

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	小田 綾
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目			
メタンフェタミンの鎮痛効果におけるドパミン神経とノルアドレナリン神経の関与：ホルマリンテストおよび脳マイクロダイアリシス法による検討			
論文審査担当者			
主査	教授	兼松 隆	印
審査委員	教授	柿本 直也	
審査委員	教授	森岡 徳光	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>全身麻酔は健忘、意識消失、鎮痛、骨格筋弛緩、侵害刺激による体動の抑制(不動化)など様々な要素からなるが、その中でも鎮痛は特に重要な要素と考えられる。手術中には機械的・化学的侵害刺激だけでなく、それに伴う炎症反応も生じる。また、痛み抑制にドパミン(DA)神経やノルアドレナリン(NA)神経の関与が知られている。さらに、これらの神経系が下行性疼痛抑制系に重要な役割を果たしていると考えられている。そこで、本研究では、DA 取り込み阻害作用と NA 遊離促進作用を有する methamphetamine および選択的 DA 取り込み阻害薬である GBR-12909 をマウスに全身投与し、急性持続性疼痛評価のモデルとして確立されている formalin test を用いてこれらの薬物が鎮痛効果を有するか検討した。また、formalin 単独や methamphetamine の併用が線条体での DA 量および前頭前野での NA 量を変化させるか、脳マイクロダイアリシス法を用いて神経生化学的手法により検討した。さらに、それぞれ DAD<sub>1</sub>、DAD<sub>2</sub> 受容体拮抗薬の SCH-23390、haloperidol、それぞれ <math>\alpha</math>、<math>\alpha_1</math>、<math>\alpha_2</math>、<math>\beta</math> アドレナリン受容体拮抗薬の phenoxybenzamine、prazosin、yohimbine、propranolol、アドレナリン <math>\alpha_2</math> 受容体作動薬の dexmedetomidine および NA 神経毒である DSP-4 が、methamphetamine の鎮痛効果に影響を及ぼすか行動薬理学的手法により検討した。本研究により選択的 DA あるいは NA 受容体作動薬の活用により痛覚抑制系を増強する、新しい全身麻酔法が確立できれば、呼吸・循環抑制など重篤な副作用のある麻薬性鎮痛薬を使用する必要がなくなるかも知れない。</p> <p>実験動物：ddY 系成熟雄性マウスを用い、formalin は片側後肢足蹠皮下に、その他の薬物はすべて腹腔内に投与した。</p> <p>行動薬理学実験：マウスの片側後肢足蹠に 1-4% formalin を 10 <math>\mu</math>l 皮下注射した後ビーカーに戻し、投与後 1 分毎に 0 から 3 までスコア化した痛み行動を観察、記録した。スコア 0 は注射された後肢の位置および動きがもう一方の後肢と区別できない状態、スコア 1 は注射された後肢に体重をほとんどかかけられない状態、スコア 2 は注射された後肢を持ち上げいずれの面とも接触していない状態、スコア 3 は注射された後肢を舐めたり噛んだり振ったりしている状態を示すものとした。また、formalin 注射の 10、20、30 分前に methamphetamine または GBR-12909 を腹腔内投与し、formalin による痛みスコアに及ぼす影響を検討した。次に、methamphetamine を投与するさらに 10 分前に DSP-4 を除いた前述の各種薬物を腹腔内投与し、methamphetamine の鎮痛効果に及ぼす影響を検討した。DSP-4 は methamphetamine 投与 6 時間前または 7 日前に腹腔内投与した。</p> <p>神経生化学実験：Saline または methamphetamine 投与 10 分後に formalin を皮下注射した際の線条体および前頭前野での細胞外液を脳マイクロダイアリシス法により回収した。回収した細胞外液中の DA あるいは NA 量の測定は、HPLC-ECD を用いて行った。</p>			

