

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11328

研究課題名(和文) 高次脳機能からの新規歯科治療ストレス軽減法の開発

研究課題名(英文) Development of new dental treatment stress reduction method from higher brain function

研究代表者

河原 博 (Kawahara, Hiroshi)

鶴見大学・歯学部・教授

研究者番号：10186124

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： Handling stressによって、認知ネットワーク、陰性情動発現ネットワーク、記憶ネットワークのモノアミン神経系活動が亢進した。ミダゾラム、プロポフォル、デクスメトミジンは、非ストレス状況下のこれらのネットワーク活動を抑制した。ミダゾラムとプロポフォルは、ストレス状況下のこれらの神経系活動亢進を抑制するのに対し、デクスメトミジンは、ストレス状況下のこれらの神経系活動の亢進を抑制しなかった。また、新規ストレス軽減候補薬は、非ストレス状況下のこれらのネットワークのモノアミン神経活動に影響がなく、ストレス状況下のこれらの神経系活動亢進を軽度抑制した。

研究成果の概要(英文)： We examined neural networks which are important for the process of dental treatment becoming stressor and the expression of action of intravenous sedation.

Handling stress enhanced monoamine neuronal activities in cognitive network, negative emotional expression network, and memory network. Midazolam, propofol, and dexmedetomidine inhibited these network activities under non-stress conditions. Midazolam and propofol suppressed these nervous system hyperactivity under stress circumstances, whereas dexmedetomidine did not inhibit. New stress relief candidate drug had no effect on monoamine neuronal activities of these networks under non-stress conditions and mildly suppressed these nervous system hyperactivity under stress conditions.

研究分野： 歯科麻酔学

キーワード： 歯科治療 静脈内鎮静法 ストレス 高次脳機能 不安 恐怖 マイクロダイアリシス

### 1. 研究開始当初の背景

歯科治療はストレスを引き起こすいわゆるストレスラーとなることが少なくない。全身疾患（高血圧症、虚血性心疾患、脳血管疾患など）の急性増悪や発症、過換気症候群、血管迷走神経反射など、歯科治療中に発生する全身的偶発症の原因としてストレスは重要な因子でもある。このため歯科麻酔科臨床では、ミダゾラムをはじめとするベンゾジアゼピン系薬や、静脈麻酔薬プロポフォールによる静脈内鎮静法が行われ、最近ではノルアドレナリン受容体の一つである $\alpha_{2A}$ 受容体作動薬デクスメドミジンをを用いた歯科治療ストレス軽減法なども試みられている。

しかしながら、現在用いられている静脈内鎮静法薬は、鎮静作用以外にも種々の薬理作用を持ち、ベンゾジアゼピン系薬やプロポフォールでは、術中の呼吸抑制や、術後のふらつき、注意力低下、デクスメドミジンでは循環抑制作用などの臨床的に問題となる副作用も発現する。そのため、静脈内鎮静法の施行にあたっては、気道確保や呼吸管理、循環管理などの全身管理に習熟していることが必要とされている。これらの理由から、静脈内鎮静法は歯科治療ストレス軽減法として有用な方法でありながら、また平成20年からは診療報酬点数表に掲載されている（いわゆる保険適応）になっているにもかかわらず、一般歯科臨床で広く用いられるまでには至っていない。

静脈内鎮静法薬の中樞神経系作用機序に関する国内外の研究は、ベンゾジアゼピン系薬とプロポフォールに関しては、脳内抑制性アミノ酸神経系である $\gamma$ -アミノ酪酸（以下、GABA）神経系の受容体の一つGABA<sub>A</sub>受容体を構成するサブタイプと呼ばれる受容体構成蛋白への親和性や作用に関する研究、単一単離ニューロンを用いた研究、細胞内情報伝達系に関する研究など *in vitro* での研究が中心に行われており、*in vivo* での研究は特定脳部位の一つの神経系活動への作用が主な研究対象となっている。デクスメドミジンに関する国内外の研究も、同様な *in vitro* での研究、あるいは *in vivo* での特定脳部位の特定の神経系活動への作用を中心に行われている。

