

## 論文の内容の要旨

氏名：横 田 英 子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Opioidergic modulation of inhibitory synaptic transmission in the rat insular cortex

（ラット島皮質でのオピオイドによる抑制性シナプス伝達修飾作用）

大脳皮質は、様々な感覚情報を処理する高次中枢であり、口腔顔面領域への侵害刺激に関する情報は、主に三叉神経から三叉神経脊髄路核、視床を介して体性感覚野や前帯状皮質および島皮質に投射することが知られている。この島皮質は、他の感覚野同様6層から構成される顆粒皮質以外に、第IV層を欠く不全顆粒皮質ならびに無顆粒皮質（agranular insular cortex, AI）から構成される。島皮質は、視床からの情報だけでなく、扁桃体からの入力も受けており、侵害刺激の質的情報だけでなく情動的側面からも情報処理を行っているため、高次痛覚中枢と考えられている。

オピオイドは、痛覚情報を末梢から中枢へ伝達する上行性経路を脊髄・延髄レベルで抑制するだけでなく、末梢からの痛覚入力を高次中枢から抑制する下行性抑制経路を賦活化することにより、強力な鎮痛効果をもたらす。オピオイド受容体には、主に $\mu$ 、 $\delta$ 、および $\kappa$ の3種類のサブタイプが存在し、島皮質にはこれらすべてのサブタイプが発現している。これまでに、代表的オピオイドであるモルヒネを島皮質に局所投与すると、侵害的な熱刺激に対する脊髄後角ニューロンの応答が抑制されることが報告されている。また、島皮質のGABA濃度を局所的に増加させると、下行性抑制経路が増強されるという報告がある。つまり、島皮質においてオピオイドは、抑制性シナプス伝達を修飾することにより、鎮痛効果を発揮している可能性が考えられる。しかし、オピオイドによる大脳皮質でのシナプス伝達の修飾機構についてはほとんど解明されておらず、特に抑制性介在ニューロンにおけるオピオイドの抑制性シナプス伝達修飾作用については、全く検討されていない。

そこで、島皮質スライス標本から同時ホールセル・パッチクランプ記録を行い、単一抑制性シナプス後電流（unitary inhibitory postsynaptic current, uIPSC）に対するオピオイド受容体のサブタイプ別の修飾作用について検討した。実験には、VGAT-Venusラットを用いた。これはGABA作動性ニューロンにVenus蛍光タンパクを発現させたラットで、蛍光顕微鏡観察下で抑制性介在ニューロンを容易に同定できる利点を有する。すなわち、蛍光顕微鏡観察下で発光しているVenus陽性ニューロンは抑制性介在ニューロンであり、発光していないVenus陰性ニューロンは興奮性錐体細胞（Pyr）と同定できる。さらにVenus発現の有無に加えて、電流固定モードで静止膜電位、発火閾値、発火パターンを参考にして、記録細胞の電気生理学的タイプ分類を行った。抑制性介在ニューロンを順応の無い高頻度の発火が特徴であるfast-spiking細胞（FS）と、その他の抑制性介在ニューロン（non-FS）に分類し、FS/non-FSからFSおよびPyrに対してシナプス結合を有するペアを同定し、オピオイド受容体の各サブタイプに特異的なアゴニスト（ $\mu$ : [D-Ala<sup>2</sup>,N-Me-Phe<sup>4</sup>,Gly<sup>5</sup>-ol]-Enkephalin acetate salt（DAMGO）、 $\delta$ : [D-Pen<sup>2</sup>,5]-Enkephalin hydrate（DPDPE）、 $\kappa$ : ( $\pm$ )-trans-U-50488 methanesulfonate salt（U50488））のuIPSCに対する修飾作用について解析した。

$\mu$ 受容体アゴニストであるDAMGO（1  $\mu$ M）灌流投与により、FS/non-FS $\rightarrow$ FSのシナプス結合でuIPSCの振幅が有意に減少し、uIPSCが発生しない確率（failure rate）が有意に増大したが、FS/non-FS $\rightarrow$ Pyrでは有意な変化は見られなかった。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いずれにおいても減少したが、non-FS $\rightarrow$ FS/Pyrでは有意な変化は見られなかった。 $\kappa$ 受容体アゴニストであるU50488（1  $\mu$ M）は、uIPSCの振幅を変化させなかった。

次に、uIPSCに対するオピオイド受容体アゴニストの抑制性シナプスの伝達効率に対する修飾作用の違いが、島皮質の活動性にどのような影響を及ぼすかを検討するため、*in vivo*標本に光学計測法を適用して、侵害刺激（歯髄電気刺激）に対する島皮質の興奮伝播について、オピオイドの作用を検討した。実験にはSDラットを用い、アトロピン（5 mg/kg）前投薬、ウレタン（1.5 g/kg）の腹腔内投与

にてラットに麻酔した後、ワイヤー電極をラット上顎大白歯歯髄に挿入して固定した。ラット頭部を脳定位固定装置に固定し、島皮質周辺を露出させ、膜電位感受性色素 RH1691 で脳表面を染色した。実体顕微鏡に CCD カメラを搭載した光学計測システムを用いて、上顎大白歯歯髄に 7V, 50 Hz の 5 連続パルスの電気刺激を加えたときの左側島皮質の興奮伝播を記録した。コントロール記録後、オピオイド受容体アゴニストを脳表に滴下して記録を行い、島皮質の興奮伝播の変化を検討した。

その結果、DAMGO (10  $\mu$ M および 100  $\mu$ M) は侵害刺激に対する島皮質の興奮伝播を抑制し、DPDPE (10  $\mu$ M および 100  $\mu$ M) は興奮伝播を増大させた。U50488 (10  $\mu$ M および 100  $\mu$ M) は、島皮質の興奮伝播を変化させなかった。

以上の結果から、オピオイド受容体は受容体サブタイプおよびシナプスを形成するニューロンのサブタイプにより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。すなわち  $\mu$  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脱抑制を抑制し、AI からの出力を抑制して下行性抑制を賦活化する可能性が示唆された。一方、 $\delta$  受容体は、抑制性シナプス伝達を抑制することにより、AI からの出力を増加させる可能性が示唆された。これは、急性痛に対する鎮痛薬として  $\mu$  受容体作動薬が用いられる一方、 $\delta$  受容体作動薬が使用されないメカニズムの一端を示唆している。この島皮質局所神経回路におけるオピオイド受容体サブタイプ別の修飾作用の違いは、 $\mu$  受容体のもつ疼痛抑制における優位性の一因であると考えられる。