D-Pro²]-エンドモルフィン-1 (0.005-1.0 μ mol) および[D-Pro²]-エンドモルフィン-2 (25-100 μ mol) を i.t. 投与しても抗侵害作用は全く認められない。ところが、[D-Pro²]-エンドモルフィンには特異的な拮抗作用があることが認められた。すなわち、エンドモルフィン-1 (5 μ mol) の i.t. 投与によって引き起こされる抗侵害作用は[D-Pro²]-エンドモルフィン-1 との同時投与によって抑制されたが、[D-Pro²]-エンドモルフィン-2 との併用によって何ら影響をおよぼさなかった。一方、エンドモルフィン-2 (5 μ mol) と[D-Pro²]-エンドモルフィン-2 との i.t. 同時投与によって、エンドモルフィン-2 の抗侵害作用に著しい減弱が認められたが、[D-Pro²]-エンドモルフィン-1 との同時投与では

変化は全く認められなかった (Fig. 3)。

Table 1 Structure of endorphin-1, endorphin-2 and their analogues containing D-Pro underlined

<i>Endorphins</i>	<i>Structure</i>
Endorphin-1	Tyr-Pro-Trp-Phe-NH ₂
D-Pro ² -endorphin-1	Tyr-D-Pro-Trp-Phe-NH ₂
Endorphin-2	Tyr-Pro-Phe-Phe-NH ₂
D-Pro ² -endorphin-2	Tyr-D-Pro-Phe-Phe-NH ₂

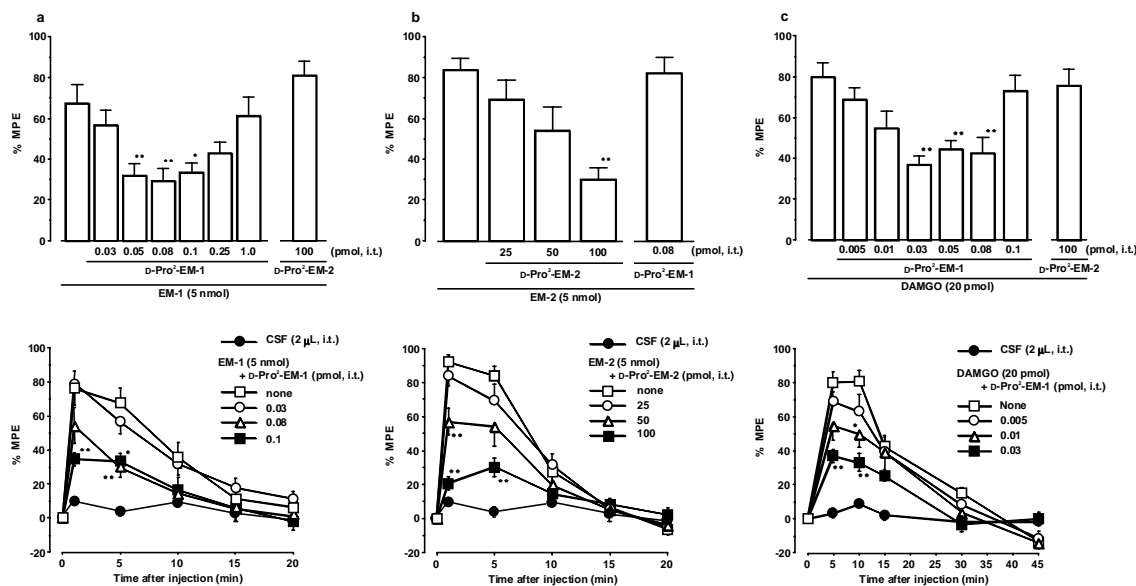


Fig. 3. Effects of D-Pro²-endorphin-1 and D-Pro²-endorphin-2 on i.t. endorphin-1 (a), endorphin-2 (b) and DAGO (c) in the ouse paw withdrawal test. Endorphins and DAGO were co administered i.t. with D-Pro²-endorphins. Each colun represents the ean S.E. for 10 ice. P 0.01, P 0.05 compared to each agonist alone. E-1: endorphin-1; E-2: endorphin-2

考察

エンドモルフィン-1およびエンドモルフィン-2は *in vivo* および *in vitro* の実験結果から非常に受容体に特異性の高い化合物であることが認められている。本実験においても、エンドモルフィン-1およびエンドモルフィン-2は μ 受容体アンタゴニストである β -フナルトレキサミンの前処理によってほぼ完全に拮抗された (Fig. 1)。さらに、エンドモルフィン-1およびエンドモルフィン-2の抗侵害作用における μ_1 および μ_2 受容体サブタイプの間について検討するため、まず、 μ_1 受容体選択的アンタゴニストであるナロキソネイジンの感受性について実験を行った。その結果、エンドモルフィン-1の抗侵害作用はDAGOと同様、高用量のナロキソネイジンを経前処理したときのみ

有意に減弱した。一方、エンドモルフィン-2の抗侵害作用はエンドモルフィン-1よりも極めて低用量のナロキソネイジンに感受性を示すことから、 μ -受容体を介して発現する事が示された (Fig. 2)。

これまで、 μ_1 および μ_2 受容体の拮抗薬 (β -フナルトレキサミン) および μ_1 受容体拮抗薬 (ナロキソネイジン) が見い出され、 μ 受容体アゴニストの分類が行われてきたが、特異的な μ_2 受容体拮抗薬は見いだされなかった。しかし、本実験において、D-Pro²-endorphin-1は μ_2 のアゴニストであるエンドモルフィン-1およびDAGOの抗侵害作用のみに拮抗することが認められ、特異的な μ_2 受容体拮抗薬として作用する可能性が示唆され

た。

文献

- 1) Zadina JE. Hackler L. Kastin AJ. A potent and selective endogenous agonist for the μ -opiate receptor. *Nature* 386, 499-502, 1997
- 2) Sakurada S. Zadina JE. Kastin AB. Katsuyaa S. Fujiura K. urayaa K. Yuki . Ueda H. Sakurada T. Differential involveent of μ -opioid receptor subtypes in endorphin-1- and -2-induced antinociception. *European J. Pharacology* 372, 25-30, 1999
- 3) Sakurada S. Hayashi T. Yuhki . Fujiura T. urayaa K. Yonezawa A. Sakurada C. Takeshita . Zadina JE. Kastin AJ. Sakurada T. Differential antagonis of endorphin-1 and endorphin-2 spinal antinociception by naloxonazine and 3-ethoxynaltrexone. *Brain Research* 881, 1-8, 2000
- 4) Sakurada, S. Hayashi T. Yuhki . Fujiura T. Kiie . Yonezawa A. Sakurada C. Takeshita . Sato T. Zadina JE. Kastin AJ sakurada T. Differntial antagonis of endorphin-1 and endorphin-2 supraspinal antinociception by naloxonazine and 3-ethyl natrexone. *Peptides* 23, 895-901.

モルフィンの副作用発現におけるモルフィノンの寄与

石田 隆, 大石哲也, 塚原邦浩, 山野 茂, 竹之下玲子, 喜多秀樹, 土岐 智
福岡大学薬学部衛生科学教室

Possible involvement of morphinone in appearance of side effects of morphine

Takashi Ishida, Tetuya Ooishi, Kunihiro Tukahara, Shigeru Yamano,
Reiko Takenoshita, Hideki Kita, Satoshi Toki
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University

Summary: In mice pretreated with morphinone, a toxic metabolite of morphine, by a single i.t. injection, the analgesic activity of morphine was investigated. The effects of morphinone on naloxone-precipitated withdrawal sign (jumping), rectal temperature and gastrointestinal motility by a single s.c. or i.p. injection were also examined. These effects were compared with control (saline-treated) and morphine-treated mice. Pretreatment with morphinone decreased the analgesic activity elicited by morphine depending on a dose. This decrease was observed at 15 min after morphinone challenging, and continued until one week. In the morphine-treated mice, the antagonistic action of morphine analgesia occurred at 6 hr after treatment, and continued until one week though potency of morphine is apparently low compared to morphinone. Both morphinone and morphine increased the number of jumping, lowered the rectal temperature and diminished the gastrointestinal motility in comparison with control mice. The naloxone-precipitated withdrawal sign (jumping) was seen more frequently in morphinone-treated mice than in morphine-treated mice. The maximum hypothermic response was observed at 1 hr in both morphine- and morphinone-treated mice, and morphinone produced more potent response when compared at the same dose. In depression of gastrointestinal motility, however, morphine was more potent than morphinone. These findings suggest that morphinone formed from morphine may affect morphine analgesia and participate, at least in part, in the appearance of toxic action of morphine.

