

平成 21 年 5 月 27 日現在

研究種目： 基盤研究 (C)
研究期間： 2005 ~ 2008
課題番号： 17591620
研究課題名 (和文)
加齢による全身麻酔薬作用の修飾機序に関する基礎的研究
研究課題名 (英文)
Basic mechanisms for age-dependent modification of actions of general anesthetics
研究代表者
廣田 弘毅 (KOKI HIROTA)
富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学)・准教授
研究者番号： 30218854

研究成果の概要：

ラット海馬スライス標本において、静脈麻酔薬は抑制性介在ニューロンのシナプス前終末からの GABA 放出を促進したが、この作用は加齢による修飾を受けた。一方、揮発性麻酔薬は GABA 放出促進作用が弱く、加齢による修飾も少なかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	1,300,000	0	1,300,000
2006 年度	900,000	0	900,000
2007 年度	600,000	180,000	780,000
2008 年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,400,000	360,000	3,760,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード： 全身麻酔薬、海馬、シナプス伝達、加齢、シナプス前終末、GABA

1. 研究開始当初の背景

(1) 高齢化社会を迎え、臨床における老人麻酔の重要性は高まっているが、加齢による全身麻酔薬作用の修飾機序は明らかでない。我々は以前の研究から、老齢ラット脳では全身麻酔薬による反回性抑制の促進作用が減弱している可能性を示した。当該研究では、シナプス伝達の観点から加齢による修飾機序を解明する。

(2) 海外共同研究者の Roth 教授 (カルガリー大学医学部) は、全身麻酔薬の作用機序の研究では第一人者である。我々は 1993 年より Roth 教授との共同研究で、海馬スライスのシナプス伝達に及ぼす全身麻酔薬の作用メカニズムの検討を行ってきた。これまでの成果を基にして、加齢と全身麻酔薬作用機序との関係を電気生理学的に明らかにする。

2. 研究の目的

全身麻酔薬の作用の強さ (ED_{50}) は加齢により変化するとされ、臨床における老人麻酔・小児麻酔では特に注意を要するが、この現象は主に臨床において経験的に得られた知見である。当該研究では、ラット海馬スライス標本を用いた電気生理学的検討から、中枢神経系における加齢による全身麻酔薬作用の修飾メカニズムを電気生理学的に明らかにする。

3. 研究の方法

(1) Aging Farm で育成したウィスターラットを 4W 群 (4 週齢), 5M 群 (5 ヶ月齢), 1Y 群 (1 年齢), 2Y 群 (2 年齢) の 4 群に分けて、海馬スライスのシナプス伝達に及ぼす全身麻酔薬の作用を比較検討する。

(2) ラットを麻酔後断頭して海馬を摘出し、ロータースライサーを用いて海馬スライス標本を作成する。標本は、Roth 教授(海外共同研究者)と共同開発した脳スライス用チャンバー(図1)に移し、サーキュレータを用いて37°Cに保つ。刺激電極および記録電極は、マイクロマニピュレーターを用いて操作し、シナプス電位は電気刺激装置を用いて誘発し、微小電極増幅器で観察する。またパッチクランプ増幅器・マイクロイオン注入装置を応用して膜イオン電流を解析する。実験は振台上で行う。

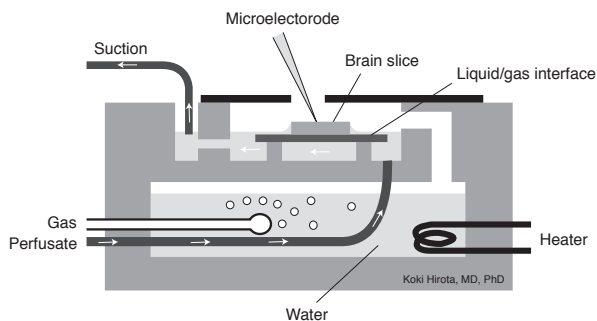


図1. 脳スライス用チャンバー

(3) 以下の経路は、グルタミン酸を興奮性シナプス伝達物質とする単シナプス結合であることが知られている(図2)。

① 貫通線維(刺激A) → 歯状核顆粒細胞(記録A)

