

氏 名 (本籍)	むら　　やま　　みつ　　お 村　　山　　光　　雄
学 位 の 種 類	薬　　学　　博　　士
学 位 記 番 号	薬 博 第　　1 5 8　　号
学位授与年月日	昭和 6 0 年　　3 月 2 6 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研究科専門課程	東北大学大学院薬学研究科 (博士課程)製薬化学専攻
学位論文題目	Aconitine 系アルカロイドに関する薬理 学的研究

(主 査)

論文審査委員 教授 曳 野　　宏　　教授 鶴 藤　　丞
教授 佐 藤　　進

論 文 内 容 要 旨

漢薬附子は鎮痛，強心，利尿，保温，賦活などの目的で古くから用いられており，漢方の薬物療法において重要な生薬である。本研究では附子の薬理作用の機序を明らかにするために，その主アルカロイドである aconitine 系アルカロイド，特に mesaconitine (MA) の抗炎症作用，核酸生合成促進作用および鎮痛作用の機序について検討した。

1) Mesaconitine の急性炎症抑制作用機序

MA (0.2, 0.5 mg/kg, p.o.) は carrageenin, histamine, serotonin および prostaglandin E₁によるマウス足蹠浮腫に対して有意な抑制作用を示した。副腎摘出マウスの carrageenin 足蹠浮腫に対してもMA (0.5 mg/kg, p.o.) は有意な抑制作用を示すことから，MAの抗炎症作用は副腎を介するものではないことが示された。

モルモット肺ホモジネートおよびラット腹腔内遊出活性マクロファージにおける prostaglandin 生合成に対するMAの効果は認められなかった。

次にMAの抗炎症作用に対する交感神経系の関与について，アドレナリン受容体拮抗薬を用いて検討した。その結果，MA (0.5 mg/kg, p.o.) の carrageenin 足蹠浮腫抑制作用は α -拮抗薬の tolazoline (10 mg/kg, s.c.) および β -拮抗薬の propranolol (10 mg/kg, s.c.) の併用で影響されなかった。このことから，MAの carrageenin 足蹠浮腫抑制作用には交感神経系は関与しないことが示唆された。

ここでMAの抗炎症作用が中枢性である可能性が考えられたため，carrageenin 足蹠浮腫および酢酸または寒天を用いた血管透過性亢進に対する側脳室内投与MAの影響について観察した。その結果，MA (40, 80 ng/マウス) の側脳室内投与により，carrageenin 足蹠浮腫および酢酸または寒天による血管透過性亢進は有意に抑制された。また，中枢性抗炎症作用を有する morphine の carrageenin 足蹠浮腫抑制作用はMAの併用で影響されなかった。

以上から判断して，急性炎症に対するMAの抗炎症作用は中枢神経系を介するものであることが示唆された。

2) Aconitine 系アルカロイドの核酸生合成に対する作用

MA (0.5 mg/kg) は経口投与後16および20時間でマウス肝臓核RNAへの5-[³H]-orotic acid の取り込みを有意に増大させた。Aconitine 系アルカロイドの中でMAが最も強い活性を示した。MAのこの作用は actinomycin Dで抑制された。デアセチル誘導体の中では benzoly-mesaconine が最も強い活性を示したが，その母アルカロイドのものに比べてはるかに弱いもの

であった。これらのことから、aconitine 系アルカロイド、特にMAはマウス肝臓核RNAの生合成を促進することが考えられた。しかしながら、MAが核RNAの細胞質への移行を抑制する可能性が考えられたので、次に細胞質ポリゾームRNAへの5-[³H]-orotic acid 取り込みに対するMAの影響について観察した。その結果、MAは細胞質ポリゾームRNAへの5-[³H]-orotic acid の取り込みを有意に増大させることが認められ、MAは核RNAの細胞質への移行を抑制しないことが示された。

次に、MAのRNA polymerase に対する作用について観察した。MAの in vitro 処理によりRNA polymerase 活性は軽度上昇した。他方、MAの in vivo 処理ではRNA polymerase 活性の著しい上昇が認められ、MAはRNA polymerase を賦活することにより肝臓RNA生合成を促進することが示された。

3) Mesaconitineの鎮痛作用機序

MAのマウス側脳室内投与により用量依存的な鎮痛効果が観察され、MAは中枢神経系を介して鎮痛作用を発現することが示唆された。MAの皮下投与による鎮痛効果のED50値は、テイルフリック法では11 μg/kg、酢酸ライシング法では28 μg/kg であり、MAは morphine よりも強力な鎮痛作用を有することが示された。

次に、MAの鎮痛作用に対するモノアミン関連化合物の影響について観察した。MAの鎮痛作用は 6-hydroxydopamine (6-OHDA), reserpine, diethyldithiocarbamate (DDC), disulfiram および α-methyl-p-tyrosine (α-MT) で減弱され、methamphetamine および noradrenaline (NA) で増強され、phenoxybenzamine (PB) および5-HT関連化合物で影響されなかった。MAは l-dopa, dopamine (DA), DDC, disulfiram, PB, α-MT および5-HT関連化合物との併用実験の結果において morphine と異なる作用動態を示した。またMAの皮下投与により、間脳のDA、中脳のNAおよび5-HT含量が増大した。α-MT前処置による中枢カテコールアミンの消失に対して、MAは海馬、延髄・橋ならびに脊髄のNAおよび線状体のDAの消失を促進した。

次にオピエート受容体拮抗薬である levallorphan との併用実験を試みた。その結果、morphine の鎮痛作用は levallorphan の用量依存的に抑制されたのに対して、MAの鎮痛作用は levallorphan で影響されなかった。

