

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592324

研究課題名(和文) 麻酔薬の扁桃体中心核抑制性神経回路への作用の解明

研究課題名(英文) The effect of anesthetics on inhibitory networks in the central nucleus of amygdala

## 研究代表者

山本 純偉 (Yamamoto, Sumii)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：50402376

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：痛みやストレスなど有害事象は負情動を形成し、内分泌変化、自律機能変化や気分の変調などの情動応答を引き起こす。扁桃体中心核は負の情動の形成重要である。また、扁桃体中心核の多くのニューロンがGABA作動性の抑制性ニューロンであることが分かっている。今回の研究によりストレスホルモンの1つであるノルアドレナリンが扁桃体中心核内側垂核への抑制性入力を増強すること。さらにその増強作用には扁桃体中心核外側垂核および外側外包部ニューロンの $\alpha$ 1受容体と責任細胞は不明だが、 $\beta$ 1受容体の活性化が関与していることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Pain promotes aversive memory formation and in turn exacerbates psycho-mental complications in the chronic pain patients. The central nucleus of amygdala plays essential role in emotional memory formation. Noradrenaline is a primary stress hormone in the CNS. We clarified that noradrenaline dramatically and reversibly increased inhibitory input to the medial division of the central nucleus of amygdala (CeM). A possible interpretation is that CeM neuron excitability is regulated by inhibitory inputs from the lateral and capsular divisions of CeA through  $\alpha$ -1 receptor-mediated processes and from unidentified cell populations that are excited by  $\beta$  receptor activation.

研究分野：麻酔、神経生理学

キーワード：扁桃体 ノルアドレナリン GABA

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 麻酔による負情動の形成：寛恕導入、特に高濃度セボフルランで導入された小児が、その後、マスク恐怖症になったり、麻酔に対して非常にネガティブな感情をもってしまうことはしばしば経験される。これは、麻酔時の侵害刺激や臭い、身体拘束などによるストレスによって、無条件負情動が形成されたためだと考えられる。また、手術中の侵害事象によっても負情動が形成されている可能性がある。

(2) 負情動形成の回路：痛みには「感覚成分」と「情動成分」があるが、「感覚成分」は大脳皮質体性感覚野が、「情動成分」は前帯状皮質 (anterior cingulate cortex; ACC) と扁桃体が担っている。現在までの麻酔薬は、この「感覚成分」に対する効果によって評価・開発されており、「情動成分」に対する効果に関する知見はわずかである。扁桃体中心核は痛覚・嗅覚・味覚などの有害情報のほとんどが入力することから、負の情動形成に深く関わっていると考えられているが、扁桃体中心核のニューロンのほとんどが抑制性であり、GABA 活性化作用をもつ麻酔薬がこの抑制性神経回路に大きな影響を与えている可能性が予想されるものの、実際に検証した研究はほとんどない。

(3) 負情動と麻酔：痛みには「感覚成分」と「情動成分」があるが、「感覚成分」は大脳皮質体性感覚野が、「情動成分」は前帯状皮質 (anterior cingulate cortex; ACC) と扁桃体が担っている。現在までの麻酔薬は、この「感覚成分」に対する効果によって評価・開発されており、「情動成分」に対する効果に関する知見はわずかである。扁桃体中心核は痛覚・嗅覚・味覚などの有害情報のほとんどが入力することから、負の情動形成に深く関わっていると考えられているが、扁桃体中心核のニューロンのほとんどが抑制性であり、GABA 活性化作用をもつ麻酔薬がこの抑制性神経回路に大きな影響を与えている可能性が予想されるものの、実際に検証した研究はほとんどない。

(4) ストレスホルモンのひとつであるノルアドレナリンは急性痛・慢性痛下に脳内での分泌が促進されること、情動の形成を促進することが知られているが、扁桃体中心核のシナプス伝達やニューロンの興奮性がどう変化するのはわかっていない。

### 2. 研究の目的

(1) 扁桃体中心核の GABA 作動性抑制性神経への麻酔薬の作用

PB からの刺激が入力する扁桃体中心核の外側外包部、外側亜核は 100%、内側亜核も

多くのニューロンが GABA 作動性の抑制性ニューロンであることが分かっている。麻酔薬の多くが GABA 受容体に作用することから、propofol や sevoflurane などの麻酔薬が扁桃体中心核のニューロンに大きな影響を与えていることが予想される。麻酔薬が扁桃体中心核の抑制性ニューロンにどのような作用をするのかを明らかにする。

