

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2012～2016

課題番号：24249077

研究課題名(和文) グリアの動態変化に及ぼす全身麻酔薬の作用～麻酔メカニズムの統一化に向けて～

研究課題名(英文) The effect of general anesthetic on the dynamic change of glia ~ Towards unification of anesthesia mechanism ~

研究代表者

真下 節 (Mashimo, Takashi)

大阪大学・その他部局等・名誉教授

研究者番号：10110785

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、未だに統一化されていない麻酔メカニズムの統一化を目指し、特に麻酔薬の非リア細胞に対する効果の検証を目的とした。

SDラットを用いた研究では異なる濃度のセボフルラン麻酔したの動物を検証することにより、吸入麻酔薬のセボフルレンがグリア細胞に対して作用を及ぼしている可能性を、Acetate-PETのWash-out rateを用いた解析で証明することに成功した。グリア細胞モデルを確立し、その表面レセプターインテグリンの機能制御が麻酔メカニズムとリンクすることを示すためのフレームワークを構築した。またエキソソームによる新たな情報伝達経路に対する麻酔薬の影響を研究する方向性を示した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to unify the anaesthetics' mechanism by verifying the effect of anaesthetics on glia cells. In vivo study using SD rats, we examined the sevoflurane anesthetized animals with different concentrations and verified that the inhalation anesthetic sevoflurane is acting on glial cells, by analyzing the Wash-out rate of Acetate-PET. We established a glial cell model and a framework to show that functional control of its surface receptor integrin is linked with anesthesia mechanism. The study also showed the need to further investigate the influence of anesthetics on new signal transduction pathways by exosomes.

研究分野：麻酔科学

キーワード：麻酔メカニズム PET 高解像MRI

1. 研究開始当初の背景

麻酔薬の作用メカニズムについては様々な議論がなされているが、明確な回答は難しいのが現状である。分子レベルの麻酔メカニズムの研究においては、特異説と非特異説の長い論争がある。特異説では、麻酔薬がニューロンの膜受容体に特異的に結合することによって、その機能を変化させることが麻酔の本態であるとする。われわれも特異説の立場から膜受容体について麻酔薬の作用の研究を行ってきた (Fukami S, et al: Eur J Pharmacol, 1999, Suzuki T, et al: Anesthesiology, 2002, Suzuki T, et al: Anesth Analg, 2003) が、統一的な麻酔メカニズムの解明には至っていない。非特異説は物理学の立場から演繹的な方法で見出された理論であり、Pauling の Hydrate crystal theory (Pauling L, Science 1961) が知られている。これは極性を持たない麻酔薬がニューロンの膜近傍に水和結晶を形成することによって、膜の興奮が物理化学的に低下することが麻酔の本態であるとする。この考え方は現在にも引き継がれ、麻酔薬が水のクラスター形成を促進することで、水分子と熱とのハーモニーを生み出す大脳皮質へ向かう定常流を乱し麻酔効果を生むという仮説 (Vortex theory) も出されている (Nakada T, Cytotechnology 2009)。脳における水分子の特異的な分布、脳機能における水分子の役割および麻酔薬による構造水形成との間には麻酔メカニズムの解明につながる関連性があるものと推測される。

最近記憶の形成のメカニズムで**グリア細胞の働きが注目**されてきた。グリア細胞の機能低下によって D-serine, Lactate の供給がなされないことで記憶の定着が妨げられるというものである (Suzuki et al., Cell 2011/Henneberger C et al., Nature 2010)。また、グリア細胞は脳血流調節作用を持っており (Attwell, et al., Nature 2010)、麻酔中の脳血流の低下との関連も示唆される。さらに、グリア細胞は神経細胞の3倍のエネルギー代謝を必要とするが、麻酔下における脳血流の低下を上回る脳代謝の低下現象が観察されており (Latio RM et al., Anesth Analg 2009)、この現象も麻酔薬のグリアへの作用を示唆する。また、非特異説で重要視される水分子の構造変化であるが、脳内の水分の調節作用を担うグリア細胞が、作用点として注目される。

