

氏名	藤本 磨希		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	歯学		
学位授与番号	博甲第6386号		
学位授与の日付	令和3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 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Dexmedetomidine inhibits LPS-induced inflammatory responses through peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) activation following binding to $\alpha_2$ adrenoceptors (デクスメドミジンは $\alpha_2$ アドレナリン受容体を介してペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 $\gamma$ (PPAR $\gamma$ ) を活性化することにより LPS 誘発性炎症反応を抑制する)		
論文審査委員	吉田 竜介 教授	寺町 順平 准教授	十川 千春 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、口腔外科手術における周術期鎮静薬として使用されている。デクスメドミジンは中枢に作用して鎮静・鎮痛作用を示す一方、局所投与することで、抗浮腫作用、抗炎症疼痛抑制作用、及び局所麻酔作用の増強効果を示すことが報告されている。しかし、その機序については十分に解明されていない。

炎症反応・疼痛の発生には、アラキドン酸カスケードが深く関わっている。シクロオキシゲナーゼ(以下 COX) はプロスタグランジン(以下 PG) を合成し、炎症に重要な役割を果たす一方で、PGD<sub>2</sub>の代謝産物である 15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -PGJ<sub>2</sub>(以下 15d-PGJ<sub>2</sub>) とその受容体である、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 $\gamma$ (以下 PPAR $\gamma$ ) の経路を介して抗炎症作用を有することも知られている。そこで、本研究ではデクスメドミジンの抗炎症作用の機序として、デクスメドミジンが $\alpha_2$ アドレナリン受容体を介して 15d-PGJ<sub>2</sub>の産生を増加させ、PPAR $\gamma$ を介して抗炎症性作用を発揮するという仮説を立て、その検証を行った。

### <方法>

培養したマクロファージ様細胞(RAW264.7)をデクスメドミジンでプレインキュベートした後、リポ多糖類(以下 LPS)を添加して炎症反応を惹起し、培養細胞における TNF $\alpha$ と IL-6 の産生、COX-2 遺伝子発現に対するデクスメドミジンの作用、及び $\alpha_2$ アドレナリン受容体の拮抗薬であるヨヒンビン投与した際の拮抗作用について ELISA 法または RT-PCR 法を用いて評価した。また、COX 経路で合成される PGE<sub>2</sub> および 15d-PGJ<sub>2</sub> の産生に対するデクスメドミジンの影響について評価し、さらに PPAR $\gamma$ 遺伝子発現への影響についても評価した。この際、デクスメドミジンが PPAR $\gamma$ 遺伝子発現に対してどの様に関わっているかを評価するため、COX-2 阻害剤である NS-398 を添加し、デクスメドミジンによる PPAR $\gamma$ 遺伝子発現への影響の変化についても評価した。そして、PPAR $\gamma$ の特異的拮抗薬である T0070907 を添加した際のデクスメドミジンの炎症性サイトカイン(TNF $\alpha$ と IL-6)抑制効果への影響を、さらに PPAR $\gamma$ 作動薬であるチアゾリジンジオン存在下におけるデクスメドミジンの TNF $\alpha$ 抑

制効果への影響についても評価した。統計学的分析には、one-way analysis of variance および Dunnett's multiple comparison test および Tukey's multiple comparisons test を用いた。有意水準は 5%未満とした。

#### <結果>

RAW264.7 細胞において、デクスメデトミジンは LPS による TNF $\alpha$  と IL-6 の産生及び COX-2 遺伝子発現を濃度依存性に抑制し、デクスメデトミジンによる効果はヨヒンビンによって抑制された。また、LPS 存在下において、デクスメデトミジンは炎症促進作用を持つ PGE<sub>2</sub> の産生を減少させたが、炎症抑制作用を持つ 15d-PGJ<sub>2</sub> の産生は有意に増加した。さらに、LPS 存在下において、デクスメデトミジンは PPAR $\gamma$  の遺伝子発現を有意に増加したが、この効果は NS-398 によって拮抗された。デクスメデトミジンのこれらの効果はヨヒンビンによって抑制された。さらに、デクスメデトミジンによる LPS 誘発性炎症性サイトカイン (TNF $\alpha$ , IL-6) の抑制効果は T0070907 によって抑制され、TNF $\alpha$  の産生抑制効果はチアゾリジンジオンにより増強された。