(2) ノルアドレナリンが扁桃体を介した情動応答に及ぼすその影響を検討する。

### 3. 研究の方法

(1) ホールセルパッチクランプ

34-8 週齢の C57BL/6J マウスの急性脳スライス標本 (水平断、厚さ 400 μm) を作製し、扁桃体中心核内側亜核の細胞にホールセルパッチクランプを行い膜電流を記録した。

すべての灌流液にグルタメート受容体拮抗薬の D-APV (50 mM) と CNQX (10 mM) を加え、薬理的に GABA<sub>A</sub> 受容体を介する自発性抑制性シナプス後電流を単離記録し、NA を灌流投与しその振幅と頻度の変化を解析した。

(2) カルシウムイメージング法

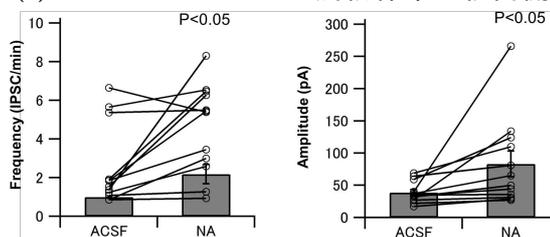
すべての灌流液にグルタメート受容体拮抗薬の D-APV (50 mM) と CNQX (10 mM) を加えた 4-8 週齢の C57BL/6J マウスの急性脳スライス標本 (冠状断、厚さ 400 μm) を作製。

Ca<sup>2+</sup> インジケータの fluo4-AM (8 mM) と 0.01% クレモフォルを含んだ ACSF で 90 分間インキュベートし、インジケータを細胞内に取り込ませた後、ACSF で 30 分以上洗浄した。

共焦点顕微鏡を用いノルアドレナリンの投与により細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度の変化を観察する。

### 4. 研究成果

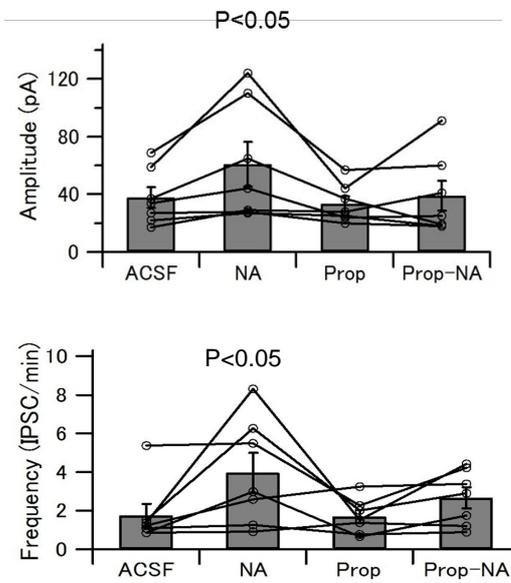
(1) ノルアドレナリンは扁桃体中心核内側



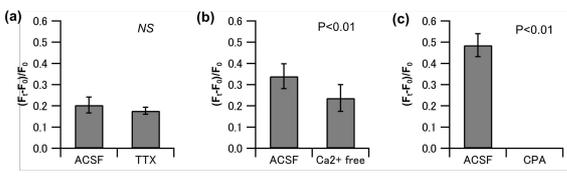
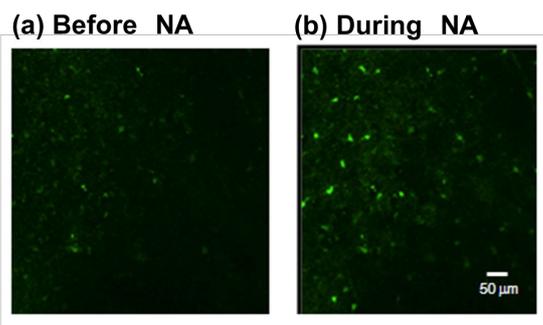
亜核への抑制性入力を増強する。

ノルアドレナリンは可逆的に扁桃体中心核内側亜核への抑制性入力を増強することを明らかにした。

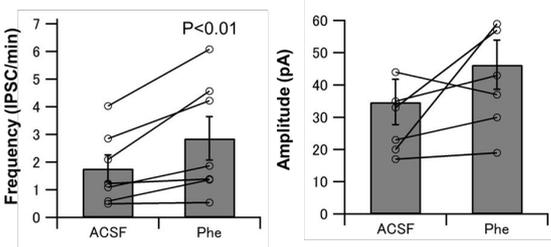
ノルアドレナリンの扁桃体中心核内側亜核への抑制性入力を増強作用は非選択的受容体拮抗薬のプロプラノロールにより抑制された。