結果を以下に示す。

1. 1-4% formalin は濃度依存性に痛みスコアを増加させた。スコアの増加はホルマリンの化学刺激による第 1 相（投与直後一約 6 分後）と炎症反応による第 2 相（投与後約 10 分以降）の 2 相性に観察され、約 60 分間持続した。また、この 2 相の間の約 5 分間（投与約 6-10 分後）は痛み反応が消失した。この後の実験ではすべて 4% formalin を使用した。
2. Methamphetamine と GBR-12909 は、両薬物とも formalin による痛みに対し用量依存性に鎮痛効果を認めた。また、methamphetamine は formalin 注射の 10 分前、GBR-12909 は 30 分前に投与したとき、鎮痛効果が最も強かった。さらに、methamphetamine が formalin による第 1 相と第 2 相の両相で有意な鎮痛効果があったのに対し、GBR-12909 は第 2 相でのみ有意であった。本結果から、この後の実験では、methamphetamine (2 mg/kg) は formalin 注射 10 分前に投与することとした。
3. マイクロダイアリシス法による線条体の DA 量の測定では、methamphetamine 投与後の formalin 注射により線条体での DA 量は有意に増加した。Formalin 単独では DA 量がわずかに増加したが、有意ではなかった。
4. 前頭前野での NA 量の測定では、methamphetamine 投与後の formalin 注射により NA 量は増加した。Formalin 単独では変化を認めなかった。
5. 低用量の SCH-23390 (0.1 mg/kg) は、第 2 相での methamphetamine による鎮痛効果を有意にリバースした。低用量の haloperidol (0.2 mg/kg) は methamphetamine の鎮痛効果に影響しなかったが、高用量(1 mg/kg)では第 2 相での鎮痛効果のみ有意に拮抗した。
6. Phenoxybenzamine および prazosin は、第 2 相において methamphetamine の鎮痛効果に拮抗した。Yohimbine は影響を与えなかったが、propranolol は逆に第 1 相において methamphetamine の鎮痛効果を増強した。
7. Dexmedetomidine は高用量 (200-400 µg/kg) で、第 1 相における methamphetamine の鎮痛効果を増強した。
8. 7 日前に DSP-4 を投与した場合、formalin に対する methamphetamine の鎮痛効果に影響を与えなかった。しかし、6 時間前に DSP-4 を投与した場合、第 1 相と第 2 相ともに methamphetamine の鎮痛効果が拮抗された。

以上の結果より、methamphetamine は formalin による急性持続性疼痛に対し鎮痛効果を有し、その効果には線条体での DA 量の増加や前頭前野での NA 量の増加が関与し、下行性疼痛抑制系を介している可能性が示唆された。また、GBR-12909 が formalin test で第 2 相の痛み反応のみを抑制したことや、DA 受容体拮抗薬が第 2 相に対する methamphetamine の鎮痛効果のみを拮抗したことから、DA 神経は第 1 相よりも第 2 相の鎮痛効果により強く影響すると考えられた。さらに、DSP-4 の結果は、NA 神経が両相の鎮痛効果に関与することを示唆した。本研究を通して得られた研究成果は、選択的 DA あるいは NA 受容体作動薬を活用した新しい全身麻酔法の開発に資することが期待できる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が小田 綾に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	小田 綾
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目			
メタンフェタミンの鎮痛効果におけるドパミン神経とノルアドレナリン神経の関与：ホルマリンテストおよび脳マイクロダイアリシス法による検討			
最終試験担当者			
主査	教授	兼松 隆	印
審査委員	教授	柿本 直也	
審査委員	教授	森岡 徳光	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成30年6月20日の第1回広島大学研究科発表会（歯学）及び平成30年8月17日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 Formalin を侵害刺激として用いた理由</li> <li>2 Methamphetamine による自発運動量亢進作用の鎮痛評価への影響</li> <li>3 使用した各種薬物と formalin の投与時間の決定方法</li> <li>4 各実験での対照群の取り方</li> <li>5 ドパミンあるいはアドレナリン受容体に作用する薬物の鎮痛薬としての麻酔臨床応用への可能性</li> </ol> <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			