これらの国内外の研究で、静脈内鎮静法薬の中樞神経系に対する数々の知見が得られてきたことは言うまでもない。しかしながら、高次脳機能と深い関わりをもつ精神鎮静法薬の中樞神経系作用発現機構の全貌を解明することは、これら従来の研究手法のみからでは困難である。なぜならば、ストレスを認知する機構、不安や恐れなどの情動発現機構、循環系や内分泌代謝系など自律神経系の中樞性調節機構、外的刺激をストレスラーとして学習、記憶する機構、このような精神鎮静法薬の中樞神経系作用機構に関連の深い高次脳機能は、細胞内情報伝達系や受容体、あるいは

特定脳部位の一つの神経系によって形成されているのではなく、複数脳部位の複数神経系から構成されるニューラルネットワークによって形成されているからである。

以上のような静脈内鎮静法薬の中樞神経系作用機構に関する国内外の研究動向から、応募者は、これまで用いてきた研究手法や成果を発展させて、複数脳部位の複数神経系活動を同時にマイクロダイアリシスすることにより高次脳機能を形成するニューラルネットワーク機構への、ストレス、そして現在用いられている精神鎮静法薬、さらにはストレス軽減作用を持つ可能性のある新たな薬物の作用を検討する本研究の着想に至った。

### 2. 研究の目的

高次脳機能は、複数の神経系によって構成される脳ニューラルネットワークによって形成される。本研究では研究期間内に、ストレスラーを認識・認知するネットワーク不安や恐れなどの情動の発現に関するニューラルネットワーク 外的刺激をストレスラーとして学習し記憶するネットワーク、以上の3つのニューラルネットワークへのストレスラーの作用、さらに現在用いられている静脈内鎮静法薬として、代表的なベンゾジアゼピン系薬であるミダゾラム、静脈麻酔薬でもあるプロポフォール、 $\alpha_{2A}$ 受容体の作動薬デクスメドミジンのこれらのニューラルネットワークへの作用を明らかにする。これらの静脈内鎮静法薬の作用は、ストレスのない安静状態と、より臨床状況に近いストレス状況下での両方の状態で検討を行う。さらに、呼吸抑制や術後のふらつき、注意力低下、循環抑制作用などの副作用のない新規ストレス軽減薬として注目される薬物の高次脳機能作用を解明し、新たなストレス軽減法の開発の礎をつくることを目的とする。

### 3. 研究の方法

広く認められた信頼性の高い脳図譜（brain map）が発表され、脳内複数部位のマイクロダイアリシスの可能な研究動物として Wistar 系ラットを用いた。

セボフルラン全身麻酔下に、ラットにポリエチレンカテーテル（PE-10）を用いて、薬物の静脈内投与経路とする外頸静脈カニューレーション手術を行った。挿入した静脈カニューレは、皮下を通過させてマイクロダイアリシスプローブとともに頭蓋骨上に固定した。

カニューレーション手術後、デュアルマニピュレータ型脳定位固定装置（David Kopf Instrument, Model 962）を用いて、マイクロダイアリシスプローブを植入了。

挿入脳部位は、ストレスラーを認識・認知するニューラルネットワーク不安や恐怖などの情動発現に関するニューラルネットワーク ストレスラーを学習し記憶するニューラルネットワークとした。

セボフルラン麻酔覚醒 24 時間以降に、無麻酔、無拘束、自由行動状態のラットに マイクロダイアリシスシリジポンプ(ESP-64, エイコム社)によってマイクロダイアリシス灌流液(人工脳脊髄液)の灌流を開始した。灌流は、挿入した脳部位のプローブ全てに同時に行い、透析により脳内からプローブ内に流入してくるシナプス間隙に存在する神経伝達物質を含む灌流液を、オートサンプルインジェクター(M-500, エイコム社)によって、高速液体クロマトグラフィー(HPLC-700:エイコム社)に注入した。

高速液体クロマトグラフィーに注入する灌流液サンプル中のノルアドレナリン、ドーパミン、セロトニンを、高速液体クロマトグラフィー用 ODS 逆相系分離カラムを用いて分離し、マイクロダイアリシス用電極を装着した電気化学検出器(ECD-700:エイコム社)で定量した。

