

## O-5-1

### ラット脊髄後角C-線維誘発性field-potentialsに対するcilnidipineの影響

山本昇平<sup>1</sup>、鈴木悠馬<sup>2</sup>、大澤匡弘<sup>2</sup>、小野秀樹<sup>3</sup>

<sup>1</sup>川崎医科大学薬理学教室、<sup>2</sup>名古屋市立大学大学院薬学研究科神経薬理学分野、

<sup>3</sup>武蔵野大学薬学部臨床薬剤学研究室

**【背景】** CilnidipineはN型およびL型電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネル阻害作用を有するdihydropyridine誘導体である。我々は以前にC-線維の関与の大きい機械痛覚過敏行動を示すspared nerve injury (SNI) モデルマウスにおいて、脊髄くも膜下腔内投与されたcilnidipineが機械痛覚過敏を抑制する事を報告した。脊髄における痛覚過敏の電気生理学的モデルとして、脊髄後角C-線維誘発性field-potentials (FPs) の長期増強 (long-term potentiation: LTP) がある。そこで本研究ではC-線維誘発性FPsに対するcilnidipineの影響について検討し、その作用をシナプス伝達レベルで調べた。

**【方法】** Wistar/ST系雄性ラットを麻酔し、坐骨神経電気刺激により起こるC-線維誘発性FPsを腰髄後角から記録した。LTPは坐骨神経への高頻度高強度刺激 (high frequency stimulation: HFS) により誘導した。薬物は脊髄上へ直接投与した。SNIモデルラットは麻酔下で坐骨神経の三枝のうち総腓骨神経と脛骨神経を結紮することにより作製し、痛覚過敏の発症を行動試験で確認した後、手術1週間後にC-線維誘発性FPsの測定を行った。

**【結果および考察】** Cilnidipine (10 μM) 投与はnaïveラットにおけるbasalなC-線維誘発性FPsに影響しなかったが、投与後のHFSによるLTPの誘導を有意に抑制した。またLTP誘導後の投与では、増強したC-線維誘発性FPsを有意に減弱させた。SNIモデルラットではHFSを与えてもLTPが誘導されないため、既に脊髄後角シナプス伝達が過敏状態にあると考えられた。このモデルラットではcilnidipineはbasalなC-線維誘発性FPsを抑制した。これらのことから、cilnidipineの抑制作用はLTPや痛覚過敏のような過敏状態の脊髄後角シナプス伝達に特異的であることが示された。この抑制作用は同用量のL型電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネル阻害薬nicardipineよりも強かったことから、cilnidipineのように複数の電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネルを阻害する薬物が、神経障害性疼痛に対し特に有効であると考えられる。

## O-5-2

### 2,4,6-トリニトロクロロベンゼン誘発疼痛モデルマウスにおけるインターロイキン-31の効果

辻 稔<sup>1)</sup>、新井 巖<sup>1,2)</sup>、宮川和也<sup>1)</sup>、宮岸寛子<sup>1)</sup>、齋藤淳美<sup>1)</sup>、武田弘太郎<sup>1)</sup>、  
秋山暢丈<sup>2)</sup>、齋藤三郎<sup>2)</sup>、武田弘志<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国際医療福祉大学薬学部・薬理学分野 <sup>2)</sup> 東京慈恵会医科大学DNA医学研究所・分子免疫部門

