

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18791106  
 研究課題名（和文） セボフルラン誘発呼吸抑制の検討：新生ラット単離脳幹標本を用いた基礎的研究  
 研究課題名（英文） Neural mechanisms of sevoflurane-induced respiratory depression in newborn rats  
 研究代表者  
 栗林 淳也（KURIBAYASHI JUNYA）  
 北里大学・北里研究所病院・研究員  
 研究者番号：40327599

研究成果の概要：セボフルランは延髄において吸息先行型及び呼息性ニューロンの活動を抑制したが、吸息性ニューロンを抑制しなかった。さらに吸息性ニューロンのバーストは C4 吸息性バーストと常に同期していた。したがってセボフルラン投与下では吸息性ニューロンを含む領域である pre-Bötzinger complex が呼吸リズムを決定していると考えられた。一方、セボフルランは頸髄において横隔神経運動ニューロンを抑制して C4 吸息性バーストの振幅を減少させるものと考察された。頸髄よりも、延髄で GABA<sub>A</sub> 受容体がセボフルラン誘発呼吸抑制に関与していることが示された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,000,000	0	2,000,000
2007年度	900,000	0	900,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	150,000	3,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学（7306）

キーワード：セボフルラン、呼吸ニューロン、パッチクランプ、単離脳幹脊髄標本

## 1. 研究開始当初の背景

- (1) セボフルランは延髄の呼吸ニューロンと頸髄の横隔神経運動ニューロンの活動を抑制して呼吸抑制を誘発することが細胞外記録で報告されている。しかし、細胞内記録による検討は行われていなかった。
- (2) 細胞内記録を行うと細胞外記録では調べられない膜特性やシナプス入力の解析が可能となる。

## 2. 研究の目的

- (1) 延髄に存在する呼吸ニューロン（吸息性、吸息先行型、呼息性）と頸髄に存在する横隔神経運動ニューロンのセボフルランに対する反応をホールセルパッチクランプ法を用いて細胞内記録する。
- (2) セボフルランによって誘発される呼吸抑制における GABA<sub>A</sub> 受容体の役割を調べる。

### 3. 研究の方法

- (1) 新生ラット (0 - 4 日齢) の延髄から頸髄を摘出し、人工脳脊髄液で表面灌流を行った。第 4 頸髄前根 (C4) から呼吸活動を反映する C4 吸息性バーストを記録した。灌流液を標準人工脳脊髄液からセボフルランを含む液に切り替え、呼吸数に相当する C4 吸息性バースト数と一回換気量に相当する C4 吸息性バーストの振幅を観察した。
- (2) 延髄・頸髄それぞれ別々にセボフルランを投与した時の C4 吸息性バースト数とその振幅を観察した。
- (3) セボフルランと GABA<sub>A</sub> 受容体拮抗薬のピクトキシシ、あるいはビククリンと同時に投与した時の C4 吸息性バースト数とその振幅を観察した。
- (4) 延髄腹外側の呼吸ニューロンと第 4 頸髄レベルの前角に存在する横隔神経運動ニューロンの活動を穿孔パッチクランプ法により記録し、灌流液を標準脳脊髄液からセボフルランを含む液に切り替え、バースト内発火頻度、膜電位、膜抵抗の変化を記録した

### 4. 研究成果

- (1) セボフルランは C4 吸息性バースト数とその振幅を濃度依存性に減少させた。(図 1)