② シャーファー側枝(刺激B) → CA1 錐体細胞(記録B)

以前の研究において、我々は Roth 教授とともに、これらのシナプス伝達に及ぼす揮発性麻酔薬セボフルランの作用を明らかにし、濃度/反応曲線を作成した(図3)。

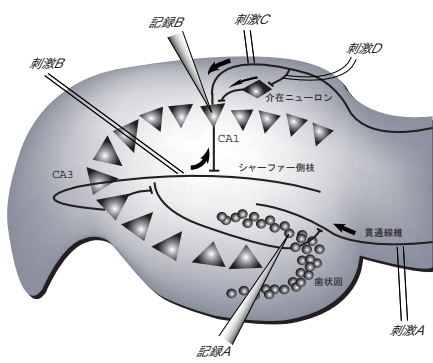


図2. 海馬におけるシナプス伝達

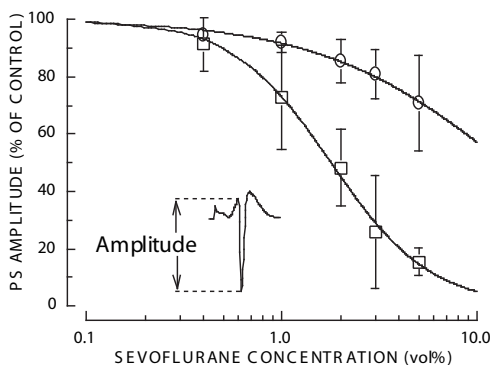


図3. 海馬における2つの順行性シナプス伝達: 貫通線維 → 歯状核顆粒細胞(□)とシャーファー側枝 → CA1 錐体細胞(○)に及ぼすセボフルランの影響。Mean ± SD, n=5-8.

(4) 同様の技法を用いて、各群のラットから摘出した標本に及ぼす全身麻酔薬の作用を検討し、得られた濃度/反応曲線を解析することにより、全身麻酔薬の作用に及ぼす加齢の影響を in vitro で検討する。

(5) 一方、錐体細胞の軸索線維を逆行性に刺激することにより、シナプス伝達を介さずに錐体細胞の興奮を誘発することができる。

③ 海馬白板(刺激C) → CA1 錐体細胞(記録B)

この経路に及ぼす全身麻酔薬の効果を①②と比較することにより、加齢の影響がシナプス伝達に対するものかどうか明らかにする。

4. 研究成果

(1) 標本

4群のラットの週齢, 体重, 標本数, 海馬スライス作成時間(断頭からスライスをチャンバーに入れるまでの時間)を表1に示す。4Y群と1Y群ラットを写真1に示す。

(2) 抑制性シナプス伝達に及ぼすチオペンタールチオペンタールの作用

表1

MATERIAL

	4W	5M	1Y	2Y
Age (W)	4.6±1.0	18±3.0	53±3.0	88±3.0
BW (g)	91±57	400±30	513±21	580±26
n	16	7	13	5
スライス作成時間 (sec)	359±42*	482±32	460±29	390±51*

Mean ± SD, *P<0.05 vs 1Y group



4W rat (50g)



1Y rat (500g)

写真1

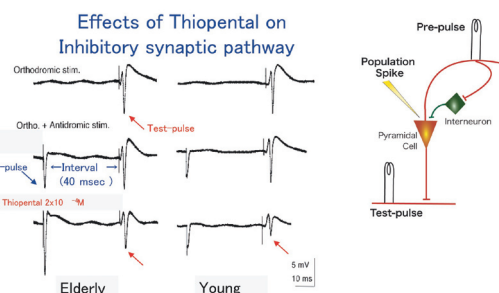
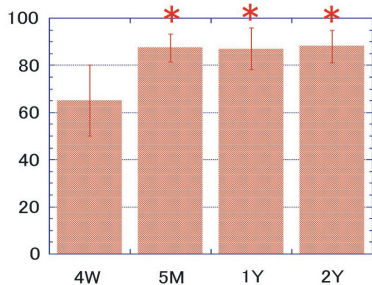


図4

チオペンタール (2×10^{-5} mol/L) は興奮性シナプス伝達には明らかな影響を示さなかったが、抑制性介在ニューロンを介する抑制性シナプス伝達を促進した。この作用は若年群で強い傾向があった (図4, 5)。