緒言

最近、モルフィンの鎮痛効果にはモルフィン自身とその代謝産物であるモルフィン-6-グルクロニド双方の関与が明らかになった¹⁾⁻³⁾。モルフィンは有用な鎮痛薬であるが、耐性発現、呼吸抑制など多くの副作用が出現することも知られている⁴⁾。これらの作用がモルフィン自身によるものか、それともその代謝産物によるものかは明らかでない場合が多い。当教室では、モルフィン-6-デヒドロゲ

ナーゼを見出し、この酵素によりモルフィンからモルフィノンが生成されることを示した⁵⁾⁻⁷⁾。さらにモルフィノンは、モルフィンの脳内1回投与により誘発される耐性の主役であることも明らかにしてきた^{8),9)}。今回はモルフィンの投与後に見られる副作用のうち、耐性発現、腸管蠕動運動の抑制、体温低下作用およびナロキソン誘発禁断症状について、モルフィンとモルフィノンをを用いて比較検討した。

実験方法

耐性発現、腸管蠕動運動への影響および体温低下作用については、ddY系雄性マウスを使用し、ナロキソン誘発禁断症状については、ICR系雄性マウスを使用した。

単回投与による耐性発現の比較

- (1) 生理食塩水に溶かした塩酸モルフィンを0.15, 0.25, 0.50, 1.0 μ g/body脳内投与し、15分後にそれぞれ3 μ g/bodyの塩酸モルフィンを再び脳内に投与して、10分~120分に亘って鎮痛活性をピンチコック法で測定した。
- (2) 4 μ g/bodyのモルフィノンを前処理後15分, 30分, 45分, 60分, 90分, 6時間, 24時間, 72時間, 168時間後にモルフィンを投与し、それぞれ鎮痛活性を(1)と同様に測定した。また、モルフィンについても前処理後15分, 60分, 6時間, 24時間, 72時間, 168時間後にモルフィンを投与し、鎮痛活性を(1)と同様に測定した。

腸管蠕動運動への影響

モルフィンを1.25, 2.5, 5.0, 10mg/kg, モルフィノンを5.0, 10, 20mg/kgを各グループ毎に皮下投与し、30分後デンプンに懸濁した活性炭200 μ l/bodyを経口により与えた。その20分後に開腹し腸管中の移動度を計測した。移動度は生理食塩水を皮下投与した場合を100として計算した。

体温低下作用

モルフィン30mg/kgあるいはモルフィノン15または30mg/kgを各グループ毎に皮下投与し、測定開始1時間前、投与直後、1, 2, 4, 8, 16時間後の直腸温度を測定した。

単回投与によるナロキソン誘発禁断症状

モルフィノン10mg/kg、モルフィン10mg/kg、生理食塩水をそれぞれ腹腔内投与し、2時間後にナロキソン10mg/kgを同様に投与した。その後60分間のジャンピング回数を観察した。

結果

単回投与による耐性発現

Fig.1 に示すようにモルフィノンは、経時的および用量依存的にモルフィンの鎮痛活性を低下させた。また、Fig.2 に示すように、モルフィンの脳内単回投与によって起こる抗鎮痛活性が、投与後4~6時間から出現し、1週間にわたり持続した。

一方、モルフィノンでは投与後15分より明らかな抗鎮痛活性が現れ、1時間後には最高に達した。しかもこの効果は1週間にわたり持続し、モルフィンより強く発現していることからモルフィンの耐性発現にモルフィノンが大きく関わっていることを示唆するものである。

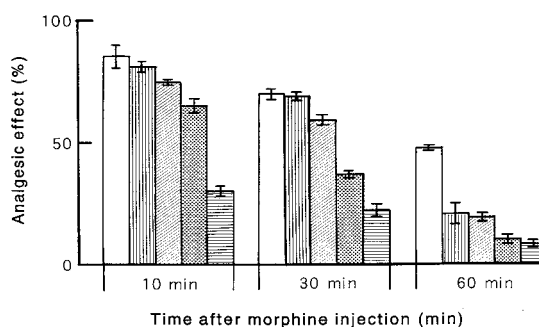


Fig. 1. Effects of morphinone pretreatment on morphine analgesia. □, saline + morphine; ▨, morphinone (0.15 μ g/body) + morphine; ▩, morphinone (0.25 μ g/body) + morphine; ▪, morphinone (0.5 μ g/body) + morphine; ▫, morphinone (1.0 μ g/body) + morphine

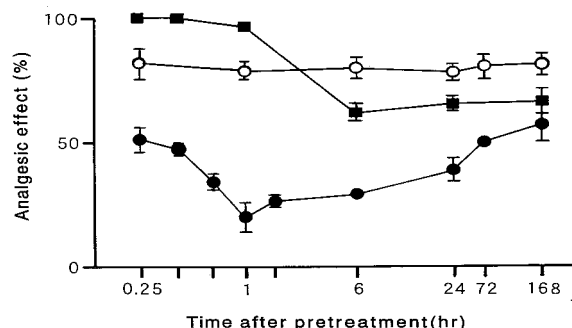


Fig. 2. Effect of pretreatment with morphine and morphinone on morphine analgesia. ○, saline + morphine; ■, morphine + morphine; ●, morphinone + morphine

腸管蠕動運動への影響

腸管蠕動運動の抑制は、最も低用量で現れるモルフィンの副作用であり、モルフィノンが影響するかどうか興味のあるところである。しかし、Fig.3 に示すようにモルフィノンの作用はモルフィンより弱かった。

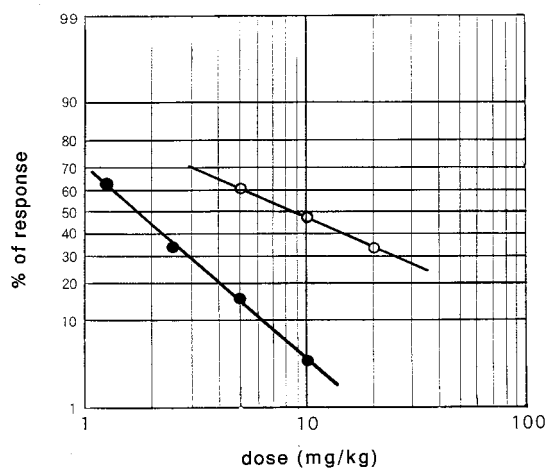


Fig. 3. Effects of morphine and morphinone on enterokines in mice. ○, morphinone ; ●, morphine

体温低下作用

Fig.4 に示すようにモルフィノンの方が強い体温低下作用を示した。モルフィノンはモルフィンの約半量で同程度の体温低下作用を示した。また、8時間で回復していることから高用量での体温低下作用はそれほど持続的なものではないと考えられる。

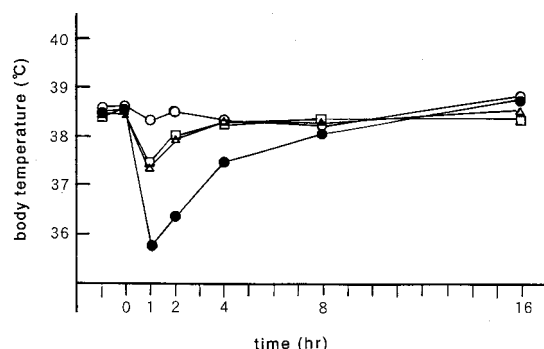


Fig. 4. Effects of morphine and morphinone on temperature of mice. ○, saline; □, morphine (30 mg); △, morphinone (15 mg); ●, morphinone (30 mg)

単回投与によるナロキソン誘発禁断症状

ddy系のマウスを用いた実験では、ジャンピングあるいはストレッチングだけのもの、またはジャンピングとストレッチングの両方を行うマウスが観察され、評価が困難であった。そこでIRC系マウスを使用し、指標をジャンピングに絞って観察することにした。同様に処置したグループ内で、良くジャンプするマウスは60がかなり困難であった。従って同様の実験を4回行った結果をFig.5に示している。また生理食塩水とナロキソンの場合では、ジャンプするマウスも少しはいるが明らかにモルフィンやモルフィノンよりは少なかった。

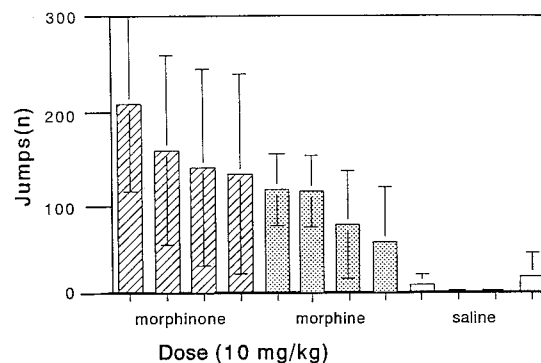


Fig. 5. Effects of pretreatment with morphine and morphinone on the naloxone-precipitated withdrawal signs in mice.

