

	いしい ひであき
氏 名	石井 秀明
学 位	博 士 (医学)
学位記番号	新大院博(医)第248号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	ラット脊髄膠様質ニューロンにおけるデクスメドミジンの作用
論文審査委員	主査 教授 馬場 洋 副査 教授 樋口 宗史 副査 教授 遠藤 裕

博士論文の要旨

【背景】 デクスメドミジンは静脈内投与によって鎮静作用と鎮痛作用が得られる α_2 受容体作動薬であり、近年、特に集中治療領域で臨床使用されはじめた。従来、 α_2 受容体作動薬としてクロニジンが臨床使用されてきたが、クロニジンはその投与量が増すほど α_1 受容体作用が生じてしまうという欠点があった。しかし、デクスメドミジンの α_2 受容体への選択性は極めて高い(クロニジンの約8倍)ため、デクスメドミジンによってより副作用の少ない有効な鎮痛効果が得られる可能性がある。これまで、デクスメドミジンはクロニジンと同様に、脊髄腔内や硬膜外投与にて良好な鎮痛効果が得られたとする報告がある。しかし、神経細胞レベルでデクスメドミジンの脊髄内での作用機序についての詳細な報告はみられない。そこで、痛覚情報の伝達に重要な役割を担っている脊髄後角でデクスメドミジンがどのように作用し、その痛覚情報を制御しているのかを明らかにするため、脊髄後角第II層(膠様質)細胞におけるデクスメドミジンの作用について電気生理学的手法を用いて調べた。

【方法】 Wistar系雄性ラットから腰仙部脊髄を切りだし、厚さ約500 μ mの脊髄横断スライス標本を作成した。このスライスをチェンバーに移して、36 $^{\circ}$ Cに加温したKrebs液で灌流した。スライスの下部から透過光で観察すると、膠様質は後角において明るい細胞帯として視認できた。膠様質細胞からブライント法によるホールセルパッチクランプ記録をおこなった。得られた応答はパッチクランプ用増幅器Axopatch 200Bで増幅し、コンピューターで記録した後、データ解析用ソフトウェアpClamp9を用いて解析した。データは平均値 \pm 標準誤差で表した。

【結果】 膜電位を-70mVに保持し、デクスメドミジンを灌流投与したところ、92%の細胞で外向き電流を誘起した。デクスメドミジン誘起膜電流は0.1 μ Mから30 μ Mの濃度範囲において濃度依存性に増加し、 EC_{50} は0.62 μ Mであった。膜電位を-40mVに保持し、低濃度デクスメドミジン灌流投与で誘起される外向き電流は、 α_1 受容体拮抗薬プラゾリンで抑制されず、 α_2 受容体拮抗薬ヨヒンピンで抑制された($p < 0.05$)。一方、高濃度デクスメドミジンは長時間にわたり誘起膜電流が持続した。選択的 α_{2A} 受容体作動薬であるオキシメタゾリンによってデクスメドミジンと同様に外向き電流が誘起された(10.2 \pm 1.0 pA)。デクスメドミジンにより、保持膜電位が-90mV以上で外向き電流が誘起さ

れ、 -90mV 以下で内向き電流が誘起された。約 -86mV 付近でその極性が逆転し、逆転電位は K^+ チャンネルの平衡電位に近似していた。電極内液にG蛋白質活性阻害薬GDP- β -Sを用いて、デクスメデトミジンを再灌流しても膜電流に変化は認められなかった($p < 0.05$)。同様に電極内液に K^+ チャンネル阻害薬Cs、TEAを用いて、再灌流しても膜電流は誘起されなかった。

[考察] 本研究における誘起膜電流をおこすデクスメデトミジンの濃度範囲は、行動学的研究で既に報告されている脳脊髄液中の抗侵害作用を示すデクスメデトミジンの濃度とほぼ一致していた。また、膠様質細胞には α_2 受容体が存在し鎮痛作用に関与していることが知られている。免疫組織化学的手法を用いた研究によって脊髄膠様質のシナプス前終末に α_{2A} 受容体、シナプス後細胞には α_{2C} 受容体が存在し、 α_{2B} 受容体はどちらにも存在しないと報告されていたが、オキシメタゾリンを用いた本研究の実験結果からシナプス後細胞における α_{2A} 受容体の存在が明らかとなり、デクスメデトミジンはシナプス後細胞において α_{2A} または α_{2C} 受容体、またはそれらの両方に作用すると考えられる。

本研究の結果から、デクスメデトミジンは脊髄後角の膠様質においてシナプス後細胞の α_2 受容体に結合し、G蛋白質を介して K^+ チャンネルを開口させることによって外向き膜電流(過分極)を誘起することが明らかとなった。このようにして膠様質細胞の興奮性を抑制することによって痛覚情報は上位中枢に伝達されなくなり、鎮痛効果を生じるものと考えられる。

(論文審査の要旨)

デクスメデトミジンは静脈内投与によって鎮静作用と鎮痛作用が得られる α_2 受容体作動薬であり、近年、特に集中治療領域で臨床使用されはじめた。デクスメデトミジンの鎮痛効果は脊髄後角に対する作用と考えられているがその詳細な機序は明らかではない。本研究では成熟ラットの腰部脊髄スライス標本を用いて脊髄後角第II層(膠様質)細胞よりパッチクランプ記録を行い、デクスメデトミジンの作用を電気生理学的に調べた。

膜電位を -70mV に保持し、デクスメデトミジンを灌流投与したところ、92%の細胞で外向き電流を誘起し、 $0.1\mu\text{M}\sim 30\mu\text{M}$ の濃度範囲において濃度依存性に振幅が増加した。この外向き電流は α_1 受容体拮抗薬プラゾシンで抑制されず、 α_2 受容体拮抗薬ヨヒンビンで抑制された。この外向き電流の逆転電位は -86mV 付近で、 K^+ イオンの平衡電位に近似していた。また、電極内液にG蛋白質活性阻害薬GDP- β -Sや K^+ チャンネル阻害薬Cs、TEAを用いた場合は外向き電流は誘起されなかった。これらの結果から、デクスメデトミジンは脊髄後角の膠様質においてシナプス後細胞の α_2 受容体に結合し、G蛋白質を介して K^+ チャンネルを開口させることによって外向き膜電流(過分極)を誘起することが明らかとなった。

以上、本研究はデクスメデトミジンの鎮痛作用機序の一部を脊髄後角レベルで明らかにし、その脊髄投与の有用性を示唆したものであり、この点に学位論文としての価値を認める。