

氏 名	中 本 泰 充
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学位記番号	薬 博 第 419 号
学位授与の日付	平成 10 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	薬学 研究科 薬学 専攻
学位論文題目	エルカトニンの中枢性抗侵害受容作用機序に関する行動および分子薬理学的研究 (主査)
論文調査委員	教授 佐藤 公道 教授 赤池 昭紀 教授 橋田 充

### 論 文 内 容 の 要 旨

骨粗鬆症は高齢者において多く見られる疾患であるが、今後老年者人口が増加するのに伴い骨粗鬆症患者数の急増が予想されることからその予防法および治療法の確立が医学的にも社会的にもきわめて重要な課題となっている。また、骨粗鬆症において脊椎圧迫骨折などに伴い生じる急性あるいは慢性の腰背部痛が患者を悩ませており、これらの痛みを除去することが临床上重要である。合成ウナギカルシトニン誘導体であるエルカトニン ([Asu<sup>17</sup>]-eel calcitonin) は骨粗鬆症患者に対し鎮痛作用とともに骨量改善作用を併せ持つとされ、腰背部痛を伴う骨粗鬆症の治療薬として広く使用されているが、その鎮痛作用機序の詳細については未だ明らかにされておらず、より治療効果の高い治療薬あるいはより副作用の少ない治療薬の開発のためにはその作用機序の解明が必要である。これまでにヒトや動物へのカルシトニン類の中枢性投与によりさまざまな薬理作用を引き起こすことが報告されており、また脳内でカルシトニン受容体 mRNA の発現が報告されるに至り、カルシトニン類の中枢性作用の解析も必要となってきた。そこで、本研究において著者は、エルカトニンの中枢神経系を介する鎮痛作用機構についてマウスを用いて行動薬理学的および分子薬理学的研究を行い、以下の新知見を得た。

#### 第一章 マウスライジング法におけるエルカトニンの中枢性投与による抗侵害受容作用の解析

マウスへのエルカトニンの大槽内投与 (0.04, 0.1, 0.2U/mouse) および側脳室内投与 (0.1, 0.2U/mouse) により、1.2% 酢酸の腹腔内投与により誘発されるライジング反応の発現回数は有意に抑制されたが、脊髄クモ膜下腔内投与によっては抑制作用は見られなかった。エルカトニンの大槽内投与による酢酸ライジング抑制作用はメチセルジド (非選択的 5-HT 受容体拮抗薬) の全身性の前処置により有意に減弱したが、メチセルジドとエルカトニンの大槽内への同時投与によっては影響されなかった。さらにこの作用は、メチセルジド、NAN-190 (選択的 5-HT<sub>1A</sub> 受容体拮抗薬) およびグラニセトロン (選択的 5-HT<sub>3</sub> 受容体拮抗薬) の脊髄クモ膜下腔内への前処置により有意に減弱した。一方、ナロキソン (オピオイド受容体拮抗薬)、フェントラミン (非選択的  $\alpha$  アドレナリン受容体遮断薬)、アテノロール (選択的  $\beta_1$  アドレナリン受容体遮断薬) あるいはブトキサミン (選択的  $\beta_2$  アドレナリン受容体遮断薬) の前処置によってはエルカトニンの作用は影響されなかった。次に、セロトニン神経毒である 5, 7-ジヒドロキシトリプタミンを前処置し、脳幹部および脊髄のセロトニンを枯渇させると、エルカトニン大槽内投与による酢酸ライジング抑制作用は有意に減弱した。以上の結果より化学的侵害刺激に対するエルカトニンの大槽内投与による抗侵害受容作用の発現には、脊髄の 5-HT 受容体、特に 5-HT<sub>1A</sub> および 5-HT<sub>3</sub> 受容体が関与していることが明らかとなり、さらに脳幹部に起始核を有し脊髄後角に投射する下行性セロトニン神経系が賦活されている可能性が示唆される。

#### 第二章 マウス脳内におけるカルシトニン受容体 mRNA の分布およびセロトニン神経における発現の検討

上位中枢に投与されたエルカトニンの作用部位を検討するため、マウス脳内におけるカルシトニン受容体 mRNA の発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて検討した。カルシトニン受容体 mRNA は痛覚情報の伝達・制御に深く関与すると考えられている部位のうち、扁桃核、視床下部の諸核、背側縫線核、青斑核において強く発現していた。また中脳中心

灰白質, 三叉神経脊髄路核, 大縫線核, 巨大細胞性網様核 $\alpha$ 部, 外側巨大細胞性網様体傍核においては中程度の発現が見られた。その他, 側坐核, 分界条床核, 背側被蓋核, 外側結合腕傍核, 不確縫線核, 淡蒼縫線核, 孤束核, 最後野などにおいて発現が認められたが, 脊髄においては発現は見られなかった。続いて, double in situハイブリダイゼーション法を用いてセロトニン作動性ニューロンの特異的マーカーとなり得るセロトニントランスポーター (SERT) mRNAとの共存を検討したところ, 背側縫線核尾側部のSERT陽性細胞においてカルシトニン受容体mRNAが高密度で強く発現しており, 大縫線核, 不確縫線核, 淡蒼縫線核および外側巨大細胞性網様体傍核のSERT陽性細胞においては中程度の密度の発現が見られた。5, 7-ジヒドロキシトリプタミン処置を行ったマウスの脳においては, これら共存が見られた部位のカルシトニン受容体mRNA陽性細胞の減少が認められた。以上の結果よりカルシトニンの抗侵害受容作用の発現には背側縫線核尾側部, 大縫線核, 不確縫線核, 淡蒼縫線核あるいは外側巨大細胞性網様体傍核のいずれかの部位が関与している可能性が考えられる。