分担者の畑澤らは acetate (酢酸) がモノカルボン酸トランスポーターを介してグリア細胞に特異的に取り込まれることに着目し、**世界に先駆けてグリア細胞を特異的にイメージングする方法を開発**した。本学は動物用の 11.7 テスラの MRI を有しており、**水分子の構造変化をマイクロレベルで解析可能**で、分担者吉岡は分子機能イメージングの実績も高い。分担者島岡は麻酔薬が**グリア細胞インテグリンに与える影響の研究において世**

**界的なエキスパートの一人であり** (Shimaoka M. Nature rev Drug Discover 2003)、**麻酔薬によるグリア細胞機能修飾の可能性について報告**、提言してきた。この研究チームで**麻酔薬の作用点としてのグリア細胞の機能を解明・麻酔薬によるグリア-ニューロンのコミュニケーションの変化を明らかにできる**と考えこの研究を着想した。

2. 研究の目的

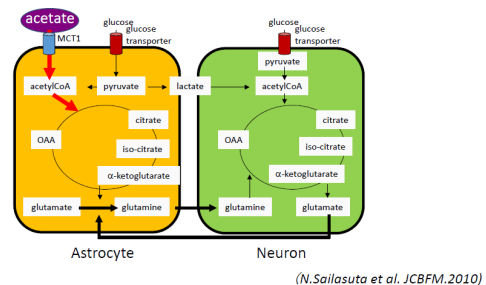
本研究は、「麻酔はなぜ効くか」について、全ての麻酔薬に共通する作用メカニズムを解明するために、この領域でこれまで全く着目されてこなかったグリア細胞に焦点を当てて、マクロとミクロのレベルで麻酔薬の作用を明らかにすることを目的とする。最新のイメージング技術を用いて、ミクロレベルでは麻酔薬の作用による培養グリア細胞周囲の構造水の変化、グリア細胞 ニューロンのインタラクションの変化を明らかにする。さらに、マクロレベルでは麻酔薬の作用によるグリア細胞の機能変化、麻酔下の脳内のグリア細胞周囲の構造水の変化について明らかにする。

本研究は、これまで対立関係にあった麻酔メカニズムの特異説・非特異説、ニューロン説・汎ニューロン説から1つの麻酔メカニズム理論への統一化を実現することを目的とする。

3. 研究の方法

動物の個体レベルで、脳内のグリア細胞にどのように麻酔薬が影響を及ぼすかを明らかにするために、Acetate-PET を行った。オスのSDラット (体重 280g 前後) に対してセボフルラン麻酔を各濃度で飽和後、<sup>11</sup>C-acetate (約 30MBq) 投与後の dynamic 撮像 (30 分間)、ならびに <sup>18</sup>F-FDG (約 40MBq) 投与 40 分後の static 撮像 (10 分間) を行った。<sup>11</sup>C-acetate の集積はピークから 30 分にかけての低下率を Acetate wash-out rate と定義した。統計は Tukey-Kramer Multiple Comparison Test を用い 5% を有意とした。

Acetate-PET



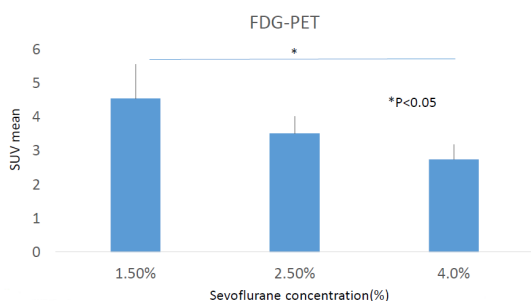
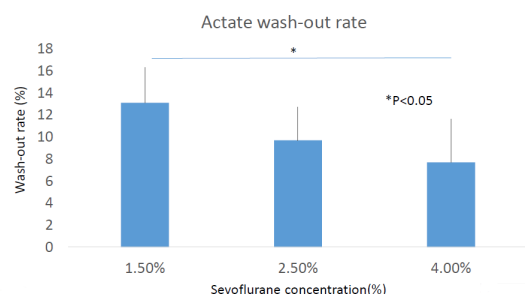
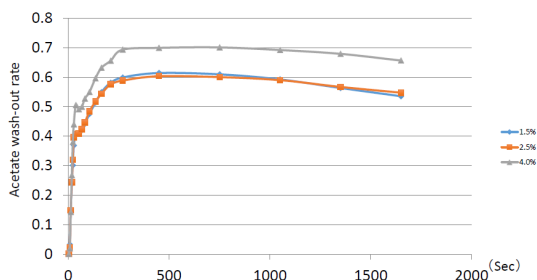
4. 研究成果