考察

今回我々はモルフィンとその毒性代謝物モルフィノンを用いてモルフィンの幾つかの副作用について *In vivo*での検討を試み、興味ある結果を得た。すなわち、モルフィンの単回投与による耐性発現には、モルフィノンが、直接 μ -レセプターを介し、あるいは他の耐性発現機構に関与している可能性が示唆され、その作用はモルフィノンの用量に依存していることが明らかになった。

また、モルフィンの最も低用量で出現する便秘についてはED₅₀で比較してモルフィンの方が6分の1の低濃度で蠕動運動を低下させ、

モルフィノンの方が弱かった。なお、その用量作用曲線が平行でないことから作用機構には違いがあるものと考えられる。今回の場合は皮下投与であるため、経口投与による検討が必要かもしれない。コデイノンやエチルモルフィノンでは全く逆の結果、すなわち、コデインやエチルモルフィンよりも強く腸管蠕動運動を抑制することが明らかにされている。

モルフィンの体温低下作用は種々の要因により影響があるので、今回はあえて高用量で実験を行った。モルフィノンはモルフィンの約半量で同程度の体温低下作用を示し、しかも用量依存的であった。また、8時間で回復していることから高用量での体温低下作用はそれほど持続的ではないと考えられる。今回の実験では1時間で最高の体温低下をもたらしていることから投与から2時間までをさらに詳しく調べる必要がある。

ナロキソン誘発禁断症状については、単回投与によっても起こると予想されたので、単回投与による実験を試みた。マウスによる個体差が大きく、明解な結論は出なかったが、相対的にはモルフィノンの方がモルフィンより良くジャンプすることが示された。今回のような単回投与では明確な差が観察できなかったため、連続投与による検討が必要であろう。

以上のように、今回の検討からモルフィンの副作用を考える上で、モルフィノンの寄与の重要性が示された。

文献

- 1) Wolff T, Samuelsson H and Hedner T, Pain, 62, 147 (1995).
- 2) Wolff T, Samuelsson H and Hedner T, *ibid.*, 68, 209 (1996).
- 3) Stuart-Harris R, Joel SP, McDonald P, Currew D and Slevin ML, Br. J. Clin. Pharmacol., 49, 207 (2000).
- 4) "Goodman & Gilman The Pharmacologic Basis of Therapeutics" Ninth edition Ed. by Hardman JG and Limbird LE p521 (1996)
- 5) Yamano S, Kageura E, Ishida T and Toki S, J. Biol. Chem., 260, 5259 (1985)
- 6) Kumagai Y, Todaka T and Toki S, J. Pharmacol. Exp. Ther., 225, 504 (1990)
- 7) Toki S and Yamano S, YAKUGAKUZASSHI, 119, 249 (1999)
- 8) Nagamatsu K, Kido Y, Terao T, Ishida T and Toki S, Life Sci., 30, 1451 (1982)
- 9) Ishida T, Kuwahara K and Toki S, J. Pharmacobid. Dyn., 7, S-71 (1984)

モルヒネとモルヒネ-6-グルクロナイドの脳室内投与後の 脳内分布の相違

黄倉 崇, 込山則行, 齋藤正典, 藤井亜紀, 中西美智, 山田静雄, 木村良平
静岡県立大学薬学部薬剤学

Differential brain distribution of morphine and morphine-6-glucuronide after the intracerebroventricular injection in rats

Takashi Okura, Noriyuki Komiyama, Masanori Saito, Aki Fujii,
Misato Nakanishi, Shizuo Yamada, Ryohei Kimura

Department of Biopharmacy, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

Summary: We investigated the brain distribution of morphine and morphine-6-glucuronide (M6G) after intracerebroventricular (i.c.v.) injection of each drug in rats. The CSF concentration of M6G was 5 – 37 times greater than that of morphine at 10, 60 and 120 min after the i.c.v. injection. The apparent elimination clearance from CSF of M6G was 16 times smaller than that of morphine. The CSF concentration of M6G in the intrathecal space measured by microdialysis method was 29 – 79 times greater than that of morphine. M6G was detected in the cerebrum, brainstem, cerebellum and spinal cord at 2 – 21 times higher concentration than morphine after the i.c.v. injection of each drug. Distribution volume in rat brain slice of M6G (0.36 mL/g) was three times less than that of morphine (1.1 mL/g) and close to the extracellular fluid space (0.24 mL/g). These results suggest that relatively high concentration of M6G remains in the central nervous system after the i.c.v. injection and M6G locates at the extracellular fluid in the brain. The concentration of M6G after the i.c.v. injection may be higher than that of morphine in the brain extracellular fluid that corresponds to vicinity of opioid receptors, and therefore M6G may produce potent analgesic effect.

緒言

モルヒネの活性代謝物であるモルヒネ-6-グルクロナイド(M6G)は、ラットに脳室内投与した場合、モルヒネ投与と比べ、100倍以上強い鎮痛作用を示す¹⁾。この理由として、モルヒネとM6Gの作用する μ オピオイド受容体が異なることが示唆されているが、両薬物の鎮痛活性の違いを説明するには至っていない²⁾。ところでM6Gの脂溶性はモルヒネより約200倍低い³⁾ため、両薬物の脳内分布特性は異なることが予想される。しかし、両薬物を脳室内投与した後の脳内動態については明らかでない。そこで本研究では、実験動物と

して、モルヒネをM6Gに代謝しないラットを用い、脳室内投与した後のモルヒネとM6Gの脳内動態を比較するため、脳室内に投与した両薬物の脳脊髄液(CSF)からの消失、脊髄腔内への拡散、脳脊髄組織への分布について検討した。さらに脳スライス取り込み法により脳分布容積を求めた。

実験方法

実験動物

SD系雄性ラット(約300g)

脳室内投与後のCSFおよび脳脊髄組織内薬物

濃度の測定

ラット側脳室に移植した脳室内投与用カニューレより、モルヒネまたは M6G (50 nmol) を、 $[^3\text{H}]$ スクロース (5 kBq) とともに脳室内投与した。その後、10, 60, 120分に cisternal puncture 法により CSF (約150 μL) を採取し、直ちに下行大動脈より採血後、脳および脊髄を摘出した。なお、cisternal puncture 法により採取した約150 μL の CSF は、脳室全体の CSF に相当すると考えられる⁴⁾。CSF, 血漿および脳脊髄組織 (大脳半球, 脳幹, 小脳および脊髄) ホモジネートの上清は、薬物濃度の定量まで -20°C で保存した。CSF 中薬物濃度 (C_{CSF}) から、次式に従い消失速度定数 (K_e), 分布容積 (V_d) ならびに消失クリアランス (CL) を算出した。

$$C_{\text{CSF}} = \text{Dose}/V_d \cdot e^{-k_e \cdot t} \quad (1)$$

$$CL = K_e \cdot V_d \quad (2)$$

微小透析法による脊髄腔内 CSF 中薬物濃度の測定

ラット脊髄腔内 (Th11-L2) に透析プローブを移植し、上記と同様にモルヒネまたは M6G (50 nmol) を $[^3\text{H}]$ スクロース (5 kBq) とともに脳室内投与後、透析液を回収し、薬物濃度を測定した。薬物投与前にレトロダイアリシス法により測定したプローブ回収率 (R) を用いて、次式に従い透析液中薬物濃度 ($C_{\text{dialysate}}$) から、脊髄腔内 CSF 中薬物濃度 (C_{it}) を算出した。

$$C_{\text{it}} = C_{\text{dialysate}} / R \quad (3)$$

脳スライス取り込み実験

ラット脳スライスをモルヒネ (100 μM) または M6G (100 μM) を含むメディアウム中で5~120分間

incubation 後、モルヒネまたは M6G のスライス内取り込み量を測定した。同時に細胞外容積マーカーの $[^3\text{H}]$ スクロース (9.25 kBq/mL) の脳スライス取り込み量を測定した。スライス取り込み量とメディアウム中薬物濃度の比 (S/M) より、次式に従い脳分布容積 ($V_{d_{\text{brain}}}$) を算出した。

$$S/M = V_{d_{\text{brain}}} \cdot (1 - e^{-k \cdot t}) \quad (4)$$

モルヒネおよび M6G の定量

モルヒネおよび M6G の定量は、Venn ら⁵⁾および Stain-Textier ら⁶⁾の方法に従い、HPLC 法により行った。CSF, 血漿, 脳脊髄組織ホモジネート上清は、固相抽出 (Waters, Oasis[®] MCX) 後、HPLC 試料とした。微小透析法により得た透析液は、そのまま HPLC 試料として用いた。

結果

脳室内投与したモルヒネおよび M6G の CSF からの消失

モルヒネまたは M6G を $[^3\text{H}]$ スクロースとともにラットに脳室内投与後、CSF を採取し、薬物濃度を測定した。Fig. 1に示したように、投与後10, 60および120分における CSF 中 M6G 濃度は、モルヒネ濃度の5~37倍高く、M6G の CSF 中濃度時間曲線下面積 ($AUC_{\text{CSF } 0-\infty}$) は15.0 %dose $\cdot\text{min}/\mu\text{L}$ であり、モルヒネの $AUC_{\text{CSF } 0-\infty}$ の1.5 %dose $\cdot\text{min}/\mu\text{L}$ より10倍高値を示した。また CSF 中 M6G 濃度は、いずれの時間においても $[^3\text{H}]$ スクロース濃度と同程度であった。各薬物の消失速度定数 (K_e) は、それぞれ0.035 min^{-1} (モルヒネ), 0.015 min^{-1} (M6G), 0.012 min^{-1} ($[^3\text{H}]$ スクロース), 分布

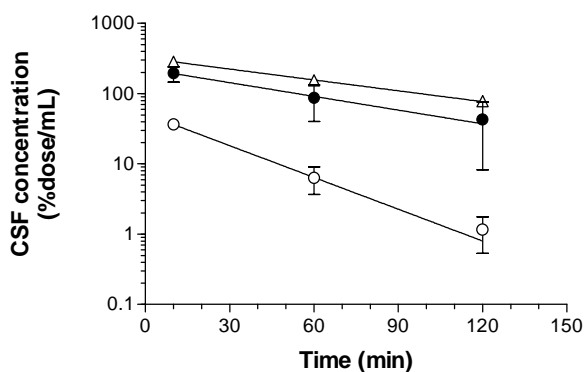


Fig. 1. CSF concentration profiles of morphine (○), M6G (●) and $[^3\text{H}]$ sucrose (Δ) after the i.c.v. injection in rats. Morphine or M6G (both 50 nmol) was injected with $[^3\text{H}]$ sucrose (5 kBq) into the rat ventricle. Rats were sacrificed at 10, 60 and 120 min. Each point represents the mean \pm S.E. of three (morphine, M6G) or six ($[^3\text{H}]$ sucrose) rats.