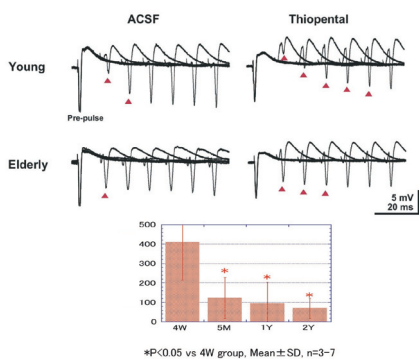
Relationships between effects of Thiopental and aging



* $P < 0.05$ vs 4W group, Mean \pm SD, n=5-13

図5

Effects of Thiopental on RI prolongation



* $P < 0.05$ vs 4W group, Mean \pm SD, n=3-7

図6

Effect of Number of Pre-pulses*

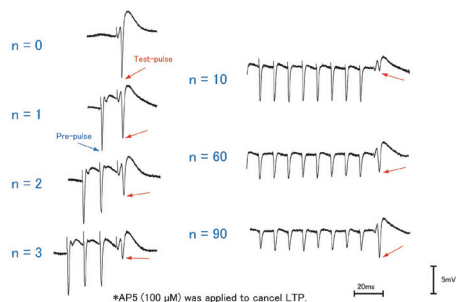


図7

チオペンタールは抑制性シナプス伝達を延長したが、この作用は若年群で増強した (図6)。

(3) シナプス前終末からの GABA 放出に及ぼすチオペンタールの作用

チオペンタールの年齢依存性効果のメカニズムを検討する目的で、抑制性介在ニューロンのシナプス前終末からの GABA 放出を調べた。抑制性介在ニューロンに prepulse train を与えることにより、集合電位の抑制および脱抑制の二相性の変化が認め

られた (図7)。この二相性変化は、GABA 取込み抑制薬ニペコチン酸により早まったことから、GABA 放出促進および枯渇に相当すると考えられた (図8)。

GABA 放出 / 枯渇に及ぼすチオペンタールの作用を検討した。チオペンタールは GABA 放出を促進したが、この効果は老年群では減弱した (図9)。

(4) 揮発性麻酔薬の作用と加齢による修飾

揮発性麻酔薬 (セボフルラン) は、興奮性シナプス伝達を抑

Effects of Nipecotic acid on pre-synaptic GABA release

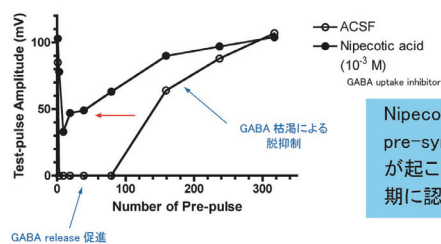


図8

Thiopental on pre-synaptic GABA release

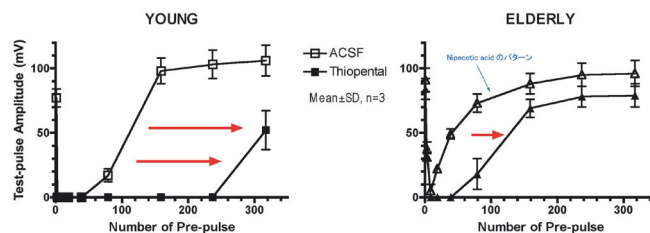


図9

制し、抑制性シナプス伝達を促進したが、これらの作用は加齢による修飾を受けなかった。

結論

1. 静脈麻酔薬である Thiopental は、シナプス前終末からの GABA 放出を促進すると考えられる。
2. 加齢群において、Thiopental の麻酔作用は減弱し、反回性抑制 (RI) 延長効果は短縮していることが推察された。
3. シナプス前終末より放出される GABA 量は、加齢により減少している事が推察された。
4. 加齢によるシナプス前終末の貯蔵 GABA 量の減少により、Thiopental の麻酔効果が修飾されている可能性がある (図10)。
5. 揮発性麻酔薬 (セボフルラン) は、興奮性シナプス伝達を抑制し、抑制性シナプス伝達を促進したが、これらの作用は加齢による修飾を受けなかった。