以上から判断して、NAの鎮痛作用はオピエート受容体を介するものではなく中枢のカテコールアミン系、特にNA系の機能と密接に関係することが示された。

ここで、カテコールアミンは adenylyl cyclase を介して cyclic AMPの産生を促進することが知られている。そこで、次にMAの鎮痛作用に対する内因的および外因的に変化させた cyclic

AMPの影響について観察した。その結果、MAの鎮痛作用は cyclic AMP (i.c.v.), dibutyryl cyclic AMP (i.c.v.), theophylline (s.c.) および isoproterenol (i.c.v.) で増強され、propranolol (i.c.v.) で抑制された。これらのことから判断して、MAの鎮痛作用は cyclic AMPおよび中枢 β -NA系の賦活により増強されることが認められた。

次に、中枢におけるMAの鎮痛作用部位を明らかにするために、痛みの伝達経路として重要と思われるラット下位脳幹の巨大細胞網様核 (NRGC), 傍巨大細胞網様核 (NRPG), 上位脳幹の中脳水道中心灰白質 (PAG) および腰髄へのMAの投与を試み、その鎮痛活性をテイルマージョン法を用いて測定した。その結果、NRGC, NRPG, PAGおよび腰髄へのMAの投与によりMAの抗侵害刺激作用が認められた。特にPAG内投与で強い活性が観察された。ここで、NRGC, NRPGおよびPAGへのMAの50 ng/ラットの投与により二相性の変化が観察された。初期 (5 - 20分) の反応時間の延長と平行して、ラットの運動活性の変化が認められることから、MAの投与後20分以降の持続的な抗侵害刺激効果がMAの鎮痛由来の作用に基づくものであることが考えられた。これらのことから、NRGC, NRPG, PAGおよび腰髄はMAの鎮痛作用部位に含まれることが示唆された。

次に、NRPGを起始核として下行する抑制性ニューロンに含まれるNA系ニューロンのMAの鎮痛作用に対する役割を知るために、各種アドレナリン受容体拮抗薬 (i.t.) とMA (NRPG内投与) の併用実験を行った。その結果、NRPG内に投与したMA (50 ng/ラット) の抗侵害刺激作用は、非選択的 β -拮抗薬の propranolol, β_1 -選択的拮抗薬の atenolol および β_2 -選択的拮抗薬の IPS-339((t-butyl-amino-3-ol-2-propyl)oximino-9-fluorene) の腰髄クモ膜下腔内投与で強く抑制された。 α -拮抗薬の phenoxybenzamine の併用でもMAの作用は抑制されたが、 β -拮抗薬の場合よりも弱いものであった。このことから判断して、NRPG内に投与されたMAは下行性NA系ニューロンに影響をおよぼし、NAの α -受容体よりもむしろ β -受容体を介する下行性の抑制作用を促進することが示唆された。

審査結果の要旨

本研究においては、漢薬附子の主アルカロイドである mesaconitine (MA) の抗炎症作用、核酸生成促進作用および鎮痛作用の機序について検討された。

1) 抗炎症作用機序について

MAは carrageenin, histamine, serotonin および prostaglandin (PG)E₁によるマウス足蹠浮腫を抑制し、さらに副腎摘出マウスの carrageenin 足蹠浮腫に対しても抑制作用を示した。このことから、MAは初期の炎症反応に有効であり、この作用は副腎を介するものでないことが示唆された。またMAはPG類の生合成に対して影響せず、その抗炎症作用はアドレナリン受容体拮抗薬で影響を受けないことから、PG生合成抑制あるいは交感神経系の賦活を介するものでないことが判った。

一方MAのマウス側脳室内投与により強い抗炎症作用が認められ、また morphine のラット足蹠浮腫抑制作用に対してMAは影響を与えなかったことから、MAの抗炎症作用は中枢神経系を介するものであることが示唆された。

2) 核酸生成促進作用機序について

マウス肝臓核RNAへのオロチン酸の取り込みに対してMAが強い増強作用を示し、さらにRNAポリメラーゼ活性に対してMAは *in vivo* で強く上昇させることが認められた。従ってMAは肝臓RNAポリメラーゼ活性を上昇させることより核RNA生合成を促進するものと結論された。

3) 鎮痛作用機序について

MAの鎮痛作用はカテコールアミン関連化合物の併用で影響され、serotonin 関連化合物の併用では影響されず、さらにMAは海馬、延髄・橋、脊髄の noradrenaline (NA) および線状体の dopamine の代謝回転を促進することから、MAの鎮痛作用は中枢カテコールアミン系、特にNA系神経の機能と密接に関係し、levallorphan で影響されないことからオピエート受容体を介しないことが判った。

つぎにMAの鎮痛作用に対する c. AMPの影響について検討し、MAの鎮痛作用は c. AMPのマウス側脳室投与、ホスホジエステラーゼ阻害薬や β -adrenaline 受容体作動薬の併用により増強され、 β -adrenaline 受容体拮抗薬の併用で抑制され、MAの鎮痛作用は c. AMPおよび中枢 β -noradrenaline 系の賦活により増強されることを明らかにした。

さらに、ラット脳幹および腰髄へのMAのマイクロインジェクションを行った結果、下位脳幹の巨大細胞網様核、傍巨大細胞網様核 (NRPG)、上位脳幹の中脳水道中心灰白質、腰髄がMAの鎮痛作用部位に含まれることが明らかとなった。またMAのNRPG内投与による鎮痛効果は腰髄への β -拮抗薬の併用で強く抑制され、MAはNRPGを起始核とする下行性の抑制性NA系神

経に影響し、痛み刺激に対するNAの β -受容体を介する下行性の抑制を促進することを明らかにした。

以上本研究はMAの抗炎症作用、核酸生成促進作用、鎮痛作用の機序に新知見を提供したもので、博士の学位を与えるに値すると認める。