

氏名	赤池昭紀 あか いけ あき のり
学位の種類	薬学博士
学位記番号	薬博第 180 号
学位授与の日付	昭和 54 年 9 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 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	Morphine および enkephalin の延髄における鎮痛作用部位に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 高木博司 教授 山科郁男 教授 富田謙吉

### 論文内容の要旨

今まで行なわれていた一連の研究から、高木らは morphine の鎮痛作用発現において延髄-脊髄抑制系が重要な役割を果たしていること、すなわち、morphine は延髄網様体からの下行性抑制系の活動を増強することにより、脊髄後角シナプスの興奮伝達を間接的に抑制することを指摘してきた。一方、外国の研究者たちにより、脳内微量注射を用いた実験結果から morphine の鎮痛作用部位が延髄より上位の脳幹に存在するとの知見が得られている。しかし、脳幹の中のいかなる核に morphine が作用するか、という問題は解明されていなかった。最近、morphine 様活性をもつ内在性物質が脳内に存在する可能性が示唆されるようになり、1975年 Hughes らは脳から抽出・精製した物質が2つのペンタ・ペプチド、すなわち methionine-enkephalin (M-E) および leucine-enkephalin (L-E) であることを明らかにした。そこで筆者は morphine および enkephalin の鎮痛作用部位を明らかにする目的で本研究を行ない、次のような新知見を得た。

#### 1. Morphine の鎮痛作用部位に関する研究

従来行なわれていた脳内微量注射法を改良し、(1) 脳実質に刺入する薬物注射用のカニューレに細いガラス管(外径 0.14 mm)を使用し、(2) カニューレの操作中にガラス管が破損することを防ぐ装置を考案し、(3) ガイド・カニューレを小脳内にとどめて慢性的に植え込むことにより、無麻酔のラットの低位脳幹への薬物微量注射を可能にした。

この方法によりラット低位脳幹各部に morphine 微量注射を行ない morphine に対して感受性の高い部位(すなわち、より少量で鎮痛効果を発現する部位)を検索した。その結果、延髄の傍巨大細胞網様核(n. reticularis paragigantocellularis: NRPG)が morphine に対して最も感受性が高く、次いで巨大細胞網様核(n. reticularis gigantocellularis: NRGC)が感受性が高いことを見出した。NRPG および NRGC における morphine の ED<sub>50</sub> はそれぞれ 2 ng/ラット、40 ng/ラットであった。両部位へ morphine の微量注射による鎮痛作用は麻薬きつ抗薬 naloxone 皮下注射により完全に抑制された。また、

morphine 皮下注射によって発現する鎮痛作用は NRGC, NRPG に naloxone 5 ng を微量注射することにより、著しく抑制された。

NRPG への morphine 微量注射の最小有効量 (0.15 ng/0.5  $\mu$ l) が、鎮痛量の morphine 皮下注射後の延髄内分布濃度 (0.175 ng/0.5  $\mu$ l: Miller と Elliott 1955) とほぼ近似していたことから、鎮痛量の morphine は NRPG に作用し、次いで投与量を増すと NRGC にも作用して鎮痛作用を発現するとの結論に達した。

## 2. Enkephalin の鎮痛作用について

Enkephalin 0.5~20 $\mu$ g/ラットの延髄内側網様核 (NRGC と NRPG) 内注射により 10~60 分間持続する鎮痛作用が発現した。M-E, L-E 微量注射による鎮痛作用の ED<sub>50</sub> はそれぞれ 1.4 $\mu$ g/ラット, 4.8 $\mu$ g/ラットであった。これらの鎮痛作用は naloxone 皮下注射により完全に抑制された。酵素分解を受けにくい enkephalin 誘導体 (D-Ala<sup>2</sup>)-Met-enkephalinamide の微量注射により、延髄内側網様核内での感受性の高い部位を調べた結果、腹側の NRPG を中心とした領域が比較的感受性の高いことが明らかになった。