Acetate wash-out rate は 1.5%群 : 13.1 ± 3.2 %, 2.5%群 : 9.7 ± 3.0 %, 4.0%群 : 7.7 ± 3.9 %, FDGPET での SUVmean は 1.5%群 :

4.6 ± 1.0、2.5%群 : 3.5 ± 0.51、4.0%群 : 2.8 ± 0.43 で、いずれも 1.5%群と 4%群の間に有意な低下を認めた。

【結論】セボフルランの濃度上昇に伴い、グルコース代謝の低下と  $^{11}\text{C}$ -acetate の洗い出し低下が認められ、アストロサイトの機能抑制がみられる事が明らかになった。

### Acetate-PET results



### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

Ooi Y, Inui-Yamamoto C, Yoshioka Y, Seiyama Y, Seki J. 11.7 T MR Imaging Revealed Dilatation of Virchow-Robin Spaces within Hippocampus in Maternally Lipopolysaccharide-exposed Rats. Magn Reson Med Sci. 査読有、16,2017:54-60. DOI:10.2463/mrms.mp.2015-0090.

Saito S, Masuda K, Mori Y, Nakatani S, Yoshioka Y, Murase K. Mapping of left ventricle wall thickness in mice using 11.7 T magnetic resonance imaging. Magn Reson Imaging. 査読有、36,2017:128-134. DOI: 10.1016/j.mri.2016.10.030.

Satoh T, Nakagawa K, Sugihara F, Kuwahara R, Ashihara M, Yamane F, Minowa Y, Fukushima K, Ebina I, Yoshioka Y, Kumanogoh A, Akira S. Identification of an

atypical monocyte and committed progenitor involved in fibrosis. Nature. 査読有、541,2017:96-101. DOI:10.1038/nature20611.

Chen T, Mori Y, Inui-Yamamoto C, Komai Y, Tago Y, Yoshida S, Takabatake Y, Isaka Y, Ohno K, Yoshioka Y. Polymer-brush-afforded SPI0 nanoparticles show unique biodistribution and MRI contrast in mouse organs. Magn Reson Med Sci. 査読有、2017; in press, [E-pub ahead: 2017/01/30]. DOI: 10.2463/mrms.mp.2016-0067.

Kinoshita M, Arita H, Okita Y, Kagawa N, Kishima H, Hashimoto N, Tanaka H, Watanabe Y, Shimosegawa E, Hatazawa J, Fujimoto Y, Yoshimine T. Comparison of diffusion tensor imaging and  $^{11}\text{C}$ -methionine positron emission tomography for reliable prediction of tumor cell density in gliomas. J Neurosurg. 査読有、125, 2016: 1136-1142. DOI:10.3171/2015.11.JNS151848

Isohashi K, Shimosegawa E, Naka S, Kanai Y, Horitsugi G, Mochida I, Matsunaga K, Watabe T, Kato H, Tatsumi M, Hatazawa J. Comparison of the image-derived radioactivity and blood-sample radioactivity for estimating the clinical indicators of the efficacy of boron neutron capture therapy (BNCT): 4-borono-2- $^{18}\text{F}$ -fluoro-phenylalanine (FBPA) PET study. EJNMMI Res. 査読有、6,2016:75. DOI:10.1186/s13550-016-0230-7

Shimosegawa E, Isohashi K, Naka S, Horitsugi G, Hatazawa J. Assessment of  $^{10}\text{B}$  concentration in boron neutron capture therapy: potential of image-guided therapy using  $^{18}\text{F}$ FBPA PET. Ann Nucl Med. 査読有、30,2016:749-755. DOI:10.1007/s12149-016-1121-8

Kato H, Shimosegawa E, Fujino K, Hatazawa J. CT-Based Attenuation Correction in Brain SPECT/CT Can Improve the Lesion Detectability of Voxel-Based Statistical Analyses. PLoS One. 査読有、21,2016:e0159505. DOI:10.1371/journal.pone.0159505

Park EJ, Shimaoka M, Kiyono H. MicroRNA-mediated dynamic control of mucosal immunity. Int Immunol. 査読有、2017 (印刷中) DOI: 10.1093/intimm/dxx019.