#### <考察>

本研究によって、デクスメデトミジンが $\alpha_2$  アドレナリン受容体を介して 15d-PGJ<sub>2</sub> を増加させ、PPAR $\gamma$  遺伝子発現を増加させることで LPS 誘発性炎症反応を抑制することが示された。また、本研究では、PPAR $\gamma$  遺伝子発現の増加に対するデクスメデトミジンの効果は NS-398 によって拮抗されたことから、デクスメデトミジンが COX 経路の抗炎症経路の過程において、直接的または間接的に 15d-PGJ<sub>2</sub> 産生を増加させ、PPAR $\gamma$  遺伝子発現を増加させることが示唆された。PPAR $\gamma$  は脂肪細胞の分化や脂肪蓄積の調節、インスリン作用等に重要な役割を果たしている。よって、デクスメデトミジンは抗炎症効果だけではなく糖・脂質代謝の改善に対しても効果があるのではないかと考えられた。

#### <結語>

本研究結果から、デクスメデトミジンが $\alpha_2$  アドレナリン受容体を介して PPAR $\gamma$  遺伝子発現を増加させることで LPS 誘発性炎症反応を抑制することが示された。

## 論文審査結果の要旨

選択的 $\alpha_2$ アドレナリン受容体作動薬であるデクスメデトミジンは、口腔外科手術における周術期鎮静薬として使用されている。デクスメデトミジンは中枢に作用して鎮静・鎮痛作用を示す一方、局所投与することで、抗浮腫作用、抗炎症疼痛抑制作用を示すことが報告されている。しかし、その機序については十分に解明されていない。本研究では、炎症反応・疼痛発生に関与するアラキドン酸カスケードの代謝産物であり、抗炎症作用を有する15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -PGJ<sub>2</sub>（以下15d-PGJ<sub>2</sub>）と、その受容体であるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 $\gamma$ （以下PPAR $\gamma$ ）の経路に着目し、デクスメデトミジンの抗炎症機序を解明することを目的とした。研究の方法と結果は以下のとおりである。

培養したマクロファージ様細胞（RAW264.7）にデクスメデトミジンを15分間前投与した後、リポ多糖類（以下LPS）を添加して炎症反応を惹起し、培養細胞におけるTNF $\alpha$ とIL-6の産生、COX-2遺伝子発現に対するデクスメデトミジンの作用についてELISA法またはリアルタイムPCR法を用いて評価した。また、アラキドン酸カスケードで合成されるPGE<sub>2</sub>および15d-PGJ<sub>2</sub>の産生、PPAR $\gamma$ 遺伝子発現に対するデクスメデトミジンの影響についても同様の手法にて評価した。さらに、PPAR $\gamma$ の特異的拮抗薬であるT0070907やCOX-2阻害剤であるNS-398存在下における、デクスメデトミジンによる炎症性サイトカイン産生抑制効果への影響およびPPAR $\gamma$ 遺伝子発現への影響、およびPPAR $\gamma$ 作動薬であるチアゾリジン誘導体存在下におけるデクスメデトミジンのTNF $\alpha$ 抑制効果への影響についても同様の手法にて評価した。これらの結果、デクスメデトミジンは $\alpha_2$ アドレナリン受容体を介して濃度依存的にTNF $\alpha$ 、IL-6、PGE<sub>2</sub>の産生、およびCOX-2遺伝子発現を抑制した。またLPS存在下において、デクスメデトミジンは $\alpha_2$ アドレナリン受容体を介して15d-PGJ<sub>2</sub>産生量及びPPAR $\gamma$ 遺伝子発現量を有意に増加させた。一方、この効果はNS-398によって拮抗された。さらに、デクスメデトミジンによるLPS誘発性炎症性サイトカイン（TNF $\alpha$ 、IL-6）の抑制効果はT0070907によって拮抗され、デクスメデトミジンのTNF $\alpha$ 産生抑制効果はチアゾリジン誘導体を併用することにより増強された。

本論文では、マクロファージ系培養細胞にてデクスメデトミジンが $\alpha_2$ アドレナリン受容体を介して抗炎症作用を有するPGである15d-PGJ<sub>2</sub>の産生、およびその受容体であるPPAR $\gamma$ 遺伝子発現を増加させることでLPS誘発性炎症反応を抑制することを示した。

なお、本論文はすでに学術誌「European Journal of Pharmacology」に掲載されており、国際的にも評価されている。

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。