

学 位 論 文 要 旨

氏名 松川 拓哉

題 目 : Effects of imidazoline and nonimidazoline α -adrenoceptor agonists and antagonists on platelet aggregation in cats

(ネコの血小板凝集能に及ぼすイミダゾリンおよび非イミダゾリン α -アドレナリン受容体作動薬と遮断薬の効果)

論文要旨 :

Mammalian platelets vary widely in their responses to catecholamines and other α -adrenergic agents. In dogs, cats, and rabbits, adrenaline alone does not induce platelet aggregation but it does potentiate platelet aggregation stimulated by other platelet agonists including ADP, collagen, and thrombin. This adrenaline-potentiated platelet aggregation is mediated by α_2 -adrenoceptors in dogs and rabbits. In contrast to humans, dogs, and rabbits, adrenaline in cattle and horses does not potentiate platelet aggregation induced by other platelet agonists such as ADP, collagen, thrombin, or platelet-activating factor. Some adrenoceptor agents have imidazoline-like chemical structures. Nonadrenergic I_1 and I_2 receptors that are pharmacologically distinct from α_2 -adrenoceptors have been detected in human, canine, feline, bovine, and equine platelets. Furthermore, canine, feline, bovine, and equine platelets have I_1 receptors that are defined by binding to tritiated clonidine, but murine and leporine platelets do not have I_1 receptors. Conversely, platelets of all species have I_2 receptors that are defined by binding to tritiated idazoxan. In addition, the density of I_1 and I_2 receptors and α_2 -adrenoceptors differs among animal species. These variations for receptors may reflect differences among animal species regarding the platelet aggregation response. However, there is no information available concerning the platelet aggregatory effects of α -adrenergic agents in cats. Comparative studies on the effects of imidazolines on aggregation of feline platelets may be important for the characterization of platelet receptors and may be useful to elucidate the function of imidazoline receptors. On the other hand, as both medetomidine and xylazine reduce plasma concentrations of adrenaline and noradrenaline in cats, it may be important on blood homeostasis to examine the platelet response in cats administered systemically with medetomidine and xylazine. However, to the best of our knowledge, there are no published reports on the blood platelet aggregation in cats that were administered xylazine or medetomidine systemically. Therefore, this study was conducted to investigate the effects of imidazoline and nonimidazoline α -adrenoceptor agonists and antagonists including medetomidine, dexmedetomidine, xylazine, atipamezole, and yohimbine on platelet aggregation in cats.

In chapter 1, the effects of various imidazoline or nonimidazoline α -adrenergic agents on in vitro platelet aggregation and antiaggregation were evaluated in healthy cats. Blood obtained from healthy adult

cats. In 7 experiments, the effects of 23 imidazoline and nonimidazoline α -adrenoceptor agonists or antagonists on aggregation and antiaggregation of feline platelets were determined via a turbidimetric method. Platelet aggregation was not induced by α -adrenoceptor agonists alone. Adrenaline and noradrenaline induced a dose-dependent potentiation of ADP- or collagen-induced aggregation. Oxymetazoline and xylometazoline also induced a small potentiation of ADP-stimulated aggregation, but other α -adrenoceptor agonists did not induce potentiation. The α_2 -adrenoceptor antagonists or certain imidazoline α -adrenergic agents including phentolamine, yohimbine, atipamezole, clonidine, medetomidine, and dexmedetomidine inhibited adrenaline-potentiated aggregation induced by ADP or collagen in a dose-dependent manner. The imidazoline compound antazoline inhibited adrenaline-potentiated aggregation in a dose-dependent manner. Conversely, α_1 -adrenoceptor antagonists and nonimidazoline α -adrenergic agents including xylazine and prazosin were ineffective or less effective for inhibiting adrenaline-potentiated aggregation. Medetomidine and xylazine did not reverse the inhibitory effect of atipamezole and yohimbine on adrenaline-potentiated aggregation. In conclusion, adrenaline-potentiated aggregation in feline platelets may be mediated by α_2 -adrenoceptors, whereas imidazoline agents may inhibit in vitro platelet aggregation via imidazoline receptors. Imidazoline α -adrenergic agents may have clinical use for conditions in which there is platelet reactivity to adrenaline. Xylazine may be used clinically in cats with minimal concerns for adverse effects on platelet function.