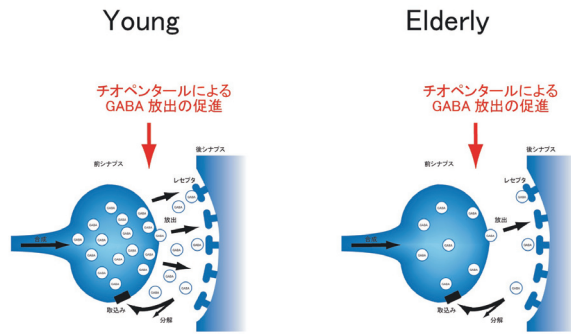


図 10

5. 主な発表論文等

【雑誌論文】(計 7 件)

1. Suzuki A, et al. The Pentax-AWS rigid indirect video laryngoscope: clinical assessment of performance in 320 cases. *Anaesthesia* 2008; 63:641-7
2. Sasaki R, Nanjo K, Hirota K. Perioperative anesthetic managements for the laryngo-tracheal separation and cardiopulmonary in a 17-year-old patient with Leigh syndrome. *Pediatric Anesthesia* 2008; 18:1133-4
3. 鈴木昭広, 他. 新しい気道確保道具エアウェイスコープの有用性. *麻酔* 2007; 56:464-8
4. 廣田弘毅, 山崎光章, 栗本昌紀. 症例検討「Awake craniotomy と麻酔管理」:あらゆる危機的状況に対応できる skill, 手術室の司令塔としての資質が試される. *Lisa* 2006, 13:678-81
5. 廣田弘毅. 海馬シナプス伝達に及ぼす全身麻酔薬の作用. *麻酔* 2006; 55:S145-52
6. Asahi T, Hirota K, Sasaki R, Roth SH, et al. The intravenous anesthetics have more effect on the inhibitory pathways than volatile anesthetics in rat hippocampal CA1. *Anesth Analg* 2006; 102:772-8
7. Sasaki R, Hirota K, Roth SH, et al. Anoxic depolarization of rat hippocampal slices is prevented by thiopental but not by propofol or isoflurane. *Br J Anaesth* 2005; 94:486-91

【学会発表】(計 14 件)

1. 廣田弘毅, 佐々木利佳, 武部真理子, 他. ラット海馬 CA1 領域の抑制性介在ニューロンに及ぼす全身麻酔薬の作用. 第 25 回麻酔メカニズム研究会. 2008 大阪
2. Sasaki R, Hirota K, Yamazaki M. Age-related modification on the effects of intravenous anesthetic in rat hippocampal CA1. 6th Forum of European Neuroscience. 2008 Geneva, Switzerland
3. Hirota K, Sasaki R, Yamazaki M. Effects of general anesthetics on presynaptic functions of inhibitory interneurons in the rat hippocampal CA1. 6th Forum of European Neuroscience. 2008

