

令和元年6月20日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05459

研究課題名(和文)セボフルランによる抗不安効果発現の神経回路同定とその分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Identification of the neural circuit and mechanism underlying sevoflurane-induced antidepressant effect

研究代表者

後藤 隆久 (goto, takahisa)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：00256075

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：私たちの研究ではマウスに吸入麻酔薬濃度1.3 MACで2時間曝露し、その7日後に行動実験を行うプロトコルを採用してきた。この結果、セボフルランには活動性を向上させる作用があることが明らかとなった。セボフルランの抗不安作用が不安を示す動物に対して有効であるのかを調べるため、慢性浸水拘束ストレスモデル動物に対してのセボフルランの効果を検討することとした。当該モデルは1日2時間の拘束浸水を4日間連続で実施するものである。セボフルランの投与によりこの活動性の低下が軽減する傾向にあり、不安モデルにおいてセボフルランが抗不安効果を示すことが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

周術期の患者さん、特に担がん患者さんでは40%以上で抑うつや不安を呈することが分かっている。こうした患者さんの抑うつや不安を治療することは周術期の患者QOLを向上させるだけでなく、中長期的には入院日数や周術期合併症、また死亡率も変える可能性がある。私たちは吸入麻酔薬の一つであるセボフルランに抗不安校があることを見出しており、この作用を応用することで上記課題を克服することが出来るものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Our studies revealed that sevoflurane at 1.3MAC for 2 hours exerted anxiolytic effect 7 days after the exposure. We tested whether this anxiolytic effect could work in depressive animals. We prepared Chronic Water-Immersion Restraint Stress mice and they showed depressive behaviour. Interestingly sevoflurane rescued them from depressive state.

研究分野：麻酔科学

キーワード：吸入麻酔薬 高次脳機能 行動実験

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

吸入麻酔薬の高次脳機能への影響は、主に幼若げっ歯類を用いて調べられており、その報告の多くは麻酔薬への曝露が、成年期以降に学習障害を引き起こすというものである (Jevtovic-Todorovic et al., JNS. 2003)。私たちは、こうした現象が成体ラットでも起こること、およびその分子メカニズムを明らかにしてきた。この結果は、術後認知機能障害の原因となる新たな分子機構を提唱する知見である。

こうした麻酔薬の記憶・学習への影響が盛んに検証される一方で、その他高次脳機能への影響は依然不明な点が多いままであった。そこで私たちは、吸入麻酔薬の高次脳機能への影響を包括的に解明すべく、網羅的行動評価系を構築した(後藤 隆久、文部科学省科学研究費基盤研究(B)平成25~27年度)。申請者らの一連の研究より、イソフルランへの曝露はマウスの注意機能を障害するが、同じハロゲン化麻酔薬でもデスフルランへの曝露は、行動に何ら影響を及ぼさなかった (Miyazaki, Goto et al., 2015)。作用するターゲット分子の相違により、このように顕著な行動学的差異を検出できたことは大変興味深い。

一方、セボフルラン曝露マウスでは、まったく異なる行動実験結果が得られた。セボフルランは複数の行動を変化させるが、これらの結果からセボフルラン曝露がマウスの不安を低下させると解釈できる。静脈麻酔薬であるケタミンは抗不安作用を有し (Li et al., Science. 2010) 現在うつ病患者を対象とした臨床試験が米国で行われているが、吸入麻酔薬が抗不安作用を發揮するとの報告は世界で初めてである。抗不安におけるケタミンの作用中枢は前頭前野であるが、ヒトを対象とした fMRI の研究などから扁桃体も重要であることが分かってきており (Takahashi et al., JNS. 2010) その分子メカニズムとしては、ドパミンやノルアドレナリンなどのモノアミン系神経伝達物質の重要性が示唆されている。今後、セボフルランによる抗不安効果の臨床応用を見据える上で、その安全性や効果発現の詳細なメカニズムを明らかにするため、更なる検討が必要である。

2. 研究の目的

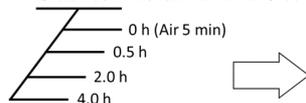
麻酔薬の中樞神経作用には、鎮静という主作用とは別に、有害な恐怖記憶の消去作用や抗うつ作用などがあることが分かってきた。しかしこれまで、こうした麻酔薬の新規機能を網羅的に探索した研究はなく、私たちは麻酔薬曝露されたマウスにおいて、麻酔薬が高次脳機能に与える影響を網羅的に検討してきた。当該研究の結果、セボフルランに強い抗不安効果があることが明らかとなった。本研究では、抗不安作用を有しないデスフルランとの比較において、セボフルランが有する抗不安作用発現のための投与最適化を検討し、不安にかかわる複数の行動実験を組み合わせることでより詳細な高次脳機能異常をプロファイリングする。最終的にこの抗不安効果を、うつや不安の疾患モデルへの治療法として応用できるかを検討する。