In chapter 2, the effects of medetomidine and xylazine administered systemically on ex vivo platelet aggregation were compared in healthy cats. Five cats were repeatedly used in each of 7 groups. The cats received saline as the nonmedicated control; 0.5, 2.0, and 4.0 mg/kg xylazine; and 20, 80, and 160 μ g/kg medetomidine intramuscularly. Venous blood was collected 4 times (0, 2, 4, and 7 h) after injection of both agents. Ex vivo percent platelet aggregation was determined via a turbidimetric method. Collagen and ADP were used to initiate aggregation. Administrations of xylazine at all dosages did not significantly change the platelet aggregation induced by ADP and collagen compared with the control. In contrast, administration of medetomidine at 80 μ g/kg significantly reduced platelet aggregation induced by both ADP and collagen compared with the control, whereas medetomidine at the other dosages did not significantly change the platelet aggregation induced by ADP and collagen. These results indicate that systemic administration of xylazine can be used in feline practice without concern for adverse effects on platelet function, although if medetomidine is used, even in limited dosages, it may inhibit platelet aggregation.

In conclusion, this study suggested that adrenaline-potentiated aggregation in feline platelets is mediated by α_2 -adrenoceptors, whereas imidazoline α -adrenergic agents may inhibit in vitro platelet aggregation via imidazoline receptors and have clinical use for conditions in which there is platelet reactivity to adrenaline, overactivity of the sympathetic nervous system or increased catecholamine concentrations. Furthermore, this study revealed that systemic administration of xylazine in contrast to medetomidine can be used in feline practice without concern for adverse effects on platelet function. This study provided new information about the effects of α -adrenoceptor agonists and antagonists on platelet aggregation in cats.

学位論文審査の結果の要旨

氏名	松川拓哉
審査委員	主査：鳥取大学 教授 日笠喜朗
	副査：山口大学 教授 水野拓也
	副査：鳥取大学 教授 竹内崇
	副査：鳥取大学 教授 今川智敬
	副査：鳥取大学 教授 森田剛仁
題目	Effects of imidazoline and nonimidazoline α -adrenoceptor agonists and antagonists on platelet aggregation in cats (ネコの血小板凝集能に及ぼすイミダズリンおよび非イミダズリン α -アドレナリン受容体作動薬と遮断薬の効果)
<p>審査結果の要旨：</p> <p>ほ乳類の血小板は動物種によりアドレナリン(Ad)、ノルアドレナリン(Nor)およびその他の α-アドレナリン受容体(α-R)作用薬に対する反応が異なる。イヌ、ネコおよびウサギでは Ad は単独で血小板凝集を惹起しないが、アデノシン二リン酸(ADP)、コラーゲン(Co1)、トロンビンなどのその他の惹起物質による血小板凝集を増強する。ウシとウマ血小板ではこの Ad の凝集促進効果は認められない。イヌ、ウサギ、ヒト血小板においては Ad の凝集促進効果は α_2-R を介すると報告されている。一方、α_2-R 作動薬の多くは、イミダズリン(I)誘導体であり、I α_2-R 作動薬は Ad の血小板凝集促進効果を抑制することが幾つかの動物種で報告されている。この点に関して血小板には α_2-R と異なる I-R (サブタイプ I₁、I₂)が発現しており、この I-R を介する血小板凝集抑制が示唆されている。さらに、動物種間で血小板 α_2-R、I₁-R および I₂-R 数の割合が異なっており、α-R 作用薬の血小板凝集能に及ぼす効果が動物種間で異なる可能性がある。ネコ血小板には α_2-R、I₁-R、I₂-R のすべての受容体発現が報告されているが、α-R 作用薬の血小板凝集能に及ぼす影響は明らかでない。一方、I α_2-R 作動薬のメデトミジンと非 I α_2-R 作動薬のキシラジンはネコの鎮静、鎮痛薬として同様に用いられるが、両薬の全身性投与による血小板凝集能への影響は不明である。このような背景から本研究ではネコの血小板凝集能に及ぼす I および非 I の α-R 作動薬と遮断薬の影響を検討したものである。</p> <p>第一章では健康ネコの <i>in vitro</i> 血小板凝集能に及ぼす I および非 I α-AR 作動薬と遮断薬の影響を調べることを目的とした。実験では雑種成猫から静脈血を採取し、遠心分離法にて多血小板血漿 (PRP) を作成した。血小板凝集能は PRP への 23 種の薬物 (0.1 nM ~1 mM) 添加、凝集惹起物質 ADP または Co1 添加後の血小板凝集率を透光度法により測定した。実験の結</p>	