我々はこれまでに、モルヒネ誘発抗侵害刺激効果が、インターロイキン-31 (IL-31) 受容体A (IL-31RA) を遺伝的に欠損させたノックインマウスで減弱することや、逆にIL-31の反復投与により知覚神経後根神経節 (DRG) におけるIL-31RA発現を亢進させたマウスでは増強することを見出し報告した。これらの知見は、生体の痛覚制御機構において、IL-31及びIL-31RAが重要な役割を担っている可能性を示唆するものである。そこで本研究では、独自に炎症性疼痛モデルマウスを作成し、IL-31の鎮痛効果について検討した。実験にはBALB/c系雄性マウス (7週齢) を用い、疼痛閾値の変化はhot-plate法に従い評価した。起炎物質である2,4,6-トリニトロクロロベンゼン (TNCB; 0.3-3%, 0.04 mL/site) をマウス四肢裏に塗布した結果、塗布後1-6時間にかけて、濃度依存的かつ有意に疼痛閾値が低下した。また、TNCB塗布後の皮膚内におけるプロスタグランジン (PG) 類の産生量を測定したところ、PGD<sub>2</sub>、PGE<sub>2</sub>およびPGI<sub>2</sub>の増加が認められた。したがって、TNCBはこれらPG類の作用を介して、疼痛閾値を低下させることが示唆された。そこで次に、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) であるアスピリン (10-100 mg/kg, p. o.) ならびにロキソプロフェン (1.5-15 mg/kg, p. o.) の効果について検討したところ、両薬物ともにTNCB誘発疼痛閾値の低下を用量依存的かつ有意に回復させた。また、DRGにおけるIL-31RA発現量が増加する条件でIL-31 (50 μg/kg, i. p.) を12時間毎に3日間反復投与した場合も、TNCB誘発疼痛閾値の低下は有意に回復した。さらに、TNCB誘発疼痛閾値の低下に対するロキソプロフェン (5 mg/kg, p. o.) の回復効果は、IL-31 (50 μg/kg, i. p.) の反復投与により有意に増強した。

以上、本研究の結果より、IL-31が鎮痛効果を有すること、さらには、モルヒネに加えてNSAIDsの鎮痛効果に対してもIL-31が増強作用を示すことが明らかとなった。したがって、新規鎮痛薬あるいは鎮痛補助薬としてのIL-31の可能性が示唆される。

## O-5-3

### 疼痛閾値の調節におけるIL-31受容体Aの役割

新井 巖<sup>1,2)</sup>、辻 稔<sup>1)</sup>、宮川和也<sup>1)</sup>、宮岸寛子<sup>1)</sup>、齋藤淳美<sup>1)</sup>、武田弘太郎<sup>1)</sup>、  
秋山暢丈<sup>2)</sup>、齋藤三郎<sup>2)</sup>、武田弘志<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国際医療福祉大学薬学部・薬理学分野 <sup>2)</sup> 東京慈恵会医科大学DNA医学研究所・分子免疫部門

我々はこれまでに、インターロイキン-31 (IL-31) の反復投与が、マウス知覚神経後根神経節 (DRG) におけるIL-31受容体A (IL-31RA) の発現を増加させるとともに、オピオイド鎮痛薬であるモルヒネや非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) であるアスピリンならびにロキソプロフェンの鎮痛効果を増強することを見出している。これらの知見は、生体の痛覚制御にIL-31及びIL-31RAが関与している可能性を示唆するものである。そこで本研究では、起炎物質である2,4,6-トリニトロクロロベンゼン (TNCB) のマウス四肢裏への塗布により誘発される疼痛閾値の変動とIL-31RAとの関連性について検討した。

実験には野生型マウス (C57BL/6J系あるいはBALB/c系雄性マウス) 及びIL-31RAを遺伝的に欠損させたノックインマウス (IL-31RAKIマウス) を用い、疼痛閾値の変化はhot-plate法に従い評価した。

TNCB (0.3-3%, 0.04 mL/site) を野生型 (BALB/c系) マウス四肢裏に塗布した結果、塗布後1-6時間にかけて、濃度依存的かつ有意に疼痛閾値が低下した。一方、TNCB塗布後24-72時間では、有意な疼痛閾値の上昇が認められた。これら2相性の疼痛閾値の変化のうち、TNCB塗布後1-6時間で認められる疼痛閾値の低下は、DRGにおけるIL-31RA発現量が増加する条件であるIL-31 (50  $\mu$ g/kg, i.p.) の12時間毎3日間の反復投与により有意に抑制された。また、疼痛閾値の上昇が認められるTNCB塗布72時間後では、DRGにおけるIL-31RA発現量の増加が認められた。さらに、IL-31RAKIマウスでは、野生型 (C57BL/6J系) マウスで発現するTNCB塗布24時間後以降の疼痛閾値の上昇が減弱した。