研究対象とする薬物は、マイクロダイアリシスプローブを介して灌流投与もしくは静脈内投与し、ストレスのない自由行動状態あるいは Handling stress を 10 分間負荷した状態での神経伝達物質の変動からニューラルネットワークを形成する神経系の活動状態を解析した。

ラットを安楽死させた後、摘出した脳から標本を作製して、プローブ植入部位の組織学的検証を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) Handling stress 負荷時の脳内モノアミン神経活動

ストレスを認識・認知するニューラルネットワーク

大脳皮質内側前頭前野のセロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリン神経活動がいずれも Handling 中に亢進した。

不安や恐怖などの情動発現に関係するニューラルネットワーク

扁桃体基底外側核のセロトニン、ノルアドレナリン神経活動が Handling 中に亢進した。側坐核 shell と腹側被蓋野のドーパミン神経活動が Handling 中に亢進した。

ストレスを学習し記憶するニューラルネットワーク

背側海馬歯状回のセロトニンとノルアドレナリン神経活動が Handling 中に亢進した。

##### (2) 脳内神経活動への各種薬物の作用

ストレスを認識・認知するニューラルネットワーク

ミダゾラム、プロポフォール、デクスメドミジンは、Handling stress を負荷していない、無拘束・自由行動状態安静時の大脳皮質内側前頭前野セロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリン神経活動を抑制した。新規ストレス軽減候補薬の NBI27914 は、無拘束・

自由行動状態安静時の大脳皮質内側前頭前野セロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリン神経活動に対して影響がなかった。

ミダゾラム、プロポフォールは、Handling 中の大脳皮質内側前頭前野セロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリン神経活動の亢進をほぼ抑制した。NBI27914 は、Handling 中の大脳皮質内側前頭前野セロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリン神経活動の亢進を軽度抑制した。デクスメドミジンは、Handling 中の大脳皮質内側前頭前野セロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリン神経活動の亢進をいずれも抑制しなかった。

不安や恐怖などの情動発現に関係するニューラルネットワーク

ミダゾラム、プロポフォール、デクスメドミジンは、Handling stress を負荷していない、無拘束・自由行動状態安静時の扁桃体基底外側核のセロトニン、ノルアドレナリン神経活動を抑制した。NBI27914 は、無拘束・自由行動状態安静時の扁桃体基底外側核セロトニン、ノルアドレナリン神経活動に対して影響がなかった。

ミダゾラム、プロポフォールは、Handling 中の扁桃体基底外側核のセロトニン、ノルアドレナリン神経活動の亢進をほぼ抑制した。NBI27914 は、Handling 中の扁桃体基底外側核のセロトニン、ノルアドレナリン神経活動の亢進を軽度抑制した。デクスメドミジンは、Handling 中の扁桃体基底外側核のセロトニン、ノルアドレナリン神経活動の亢進を抑制しなかった。

ミダゾラム、プロポフォール、デクスメドミジンは、Handling stress を負荷していない、無拘束・自由行動状態安静時の側坐核 shell と腹側被蓋野のドーパミン神経活動を抑制した。NBI27914 は、無拘束・自由行動状態安静時の側坐核 shell と腹側被蓋野のドーパミン神経活動に影響がなかった。

ミダゾラム、プロポフォールは、Handling 中の側坐核 shell と腹側被蓋野のドーパミン神経活動の亢進をほぼ抑制した。NBI27914 は、Handling 中の側坐核 shell と腹側被蓋野のドーパミン神経活動の亢進を軽度抑制した。デクスメドミジンは、Handling 中の側坐核 shell と腹側被蓋野のドーパミン神経活動の亢進を抑制しなかった。

ストレスを学習し記憶するニューラルネットワーク

ミダゾラム、プロポフォール、デクスメドミジンは、Handling stress を負荷していない、無拘束・自由行動状態安静時の背側海馬歯状回のセロトニンとノルアドレナリン神経活動を抑制した。NBI27914 は、Handling stress を負荷していない、無拘束・自由行動状態安静時の背側海馬歯状回のセロトニンとノルアドレナリン神経活動に影響がなかった。

ミダゾラム,プロポフォールは,Handling 中の背側海馬歯状回のセロトニンとノルアドレナリン神経活動の亢進をほぼ抑制した. NBI27914 は, Handling 中の背側海馬歯状回のセロトニンとノルアドレナリン神経活動の亢進を軽度抑制した. デクスメトミジンは, Handling 中の背側海馬歯状回のセロトニンとノルアドレナリン神経活動の亢進を抑制しなかった.

