

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11046

研究課題名(和文) 麻酔薬が脳代謝に与える影響からみた脳保護作用の分子基盤

研究課題名(英文) mechanisms of neuroprotection by general anesthesia

研究代表者

田辺 久美子 (Tanabe, Kumiko)

岐阜大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：30402209

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：培養アストロサイトを用いて、Rho-kinaseとRacはアストロサイトにおいてTGF- β によるIL-6の遊離を抑制的に制御していること、その作用点はSmad経路とは独立あるいはSmad2/3より下流であることを示した。
ラットのcranial windowを用いて、高血糖状態ではアセチルコリンによる脳血管拡張反応はpropofol麻酔下では保たれるが、desflurane麻酔下では阻害されること、吸入麻酔薬は濃度依存性に脳血管を拡張させるが高二酸化炭素血症では拡張がより増強されること、desfluraneによる脳血管拡張作用増強はsevofluraneと同等であることを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、脳虚血後の再灌流障害、神経変性疾患など多くの中枢神経系の疾患に感染を伴わない炎症が関与していることが明らかとなってきた。炎症性サイトカイン遊離機序を解明することにより、中枢神経系の様々な疾患の発症機序の解明と、それらに対する治療薬の開発の一助となる。
全身麻酔薬が脳血管反応に与える影響を検討することで、様々な病態(高血糖時、頭部外傷時、脳手術時など)に合わせた麻酔薬の選択、麻酔管理を可能にできる。

研究成果の概要(英文)：Rho-kinase and Rac limit TGF- β -induced IL-6 release from cultured primary astrocytes (C8D1A cells), and the suppressive effects are exerted independently of the Smad pathway or at a point downstream of Smad2/3 complex.
Rat pial arteriole responses to acetylcholine are maintained during conditions of acute hyperglycemia with propofol anesthesia but suppressed compared with normoglycemia with desflurane anesthesia.
Sevoflurane or desflurane dilated pial vessels in a concentration-dependent manner and enhanced hypercapnia-induced cerebrovascular dilation. The rates of vasodilation were similar for sevoflurane and desflurane under both normocapnia and hypercapnia.

研究分野：神経保護

キーワード：アストロサイト サイトカイン 脳血管反応 全身麻酔薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳血流は化学的(脳代謝率、体温、PaCO₂、PaO₂)、筋原性、神経原性(自己調節能)因子など様々な要因により調節されている。神経活動の亢進は局所脳代謝(グルコース代謝)を亢進させ、この脳代謝率の亢進はそれに見合った脳血流の増加を伴う(脳血流-代謝カップリング)。脳血流-代謝カップリングの詳細なメカニズムは未だに不明であるが、脳局所の代謝産物(K⁺、H⁺、乳酸、アデノシン、ATP)の関与が示唆されている。神経活動の活性化に伴って神経細胞から放出されるグルタミン酸は強力な血管拡張物質である一酸化窒素の産生・遊離を促進し、脳血流-代謝カップリングにおいて重要な役割を果たしている。

近年、グリア細胞が脳血流-代謝カップリングにおいても重要な役割を果たしていることが明らかになっている(Attwell *et al.* Nature 2010、Howarth, Front Neurosci 2014)。神経細胞から放出されたグルタミン酸はグリア細胞の一種であるアストロサイトの代謝型グルタミン酸受容体に結合し、アストロサイト内でのアラキドン酸代謝を促進し、プロスタグランディンを産生・遊離する。またアストロサイトは血管に接しており直接局所血流に影響する。脳内の血流-代謝カップリングは単一の機序ではなく、代謝、アストロサイト、神経細胞、血管の複雑な関係により制御されている。健常脳の酸素代謝率は3-3.5 ml/100g/minで、中枢神経系の活動状態、麻酔薬、体温などの因子により影響を受けることは確実であるがその詳細は明らかではない。

我々はこれまでに培養アストロサイトを用いて脳虚血時に同細胞から産生・遊離される炎症性サイトカイン(インターロイキン)や神経栄養因子(GDNF)の産生・遊離に至る細胞内情報伝達機構と麻酔薬がそれらに与える影響とその機序を明らかにしてきた(Tanabe *et al.* J Neuroinflammation 2010, 2011, Brain Res 2012, Int J Mol Med 2014, Cell Signal 2016)。

一般に、ケタミンと亜酸化窒素以外の麻酔薬は脳代謝率を低下させるとされている。麻酔薬が脳代謝を抑制することは、これまで主に電気生理学的手法(脳波の平坦化)により推測されてきた。脳外科手術や頭部外傷など虚血脳にたいする手術時には特に麻酔薬が脳血流と脳代謝に及ぼす影響を考慮することが重要となる。また、高血糖が虚血脳の障害を増強することもよく知られているが、血糖値と脳代謝の関係は明らかではない。これまでに当教室ではcranial window法を用いて吸入麻酔薬であるイソフルラン、セボフルランがATP感受性K⁺チャンネルを介して脳細血管を拡張することを報告した(Iida *et al.* Anesthesiology 1998)。現在、最近日本で使用可能となったデスフルランについても検討中である。また、高血糖が脳血管拡張に及ぼす影響とその機序も検討している。

2. 研究の目的

- (1)中枢神経障害時にアストロサイトから産生される神経障害因子、神経栄養因子の産生機序を明らかにする。
- (2)全身麻酔薬が脳血管反応に与える影響を様々な条件で検討する。