ノルアドレナリンの扁桃体中心核内側垂核への抑制性入力を増強作用はナトリウムチャンネルブロッカーのテトロドトキシンにより抑制された。ノルアドレナリンは扁桃体中心核の外側外包部、外側垂核の細胞内  $Ca^{2+}$  濃度を上昇させた。しかし、外側外包部、外側垂核のカルシウム上昇がカルシウム ATP アーゼ阻害薬で抑制されたことから、扁桃体中心核内側垂核への抑制性入力の増強には  $G_q$  タンパク共役型受容体である  $\beta_1$  受容体が関与することが示唆された。

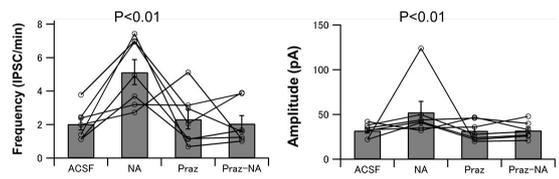


1 アドレナリン受容体作動薬のフェニレ



フリニは扁桃体中心核内側垂核への抑制性入力を増強させた。

$\beta_1$  アドレナリン受容体拮抗薬のプラゾシンはノルアドレナリンによる扁桃体中心核内側垂核への抑制性入力を増強を抑制した。



以上より、ノルアドレナリンによる扁桃体中心核内側垂核への抑制性入力増強用には主に扁桃体中心核外側外包部、外側垂核ニューロンの  $\beta_1$  受容体と責任細胞は不明だが、 $\beta_1$  受容体の活性化が関与していることが明らかになった。

[学会発表](計9件)

山本 純偉、ノルアドレナリンは  $\beta_1$  受容体を介して扁桃体中心核内側垂核への抑制性入力を増強する、日本麻酔科学会第 60 回学術集会、2013 年 5 月 24 日、ロイトン札幌、札幌

山本 純偉、Noradrenaline dramatically increases GABAergic inputs through beta adrenoceptor activation in medial division of the central nucleus of amygdala、第 36 回日本神経科学大会、2013 年 6 月 22 日、国立京都国際会館、京都

山本 純偉、Noradrenaline dramatically increases GABAergic inputs through beta adrenoceptor in central nucleus of amygdala、the Anesthesiology 2013 annual meeting、2013 年 10 月 15 日、MOSCONE CENTER、San Francisco (USA)

山本 純偉、Noradrenaline dramatically increases GABAergic inputs through beta adrenoceptor activation in medial division of the central nucleus of amygdala、Neuroscience 2013 annual meeting、2013 年 11 月 11 日、The San Diego Convention Center、San Diego (USA)

山本 純偉、ノルアドレナリンの扁桃体中心核内側垂核への抑制性入力の増強作用には  $\beta_1$  のみではなく  $\beta_2$  受容体も関与している、日本麻酔科学会第 61 回学術集会、2014 年 5 月 16 日、パシフィコ横浜、横浜

山本 純偉、Noradrenaline dramatically increases GABAergic inputs through beta both  $\beta_1$  and  $\beta_2$  adrenoceptors in medial division of the central nucleus of

amygdala、9<sup>th</sup> FENS Forum of Neuroscience 2014、2014年7月8日、MiCo、Milan (Italia)

山本 純偉、Noradrenaline dramatically increases GABAergic inputs through beta adrenoceptor activation in medial division of the central nucleus of amygdala、第37回日本神経科学大会、2014年9月13日、パシフィコ横浜、横浜

山本 純偉、Two distinct types of adrenoceptors modulate network activity in the central nucleus of amygdala、the Anesthesiology 2014 annual meeting、2014年10月11日、Ernest N. Morial Convention Center、New Orleans (USA)

山本 純偉、痛み刺激は扁桃体中心核内側亜核への抑制性入力を増強する、日本麻酔科学会第62回学術集会、2014年5月29日、神戸ポートピアホテル、神戸

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山本 純偉 (YAMAMOTO, SUMI I)  
筑波大学・医学医療系・講師  
研究者番号：50402376

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者

加藤 総夫 (KATO, FUSAO)  
慈恵会医科大学・医学部・教授  
研究者番号：20169519