Geneva, Switzerland

4. 佐々木利佳, 廣田弘毅, 山崎光章. 加齢による麻酔薬作用修飾メカニズムの検討 第 3 報 (優秀演題). 第 55 回日本麻酔科学会. 2008 横浜
5. 廣田弘毅, 佐々木利佳, 朝日丈尚, 他. 海馬シナプス伝達に及ぼす静脈麻酔薬・揮発性麻酔薬の作用. 第 23 回麻酔メカニズム研究会. 2006 大阪
6. Sasaki R, Hirota K, Asahi T, et al. Age-related modification of the effects of general anesthetics in rat hippocampal CA1. 5th Forum of European Neuroscience, 2006 Vienna, Austria
7. Hirota K, Sasaki R, Asahi T, et al. General anesthetics produce stimulus-dependent modification of synaptic transmission in the rat hippocampal CA1 in vitro. 5th Forum of European Neuroscience, 2006 Vienna, Austria
8. 佐々木利佳, 廣田弘毅, 朝日丈尚, 他. 加齢による麻酔作用修飾メカニズムの検討. 第 53 回日本麻酔科学会. 2006 神戸
9. 廣田弘毅. 海馬シナプス伝達に及ぼす全身麻酔薬の作用. シンポジウム「麻酔の本態を探る」. 第 53 回日本麻酔科学会. 2006 神戸
10. 佐々木利佳, 廣田弘毅, 村花準一, 他. 麻酔導入後偶発的に伝導障害を発症した 4 症例:手術延期するか否か. 第 25 回臨床麻酔学会. 2005 大阪
11. 佐々木利佳, 廣田弘毅, 山崎光章. 糖尿病患者における術中輸液の検討. 第 95 回日本麻酔科学会東海・北陸支部 東海地方会. 2005 名古屋
12. Asahi T, Hirota K, Sasaki R, et al. Differential actions of volatile and intravenous anesthetics on recurrent inhibitory interneurons in rat hippocampal slices. 7th International Conference on Basic and Systemic Mechanisms of Anesthesia. 2005, Nara, Japan
13. Sasaki R, Hirota K, Asahi T, et al. Thiopental prevents anoxic depolarization during anoxia in area CA1 of rat hippocampal slices. 7th International Conference on Basic and Systemic Mechanisms of Anesthesia. 2005, Nara, Japan
14. Hirota K. Effects of general anesthetics on excitatory and inhibitory synaptic pathways of hippocampus in vitro. Workshop: Will neural networks provide the answer to anesthetic mechanisms of action? 7th International Conference on Basic and Systemic Mechanisms of Anesthesia. 2005, Nara, Japan

【図書】(計 8 件)

1. 佐々木利佳, 廣田弘毅. 副腎・甲状腺機能障害. The ICU Book 3rd ed. (William & Wilkins), 稲田英一監訳. メディカル・サイエンス・インターナショナル (東京). 2008, pp756-65
2. 廣田弘毅, 佐々木利佳. 栄養素と必要カロリー. The ICU Book 3rd ed. (William & Wilkins), 稲田英一監訳. メディカル・サイエンス・インターナショナル (東京). 2008, pp715-28
3. 廣田弘毅. 自律神経系:薬理学. Miller's Anesthesia, 6th edition, Ronald D. Miller 編, 武田純三監修. メディカル・サイエンス・インターナショナル (東京). 2007, pp495-509
3. 廣田弘毅. 自律神経系:薬理学. Miller's Anesthesia, 6th edition, Ronald D. Miller 編, 武田純三監修. メディカル・サイエンス・インターナショナル (東京). 2007, pp495-509
4. 廣田弘毅. 揮発性麻酔薬, 静脈麻酔薬はどこに作用するか. 麻酔科診療プラクティス 20. 高崎真弓, 弓削孟文, 稲田英一, 岩崎 寛 編, 文光堂 (東京). 2006, pp10-6
5. Asahi T, Hirota K, Sasaki R, et al. Differential actions of volatile and intravenous anesthetics on recurrent inhibitory interneurons in rat hippocampal slices. Basic and Systemic Mechanisms of Anesthesia. T. Mashimo, K. Ogli, I Uchida (eds.) International Congress Series 1283. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 2005, pp304-5
6. Sasaki R, Hirota K, Asahi T, et al. Thiopental prevents anoxic depolarization during anoxia in area CA1 of rat hippocampal slices. Basic and Systemic Mechanisms of Anesthesia. T. Mashimo, K. Ogli, I Uchida (eds.) International Congress Series 1283. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 2005, pp302-3
7. Hirota K, Sasaki R, Asahi T, et al. Effects fo general anesthetics on excitatory and inhibitory synaptic pathways of hippocampus in vitro. Basic and Systemic Mechanisms of Anesthesia. T. Mashimo, K. Ogli, I Uchida (eds.) International Congress Series 1283. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 2005, pp195-8
8. 廣田弘毅, 佐々木利佳. 全身麻酔とマグネシウム. マグネシウムの基礎と臨床. 外 須美夫 編集 (真興交易医書出版, 東京). 2005, pp118-28

【その他】

ホームページ

http://web.mac.com/morpheus_sq/iWeb/Koki/Welcome.html

6. 研究組織

研究代表者

廣田 弘毅 (Koki Hirota)

富山大学・大学院 医学薬学研究部 (医学)・准教授

研究者番号：30218854