果は以下に要約される。 α -R 作動薬単独では血小板凝集を誘発しなかったが、Ad と Nor は ADP と Col の凝集反応を用量依存性に増強した。オキシメタゾリンとキシロメタゾリンも ADP の血小板凝集を増強したが、その他の α -R 作動薬は ADP 凝集促進効果を示さなかった。ヨヒンビン、アチパメゾール、メデトミジン、デキセメデトミジンを含む α_2 -R 遮断薬または I 誘導体の α -R 作動薬は、Ad+ADP または Ad+Col による血小板凝集反応を用量依存性に阻害することを明らかにした。一方、プラゾシンとキシラジンを含む α_1 -R 遮断薬および非 I α -R 作用薬は Ad の凝集促進効果を抑制しないか、抑制効果が弱いことを明らかにした。さらに、メデトミジンとキシラジンは Ad+Col 凝集反応に対するアチパメゾールとヨヒンビンの抑制効果に拮抗しないことを明らかにした。以上より、ネコにおいて Ad は α_2 -R を介して血小板凝集を促進することを示唆した一方で、I α -R 作用薬は I-R を介して Ad の血小板凝集を抑制することを示唆した。また、I α -R 作用薬はネコにおけるカテコラミン増加に関連した血小板機能亢進の病態において臨床使用できる可能性を示唆した。

第二章では、ネコにおける I α_2 -R 作動薬のメデトミジンと非 I α_2 -R 作動薬のキシラジン投与が *ex vivo* 血小板凝集能に及ぼす影響を比較した。実験には健康な雑種成ネコを用い、7 実験群に対して繰り返し使用した。対照群には生理食塩液、薬物投与群にはメデトミジン 20、80、160 μ g/kg、キシラジン 0.5、2.0 および 4.0 mg/kg の筋肉内投与を行った。薬物投与前、投与後 2、4、7 時間に静脈採血を行い、PRP を調整後、ADP (0~5 μ mol/L) および Col (0~5 μ g/ml) 惹起性の血小板凝集能を透光度法により測定し、ADP と Col の 50%凝集濃度 (ED50) を求めた。実験の結果、メデトミジン 80 μ g/kg 群は、投与後 2、4 時間で ADP (3 および 5 μ mol/L) および Col (3 および 5 μ g/ml) の血小板凝集率を有意に減少し、メデトミジン投与後 2 時間における ADP と Col の ED50 は対照群または投与前に比べ有意に高値を示した。メデトミジン 20 μ g/kg 群およびキシラジン 4 mg/kg 群でも投与後 2 時間で ADP と Col 惹起性凝集率の低下傾向がみられたが、有意差はなかった。メデトミジン用量依存性の血小板凝集の抑制はみられなかった。以上より、ネコにおけるキシラジン投与は血小板凝集能への影響はないが、メデトミジン投与は血小板凝集を抑制することを明らかにした。このメデトミジン投与による血小板凝集能の抑制には血小板 I-R への関与や血漿カテコラミン濃度低下の影響が示唆された。ネコにおけるキシラジン投与は血小板機能への悪影響を懸念することなく使用できるが、メデトミジン投与の際は血小板機能への影響を考慮する必要があることを示唆した。

本研究はネコにおけるイミダゾリンおよび非イミダゾリン α -R 作用薬の血小板凝集能に及ぼす影響を *in vitro* および *ex vivo* の両面から初めて明らかにした。本研究で得られた新知見は、これらの薬物を獣医臨床で用いる上で非常に有用であると判断された。以上により、本論文は博士 (獣医学) の学位論文として十分な価値を有するものと判定した。