以上の知見は、知覚神経におけるIL-31RAの発現状態に依存して疼痛閾値が変動すること、即ち、IL-31RAの知覚神経内密度が高い状態では疼痛発現が緩和され、低い状態では増強する可能性を示唆するものと考えられる。

## $\mu$ および $\delta$ オピオイド受容体による無顆粒島皮質における抑制性シナプス伝達修飾作用の解明

横田英子<sup>1,2</sup>, 大井良之<sup>1</sup>, 小林真之<sup>2</sup>

1) 日本大学歯学部歯科麻酔学講座, 2) 日本大学歯学部薬理学講座

代表的な麻薬性鎮痛薬であるモルヒネは、高次痛覚中枢である無顆粒島皮質 (AI) において、オピオイド受容体を介して下行性抑制を賦活化し、鎮痛作用を発揮することが報告されている。しかし、オピオイド受容体のAIにおける抑制性シナプス伝達の修飾メカニズムについては不明である。本研究では、AIの複数の細胞から同時ホールセル・パッチクランプ記録を行い、オピオイド受容体サブタイプ別による抑制性シナプス伝達修飾作用について検討した。さらに光学計測法を用いて、オピオイド受容体アゴニストによるAIの応答性の変化について *in vivo* 標本で検討した。

$\mu$  受容体アゴニストである DAMGO (1  $\mu$  M) 灌流投与により、fast-spikingニューロン (FS) から錐体細胞 (Pyr) への抑制性入力 (FS $\rightarrow$ Pyr) においては有意な uIPSC の振幅変化は認められなかったが、FS $\rightarrow$ FS では uIPSC の振幅が減少した。一方、 $\delta$  受容体アゴニストである DPDPE (1  $\mu$  M) により、uIPSC の振幅は FS $\rightarrow$ Pyr および FS $\rightarrow$ FS いずれにおいても有意に減少した。 $\kappa$  受容体アゴニストである U50488 (1  $\mu$  M) は、いずれのシナプスにおいても uIPSC の振幅を変化させなかった。また、DAMGO は皮質における興奮伝播を抑制し、逆に DPDPE は興奮伝播を増大させた。これらの結果から、オピオイド受容体サブタイプおよびシナプスを形成する細胞の種類によって抑制性シナプス伝達修飾作用が異なることが明らかとなった。さらに  $\mu$  受容体は、抑制性シナプス伝達において、Pyr よりも FS に対する uIPSC を選択的に抑制することで、AI からの出力を抑制して下行性抑制を賦活化している可能性が示唆された。

## 腹側被蓋野内モルヒネ活性化細胞の活動制御による疼痛閾値の変化

岡野秀嗣<sup>1)</sup>、渡邊萌<sup>1)</sup>、成田道子<sup>1)</sup>、濱田祐輔<sup>1)</sup>、新里達人<sup>1)</sup>、岩山嘉孝<sup>1)</sup>、  
内山直彦<sup>1)</sup>、山下哲<sup>3)</sup>、葛巻直子<sup>1)</sup>、山中章弘<sup>3)</sup>、成田年<sup>1)2)</sup>