#### 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5件)

Akimaru G, Imai S, Sogabe K, Okada A, Terai T, Okumura T, Hanada N, Kawahara H,

Characterization and purification of a bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus crispatus* LBS 17-11 isolated from an oral cavity of human subject, *Asian Pacific Journal of Dentistry*, 査読有, 2017, 17, 9-14, <https://pdfs.semanticscholar.org/8392/ca6b05ae54f7af240c8864b05742fbb02113.pdf>

Kaneko F, Kawahara Y, Kishikawa Y, Hanada Y, Yamada M, Kakuma T, Kawahara H, Nishi A,

Long-term citalopram treatment alters the stress responses of the cortical dopamine and noradrenaline systems: the role of cortical 5-HT1A receptors, *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 査読有 2016, 19, 1-12,

DOI: 10.1093/ijnp/pyw026

Kishikawa Y, Kawahara Y, Yamada M, Kawahara H, Nishi A,

Methylphenidate modulates catecholaminergic neurotransmission and ameliorates behavioral alterations in a rat model of attention-deficit/hyperactivity disorder,

*Physiotherapy*, 査読有, 2015, 101, e760-761,

DOI:10.1016/j.physio.2015.03.3631

##### [学会発表](計9件)

河原幸江, 大西克典, 石橋正敏, 河原 博, 西 明憲, コカイン誘発性の行動感作と場所嗜好性における前頭前野ドーパミン放出と D1 受容体の役割, 第 47 回日本神経精神薬理学会学術集会, 2017

Kawahara Y, Ohnishi Y, Ishibashi M, Kawahara H, Nishi A, Blockade of cortical D1 receptors inhibits cocaine-induced sensitization but not place preference, 第 90 回日本薬理学

学会年會, 2017

Kaneko, F, Kawahara Y, Kishikawa, Y, Hanada Y, Yamada M, Kawahara H, Nishi A, シタロプラム慢性投与は大脳皮質のドーパミンおよびノルアドレナリン神経系のストレス応答を変化させる: 大脳皮質のセロトニン 5-HT1A 受容体の役割, 第 90 回日本薬理学会年會, 2017

河原幸江, 大西克典, 河原 博, 西 明憲, 前頭前野 D1 受容体遮断はコカイン誘発性の行動感作を抑制するが条件付けによる場所嗜好には影響しない, 第 27 回マイクロダイアリシス研究会, 2016

Kawahara Y, Ohnishi Y, Nishi A, Kawahara H, Social defeat stress affects the dopamine receptors in the nucleus accumbens to rewarding and aversive events, 第 46 回日本神経精神薬理学会学術集会, 2016

Kawahara Y, Ohnishi Y, Nishi A, Kawahara H, Social defeat stress enhance the dopamine responses in the nucleus accumbens to both rewarding and aversive events, 第 89 回日本薬理学会年會. 2016

河原幸江, 大西克典, 河原 博, 西 明憲, 社会的敗北ストレスは報酬刺激と嫌悪刺激の両方に対する側坐核ドーパミン神経反応を増強する, 第 26 回マイクロダイアリシス研究会, 2015

Kawahara Y, Shuto T, Hanada Y, Kawahara H, Nishi A, Long-term treatment with fluoxetine suppresses the stress responses of serotonin by up-regulating dopamine D1 receptor signaling in the hippocampal dentate gyrus, *Neuroscience* 2015, 2015

##### [図書](計1件)

吉田和子, 河原 博, 飯島毅彦, 今村佳樹, 大井良之, 大野由夏 他, 歯科麻酔・生体管理学, 2016, 292 (117-130, 162-181)

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

河原 博 (KAWAHARA, HIROSHI)

鶴見大学・歯学部・教授

研究者番号: 10186124

##### (2)研究分担者

河原 幸江 (KAWAHARA, YUKIE)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号: 10279135

山田 麻記子 (YAMADA, MAKIKO)

鶴見大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号: 20556526