3. 研究の方法

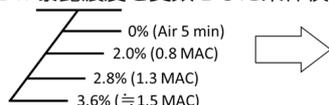
- セボフルランによる抗不安効果が最大限となる曝露濃度および時間を検討し、曝露条件の最適化を行う。続いて、その効果が曝露後どれほどの期間持続するかを明らかにする (図 1)。

図 1 Sevo曝露がマウスの不安様行動に及ぼす影響

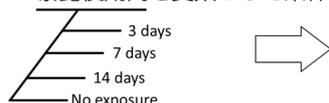
- Sevo 2.8% 曝露時間を変数とした条件検討



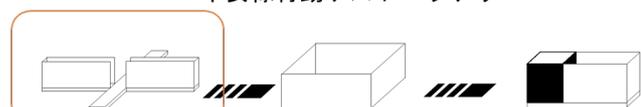
- Sevo 2 h 曝露濃度を変数とした条件検討



- Sevo 2 h 曝露後期間を変数とした条件検討



不安様行動テストバッテリー



これまでの研究 (2.8%, 2 h) では、高架式十字迷路のパフォーマンスに変化が認められた。

最適なパラメータかどうかを、曝露時間、曝露濃度、曝露後期間を変数として条件検討する。

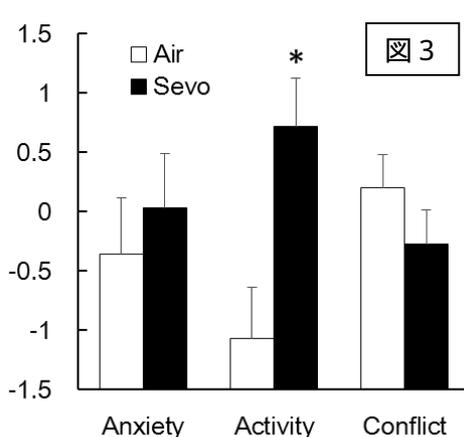
- 不安を定量する行動課題の後に還流固定して脳切片を作成し、セボフルラン曝露の有無がどの脳領域の活性化に差を生じさせているか組織学的に同定する。
- 上記実験の結果を基に、同定された領域におけるドーパミン、ノルアドレナリンを含めた神経伝達物質の定量を in vivo マイクロダイアリシスを用いて行う。量的変化が検出できた神経伝達物質の作用を脳局所において活性化ないし阻害し、セボフルランの抗不安効果が消失するかを電気生理学および行動学的に明らかにする。
- 上記実験の結果を基に、うつ病モデルである acute Learned Helplessness (aLH) 動物や高不安モデルである嗅球摘出動物に対するセボフルランの曝露が、それらモデル動物のうつないし不安様行動を軽減するかを行動学的に明らかにする。

4. 研究成果

これまで私たちの研究ではマウスに吸入麻酔薬濃度 1.3 MAC で 2 時間曝露し、その 7 日後に行動実験を行うプロトコルを採用してきた。今回もまずはそのプロトコルで実施し、抗不安作用をより詳細に検討するために因子分析を実施した。たとえば高架式十字迷路から得られる様々なパラメーターを因子分析することで、不安行動・活動性・葛藤の 3 つが測定できることが分かった (図 2)。

図 2 因子負荷量

	因子			
	1	2	3	
Closed arm滞在時間	-0.999	.052	-.495	探索欲求 (抗不安様行動)
Open arm滞在時間	.980	-.135	-.154	
辺縁部滞在時間	.809	-.061	-.272	
辺縁部進入回数	.684	.137	-.278	
Open arm進入回数	.572	.196	.107	
総移動距離	-.004	.961	-.217	活動性
Closed arm移動距離率	.211	.893	.141	
Closed arm進入回数	-.412	.680	.205	
総不動時間	-.004	-.566	.239	
Closed arm不動時間率	-.234	-.490	-.181	
Open arm移動距離率	.310	.370	-.310	葛藤 (リスクアセスメント)
Open arm不動時間率	.121	-.295	.205	
中心部滞在時間	.036	.128	1.008	
中心部不動時間率	-.096	-.203	.552	