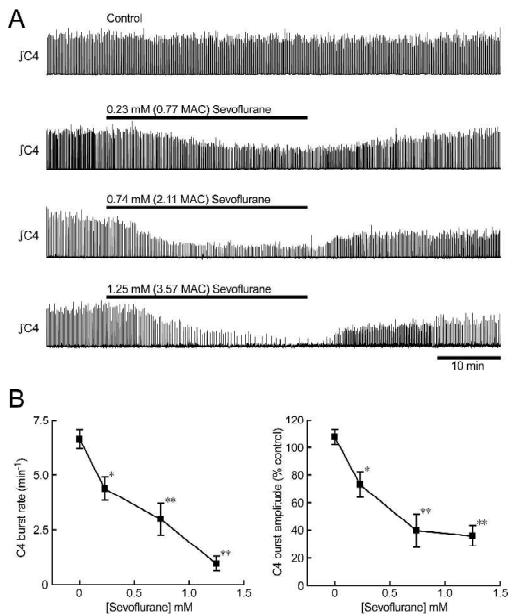


図 1 セボフルランによる C4 吸息性バースト数とその振幅の減少

- (2) セボフルランを延髄のみに投与した時には、C4 吸息性バースト数が減少し、頸髄のみに投与した時には、C4 吸息性バーストの振幅が減少した。(図 2)

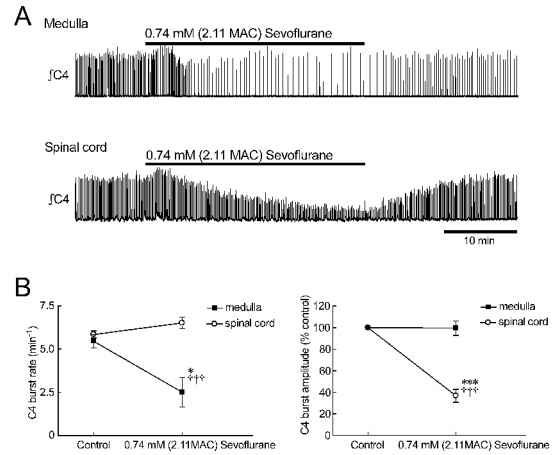


図 2 セボフルランの延髄・脊髄への分離灌流

- (3) ピクトキシシあるいはビククリンの投与によって C4 吸息性バースト数減少のみが回復した。しかし、一回換気量については回復しなかった。(図 3)

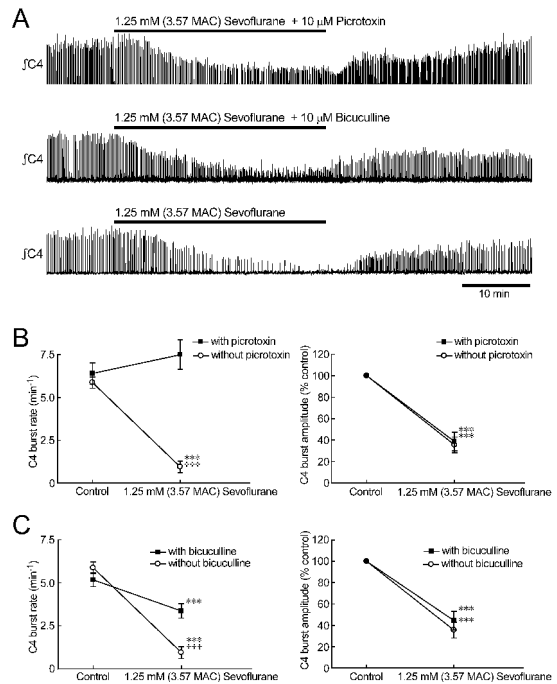


図 3 GABA<sub>A</sub> 受容体存在下でのセボフルランの C4 吸息性バーストへの影響

- (4) 穿孔パッチクランプ法を用いた実験において、吸息先行型及び呼息性ニューロンはセボフルラン投与によってのバースト内発火頻度、膜抵抗が減少し、C4 吸息性バーストとの同期が失われた。吸息性ニューロンはセボフルラン投与下でもバースト内発火頻度、膜電位、膜抵抗が変化

せず、C4 吸息性バーストとの同期も維持された。横隔神経運動ニューロンはセボフルラン投与で過分極し、バースト内発火頻度、膜電位、膜抵抗が減少したが、C4 吸息性バーストとの同期は維持された。(図4)