Kawamoto E, Okamoto E, Takagi Y, Honda G, Suzuki K, Imai M, Shimaoka M. LEF-1 and Mac-1 integrins bind to the serine/threonine-rich domain of thrombomodulin. Biochem Biophys Res Commun. 査読有、2016:1005-1012 DOI:10.1016/j.bbrc.2016.04.007

〔学会発表〕(計8件)

Shimosegawa E. Phase 0 and 1 clinical trial using PET-microdosing studies: an efficient approach to drug development. The 55th Annual Meeting of the Korean Society of Nuclear Medicine. 28 Oct 2016, Seoul, Korea

島岡要、インテグリンの機能制御、  
第38回日本血栓止血学会学術集会、  
2016年6月17日奈良市

岡本貴行, 川本英嗣, 秋田展幸, 林辰弥, 鈴木宏治, 島岡要, マクロファージの分化における細胞外基質の硬さの影響,  
第38回日本血栓止血学会学術集会  
2016年6月17日奈良市

Hatazawa J. Imaging biology of human brain: SPECT and PET studies. Genetic and environmental influences on human brain glucose metabolism: a twin study with FDG PET. Special Lecture in the Shanghai University of Medicine & Health Sciences. May 5, 2016. Shanghai, China

Hatazawa J. Human brain maturation studied by means of PET and SPECT: functional maturation during childhood and deterioration during aging. The 1st Cognitive Impairment Symposium, Huadong Hospital affiliated to Fudan University. May 8, 2016. Shanghai, China

Mochida I, Shimosegawa E, Matsunaga K, Watabe T, Isohashi K, Tatsumi M, Kato H, Hatazawa J. The experience of the dopamine transporter SPECT in three pediatric patients with Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation. Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging's 63th Annual Meeting (SNMMI 2016). June 13, 2016. San Diego, U.S.A

Hatazawa J, Shimosegawa E, Isohashi K, Watabe T, Kato H, Matsunaga K, Kanai Y, Naka S. Boron Neutron Capture Therapy combined with F-18 fluoro-borono-phenylalanine PET. 2016 Northeastern Asian Conference on Molecular Imaging-based Precision Medicine. Nov 11, 2016. Hangzhou, China

Nakae A, Nakai K, Mori Y, Kato H, Hatazawa J, Yoshioka Y. Objective Way of Evaluating Chronic Pain in Animal Model. 第一回国際磁気共鳴医学会日本支部学術集会, 2017/2/23-24. 吹田市

〔産業財産権〕

出願状況(計2件)

名称: 複合粒子を含む腎機能診断用イメージング剤  
発明者: 多胡善幸・吉田慎一・吉岡芳親・陳挺・森勇樹・大野工司

権利者: 発明者と同じ

種類: 特許

番号: 特願 2014-181733

出願年月日: 2014年9月5日

国内外の別: 国内

名称: 磁場共鳴装置用の送受信コイル

発明者: 大阪大学・榎大松医療電子・吉岡芳親・朱大松

権利者: 発明者と同じ

種類: 特許

番号: 特願 2014-229304

出願年月日: 2014年10月17日

国内外の別: 国内

取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

6. 研究組織

(1) 研究代表者

真下 節 (MASHIMO, Takashi)

大阪大学・名誉教授

研究者番号: 10110785

(2) 研究分担者

畑澤 順 (HATAZAWA, Jun)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号: 70198745

(3) 研究分担者

島岡 要 (SHIMAOKA, Motomu)

三重大学・医学系研究科・教授

研究者番号: 40281133

(4) 研究分担者

吉岡 芳親 (YOSHIOKA, Yoshichika)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任教授(常勤)

研究者番号: 00174897

(5) 研究分担者

下瀬川 恵久 (SHIMOSEGAWA, Eku)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座教授

研究者番号: 30370258

(6) 研究分担者

中江 文 (NAKAE, Aya)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任准教授(常勤)

研究者番号: 60379170