容積 (Vd) は 1.9 mL (モルヒネ), 0.44 mL (M6G), 0.31 mL (^3H スクロース) であり, M6G の消失クリアランス (CL) は 6.7 mL/min で, モルヒネの CL (67 mL/min) の 1/10 であり, ^3H スクロースの CL (3.7 mL/min) とは有意な差はなかった。

脳室内投与したモルヒネおよび M6G の脊髄腔内への拡散

脊髄腔内に透析プローブを移植したラットにモルヒネまたは M6G を ^3H スクロースとともに脳室内投与し, 微小透析法により脊髄腔内 CSF 中薬物濃度を測定した (Fig. 2)。各薬物の脊髄腔内 CSF 中濃度は, 投与後 15~45 分で最高値に達し, 以後経時的に減少した。脊髄腔内 CSF 中 M6G 濃度は, モルヒネ濃度より 29~79 倍高く, ^3H スクロース濃度と同程度であった。

これより求めた M6G の脊髄腔内 CSF 中濃度の $\text{AUC}_{\text{it } 0-\infty}$ は 13.1 %dose \cdot min/ μL で, モルヒネの $\text{AUC}_{\text{it } 0-\infty}$ (0.36 %dose \cdot min/ μL) より 36 倍有意に高値を示した。また, 脊髄腔内 CSF 中モルヒネ濃度は, CSF を採取して測定した CSF 中濃度 (Fig. 1) と比較し, 投与直後著しく低く, 投与後 120 分で同程度の濃度を示した。一方, 脊髄腔内 CSF 中 M6G 濃度は, CSF を採取して測定した CSF 中濃度といずれの時間においても同程度であっ

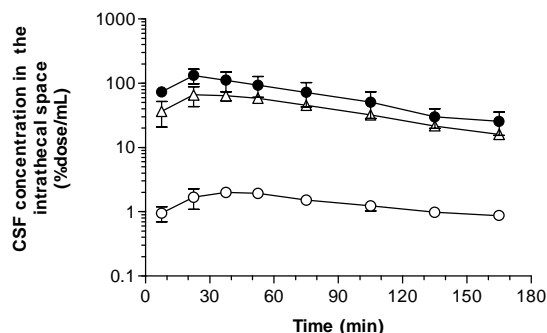


Fig. 2. CSF concentration in the intrathecal space of morphine (○), M6G (●) and ^3H sucrose (△) after the i.c.v. injection in rats. Morphine or M6G (both 50 nmol) was injected with ^3H sucrose (5 kBq) into the rat ventricle. CSF concentration in intrathecal space was measured by a microdialysis probe implanted into intrathecal space (Th11-L2). Each point represents the mean \pm S.E. of three (morphine, M6G) or six (^3H sucrose) rats.

た。

脳室内投与したモルヒネおよび M6G の脳脊髄組織への分布

モルヒネまたは M6G (50 nmol) を脳室内投与し, 10, 60 および 120 分後の大脳, 脳幹, 小脳および脊髄内薬物濃度を測定した (Fig. 3)。各組織内 M6G 濃度は, 投与 10 分後でモルヒネ濃度の 1.9~11.4 倍, 60 分後で 5.8~9.5 倍, 120 分後で

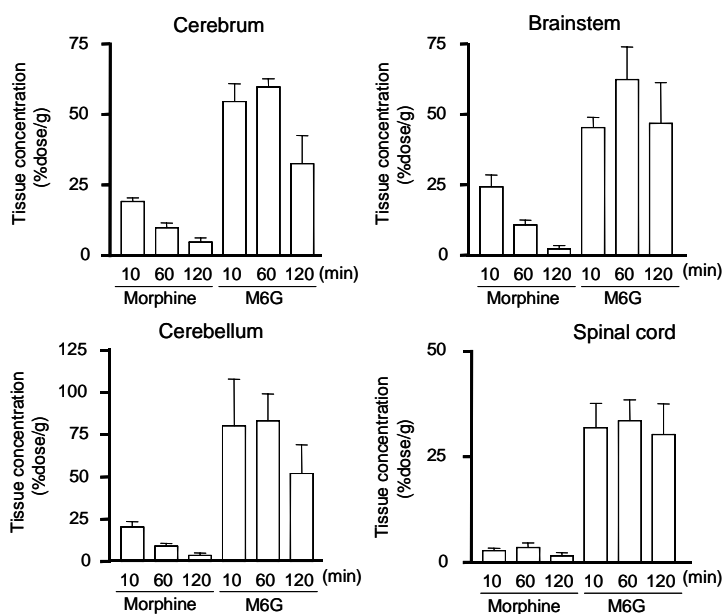


Fig. 3. Concentration of morphine and M6G in the cerebrum, brainstem, cerebellum and spinal cord after the i.c.v. injection in rats. Morphine or M6G (both 50 nmol) was injected into the rat ventricle. Rats were sacrificed at 10, 60 and 120 min. Each column represents the mean \pm S.E. of three rats.

6.9～20.7倍高かった。また、血漿中にはモルヒネ投与10分後に0.02 %dose/mLのモルヒネが検出され、60、120分後には検出されなかった。一方、M6Gを投与後、血漿中M6Gは、いずれの時間においても検出されなかった。

モルヒネおよびM6Gの脳スライス取り込み

モルヒネ、M6Gおよび ^3H スクロースのラット脳スライス取り込み量を測定したところ、各薬物の脳スライス取り込み量は経時的に増加し、いずれの薬物でも120分では定常状態に達した(Fig. 4)。これより算出したM6Gの脳分布容積は0.36 mL/gであり、モルヒネの分布容積(1.1 mL/g)の1/3であった。また、 ^3H スクロースの分布容積(0.24 mL/g)とは有意な差はなかった。

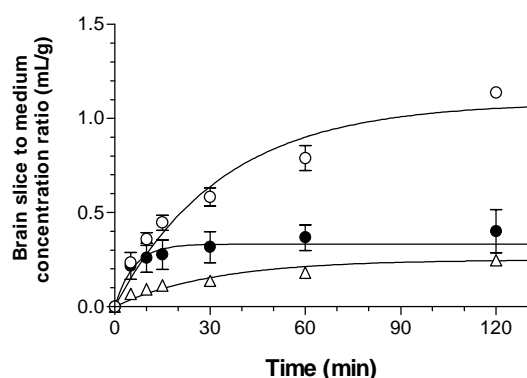


Fig. 4. Time course of rat brain to medium concentration ratio of morphine (○), M6G (●) and ^3H sucrose (△). Slices were incubated at 37°C in the medium containing morphine or M6G (both 100 μM) with ^3H sucrose (9.25 kBq/mL). Each point represents mean \pm S.E. of three (morphine, M6G) or six (^3H sucrose) experiments. Solid lines were generated from Eq.4.

考察

モルヒネとM6Gをラットに脳室内投与後、CSF中薬物濃度および脳脊髄組織内濃度を測定し、両薬物の脳内分布について検討した。ラットにモルヒネまたはM6Gを脳室内投与し、CSFを採取し

て薬物濃度を測定したところ、CSF中M6G濃度は、いずれの時間においてもモルヒネ濃度より高値を示した。これはM6GのCSFからの消失クリアランスがモルヒネより10倍低く、 ^3H スクロースと同程度であるためと考えられる。 ^3H スクロースは脳内で代謝されず、血液脳関門(BBB)または血液脳脊髄液関門(BCSFB)を透過しないため、その消失はCSF bulk flow(脳室から脊髄の周りを循環し、クモ膜下腔からクモ膜顆粒へと流れ、上矢状静脈洞から血液中へと流れるCSFの流れ)によると考えられる。今回測定した ^3H スクロースの消失クリアランスはCSF bulk flow rate (2.9 $\mu\text{L}/\text{min}$)⁷⁾に近似し、M6Gの消失クリアランスと有意な差はなかった。これより、M6GのCSFからの消失のうちCSF bulk flowの占める割合は高く、M6Gの脳内での代謝や、BCSFBまたはBBBからの消失は少ないと考えられる。一方、モルヒネのCSFからの消失クリアランスはM6Gの10倍、 ^3H スクロースの18倍高く、またモルヒネを脳室内投与後、血漿中にモルヒネが検出されたことから、モルヒネはBBBまたはBCSFBを介して脳側から血液側へ排出されることが示された。