3. 研究の方法

- (1)神経障害因子として知られているサイトカイン(IL-1、IL-6、TNF- α 、IFN- γ)、NO、フリーラジカル、興奮性アミノ酸などがアストロサイトから産生・遊離される機序を培養アストロサイトを用いて検討する。Immunoblot法、PCR法、ELISA法などを用いてその細胞内情報伝達機構を解明する。
- (2)全身麻酔薬が脳血管の反応性に与える影響をラットの脳窓法を用いて検討する。生体の条件を変えて、反応が様々な病態下でどの様に変化するかを検討する。

4. 研究成果

- (1)ラット初代培養アストロサイト株(C8D1A細胞)では、Transforming growth factor (TGF- β)がIL-6遊離を促進することを見出し、その遊離機序を以下の様に解明した。1) Smad2の阻害剤であるSIS3はTGF- β によるIL-6遊離を抑制した。2) Rho-kinase阻害剤であるfasudil、Y-27632、Rac阻害剤であるNSC23766はTGF- β によるIL-6遊離を促進した。3) RhoA-siRNA、Rac-siRNAによるRhoA、RacのknockdownはTGF- β によるIL-6遊離を促進した。4) TGF- β type 1 receptor kinase阻害剤であるLY364947はTGF- β によるIL-6遊離を抑制した。5) Fasudil、Y-27632、NSC23766はTGF- β によるSmad2、Smad3のリン酸化には影響を与えなかった。以上から、Rho-kinaseとRacはTGF- β によるIL-6遊離を抑制しており、その作用点はSmad経路とは独立しているか、あるいはSmad2/3 complexの下流であると推測された。

(2)ラット頭蓋骨に穴を開け、脳表面の血管が観察できる様にした(頭窓法)。1) 血中の二酸化炭素濃度が正常範囲内であれば、desflurane麻酔下でもsevoflurane麻酔下でも脳血管は麻酔薬の濃度依存性に拡張した。2) 高二酸化炭素血症状態では、脳血管は有意に拡張し、desflurane麻酔下sevoflurane麻酔下共に、脳血管拡張は更に増強された。3) Desflurane麻酔下とsevoflurane麻酔下では拡張の程度に差はなかった。以上より、近年日本で使用開始となったdesfluraneの脳血管反応に対する作用はこれまで使用されていたsevofluraneと同程度の影響であり、脳神経外科手術に対してsevofluraneと同様の安全性が期待できると推測された。

- (3)ラット頭窓法を用いて以下の結果を得た。1)血糖値が正常範囲内であればdesflurane麻酔

下でも propofol 麻酔下でも頭窓内に投与した acetylcholine に対する脳血管の反応(拡張)は保たれていた。2) 高血糖状態では propofol 麻酔下では acetylcholine に対する脳血管拡張は保たれていたが、desflurane 麻酔下では acetylcholine に対する脳血管拡張は阻害された。3) 高血糖状態での propofol による血管反応の維持は propofol の基質である intralipid 単独の投与によっても保たれた。以上より、高血糖時には脳血管の反応性を保つ面から考えると propofol 麻酔が desflurane より優れている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tanabe Kumiko, Kojima Akiko, Tachi Junko, Nakashima Daiki, Kozawa Osamu, Iida Hiroki	4. 巻 696
2. 論文標題 Limitation by Rho-kinase and Rac of transforming growth factor- β -induced interleukin-6 release from astrocytes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 191 ~ 196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.neulet.2018.12.040	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakata K, Kito K, Tanabe K, Fukuoka N, Nagase K, Iida H	4. 巻 In Press
2. 論文標題 Propofol but not desflurane maintains rat cerebral arteriolar responses to acetylcholine during acute hyperglycemia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neurosurgical Anesthesiology	6. 最初と最後の頁 In Press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ANA.0000000000000632.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakata K, Kito K, Fukuoka N, Nagase K, Tanabe K, Iida H	4. 巻 72
2. 論文標題 Cerebrovascular reactivity to hypercapnia during sevoflurane or desflurane anesthesia in rats.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Korean Journal of Anesthesiology	6. 最初と最後の頁 260-264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4097/kja.d.18.00244	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 kito T, Tanabe K, Sakata K, Fukuoka N, Nagase K, Iida M, Iida H	4. 巻 32
2. 論文標題 Endothelium-dependent vasodilation in the cerebral arterioles of rats deteriorates during acute hyperglycemia and then is restored by reducing the glucose level.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 531-538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-018-2507-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 田辺久美子
2. 発表標題 脳虚血におけるサイトカインの役割と新しい脳保護戦略
3. 学会等名 日本麻酔科学会第65回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kumioko Tanabe, Hiroki Iida, Osamu Kozawa
2. 発表標題 Inhibitors of Rho-kinase or Rac enhance TGF- β -induced IL-6 release from astrocytes
3. 学会等名 The 5th Conference of Asian Society of Neuroanesthesia and Critical Care (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sakata K, Fukuoka N, Kito K, Nagase K, Tanabe K, Iida H
2. 発表標題 Propofol but not desflurane prevents endothelial dysfunction in cerebral arterioles by acute hyperglycemia in rats
3. 学会等名 American Society of Anesthesiologists (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 阪田耕治, 鬼頭和裕, 福岡尚和, 田辺久美子, 飯田宏樹
2. 発表標題 急性高血糖時におけるプロポフォールの脳血管内皮機能細胞保護効果
3. 学会等名 第21回日本神経麻酔集中治療学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kito K, Tanabe K, Sakata K, Iida H
2. 発表標題 Compatible effect of cilostazol and aspirin on the impairment of endothelium dependent cerebral vasodilation caused by acute hyperglycemia in rats.
3. 学会等名 American Society of Anesthesiologists 2019 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	飯田 宏樹 (Iida Hiroki) (30159561)	岐阜大学・大学院医学系研究科・教授 (13701)	