

氏名	助川 信太郎
学位	博士
専門分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第4938号
学位授与の日付	平成26年3月25日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻 (学位規則(文部省令)第4条第1項該当)
学位論文題目	Locally injected dexmedetomidine inhibits carrageenin-induced inflammatory responses in injected region (局所に注射されたデクスメドミジンはカラゲニンに よって誘発された局所の炎症反応を抑制する)
学位論文審査委員	飯田 征二 教授 宮脇 卓也 教授 十川 紀夫 准教授

学位論文内容の要旨

【緒言】

デクスメドミジンは、選択的 $\alpha 2$ -アドレナリン受容体作動薬であり、手術後の鎮静薬として臨床使用されている。しかし、デクスメドミジンは鎮静作用以外にも鎮痛作用を有していることが知られており、さらに、局所麻酔薬に添加することによって、局所麻酔薬の麻酔効力を増強することが報告されている。近年、 $\alpha 2$ -アドレナリン受容体作動薬が、炎症性サイトカインなどを抑制し、抗炎症作用を有していることが報告されていることから、抗炎症を目的に局所麻酔薬の添加薬としての応用が期待できる。

そこで、本研究は、起炎物質であるカラゲニンの投与によって誘発された局所の炎症反応に対して、局所に投与したデクスメドミジンが抑制効果を有するかどうかを検討した。

【方法】

本研究は、岡山大学動物実験委員会により承認のもとに、ICRマウス(6-8週齢)を用いて行った。局所の炎症反応を誘発するために5%カラゲニンを用い、試験薬はカラゲニンと混合して後肢足蹠に皮下注射した。デクスメドミジンは最終濃度が0.01、0.1、1、10 μ Mとなるように準備した。対照薬として生理食塩水を用いた。

評価項目として、注射部位の浮腫率、白血球数、および tumor necrosis factor α (TNF α) と cyclooxygenase-2 (COX-2) の産生を評価した。

浮腫率は、試験薬を注射する前の足蹠容積に対する増加率を、注射後6時間まで測定した。注射後2時間、4時間、および6時間に注射部位の組織を摘出し、その切片をHE染色して白血球数をカウントした。また、TNF α およびCOX-2産生については、注射後4時間の注射部位の組織を摘出し、TNF α およびCOX-2抗体を用い、免疫組織染色およびウェスタンブロット法で評価した。

デクスメドミジンの効果について、 $\alpha 1$ -アドレナリン受容体の影響について評価するために、 $\alpha 1$ -アドレナリン受容体作動薬であるフェニレフリンをカラゲニンに混合してその効果を調べた。

さらに、デクスメドミジンの作用が $\alpha 2$ -アドレナリン受容体を介した作用であることを確認するために、カラゲニンとデクスメドミジンの混合液に、 $\alpha 2$ -アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビン混合してその影響を評価した。

統計学的分析として、各群間における有意差検定には分散分析またはマンホイットニー検定を用い、有意水準を5%として判定した。

【結果】

1) 浮腫率

足蹠容積は、カラゲニン注射後徐々に増加し、注射後4時間から6時間にピークがみられた。デクスメドトミジンの混合によって注射後3時間から6時間に、カラゲニンで誘発された足蹠容積の増加が有意に抑制された。さらに、デクスメドトミジンは0.01~10 μ Mの濃度で用量依存的に足蹠容積の増加を抑制した。フェニレフリンは足蹠容積に影響を及ぼさなかったが、ヨヒンピンはデクスメドトミジンの抑制効果を拮抗した。ヨヒンピンだけを注射した場合、足蹠容積への影響は認められなかった。

2) 白血球数

白血球数はカラゲニン注射後6時間まで徐々に増加した。カラゲニンで誘発された。デクスメドトミジンの混合によって注射後4時間と6時間に、カラゲニンで誘発された白血球数の増加が有意に抑制された。さらに、デクスメドトミジンは0.01~10 μ Mの濃度で用量依存的に白血球数の増加を抑制した。フェニレフリンは白血球数に影響を及ぼさなかったが、ヨヒンピンはデクスメドトミジンの抑制効果を拮抗した。ヨヒンピンだけを注射した場合、白血球数への影響は認められなかった。

3) TNF α およびCOX-2の産生

カラゲニン注射後4時間に摘出した注射部位の組織で、TNF α とCOX-2の産生の増加がみられた。TNF α およびCOX-2の産生をウエスタンブロット法を用いて定量評価した結果、カラゲニンによってTNF α およびCOX-2の産生は有意に増加し、デクスメドトミジンの混合によって有意に抑制された。この抑制効果は、ヨヒンピンによって有意に拮抗された。

【結論】

局所投与されたデクスメドトミジンはカラゲニンで誘発された局所炎症反応に対して、 α 2-アドレナリン受容体を介して抗炎症効果があることが証明された。よって、デクスメドトミジンは、抗炎症を目的に局所麻酔薬の添加薬としての有用性が示唆された。

学位論文審査結果の要旨

デクスマデトミジンは $\alpha 2$ アドレナリン受容体作動薬であり、アドレナリンのように血管収縮作用を有している。また、近年では局所麻酔薬に添加することによって局所麻酔作用を増強することが示されている。さらに、デクスマデトミジンには*in vitro*研究で、炎症作用があることが報告されている。本論文は、これらの背景をもとに、アドレナリンに代わる有用な添加薬の候補としてデクスマデトミジンに注目し、*in vivo*における局所の炎症作用についての研究をまとめたものである。研究の方法と結果は以下のとおりである。

<対象と方法>

岡山大学動物実験委員会の承認のもと、ラウスの後肢足趾に5%カラゲニンを皮下注射して局所の炎症反応を誘発した。デクスマデトミジンは濃度が0.01~10 μ Mとなるように調整し、カラゲニンと混合して片側に注射し、反対側には対照として生理食塩水を注射した。評価項目として、注射部位の浮腫率、白血球数、および tumor necrosis factor α (TNF α) と cyclooxygenase-2 (COX-2) の産生を評価した。また、 $\alpha 2$ アドレナリン受容体を介した作用であることを確認するために、 $\alpha 2$ アドレナリン受容体拮抗薬であるヨヒンビンの拮抗作用についても検討した。

<結果>

カラゲニンによって誘発された浮腫率の増加、白血球数の増加、TNF α および COX-2 の産生の増加が、デクスマデトミジンの添加によって用量依存性に抑制されたことが示された。また、ヨヒンビンはデクスマデトミジンのこれらの作用を拮抗した。これらの結果から、デクスマデトミジンは $\alpha 2$ アドレナリン受容体を介した炎症作用を有していることが証明された。

本論文は、デクスマデトミジンの *in vivo* における局所の炎症作用を証明していることから、デクスマデトミジンを局所麻酔薬に添加することで、既報の局所麻酔作用増強作用に加えて、炎症作用を示すことが期待できることを示唆し、アドレナリンに代わる有用な添加薬の開発に寄与できる可能性を示しており、臨床的に意義ある論文であると考えられる。

よって、審査委員会は本論文に博士(歯学)の学位論文としての価値を認める。