次に両薬物のCSF中での拡散を調べるために、脊髄腔内に挿入した透析プローブを用いて、脊髄腔内CSF中薬物濃度を測定した。脊髄腔内CSF中M6G濃度は、CSFを採取して測定した脳室内CSF中M6G濃度と同程度であったが、投与直後のモルヒネ濃度では著しい濃度差がみられた。これよりモルヒネの脳室内から脊髄腔内への分布は遅いのに対し、M6Gは脳室内投与後、脊髄腔内まで速やかに分布することが示された。脳室内投与後、M6Gはモルヒネと異なり、脊髄腔内CSFにおいても高濃度存在したことから、脳室内投与により、M6Gは脳内だけでなく、脊髄レベルでも鎮痛作用を発現する可能性が示された。

続いてモルヒネとM6GのCSFから脳脊髄組織への分布を調べるため、脳室内投与後、大脳、脳幹、小脳および脊髄における薬物濃度を測定した。脳各部位および脊髄内M6G濃度は、モルヒネの場合と比べて1.9～20.7倍高かった。CSFと

脳細胞間液は、1層の上皮細胞によって隔てられており、上皮細胞は細隙結合というゆるい接合部を持っているために、物質の透過性はよいと考えられる。モルヒネに比べ高い脳脊髄組織内M6G濃度を示すのは、高いCSF中M6G濃度に起因すると考えられる。ラット脳スライスへの取り込み量から算出したM6Gの脳内分布容積は、モルヒネの分布容積の1/3であり、細胞外容積の指標となる $[^3\text{H}]$ スクロースの分布容積と同程度であった。これより、モルヒネが脳実質細胞に分布するのに対し、M6Gの細胞への分布は極めて少ないことが示された。脳室内投与したM6Gが脳脊髄組織内に高濃度残存し、さらにM6Gが細胞外液に局在するため、細胞膜表面上に存在するオピオイド受容体近傍でのM6G濃度は高いと考えられる。

以上の結果から、脳室内投与したM6Gは、モルヒネと比較し、CSFからの消失クリアランスが小さく、脊髄腔内にも高濃度分布すること、脳脊髄組織内に高濃度残存し、さらにM6Gは脳内で細胞外液中に局在することが示唆された。このM6Gの脳内分布特性から、M6Gは脳室内投与後、作用部位の濃度を反映する脳細胞間液中に高濃度存在することが示唆され、このことがM6Gの強い鎮痛作用発現に関与することが示唆された。

引用文献

- 1) F. V. Abbott and R. M. Palmour: morphine-6-glucuronide: Analgesic effects and receptor binding profile in rats. *Life Sci.*, 43, 1685-1695 (1988)
- 2) P. B. Osborne, B. Chieng and M. J. Christie: Morphine-6 β -glucuronide has a higher efficacy than morphine as a mu-opioid receptor agonist in the rat locus coeruleus. *Br. J. Pharmacol.*, 131, 1422-1428 (2000)
- 3) D. Wu, Y.-S. Kang, U. Bickel and W. M. Pardridge: Blood-brain barrier permeability to morphine-6-glucuronide is markedly reduced compared with morphine. *Drug Metab. Dispos.*, 25, 768-771 (1997)
- 4) R. F. Venn and A. Michalkiewicz: Fast reliable assay for morphine and its metabolites using high-performance liquid chromatography and native fluorescence detection. *J. Chromatogr.*, 525, 379-388 (1990)
- 5) F. Stain-Textier, G. Boschi, P. Sandouk and J.-M. Scherrmann: Elevated concentration of morphine 6-beta-D-glucuronide in brain extracellular fluid despite low blood-brain barrier permeability. *Br. J. Pharmacol.*, 128, 917-924 (1999)
- 6) T. Seki, N. Sato, T. Hasegawa, T. Kawaguchi and K. Juni: Nasal absorption of zidovudine and its transport to cerebrospinal fluid in rats. *Biol. Pharm. Bull.*, 17, 1135-1137 (1994)
- 7) K. Takasawa, T. Terasaki, H. Suzuki, T. Ooie and Y. Sugiyama: Distributed model analysis of 3'-azido-3'-deoxythymidine and 2',3'-dideoxyinosine distribution in brain tissue and cerebrospinal fluid. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 282, 1509-1517 (1997)

ラビット手術麻酔モデルの開発

- 超短時間作用性 μ -agonist : remifentanil による検討 -

林田真和¹, 福永敦翁², 目野亜希¹, 関山裕詩¹, 有田英子¹, 花岡一雄¹

1 東京大学医学部附属病院麻酔科・いたみセンター

2 Harbor/UCLA Medical Center 麻酔科

A rabbit model for the study of surgical anesthesia

-Validation with ultra-short acting μ -agonist : remifentanil-

Masakazu Hayashida¹, Atsuo Fukunaga², Aki Meno¹, Hiroshi Sekiyama¹,

Hideko Arita¹, Kazuo Hanaoka¹

¹ Department of Anesthesiology, The University of Tokyo Hospital

² Department of Anesthesiology, Harbor/UCLA Medical Center

Summary: We have developed an animal model, which allows for quantification of the depth of surgical anesthesia/analgesia using both mechanical clamping and electrical stimulation as simulated surgical incision. After tracheostomy and intravascular cannulation under isoflurane anesthesia, eight rabbits were placed on a sling that allowed animals to move the head and extremities freely. In spontaneously breathing animals, inspired isoflurane concentration was reduced stepwise from 3% to 1.5% and then to 0%. Remifentanil was infused at four stepwise increasing infusion rates (0.1, 0.2, 0.4 and 0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$). At each dose of isoflurane and remifentanil, cardiovascular, respiratory, and anesthetic/analgesic variables including the number of animals unresponsive to clamping the forepaw (non-respondent) and threshold intensities of subcutaneous electrical stimulation at 2Hz, 5Hz and 50Hz required for the head lift (HLT: pain detection threshold) and escape movement responses (EMT: pain tolerance threshold) were assessed. HLTs and EMTs, especially those at 5Hz, changed in parallel with changing the number of non-respondent, which represented the level of surgical anesthesia/analgesia. Therefore, HLT and EMT at 5Hz could be used reliably as quantitative measures of the level of surgical anesthesia/analgesia. This novel animal model with multimodal tests and monitoring that closely mimics clinical anesthesia seemed suitable for research of surgical anesthesia/analgesia.

緒言

従来、手術を施行できるほど深い麻酔の効果あるいは鎮痛の効果、すなわち手術麻酔/鎮痛の効果は、ヒトでも動物でも、実際の皮膚切開あるいは尾や四肢のクランプなど、手術に匹敵する侵害刺激に対する合目的な

回避反応の有無によって判定されてきた¹⁾。しかし、このような粗雑なテストでは、特に単一の対象において、手術のための麻酔や鎮痛の効果を定量的に評価するのは困難である²⁾³⁾⁴⁾。われわれは、擬似手術刺激として前肢のクランプと皮下電気刺激を併用した、手術麻酔/鎮痛の効果判定のためのウサギモデ

ルを開発した。このモデルにおいては、手術麻酔/鎮痛の深さないし効果を繰り返し定量できる上に、侵害刺激や麻酔薬あるいは鎮痛薬投与に対する呼吸循環の反応を持続的にモニターすることが可能である⁵⁾。

以前の研究で代表的な吸入麻酔薬のイソフルレンと同じく代表的な中時間作用性オピオイド(μ -アゴニスト)を使用して5Hzの皮下電気刺激による逃避運動誘発閾値によって外科麻酔/鎮痛の深度がよく定量されることを発表した。今回は、イソフルレンと超短時間作用性 μ -アゴニストであるレミフェンタニルを使用して、このモデルのさらなる動作性能評価を行った。

実験方法

1. 実験系の準備

体重 2.7-3kg のオスの New Zealand 白ウサギ 8 匹を対象として研究を行った。マスクによる 5%イソフルレン (I) 吸入で麻酔を導入し、3% I 麻酔下で気管切開・挿管し、呼吸は自発呼吸のままとした。耳の動静脈にカニューレを挿入し輸液と動脈圧持続モニターを開始した。膀胱にバルンカテーテルを挿入し、白熱ランプを使用して直腸温を 38-39°C に保った。

動物を頭と四肢を自由に動かせるゴムシート製のハンモックに吊るし、前肢の掌側皮下 5mm の深さに一対の針電極を刺入し、Grass S48 電気刺激器 (Grass Medical Instruments, Quincy, MA, USA) に接続した。

2. 侵害刺激とそれに対する行動反応

伝統的な手術麻酔深度の評価法として前肢クランプ試験を行った。前肢遠位部 1/4 をゴムカバー付きの止血鉗子で最長 10 秒間まで律動的にかつ横断的に把持した。動物が「逃走」「跳躍」様の動作など合目的回避行動を示した場合を陽性反応と見なした¹⁾。手術

麻酔/鎮痛の効果の指標として、各測定時点において、前肢クランプに対する無反応率 (%non-respondent; 8 匹中何%が陽性反応を示さなかったか) を算出した²⁾³⁾⁴⁾。

対側前肢での皮下電気刺激は、周波数 2Hz, 5Hz, 50Hz、持続 1msec の矩形波をこの順に適用し、各周波数における刺激の強さ(電圧)を 0 から最高 150volt まで緩徐に増加させ、頭部挙上反応(head lift=HL)と逃避行動反応(escape movement=EM) を誘発する電気刺激の強さの閾値を記録した (HLT と EMT)。

