

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659282

研究課題名（和文） 吸入麻酔薬の作用におけるグリア細胞の役割の解明

研究課題名（英文） Roles of Glial Cells in the Action of Inhalation Anesthetics

研究代表者

福田 和彦 (FUKUDA KAZUHIKO)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号： 90199224

研究成果の概要（和文）：

まず、オピオイド鎮痛薬の鎮痛作用におけるグリアの関与について検討した。ノックアウトマウスおよび変異マウスの解析により、モルヒネの耐性成立には toll-like receptor 4 を介さないマイクログリア活性化が関与することが明らかになった。次に、低酸素あるいは急性貧血による脳内エリスロポイエチン発現誘導は、揮発性麻酔薬イソフルランにより抑制されることが明らかになった。この現象はアストロサイトにおける低酸素誘導因子-2 の活性がイソフルランにより抑制されることによると考えられる。

研究成果の概要（英文）：

First, involvement of glial cells in the analgesic action of opioids was tested. Analysis of knockout mice and mutant mice revealed that tolerance to opioid analgesics is induced by microglial activation by a mechanism which does not involve the toll-like receptor 4. Next, it was demonstrated that hypoxia- or acute anemia-induced erythropoietin expression in the brain is inhibited by a volatile anesthetic, isoflurane. This phenomenon is suggested to be caused by inhibition of hypoxia-inducible factor 2 activity by isoflurane.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	0	1,500,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	390,000	3,190,000

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：グリア、麻酔薬、モルヒネ、耐性、エリスロポイエチン

1. 研究開始当初の背景

近代的な麻酔は19世紀中頃の吸入麻酔薬、亜酸化窒素の使用に始まる。それ以来、臨床的に吸入麻酔薬が広く用いられており、吸入麻酔薬の作用機序については、薬理的、物理化学的、生化学的側面からの研究が行われてきた。吸入麻酔薬の麻酔作用と脂溶性が相関する(Meyer-Overton rule)ことから麻酔薬が生体の疎水性部分と結合して麻酔作用を示すと考えられ、麻酔薬が生体膜に結合することが麻酔状態を作り出すと考えられたが、現在では吸入麻酔薬が細胞膜上に発現する蛋白、すなわちイオンチャ

ネル、受容体に作用することが麻酔作用を示す上で重要な役割を果たすと考えられている。しかしながら、吸入麻酔薬の作用機序には不明の点が多く残り、さらなる研究の展開が期待されている。

2. 研究の目的

吸入麻酔薬の作用機序に関しては、多くの方面からの研究が行われているが、未だに完全に解明されたとは言い難い。分子レベルでは、近年、麻酔薬の神経細胞イオンチャネルに対する作用が注目されている。一方、中枢神経系に多数存在するグリア細胞に関して、単なる支持組織としての役割

ではなく、様々な生理機能を果たしており、オピオイド等の薬物の作用にも関与していることが明らかにされてきた。また、グリア細胞には神経細胞と同様に、様々なイオンチャンネル、受容体が発現していることも知られている。本研究では、グリア細胞に対する吸入麻酔薬の作用を検討し、吸入麻酔薬の作用機序におけるグリア細胞の役割を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) モルヒネの鎮痛作用におけるグリアの関与

野生型マウス、toll-like receptor 4(TLR4)ノックアウトマウスおよびTLR4に変異を有するC3H/HeJマウスを用いた。マイクログリア活性化を抑制するミノサイクリンの前投与を行った場合と行わなかった場合について、モルヒネを5日間連日投与した後でモルヒネの鎮痛作用をテイルフリック法により評価した。

(2) 全身麻酔と低酸素誘導因子 (HIF) を介するエリスロポエチン (EPO) 発現

マウスを10%酸素と各種麻酔薬に曝露し、脳内エリスロポエチン発現をRT-PCRとELISA法によるエリスロポエチン濃度測定により評価した。マウス脳からアストロサイト初代培養を行い、低酸素と各種麻酔薬

曝露によるエリスロポエチンと低酸素誘導因子の発現変化をRT-PCRとウェスタンブロット法により評価した。

4. 研究成果

(1) モルヒネの鎮痛作用におけるグリアの関与

モルヒネを代表とするオピオイド鎮痛薬の鎮痛作用におけるグリアの関与について検討した。マイクログリアの活性化を抑制するミノサイクリンを投与したマウスにおけるモルヒネの鎮痛効果は対照マウスと差がなく、toll-like receptor 4(TLR4)ノックアウトマウスおよびTLR4に変異を有するC3H/HeJマウスでもノックアウトマウス、変異マウスともものいずれにおいても、野生型マウスと同様のモルヒネの鎮痛効果が観察された。この結果は、モルヒネの耐性成立にはTLR4を介さないマイクログリア活性化が関与することを示している。

(2) 全身麻酔と低酸素誘導因子 (HIF) を介するエリスロポエチン (EPO) 発現

EPOは、脳において虚血や低酸素に反応して発現し、神経保護に重要な機能を有する。本研究では、低酸素あるいは急性貧血による脳内EPO発現誘導は、揮発性麻酔薬イソフルラン、静脈麻酔薬プロポフォール、ペントバルビタール、ケタミンにより抑制さ

れることが明らかになった。さらに、脳における EPO 抑制機序として、グリアの一種であるアストロサイトにおいて低酸素下に EPO を誘導する HIF-2 の活性が、イソフルラン投与下で有意に抑制されることが確認された。この結果は、異なる麻酔機序を有する麻酔薬が EPO 産生については同様に作用することを示しており、今後 HIF-2 活性抑制機構を解明する必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

①Tanaka, T., Kai, S., Koyama, T., Daijo, H., Adachi, T., Fukuda, K., Hirota, K. General anesthetics inhibit erythropoietin induction under hypoxic conditions in the mouse brain. PLoS One 6 (2011) e29378 査読有
Doi:10.1371/journal.pone.0029378

[学会発表] (計 1 件)

①深川博志、小山智弘、福田和彦 モルヒネ耐性成立におけるミクログリア活性化には toll-like receptor 4 は関与しない
日本麻酔科学会第 58 回学術集会
2011.5.19 神戸

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福田 和彦 (FUKUDA KAZUHIKO)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：90199224