



|                     |                                                                                                                           |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | アドレナリン $\alpha 2A$ 受容体サブタイプに対する $\alpha 2$ 作動薬の作用に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]                                                     |
| Author(s)           | 小林, 武志                                                                                                                    |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                     |
| Degree Name         | 博士(獣医学)                                                                                                                   |
| Dissertation Number | 甲第12616号                                                                                                                  |
| Issue Date          | 2017-03-23                                                                                                                |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/65650">https://hdl.handle.net/2115/65650</a>                                         |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                           |
| File Information    | Takeshi_Kobayashi_review.pdf, 審査の要旨                                                                                       |



## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：小林 武志

|      |    |      |    |     |
|------|----|------|----|-----|
| 審査委員 | 主査 | 准教授  | 乙黒 | 兼一  |
|      | 副査 | 教授   | 木村 | 和弘  |
|      | 副査 | 教授   | 石塚 | 真由美 |
|      | 副査 | 名誉教授 | 伊藤 | 茂男  |

## 学位論文題名

アドレナリン  $\alpha_2A$  受容体サブタイプに対する  $\alpha_2$  作動薬の作用に関する研究

アドレナリン  $\alpha_2$  受容体は主に中枢神経系のアドレナリン作動性神経に発現し、興奮・覚醒レベルの上昇を抑制することで、鎮痛や鎮静、筋弛緩などに関与している。また、脊髄では  $\alpha_2$  受容体は後角表層の侵害受容経路に発現し、痛覚抑制に働く下行性抑制経路の作用点となっている。そのため、デクスメデトミジンやキシラジンなどの  $\alpha_2$  作動薬は、ヒトや動物の鎮痛・鎮静薬として使用されている。キシラジンは反芻獣に強い効果を示す一方で、ブタには極めて弱い効果しか示さないが、この顕著な薬効種差の原因は不明である。また  $\alpha_2$  受容体には3つのサブタイプが存在するが、サブタイプ特異的な作用薬がなく、また  $\alpha_2$  作動薬の作用にイミダゾリン受容体の関与も示唆されるなど、その作用機序の詳細は解明されていない。本研究では、 $\alpha_2$  作動薬の作用機序と、薬効種差の原因について検討した。

第1章では、 $\alpha_2A$  受容体サブタイプの機能的ノックアウトマウスである D79N マウスの摘出脊髄反射電位を記録し、 $\alpha_2$  作動薬の脊髄侵害受容経路の抑制作用に関与する受容体を検討した。デクスメデトミジンとキシラジンは脊髄侵害受容電位の slow ventral root potential (sVRP) を濃度依存性に抑制した。D79N マウスにおけるデクスメデトミジンの sVRP 抑制効果は、野生型と比較して弱く、また  $\alpha_2$  拮抗薬アチパメゾールで完全に回復した。一方、D79N マウスでのキシラジンの sVRP 抑制効果も野生型に比べて減弱したが、この抑制効果はアチパメゾールや  $\alpha_2C$  拮抗薬 JP1302、イミダゾリン  $I_1$  受容体拮抗薬エファロキサンおよび  $I_2$  受容体拮抗薬イダゾキサンで回復しなかった。次に脊髄神経の複合活動電位伝播に対する  $\alpha_2$  作動薬の効果を検討したところ、デクスメデトミジンは活動電位伝播に影響を与えなかった。一方、高濃度のキシラジンは活動電位伝播を抑制し、この抑制効果には野生型と D79N マウスとの間で違いは認められなかった。以上の結果から、 $\alpha_2$  作動薬は主に  $\alpha_2A$  受容体を介して脊髄の侵害受容経路を抑制することが明らかになった。さらに高濃度のキシラジンには、受容体を介さずに活動電位の伝播を抑制する効果もあ

ると考えられる。また、 $\alpha_2$  作動薬の鎮痛効果における  $\alpha_{2A}$  受容体サブタイプの役割を検討するために、*in vivo* 痛覚試験を行ったところ、野生型マウスで観察されたデクスメデトミジンとキシラジンの鎮痛効果は、D79N マウスでは見られなかった。この結果から、薬効用量の  $\alpha_2$  作動薬の鎮痛効果発現には、 $\alpha_{2A}$  受容体サブタイプが必要不可欠であることが示された。

第2章では、 $\alpha_2$  作動薬の薬効種差の原因を検討するために、各種動物の  $\alpha_{2A}$  受容体サブタイプの構造比較と、 $\alpha_2$  作動薬との *in silico* ドッキングシミュレーションを行った。ヒトアドレナリン  $\beta_2$  受容体の立体構造を基に、マウス、ウシおよびブタ  $\alpha_2$  受容体の立体構造をモデリングしたところ、マウスとウシの  $\alpha_{2A}$  受容体では大きな違いはなかったが、ブタ  $\alpha_{2A}$  受容体はマウスと比較して立体構造の全般に渡って相違点が認められた。デクスメデトミジンのバインディングポケットは  $\alpha_{2A}$  受容体の膜貫通領域 (TM) 356 に囲まれた領域に存在したが、ブタ  $\alpha_{2A}$  受容体のバインディングポケットの位置は、マウスおよびウシ  $\alpha_{2A}$  受容体とは異なっていた。一方、キシラジンのバインディングポケットはマウスおよびウシ  $\alpha_{2A}$  受容体では TM356 内の同じ位置に存在していたが、ブタ  $\alpha_{2A}$  受容体では TM345 に存在した。またマウスとブタの第三細胞内ドメインの配置を交換したキメラ受容体では、キシラジンのバインディングポケットの位置と結合の安定性が変化した。これらの結果から、ブタ  $\alpha_{2A}$  受容体のキシラジンのバインディングポケットの位置は、マウスやウシ  $\alpha_{2A}$  受容体とは異なっていることが示され、第三細胞内ドメインの構造がバインディングポケットの位置やリガンドとの結合安定性に影響していると考えられた。

本研究成果は、 $\alpha_2$  作動薬の鎮痛作用発現には  $\alpha_{2A}$  受容体サブタイプが重要な役割を果たしていることを明らかにし、獣医療で汎用されるキシラジンのブタでの弱い薬効が、 $\alpha_{2A}$  受容体の構造の違いに起因する可能性を示唆するものである。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者小林 武志氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。