3. 呼吸循環の反応

収縮期・拡張期・平均動脈圧 (SAP, DAP, MAP)、心拍数 (HR) を連続的に、また呼吸数 (RR)、および血液ガスを繰り返し測定した。

4. テスト薬

I の濃度を 3% から 1.5%、さらに 0% へと 30 分毎に減少させた(予備研究でのウサギにおける I の最小肺泡濃度 MAC¹⁾ は 1.5% であった)。

完全覚醒後にレミフェンタニル (R) を 1 つの持続投与速度 2 時間ずつ 4 つの投与速度 0.1, 0.2, 0.4 and 0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ で計 8 時間にわたって持続静脈内投与した。R 最終投与の 60 分後にナロキソン (N) 0.1mg/kg を静脈内投与して F の効果をリバースした。

3%, 1.5%, 0% の I 吸入の最後に、次いで R の各投与速度での持続静注開始 5, 15, 30, 60, 120 分後に、そして N 投与の 15 分後に %non-respondent, HLT と EMT, SAP, DAP, MAP, HR, RR および血液ガスを測定した。

5. 統計解析

データは Mean \pm SD または Mean \pm SEM で表示した。0% I での、すなわち最初の F 投与

の直前での測定値を baseline として、SAP, DAP, MAP, HR, RR, および 2Hz, 5Hz, 50Hz の電気刺激における HLT と EMT の変化を、繰り返し測定 ANOVA と Fischer の PLSD を使用して検定した。%non-respondent の変化は、カイ二乗検定で検討した。測定項目間の相関は直線回帰分析で検討した。P<0.05 を有意とした。

結果

1. 呼吸循環反応

SAP, DAP と MAP は I によって投与量依存性に減少した。HR は R 投与後階段状に投与量依存性に減少した。RR も R 投与後階段状に投与量依存性に減少した。動脈血炭酸ガス分圧 (PaCO₂) は、I 投与により投与量依存性に増加し、R 投与後は階段状に投与量依存性に増加した。以上の測定値は R 投与終了 60 分後に baseline に復した。

2. %non-respondent

I によって %non-respondent は投与量依存性に増加した。1.5% I は半数の動物において前肢クランプに対する回避行動反応を消失させ (つまり本研究においても 1.5% I は 1MAC に相当)、2MAC に相当する 3% I は全例で回避反応を消失させた (Fig.1)。R 投与後に %non-respondent は階段状に投与量依存性に増加し、N 投与後に 0% に復した (Fig.1)。

3. 電気刺激閾値の変化

Fig.2 に 5Hz での HLT と EMT の変化を示す。I 投与中、HLT と EMT はほぼ同様の値を示した。5 Hz での HLT と EMT は I 投与により投与量依存性に増加した。2Hz および 5Hz での HLT と EMT にもほぼ同様の変化が見られた。

R 投与後には各周波数において HLT より EMT の方が高くなった。R 投与によって 5

Hz での HLT と EMT は階段状に用量依存性に増加した (Fig.2)。2Hz, 50Hz での HLT と EMT もほぼ同様に増加したが、R 投与終了 60 分後に 2Hz, 5Hz, 50Hz での HLT および 50Hz での EMT は baseline の水準に復し、N 投与後に 5Hz での EMT は baseline の水準に復した。

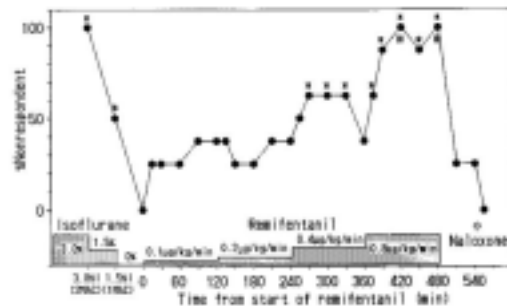


Fig.1. The change in %non-respondent

%nonrespondent = the percentage of animals that did not show aversive behaviors in response to clamping the forepaw, *p<0.05 vs. the baseline value, #p<0.05 vs. the last value at a previous dose.

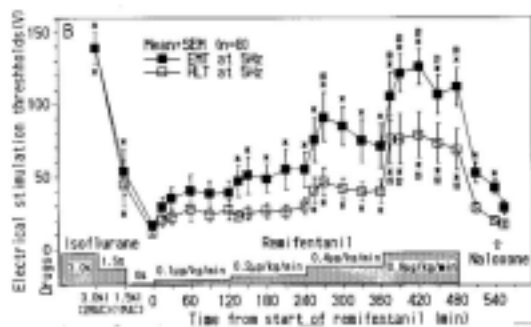


Fig.2. Changes in HLT and EMT at 5Hz

*p<0.05 vs. the baseline value, #p<0.05 vs. the last value at a previous dose.

4. 電気刺激に対する反応 (HLT, EMT) とクランプ試験に対する反応 (%non-respondent) の関係

各測定時点での、各周波数での HLT と EMT の平均値は、いずれも %non-respondent と有意

に相関した(すなわち各電気刺激閾値は%non-respondent と平行して変化した)。その中で5HzでのEMTが%non-respondentと最もよく相関した(Fig.3)。テスト薬の麻酔/鎮痛効果の投与量依存性は5HzでのEMTによって最も明白に検出できた。

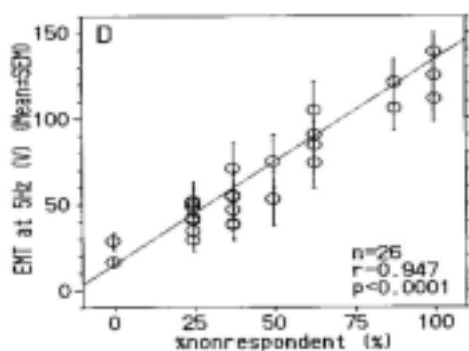


Fig.3. The relationship between the means of EMT at 5Hz at the time points of the study and %nonrespondent

考察

本モデルにおいては、機械的クランプと電気刺激を手術刺激に模した侵害刺激として使用し、行動学的ならびに生理学的反応を同時にモニターした。今回このモデルによって手術麻酔/鎮痛の効果を繰り返しかつ定量的に測定できるか検討した。また、どの周波数の電気刺激がこの目的に最もよく適するかを検討した。

報告によれば、吸入麻酔薬を使用した場合でも静脈麻酔薬ないし鎮痛薬を使用した場合でも、クランプなど一定の強い侵害刺激に対して対象が行動反応を示さない確立(%probability of no response)を統計学的に算出することによって手術麻酔/鎮痛の効果を定量することが可能である²⁾³⁾⁴⁾。ただし、この手法による麻酔/鎮痛の効果の定量には多数例での検討を要する。本研究では前肢クランプに対する無反応率を直接算出することに

よってイソフルランとレミフェンタニルの手術麻酔/鎮痛の効果を評価した。クランプの部位に関しては、予備実験で、尾より前肢の方が繰り返しクランプによく耐え、頻回刺激後にも安定した結果が得られたため、また、ブタにおいては尾クランプより前肢クランプの方がより強い侵害刺激であると報告されているため⁶⁾、本研究では前肢のクランプを採用した。

手術麻酔のテストにおいて、これまでも時に擬似手術刺激として電気刺激が利用されてきた。しかし、これまでは、多数の対象において、一定の強さの電気刺激に対する回避反応の有無を測定した集積データから、回避反応を示さない確立を算出して麻酔/鎮痛の効果を判定してきた¹⁾²⁾⁷⁾⁸⁾。今回は、単一対象においても麻酔/鎮痛効果を定量できる可能性を狙って、電気刺激強度を弱から強へと連続的に変化させて特定の行動反応の誘発される刺激閾値を測定した。R投与後、刺激強度を上げるにつれてまずHLが、次いでEMが誘発された。HLTは刺激が痛みとして感じられるようになり、覚醒反応を促す閾値(pain detection threshold)、EMTは痛みが絶えがたく感じる閾値(pain tolerance threshold)と解釈される⁹⁾。

本研究では、HLTとEMTのすべての対が、多かれ少なかれ、手術麻酔/鎮痛効果を表す%non-respondentと平行して変化した。したがってこれらの刺激閾値はいずれも手術麻酔/鎮痛深度の定量に使用することが可能と考えられた。その中でも5HzでのEMTが、%non-respondentとよく一致し、最も信頼性の高い手術麻酔/鎮痛の効果の指標として使用できると考えられた。

手術麻酔/鎮痛のテストでは一般に50-100Hzの電気刺激が侵害刺激として使用されてきた¹⁾²⁾⁷⁾⁸⁾¹⁰⁾。ヒトで皮膚表面電極による刺激を加えた場合、この周波数範囲の電気刺激が最も明白な痛みを生じると報告されてお