1) 星薬科大学 薬理学教室 2) 星薬科大学 先端生命科学研究センター (L-StaR) 3) 名古屋  
大学 環境医学研究所 神経系分野2

モルヒネは下行性抑制系の活性化を介した痛覚伝導路の遮断により鎮痛効果を発揮し、さらに腹側被蓋野から側坐核へと投射する中脳辺縁ドーパミン神経系を活性化することで快情動を発現させる。また、神経障害性疼痛下において中脳辺縁ドーパミン神経系の活性低下が知られている一方、香りや音楽といった「快」による痛みの軽減が報告されていることから、モルヒネは既知の鎮痛発現機序に加え、快情動に関わる中脳辺縁ドーパミン神経系の活性化により鎮痛効果を発揮する可能性が考えられる。そこで本研究では、特定細胞の人為的活動制御手法ならびに神経活動依存的に細胞標識が可能な遺伝子組換え動物を用いて、腹側被蓋野内モルヒネ活性化細胞の活動制御を行った際の疼痛閾値変化を検討した。まず、cFos プロモーターの下流にタモキシフェン誘導型 Cre-loxP システムにより興奮性の変異 G 蛋白共役型受容体 (hM3Dq) を発現する遺伝子組換え動物を作製した。この動物を用いてモルヒネ活性化細胞を hM3Dq にて標識し、免疫染色法により腹側被蓋野内での発現を検討した結果、モルヒネ活性化細胞の多くは TH 陽性ドーパミン神経であることが示唆された。こうした条件下、hM3Dq の特異的リガンド (Clozapine *N*-oxide) を投与し、腹側被蓋野内モルヒネ活性化細胞を再活性化した際の疼痛閾値を検討した結果、正常状態において疼痛閾値の変化は認められなかった。一方、前述したシステムを用い、神経活動依存的に光感受性陽イオンチャネル (ChR2) を発現する遺伝子組換え動物を作製し、神経障害性疼痛下において腹側被蓋野内モルヒネ活性化細胞を再活性化した際の疼痛閾値を検討したところ、疼痛閾値の一過性の回復が認められた。以上の結果から、神経障害性疼痛下においてモルヒネ鎮痛効果の発現には腹側被蓋野ドーパミン神経の活性化が一部関与している可能性が示唆された。

## NMDA誘発緑内障モデルにおけるミクログリア依存的RGC傷害メカニズムの解明

○武田明子<sup>1</sup>、篠崎陽一<sup>1</sup>、柏木賢治<sup>2</sup>、小泉修一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>山梨大・院・医・薬理、<sup>2</sup>山梨大・院・医・眼科

緑内障は日本における失明原因第1位、世界では第2位の神経変性疾患である。緑内障における失明は、網膜視神経節細胞 (RGC) の軸索機能低下および細胞死によって生じるが、その発症メカニズムは十分に明らかではない。現行の治療法は疾患の進行を遅らせる対症療法的な手段しかなく、新たな治療法の開発は緊急の課題である。我々は、緑内障患者の網膜においてミクログリアの活性化が報告されていることから、ミクログリアが緑内障発症に関与する、と仮説を立ててそのメカニズムを検討した。

緑内障モデル動物におけるRGC傷害機構の1つとして、グルタミン酸を介した興奮毒性が寄与すること、さらに緑内障患者眼房水ではグルタミン酸レベルが上昇することなどから、本研究では、NMDA (N-methyl-D-aspartate) による興奮毒性誘発モデルを用いた。NMDAを硝子体内に投与し、7日目までのRGCおよび網膜ミクログリアの経時的変化を解析した。NMDAはRGCの脱落を引き起こしたが、これに先行してミクログリアの活性化が認められた。次に、先行するミクログリア活性化とRGC脱落との因果関係を薬理的に検証した。ミクログリア活性化抑制薬であるMinocyclineの点眼投与は、ミクログリア活性化の抑制とともに、このRGC脱落を優位に抑制した。また、ミクログリアを除去するClodronateやColony stimulating factor 1 receptor (CSF1R) 拮抗薬でも、同様のRGC脱落抑制作用が認められた。最後に、活性化ミクログリアによるRGC脱落の分子メカニズムを、特に炎症性サイトカインに着目して検討した。その結果、ミクログリア活性化と同様のタイムコースで、TNF $\alpha$ を含む炎症性サイトカインの発現上昇が認められた。

以上より、本研究モデルにおけるRGC脱落は、①先行して活性化するミクログリアに依存していること、②ミクログリア由来炎症性サイトカインの放出によって誘導されている可能性が示された。