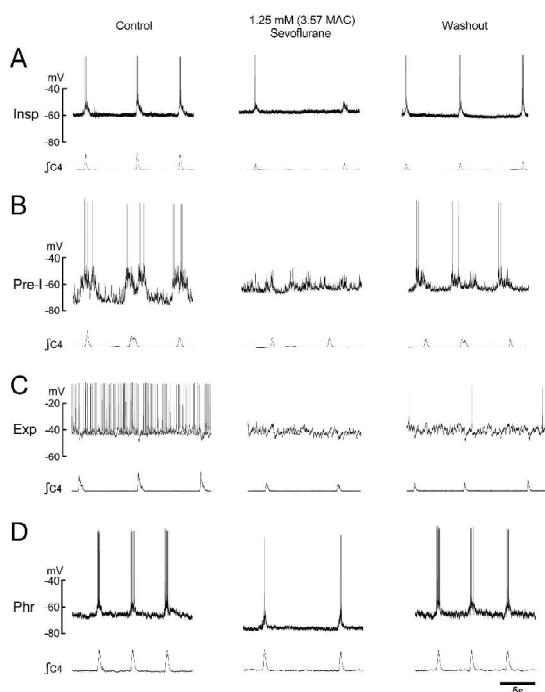


図4 セボフルランの呼吸ニューロンに対する影響

以上からセボフルランは延髄において吸息先行型及び呼吸性ニューロンの活動を抑制したが、吸息性ニューロンを抑制しなかった。さらに吸息性ニューロンのバーストはC4 吸息性バーストと常に同期していた。したがってセボフルラン投与下では吸息性ニューロンを含む領域である pre-Bötzing complex が呼吸リズムを決定していると考えられた。一方、セボフルランは頸髄において横隔神経運動ニューロンを抑制してC4 吸息性バーストの振幅を減少させるものと考察された。頸髄よりも、延髄で GABA<sub>A</sub> 受容体がセボフルラン誘発性呼吸抑制に関与していることが示された。

#### 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2件)

Kuribayashi J, Sakuraba S, Kashiwagi M, Hatori E, Tsujita M, Hosokawa Y, Takeda J, Kuwana S. Neural mechanisms of sevoflurane-induced

respiratory depression in newborn rats. *Anesthesiology*. 2008 ; 109: 233-42. 査読有

Kuribayashi J, Sakuraba S, Hosokawa Y, Hatori E, Tsujita M, Takeda J, Yanagawa Y, Obata K, Kuwana S. CO<sub>2</sub>-sensitivity of GABAergic neurons in the ventral medullary surface of GAD67-GFP knock-in neonatal mice. *Adv Exp Med Biol*. 2008; 605: 338-42. 査読有

[学会発表](計4件)

Kuribayashi J, Kuwana S, Hosokawa Y, Hatori E, Takeda J. Effect of a new sedative, JM-1232(-) on central respiratory activity in neonatal rats. American Society of Anesthesiologists. October 22, 2008. Orlando, FL, USA

栗林淳也、桑名俊一、細川幸希、羽鳥英樹、武田純三．イソインドリン誘導体 JM-1232(-)の中枢性呼吸神経活動に対する影響：新生ラット摘出脳幹脊髓標本を用いた検討．日本麻酔科学会学術集会．平成20年6月12日．横浜

Kuribayashi J, Kuwana S, Sakuraba S, Hosokawa Y, Takeda J. Neural mechanisms of sevoflurane-induced central respiratory depression in neonatal rats. American Society of Anesthesiologists. October 13, 2007. San Francisco, CA, USA

Kuribayashi J, Sakuraba S, Hosokawa Y, Hatori E, Tsujita M, Takeda J, Yanagawa Y, Obata K, Kuwana S. Characteristics of GABAergic neurons in mouse pre-Bötzing complex and ventral medullary surface. Oxford Conference on Modeling and Control of Breathing. September 23, 2006. Lake Louise, AB, Canada

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

栗林 淳也 (KURIBAYASHI JUNYA)

北里大学・北里研究所病院・研究員

研究者番号：40327599

(2)研究分担者

(3)連携研究者

(4)研究協力者

桑名 俊一 (KUWAMA SHUN-ICHI)

植草学園・保健医療学部・教授

研究者番号：7012998