り¹¹⁾、この意味では50-100Hzでの電気刺激が手術麻酔/鎮痛のテストには最適かも知れない。しかし硬膜外フェンタニルによって生じた分節性の鎮痛効果は、5Hzの電気刺激によって最も鋭敏に検出されたという報告が見られる¹²⁾。本研究においてもテスト薬の麻酔/鎮痛効果の投与量依存性は5HzでのEMTによって最も明白に検出できた。また、5HzでのEMTが手術麻酔の効果を表す%non-respondentに最も密に相関した。したがって、5Hzでの皮下電気刺激は、2Hzや50Hzでのそれより、手術麻酔/鎮痛の深度を定量するための擬似手術刺激として最も適すると考えられた。

電気刺激閾値、殊に5Hzでの電気刺激閾値を機械的クランプに対する反応と組み合わせた場合、単一対象においても手術麻酔/鎮痛の効果が繰り返しかつ定量的に測定できた。また、すべての電気刺激閾値がナロキソンによるリバース後にbaselineの水準に復しており、今回の電気刺激法では、頻回刺激後も組織損傷に由来する感度低下を生じないと思われた。実際、電気刺激は組織損傷を生じる可能性が最も低いとされている¹¹⁾、

手術麻酔/鎮痛のための動物としては、動静脈の血管確保が容易であること、行動反応のみならず呼吸循環の種々の指標のモニターが容易にできること、薬物の投与量がヒトでのそれと類似することなどの点で、ウサギはネズミ類に大きくまさると思われる¹³⁾。

結語

われわれは、擬似手術刺激として機械的クランプと電気刺激の両者を使用した手術麻酔/鎮痛研究のためのウサギモデルを開発した。本モデルでは特に5Hzの電気刺激によって手術麻酔/鎮痛の深度を繰り返し正確に定量できるのみならず、呼吸循環動態のモニターが容易であり、手術麻酔/鎮痛の研究目的にきわ

めて有利と考えられた。

引用文献

- 1) Eger II EI, Saidman LJ, Brandstater B. Minimum alveolar anesthetic concentration: A standard of anesthetic potency. *Anesthesiology* 1965; 26: 756-763
- 2) Zbinden AM, Maggiorini M, Petersen-Felix S, Lauber R, Thomson DA, Minder CE: Anesthetic depth defined using multiple noxious stimuli during isoflurane/oxygen anesthesia I. Motor reactions. *Anesthesiology* 1994; 80: 253-260
- 3) Hung OR, Varvel JR, Shafer SL, Stanski DR: Thiopental Pharmacodynamics II. Quantification of clinical and electroencephalographic depth of anesthesia. *Anesthesiology* 1992; 77: 237-244
- 4) Ausems ME, Hug, Jr. CC, Stanski DR, Burm AGL: Plasma concentration of alfentanil required to supplement nitrous oxide anesthesia for general surgery. *Anesthesiology* 1986; 65: 362-373
- 5) 林田真和, 福永敦翁, 目野亜希, 小松郷子, 有田英子, 花岡一雄, 手術麻酔/鎮痛効果測定のための動物モデル. *JNRC Proceedings* 22: 129-133, 2001
- 6) Eger II EI, Johnson BH, Weiskopf RB, Holmes MA, Yasuda N, Targ A, Rampil IJ. Minimal alveolar concentration of I-653 and isoflurane in pigs: Definition of a supramaximal stimulus. *Anesth Analg* 1988; 67: 1174-1176
- 7) Laster MJ, Liu J, II EI, Taheri S. Electrical stimulation as a substitute for the tail clamp in the determination of minimum alveolar concentration. *Anesth Analg* 1993; 76: 1310-1312
- 8) Jones RM, Cashman JN, Eger II EI, Damask MC, Johnson BH: Kinetics and Potency of desflurane in volunteers. *Anesth Analg* 1990; 70: 3-7
- 9) Kissin I, Stanski DR, Brown PT, Bradley, Jr. EL: Pentobarbital-morphine anesthetic interactions in terms of intensity of noxious stimulation required

- for arousal. *Anesthesiology* 1993; 78: 744-749
- 10) Paalzow G, Paalzow L. The effect of caffeine and theophylline on nociceptive stimulation in the rats. *Acta pharmacol toxicol* 1973; 32: 22-32
- 11) Notermans SLH. Measurement of the pain threshold determined by electrical stimulation and its clinical application, Part 1. Methods and factors possibly influencing the pain threshold. *Neurology* 1966; 16: 1071-1086
- 12) Liu S, Gerancher JC, Bainton BG, Kopacz DJ, Carpenter RL: The effect of electrical stimulation at different frequencies on perception and pain in human volunteers: Epidural versus intravenous administration of fentanyl. *Anesth Analg* 1996; 82: 98-102
- 13) Langerman L, Chaimsky G, Golomb E, Tverskoy M, Kook AI, Benita S. A rabbit model for evaluation of spinal anesthesia: Chronic cannulation of the subarachnoid space. *Anesth Analg* 1990; 71: 529-535

超短時間作用性 μ -agonist : remifentanil の急性耐性

- ラビットモデルにおける検討 -

林田眞和¹, 福永敦翁², 目野亜希¹, 関山裕詩¹, 有田英子¹, 花岡一雄¹

1 東京大学医学部附属病院麻酔科・いたみセンター

2 Harbor/UCLA Medical Center 麻酔科

Acute tolerance development in ultra-short acting μ -agonist : remifentanil in a rabbit model of surgical anesthesia/analgesia -

Masakazu Hayashida¹, Atsuo Fukunaga², Aki Meno¹, Hiroshi Sekiyama¹,

Hideko Arita¹, Kazuo Hanaoka¹

¹ Department of Anesthesiology, The University of Tokyo Hospital

² Department of Anesthesiology, Harbor/UCLA Medical Center

Summary: Although acute tolerance to analgesia develops rapidly during remifentanil infusion, it is unknown whether acute tolerance develops also to its non-analgesic effects. We investigated analgesic, cardiovascular and respiratory effects of constant-rate remifentanil infusion in a rabbit acute pain model. Nine tracheotomized, spontaneously breathing and vascularly cannulated rabbits were placed on a sling that allowed animals to move the head and legs freely. In conscious animals, remifentanil was infused at a rate of 0.3 μ g/kg/min for 360 minutes. Cardiovascular, respiratory, and analgesic variables including percentage of animals behaviorally unresponsive to clamping the forepaw (%non-respondent) and threshold intensities of subcutaneous electrical stimulation at 5Hz required to evoke the head lift response (HLT: pain detection threshold) and the escape movement response (EMT: pain tolerance threshold) were monitored. By ANOVA and Fischer's PSLD, %non-respondent, HLT, EMT and PaCO₂ increased significantly and reached their maximums while blood pressure, heart rate and respiratory rate decreased and reached their minimums within 120 minutes after the start of remifentanil infusion. Thereafter, these variables began to return toward pre-infusion levels despite continuing infusion. Our results indicate that during remifentanil infusion acute tolerance develops in a few hours not only to its analgesic but also to its cardiovascular as well as respiratory effects.

緒言

モルヒネ¹⁾⁻⁴⁾、アルフェentanil⁵⁾⁶⁾、スフェentanil⁷⁾やレミフェentanil⁸⁾などの μ 受容体アゴニストの定速持続静脈内投与中に

それらの鎮痛効果に対する急性耐性が発現することが報告されている。鎮痛作用以外の、例えば呼吸抑制などのオピオイドの作用に対しても急性耐性が成立するか否かを検討した報告は少ない。モルヒネの持続静脈内投

与中に、その鎮痛作用に対しては迅速に急性耐性が成立する一方、心拍数減少などの循環抑制作用、動脈血炭酸ガス分圧上昇などの呼吸抑制作用に対しては急性耐性が成立しないことを示唆する報告が見られる²⁾⁹⁾。レミフェンタニルはもっぱら持続静脈投与で使用される超短時間作用性 μ 受容体アゴニストであり¹⁰⁾、その鎮痛効果にも急性耐性が発現することが最近報告された⁸⁾。しかし、モルヒネと同様、その呼吸循環作用に急性耐性が生じないのどうか検討した報告は見られない。今回、ウサギの手術麻酔/鎮痛のモデルを使用してレミフェンタニルの鎮痛作用と呼吸循環作用の急性耐性発現の有無を検討した。

実験方法

方法の詳細は他の論文で詳述した¹⁰⁾¹¹⁾。体重約 3kg のオスの New Zealand 白ウサギ 9 羽においてイソフルレン麻酔下で気管切開・挿管し、呼吸は自発呼吸のままとし、耳の動静脈にカニューレを挿入した。動物を頭と四肢を自由に動かせるゴムシート製のハンモックに吊るし、前肢の掌側皮下 5mm の深さに一対の針電極を刺入し、Grass S48 電気刺激器 (Grass Medical Instruments, Quincy, MA, USA) に接続した。

レミフェンタニルの鎮痛効果は、最長 10 秒間の前肢クランプに対して、何%のウサギが合目的回避行動を示しなかったかという、前肢クランプに対する無反応率 (%non-respondent)、および対側前肢での皮下電気刺激(周波数 5Hz, 電圧 0 から最高 150V までの可変、持続 1msec 矩形波電流)による頭部挙上反応誘発閾値(HLT=疼痛感知閾値)と逃避行動反応誘発閾値(EMT=疼痛不耐容閾値)の両者で検討した¹⁰⁾¹¹⁾。

