

116. キノコ毒 (アクロメリン酸) の末梢痛み (侵害) 受容器における作用機構の探索

田口 徹

Key words : ドクササコ, アクロメリン酸, 痛み受容器, 痛み関連行動, 末梢神経機構

名古屋大学 環境医学研究所 ストレス受容・
応答研究部門 神経科学分野 II

緒言

ドクササコ (*Clitocybe acromelalga*) は日本特有の毒キノコであり, 摂取すると異痛症 (アロディニア) を始め, 肢端紅痛症に類似した症状を呈する. アクロメリン酸 (Acromelic acid, 以下, ACROと略す) はドクササコから抽出され, ドクササコ摂食による中毒症状の原因物質と考えられている. アクロメリン酸にはピロリジン環部位における2種類の異性体 (ACRO-AとACRO-B) が存在し¹⁾, マウスに髄腔内投与するとフェムト (10^{-15}) からピコグラム (10^{-12} g) の低用量でアロディニアを生じる²⁾. この作用は脊髄におけるACROに特異的な未知の受容体を介したものであると考えられているが, 特定はされていない. 本研究では, アロディニア誘発作用としてACRO-Bの約100万倍強力であるACRO-Aの末梢侵害受容器に対する興奮作用, および痛み関連行動を観察し, ACRO-Aの作用が脊髄だけではなく, 末梢の侵害受容器を介するものであるかどうかを調べた. また, NMDA (*N*-methyl-D-aspartate) 受容体, および non-NMDA 受容体拮抗薬, 非ステロイド性抗炎症薬, モルヒネなど, ACRO-Aによる痛み関連行動に対する既知の受容体拮抗薬等による鎮痛効果を調べ, 末梢侵害受容器におけるACRO-Aの作用機構の解明を試みた.

方法、結果および考察

1. アクロメリン酸 A の末梢侵害受容器に対する興奮作用

Sprague-Dawley ラットから長指伸筋 - 総腓骨神経取出し標本³⁾を作成し, 単一神経記録により機械感受性筋 C 線維受容器 (伝導速度: 2.0 m/s 以下) を同定した. 図 1A の挿入図 (左) に示すように, 30-G 針を用い, 同定した C 線維の受容野近傍へ ACRO-A を投与した (5 μ l / 5 sec). ACRO-A は 10^{-12} M, 10^{-10} M, 10^{-8} M の順に 3 濃度を投与し, 投与間隔は 10 ~ 20 分とした. 図 1A に ACRO-A 10^{-10} M による C 線維の反応例を示す. ACRO-A の反応持続時間は約 5 分程度であり, その C 線維受容器に対する興奮作用は濃度依存的ではなかった (12% (10^{-12} M), 50% (10^{-10} M), 44% (10^{-8} M)). これより, 機械感受性骨格筋 C 線維の 50% に ACRO-A 感受性があり, 脊髄と同様, 末梢侵害受容器の終末部分にも ACRO-A 受容体が存在する可能性が示唆された⁴⁾. 今後は, 各種受容体拮抗薬を用いた実験を行い, 末梢侵害受容器に ACRO に特異的な受容体が存在するかどうかを調べる.

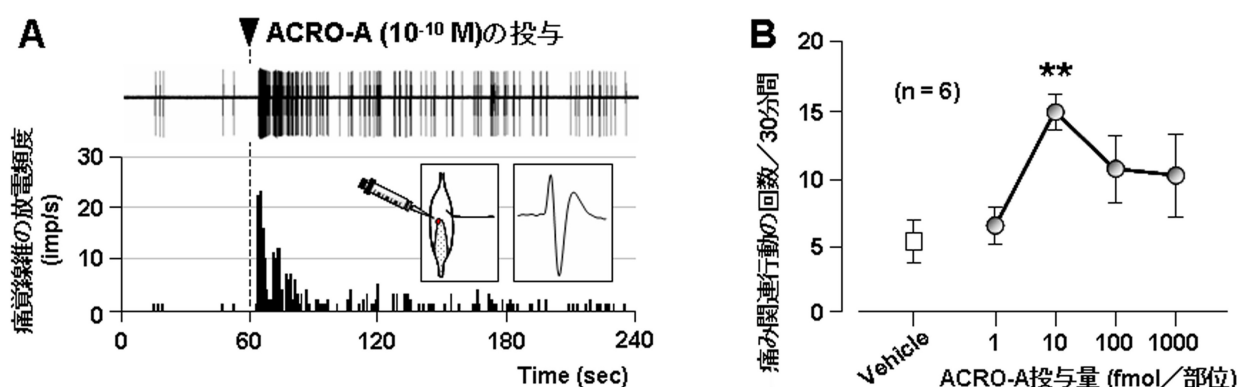


図1. ACRO-Aによる末梢侵害受容器の興奮 (A) と痛み関連行動 (B).