## 3. 脳内電気刺激による鎮痛効果

無拘束、無麻酔下のラットにおいて延髄に刺入した刺激電極を介して NRPG を電気刺激 (幅 0.5 msec, 50~200 $\mu$ A, 20 Hz) することにより、刺激中に著明な鎮痛効果が発現した。鎮痛効果以外の行動上の著変は認められなかった。NRPG 刺激により誘発される鎮痛効果は麻薬きつ抗薬の naloxone あるいはアドレナリン- $\alpha$ -レセプター遮断薬の phenoxybenzamine の投与により抑制された。NRGC の電気刺激によっては鎮痛効果は発現せず、むしろ動物の仮性疼痛反射は増強された。

## 4. 延髄内側網様核ニューロンに対する morphine および enkephalin の作用

動脈内注射により強い痛みを誘発することが知られている bradykinin (BK) の大腿動脈内注射法を用いて、ラット延髄内側網様核ニューロンの侵害刺激に対する反応を調べた結果、NRPG では侵害刺激により興奮するニューロン (BK 興奮ニューロン) が多く記録され、NRGC では興奮するニューロンと抑制されるニューロン (BK 抑制ニューロン) がほぼ同数記録された。薬物は記録したニューロンの近傍にマイクロ・イオントフォoresis法により直接適用し、ニューロンの自発単位発射活動に対する作用を検討した。その結果、(1) NRPG の BK 興奮ニューロンは morphine あるいは enkephalin (L-E) により興奮され、これらの興奮作用は naloxone 静脈内注射によりきつ抗された。(2) NRGC の BK 興奮ニューロンは両薬物の適用により興奮され、(3) BK 抑制ニューロンは抑制された。

以上の知見、および従来の解剖・生理学的知見より、NRPG は延髄-脊髄下行性抑制系の起始核として痛覚の制御機構において重要な役割を果たしており、NRGC は痛覚の中継核としての機能を果たしているとの結論に達した。NRPG からの下行性抑制系には、脳幹からの下行性ノルアドレナリン系と脊髄 enkephalin 系の関与が推定された。

Morphine および enkephalin は、第1に NRPG に局所的に作用して NRPG 内の BK 興奮ニューロン活動を増強し、NRPG からの下行性抑制系を亢進すること、第2に NRGC に作用して NRGC における興奮伝達を抑制することにより、鎮痛作用を発現すると結論された。

## 論文審査の結果の要旨

今までの研究により、Morphine (Mor) の鎮痛作用部位として脳幹が重要であることが指摘されてきたが、脳幹のどの核に作用するかについては諸説があり、まだ一定の結論は得られていなかった。本研究は Mor および Enkephalin (En) の脳幹における作用部位を明らかにする目的で行われたものである。

著者赤池はまず脳組織内に薬物を微量注射するためのカニューレを改良し、これを用いてラット脳幹の諸部位に Mor の微量注射を行ない、Mor に対して最も感受性の高い部位を検索した。その結果、延髄網様体の一部である巨大細胞網様核 (NRGC) およびその腹側に在る傍巨大細胞網様核 (NRPG) が微量 (ナノグラム単位) の Mor 注射で鎮痛を発現することを見出した。また、最近脳組織から単離されたモルヒネ様ペプチドである Enkephalin (Enk) についても NRGC と NRPG の感受性が高いことを見出した。

つぎに、NRPG の電気刺激を試みたところ、いわゆる電気鎮痛のおこること、そしてこの効果は Mor 拮抗薬 Naloxone で抑制されることを明らかにした。

さらに、微小イオン泳動法を用いて NRPG の単一ニューロンに対する Mor および Enk の作用を追究した結果、両薬物ともに痛み刺激に反応するニューロン活動を著しく増加することを証明した。

これらの知見から、赤池は延髄の NRGC および NRPG が Mor および Enk の鎮痛作用部位として重要な役割を果していること、また両薬物は NRPG ニューロンを局所的に興奮させ、NRPG から脊髄後角に至る下降性抑制系の活動を賦活することによって鎮痛効果を発現すると推論した。

以上の知見は Mor および Enk の脳における鎮痛作用部位にいつて極めて有意義な新知見を加えたものである。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。