この結果に基づいて上記プロトコルを実施すると、セボフルランには活動性を向上させる作用があることが明らかとなった (図 3)。

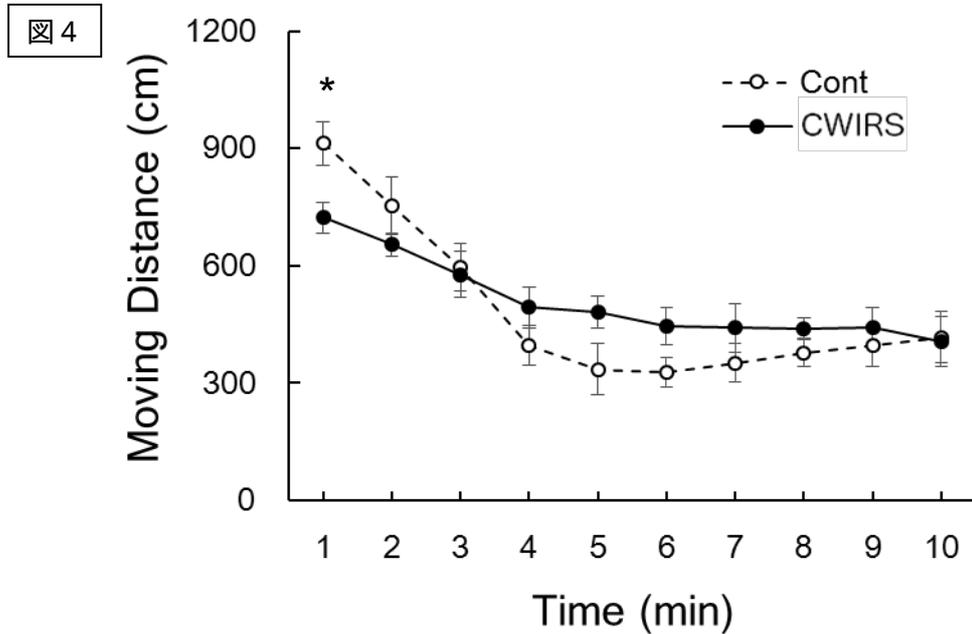
次に以下の条件を振って、セボフルランの抗不安効果が最大となる投与プロトコルを決定した。

- 曝露濃度：2%、2.8%、3.6%
 - 曝露時間：30分、2時間、4時間
 - 曝露からテストまでの日数：3日間、7日間、14日間
- その結果、曝露濃度 2.8%、曝露時間 2 時間で、かつ曝露から 7 日後がセボフルランの抗不安効果は最大となることが分かった。

次に、こうしたセボフルランの効果がどの脳領域でどのように作用しているかを検討するため、前頭前野、線条体、海馬などにおけるモノアミン (ドーパミン、ノルアドレナリン、セロトニン) を測定した。しかしながらそれらのデータには変化を認めなかった。次に抗不安作用のターゲットとしてはドーパミンが最重要のモノアミンであるため、ドーパミンの量に変化がなくとも、受容体やトランスポーター等に変化がある可能性について検討した。しかしながらこちらも D2 受容体の量などにおいて差を認めしたが、有意な変化ではなかった。

ではそもそもセボフルランの抗不安作用が不安を示す動物に対して有効であるのかを調べるため、慢性浸水拘束ストレスモデル動物に対してのセボフルランの効果を検討することとした。当該モデルは 1 日 2 時間の拘束浸水を 4 日間連続で実施するものであり、うつ病及び PTSD モデ

ル動物として構成概念的にも、表面的にも、また予測的にも妥当性が高い。私たちが作成したモデルをオープンフィールドテストで行動学的に検証すると CWIRS マウスでは初期に活動性の低下を認めた(図4)。セボフルランの投与によりこの活動性の低下が軽減する傾向にあり、不安モデルにおいてセボフルランが抗不安効果を示すことが期待される。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

1. 基礎医学研究における心理学研究者の潜在的フィールドの紹介 麻酔科学を中心として Symposium、宮崎智之
日本心理学会第82回大会、2018/09/26、仙台

〔図書〕(計 1 件)

1. Tomoyuki Miyazaki, Takahisa Goto., et al. Anesthesia and Neurotoxicity. Springer. 2017

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：宮崎 智之

ローマ字氏名：Tomoyuki Miyazaki

所属研究機関名：横浜市立大学

部局名：医学部

職名：准教授

研究者番号(8桁)：30580724

研究分担者氏名：高瀬 堅吉
ローマ字氏名：Kenkichi Takase
所属研究機関名：自治医科大学
部局名：医学部
職名：教授
研究者番号(8桁)：80381474

研究分担者氏名：新倉 怜
ローマ字氏名：Ryo Niikura
所属研究機関名：横浜市立大学
部局名：医学研究科
職名：特任助教
研究者番号(8桁)：70760750

研究分担者氏名：内本 一宏
ローマ字氏名：Kazuhiro Uchimoto
所属研究機関名：横浜市立大学
部局名：附属市民総合医療センター
職名：助教
研究者番号(8桁)：50710951

(2)研究協力者

研究協力者氏名：五嶋 良郎
ローマ字氏名：Yoshio Goshima

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。