(A) ラット長指伸筋 - 総腓骨神経取出し標本³⁾を用いた単一神経記録法による骨格筋C線維受容器の反応例. 上段: ACRO-A (10^{-10} M) 投与により生じた活動電位の記録. 下段: その反応のヒストグラム. 横軸: 時間 (sec). 縦軸: C線維の放電頻度 (imp/s). ヒストグラム右側の挿入図は, 記録C線維の受容野とACRO-Aの投与部位 (左), および記録C線維の波形 (右) を示す. 横軸が60 secのタイムポイント (矢頭と点線で示す) でACRO-Aを投与 ($5\mu\text{l}$ / 5 sec). 投与後数秒間の潜時を経てバースト状に放電し, 約5分程度持続した.

(B) 足背部へのACRO-A投与 ($100\mu\text{l}$, 皮下投与) による痛み関連行動. 横軸: ACRO-A投与量. 縦軸: 投与後30分間の痛み関連行動 (後肢挙上や後肢舐め行動) の回数. Vehicle群に比べ, ACRO-A (10 fmol) 投与群で痛み関連行動回数の有意な増加がみられた (** $p < 0.01$, one-way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparison test).

2. アクロメリン酸 A の末梢投与による痛み関連行動

Sprague-Dawley ラットの足背部へ ACRO-A を皮下投与した ($100\mu\text{l}$, 1 ~ 1000 fmol / 部位). 対照 (Vehicle) 群には PBS (phosphate buffered saline) を同様に投与した. 投与後 30 分間の痛み関連行動 (※後肢挙上や舐め行動) をビデオカメラで撮影し, その回数をカウントした. ACRO-A 投与による痛み関連行動は, 用量依存的ではなく, 投与量に対しておおよそ釣鐘状の分布を示した. また, ACRO-A (10 fmol / 部位) 投与による痛み関連行動の回数は, 対照群と比べて有意に多かった (** $p < 0.01$, one-way ANOVA followed by Bonferroni's multiple comparison test, 図 1B). さらに, ACRO-A による痛み関連行動は, 投与してから 30 分間のうち, 最初の 5 分間で最もよく観察され, 末梢侵害受容器の興奮を反映しているものと考えられた.

また, ACRO-A による痛み関連行動に対する既知の受容体拮抗薬等による鎮痛効果を調べた. NMDA (*N*-methyl-D-aspartate) 受容体拮抗薬として D-AP5 (D-(-)-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid, $50\mu\text{M}$), non-NMDA 受容体拮抗薬として CNQX (6-シアノ-7-ニトロキキサリン-2,3-ジオン, $10\mu\text{M}$), 非ステロイド性抗炎症薬である Ketrolac (10 mg/kg , i.p.), モルヒネ (3 mg/kg , i.p.) を ACRO-A 投与 30 分前に前投与 (各 $100\mu\text{l}$) し, 痛み関連行動をカウントした. その結果, モルヒネは痛み関連行動を抑制したが, D-AP5, CNQX, および Ketrolac は抑制しなかった. 以上より, ACRO-A の末梢投与は痛み関連行動を惹起し, その作用は末梢侵害受容器の興奮を介するものと考えられた. 今後は, この作用がどの受容体を介するものであるか, または, ACRO に特異的な受容体が存在するかを調べる.

共同研究者

本研究の共同研究者は, 名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II の友利公彦, 久保亜抄子, 片野坂公明, 水村和枝である. また, アクロメリン酸を合成・提供して頂いた岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科の古田享史先生, さらに, 本研究を始めるきっかけを与えて頂いた関西医科大学分子生体機能学・疼痛医科学 (医化学) 講座の伊藤誠二先生, および大阪医科大学麻酔科学教室の南 敏明先生に, この場を借りて深く感謝申し上げます.

文 献

- 1) Konno, K., Shirahama, H. & Matsumoto, T. : Isolation and structure of acromelic acid A and B. New kainoids of *clitocybe acromelalga*. *Tetrahedron Lett.*, **24** : 939-942, 1983.
- 2) Minami, T., Matsumura, S., Nishizawa, M., Sasaguri, Y., Hamanaka, N. & Ito, S. : Acute and late effects on induction of allodynia by acromelic acid, a mushroom poison related structurally to kainic acid. *Br. J. Pharmacol.*, **142** : 679-688, 2004.
- 3) Taguchi, T., Sato, J. & Mizumura, K. : Augmented mechanical response of muscle thin-fiber sensory receptors recorded from rat muscle-nerve preparations *in vitro* after eccentric contraction. *J. Neurophysiol.*, **94** : 2822-2831, 2005.
- 4) Taguchi, T., Tomotoshi, K. & Mizumura, K. : Excitatory actions of mushroom poison (acromelic acid) on unmyelinated muscular afferents in the rat. *Neurosci. Lett.*, **456** : 69-73, 2009.