レミフェンタニルの呼吸循環効果は、収縮期・拡張期・平均動脈圧 (SAP, DAP, MAP)、心

拍数(HR)を連続的に、また呼吸数(RR)、および血液ガス、特に動脈血炭酸ガス分圧 (PaCO₂)を繰り返し測定することによって検討した。

イソフルレン麻酔からの全覚醒を確認後、6 時間にわたるレミフェンタニル(R) 0.3 μ g/kg/min の持続静脈内投与を開始した。R の投与開始直前 (0 分)から R の投与終了(360 分)の 60 分後(420 分)まで、最初の 30 分間は 15 分間隔で、以後 30 分間隔で上記測定項目を繰り返し測定記録した。

データは Mean \pm SD または Mean \pm SEM で表示した。0 分での測定値を前値として、SAP, DAP, MAP, HR, RR, および 5Hz の皮下電気刺激における HLT と EMT の変化を、繰り返し測定 of ANOVA と Fischer の PLSD を使用して検定した。%non-respondent の変化は、カイ二乗検定で検討した。P<0.05 を有意とした。

結果

R 投与開始後 %non-respondent は迅速に上昇し、90 分で最大値をとった後減少に転じ、R 投与終了後前値の 0%に復した。HLT と EMT も R 開始後迅速に上昇し、それぞれ 60 分と 120 分で最大値をとった後減少に転じ、R 投与終了後前値に復した(図 1)。

R 投与開始後 SAP は変化しなかったが、DAP と MAP は低下し、90 分で最低値をとった後、R 持続投与中 210 分には前値に復した。R 投与開始後 HR は迅速に減少し、60 分後に最低値をとった後増加に転じ、R 持続投与中 120 分には前値に復した(図 2)。

R 投与開始後 RR は迅速に減少し、120 分後に最低値をとった後増加に転じ、R 投与終了後前値に復した(図 3)。R 投与開始後 PaCO₂ は迅速に増加し、120 分後に最大値をとった後減少に転じ、R 投与終了後前値に復した。

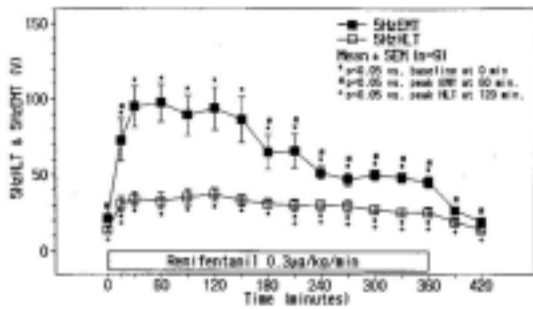


Fig.1. Changes in HLT and EMT at 5Hz during and after remifentanyl infusion

*p<0.05 vs. the baseline value, #p<0.05 vs. the peak value.

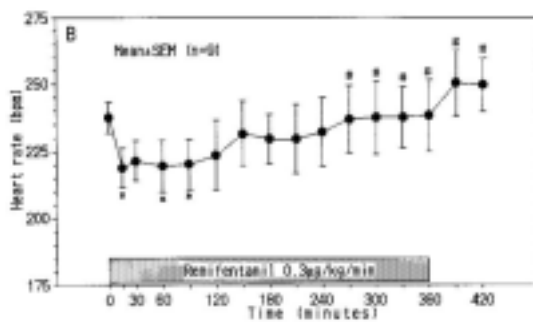


Fig.2. The change in the heart rate (HR) during and after remifentanyl infusion

*p<0.05 vs. the baseline value, #p<0.05 vs. the bottom value.

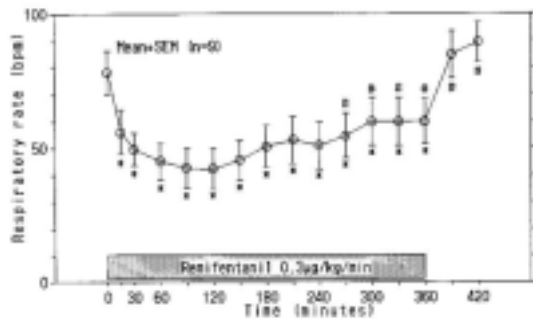


Fig.3. The change in the respiratory rate (RR) during and after remifentanyl infusion

*p<0.05 vs. the baseline value, #p<0.05 vs. the bottom value.

考察

今回の研究結果から、レミフェンタニルの持続投与中、その鎮痛効果のみならず、呼吸循環効果も 60-120 分の間に最大効果に至り、その後は持続投与中にも拘わらず効果が減弱することが明らかになった。すなわち鎮痛効果のみならず呼吸循環効果に対しても急性耐性が迅速に生じる。

オピオイドの投与中、その循環作用に対して急性耐性が生じるかどうか検討した報告はほとんど見られない。しかし、1つの報告においては、モルヒネ持続投与中、鎮痛作用に急性耐性が生じたのに反して、モルヒネ持続投与の開始とともに急減した心拍数はモルヒネ持続投与の間中減少したまま経過しており²⁾、モルヒネでは循環作用に対する急性耐性が生じない可能性が示唆される。

呼吸作用に対して急性耐性が生じるか否か議論がある。モルヒネ持続投与中、鎮痛作用に急性耐性が発生したのに反して、呼吸抑制作用に対する急性耐性は生じなかったとする報告がある一方⁹⁾、フェンタニルの bolus 投与後呼吸抑制作用に対する急性耐性が急速に生じたとする報告がある¹³⁾。

オピオイドの急性耐性の発現には複数のメカニズムが関与することが示唆されている⁵⁾⁶⁾¹⁴⁾。耐性発現には異なったメカニズムが種々の割合での寄与するために、検討するオピオイド作用の種類⁵⁾⁹⁾、オピオイドの投与量⁵⁾¹⁵⁾、オピオイドの種類そのもの⁷⁾ など異なった条件下で耐性発現の特徴が異なってくると考えられる。例えば、モルヒネよりアルフェンタニルでより急速に急性耐性が生じる傾向が見られる⁷⁾。したがって、呼吸循環作用に対する急性耐性が、モルヒネよりフェンタニルやレミフェンタニルでより速く出現しても不思議ではないと思われる。

結語

レミフェentanilの持続投与中、その鎮痛作用のみならず、呼吸循環作用に対しても迅速に急性耐性が出現する。

引用文献

- 1) Schmidt CF, Livingstone AE. The action of morphine on the mammalian circulation. *J Pharmacol Exp Ther* 1933; 47: 411-441.
- 2) Martin WR, Eades CG. Demonstration of tolerance and physical dependence in the dog following a short-term infusion of morphine. *J Pharmacol Exp Ther* 1961; 133: 262-270.
- 3) Cox BM, Ginsburg M, Osman OH. Acute tolerance to narcotic drugs in rats. *Br J Pharmacol Chemother* 1968; 33: 245-256.
- 4) Kissin I, Brown PT, Robinson CA, Bradley, Jr. EL. Acute tolerance in morphine analgesia: Continuous infusion and single injection in rats. *Anesthesiology* 1991; 74: 166-171.
- 5) Kissin I, Lee SS, Arthur R, Bradley EL Jr. Time course characteristics of acute tolerance development to continuously infused alfentanil in rats. *Anesth Analg* 1996; 83: 600-605.
- 6) Kissin I, Bright CA, Bradley EL Jr. Acute tolerance to continuously infused alfentanil: The role of cholecystokinin and N-methyl-D-aspartate-nitric oxide systems. *Anesth Analg* 2000; 91: 110-116.
- 7) Kissin I, Brown PT, Bradley EL Jr. Magnitude of acute tolerance opioids is not related to their potency. *Anesthesiology* 1991; 75: 813-816.
- 8) Vinik HR, Kissin I. Rapid development of tolerance to analgesia during remifentanil infusion in humans. *Anesth Analg* 1998; 86: 1307-1311.
- 9) Ling GSF, Paul D, Simantov R, Pasternak GW. Differential development of acute tolerance to analgesia, respiratory depression, gastrointestinal transit and hormone release in a morphine infusion model. *Life Science* 1989; 45: 1627-1636.
- 10) Burkle H, Dunbar S, Aken HV. Remifentanil: A novel, short acting, μ -opioid. *Anesth Analg* 1996; 83: 646-651
- 11) 林田真和, 福永敦翁, 目野亜希, 小松郷子, 有田英子, 花岡一雄, 手術麻酔/鎮痛効果測定のための動物モデル. *JNRC Proceedings* 22: 129-133, 2001
- 12) 林田真和, 福永敦翁, 目野亜希, 関山裕詩, 有田英子, 花岡一雄. ラビット手術麻酔モデルの開発 - 超短時間作用性 μ -agonist : remifentanilによる検討 - . *JNRC Proceedings* 23: in press, 2002
- 13) McQuay HJ, Bullingham RES, Moore RA. Acute opiate tolerance in man. *Life Sciences* 1981; 28: 2513-2517.
- 14) Knob GF, Bloom FE. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science* 1988; 242: 715-724.
- 15) Fennessy MR, Rattray JF. Cardiovascular effects of intravenous morphine in the anaesthetized rat. *Eur J Pharmacol* 1971; 14: 1-8.