

氏 名	もり 森 かわ 川 ひとし 均
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1678 号
学位授与の日付	平 成 11 年 1 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	Desensitization and resensitization of δ -opioid receptor-mediated Ca^{2+} channel inhibition in NG108-15 cells (NG108-15細胞における δ -オピオイド受容体を介するカルシウムチャンネル抑制の脱感作と再感作) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 成 宮 周 教 授 野 間 昭 典 教 授 福 田 和 彦

論 文 内 容 の 要 旨

オピオイド受容体を介する細胞内シグナル伝達は、持続的なオピオイドアゴニスト刺激により減衰(脱感作)していくことが知られている。そこで、 δ -オピオイド受容体を発現しているNG108-15ニューロblastoma×グリオーマ雑種細胞を用いて、 δ -オピオイド受容体のペプチドアゴニストである[D-Ala², D-Leu⁵]enkephalin (DADLE)の持続的な投与がカルシウムチャンネルを通るバリウム電流(I_{Ba})に及ぼす効果を詳細に解析した。100nMのDADLEの投与により I_{Ba} は急速に抑制された。DADLEを持続的に投与すると、 I_{Ba} の抑制は徐々に減衰(脱感作)していった。この脱感作の度合は57%であり、脱感作の時間経過を1次指数関数に適合させると、時定数は4.4分であった。 δ -オピオイド受容体からカルシウムチャンネルへのシグナル伝達は、1 μ MのDADLEにより最大限に脱感作された。最大の脱感作の50%の脱感作を引き起こすDADLEの濃度は78nMと推定された。この濃度は、最大の I_{Ba} 抑制の50%の抑制を惹起するDADLEの推定濃度(3.7nM)よりも10倍以上大きかった。

オピオイド受容体を介する他の細胞応答の脱感作には β -ARK(β -adrenergic receptor kinase)が関わっているとする報告がある。そこで、まずRNAプロットハイブリダイゼーション解析とイミュノプロット解析を行い、その結果、NG108-15細胞には内因性に β -ARK 1が発現されていることが明らかとなった。さらに、DADLEによる I_{Ba} 抑制の脱感作の度合と速度は、 β -ARKの阻害剤として作用するヘパリンによって有意に減弱された。それに対して、PKA(cAMP-dependent protein kinase)の阻害剤や、フォルボールエステルの長期処理による細胞内PKC(protein kinase C)のダウンレギュレーションは、ここでの脱感作に有意な影響を及ぼさなかった。

いったん脱感作されたDADLEによる I_{Ba} の抑制は、DADLEの投与を中断すると徐々に回復(再感作)していった。DADLE投与の中断時間を変動させることにより、この再感作過程の時間経過を見ることができ、1次指数関数に適合させると、時定数は6.7分であった。さらに、セリンスレオニンフォスファターゼ 1/2Aの阻害剤であるオカダ酸により再感作の度合は有意に減弱された。よって、ここで見られる再感作は、いったん β -ARKによりリン酸化された δ -オピオイド受容体が脱リン酸化されていく過程を反映していることが示唆される。

神経終末から放出された神経ペプチド(オピオイドを含む)は、局所の細胞外液に数分間留まることが知られており、また、 μ -及び δ -オピオイド受容体に作用する内因性オピオイドペプチドであるメチオニン-エンケファリンの細胞外液濃度は1 μ Mに達するという報告がある。よって、ここで記録したオピオイドによるカルシウムチャンネル抑制の脱感作は、内因性オピオイドペプチドの様々な生理学的作用の調整に関わっていると考えられる。

また、オピオイドの脱感作はオピオイド耐性の細胞モデルであるという議論がよくなされ、実際、長期間モルヒネを投与されたラットでは、オピオイドの細胞内シグナル伝達が脱感作されているという報告がある。分単位で起こる脱感作は、数日から数週間かけて誘導されるオピオイド耐性を引き起こすための初期の細胞レベルでの適応現象かもしれない。

論文審査の結果の要旨

モルヒネを初めとする麻薬性鎮痛薬、及び内因性オピオイドペプチドは細胞膜上のオピオイド受容体に作用する。活性化されたオピオイド受容体は、G蛋白を介してアデニル酸シクラーゼ抑制、カリウムコンダクタンス増加、カルシウムチャンネル抑制を引き起こし、その結果、鎮痛その他の薬理作用が発現すると考えられている。本研究では、持続的に活性化されたオピオイド受容体の信号伝達、特にカルシウムチャンネル抑制の継時的変化が調べられている。

具体的には、神経系培養細胞（NG108-15）を用いて、 δ -オピオイド受容体を介するカルシウムチャンネル抑制が δ -アゴニストの持続投与により減衰（脱感作）する現象を、時間経過、濃度依存性を中心に詳細に解析し、さらに、この脱感作が可逆的な受容体リン酸化によって起こることを示唆している。

本研究で述べられている現象は、疼痛治療において問題となる麻薬耐性の基礎的メカニズムである可能性があり、また、内因性オピオイドペプチドの生理的作用の調節に関与していると考えられる。

以上の研究は麻薬の薬理作用の解明に貢献し、麻酔学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年1月8日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。