以上, 著者はエルカトニンをマウスの上位中枢へ投与することにより認められる抗侵害受容作用の発現には脊髄の5-HT<sub>1A</sub>および5-HT<sub>3</sub>受容体が関与することを明らかとし, さらに下行性セロトニン神経系の賦活に関与している脳幹部位でのカルシトニン受容体mRNAの発現を示した。本研究の成果は新規の鎮痛薬の開発に有用な知見を提供するものと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

高齢者に多い骨粗鬆症は今後益々患者数の増加が予想される。この疾患にとって臨床で大きな問題である脊椎圧迫骨折などによる急性あるいは慢性の腰背部痛に対してはカルシトニン類がその治療に広く用いられているが, その鎮痛作用機序の詳細は未だ明らかにされていない。より鎮痛効果の強い優れた治療薬の開発のためにはカルシトニン類の作用機序の解明が必要である。一方, ヒトや動物へのカルシトニン類の中枢性投与により鎮痛作用の他, 胃酸分泌抑制, 摂食抑制, 脳下垂体ホルモン分泌調節などの作用が認められること, これらの脳内におけるカルシトニン類の特異的結合部位や受容体mRNAの発現が報告され, カルシトニン類の中枢作用の詳細な解析が必要となってきた。そこで著者は, 合成されたウナギカルシトニン誘導體, エルカトニンの中枢神経系を介する鎮痛作用機序について, マウスを用いて行動薬理学的および分子薬理学的研究を行った。

### 第一章 マウスライジング法におけるエルカトニンの中枢性投与による抗侵害受容作用の解析

エルカトニン (0.1, 0.2U/mouse) をマウスの大槽内あるいは側脳室内に投与すると, 酢酸 (1.2%) の腹腔内注射によって誘発されるライジング反応の発現回数は有意に抑制されたが, マウス脊髄くも膜下腔内に投与した場合にはその様な抑制作用は認められなかった。大槽内投与による抑制作用は, サブタイプ非選択的5-HT受容体拮抗薬 (メチセルジド) の全身性および脊髄くも膜下腔内前処置によって減弱されたが, 大槽内同時投与によっては影響を受けなかった。さらに, 選択的5-HT<sub>1A</sub>拮抗薬 (NAN-190) あるいは5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬 (グラニセトロン) の脊髄くも膜下腔内前処置によっても減弱された。一方, オピオイド受容体拮抗薬 (ナロキソン), 非選択的 $\alpha$ アドレナリン受容体遮断薬 (フェントラミン), 選択的 $\beta_1$ あるいは $\beta_2$ 受容体遮断薬 (各々アテノロール, プトキサミン) の脊髄くも膜下腔内前処置によっては, エルカトニン大槽内注射によるライジング反応抑制作用は影響を受けなかった。また, 脳幹部および脊髄内セロトニンを選択的神経毒5, 7-dihydroxytryptamineの前処置により枯渇させたマウスでは, エルカトニン大槽内投与によるライジング抑制作用が有意に減弱していた。これらの事実は, エルカトニンの大槽内投与による抗侵害受容作用の発現には, 下行性セロトニン神経系, 脊髄内の5-HT<sub>1A</sub>および5-HT<sub>3</sub>受容体が関与することが示唆している。

### 第二章 マウス脳内におけるカルシトニン受容体mRNAの分布およびセロトニン神経における発現の検討

脳幹部に投与されたエルカトニンの作用部位を検討するため, マウス脳内でのカルシトニン受容体mRNAの発現をin situハイブリダイゼーション法により調べたところ, 痛覚情報の伝達・制御に深く関与すると考えられている部位の内, 扁桃体, 視床下部, 背側縫線核, 青斑核において強度の, 中脳中心灰白質, 三叉神経脊髄路核, 大縫線核, 巨大細胞性網様核 $\alpha$ 部, 外側巨大細胞性網様体傍核において中等度の発現が認められた。次いで, double in situハイブリダイゼーション法を用いて, セロトニン神経の特異的マーカー, セロトニントランスポーター (SERT) mRNAとカルシトニン受容体mRNAの共存を調べたところ, 背側縫線核尾側部, 大縫線核, 不確縫線核, 淡蒼縫線核, 外側巨大細胞性網様体傍核のSERT mRNA陽

性細胞にカルシトニン受容体mRNAが強度～中等度に発現すること、これらの共存が見られた細胞が5, 7-dihydroxytryptamineの前処置により減少することが判明した。これらの結果は、エルカトニンのライジング抑制作用に上記の諸部位におけるセロトニン神経への作用が関与していることを示唆している。

以上の成績は、カルシトニン類の抗侵害受容作用機構に新知見を加えたものである。

よって、本論文を博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

さらに、平成10年6月30日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。