

機関番号：13101

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390414

研究課題名 (和文) 吸入ガス麻酔薬の脊髄における鎮痛および不動化作用機序の解明

研究課題名 (英文) Analysis of inhaled anesthetics on the analgesic effect and immobilization in the spinal cord

研究代表者

河野 達郎 (KOHNO TATSURO)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：00313536

研究成果の概要 (和文)：

全身麻酔薬は催眠、健忘、鎮痛、不動化などの作用を有している。電気生理学的手法を用いた本研究により、脊髄後角で亜酸化窒素は抑制性応答には影響を及ぼさないことが明らかとなった。さらに、キセノンは脊髄後角における興奮性応答を抑制することで、痛覚刺激に対する応答を抑制することがわかった。

研究成果の概要 (英文)：

General anesthetics have the actions of hypnosis, amnesia, analgesia and immobility. To elucidate the effects of nitrous oxide and xenon in spinal dorsal horn neurons, we conducted the electrophysiological experiments. We revealed that nitrous oxide had no effects on the inhibitory synaptic transmission in dorsal horn neurons. In addition, xenon inhibited excitatory but not inhibitory transmission in dorsal horn neurons, leading to the antinociceptive effect.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2009年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
年度			
年度			
総計	11,600,000	3,480,000	15,080,000

研究分野：麻酔・蘇生学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：脊髄、麻酔薬、鎮痛、不動化

1. 研究開始当初の背景

全身麻酔薬は脳および脊髄の中樞神経系に作用して可逆的な健忘、意識消失および鎮痛作用をもたらすが、その作用機序は徐々に解明されてきている。これまで、意識消失は主に脳の大脳皮質や視床などの領域が抑制を受けることによって起こっていると考えられてきた。しかし、近年その作用部位は脳だけではなく脊髄も関与しているという報告がなされた。脊髄離断モデルを用いた実験により、

最小肺胞麻酔薬濃度を決定しているのは脳よりも脊髄レベルであることが示された。さらに、脳だけの麻酔と全身に麻酔をかけた場合では麻酔薬の強さを表す、最小肺胞麻酔薬濃度が異なることが報告された。すなわち、これらの報告は全身麻酔薬の作用点は脊髄レベルにもあることを示唆している。しかし、脊髄細胞レベルでの検討およびこれらの麻酔薬が脊髄に作用して鎮痛作用を発揮するかどうかについては十分な検討がなされていない。

2. 研究の目的

(1) *in vitro* 脊髄スライス標本を用いて、吸入麻酔薬の脊髄前・後角細胞に対する直接作用、興奮性および抑制性シナプス伝達に対する作用、神経伝達物質で誘起される電流に対する作用を解析する。

(2) 直接作用に対して、それがどのようなイオンチャネルや細胞内代謝系を介しているか検索する。

(3) *in vivo* 脊髄標本を用いて、侵害刺激で惹起される興奮性・抑制性シナプス伝達に対する麻酔薬の作用を解析する。

3. 研究の方法

(1) *in vitro* 脊髄スライス標本を用いた麻酔薬の作用の解析

Wistar系成熟ラットよりウレタン麻酔下に腰仙部脊髄を摘出し、冷却クレブス液中でマイクロライサーを用い、厚さ約600 μ mの後根を付した脊髄横断スライス標本を作成する。このスライス標本を記録用チェンバーに移して、クレブス液で灌流する。ガラス微小電極を作成し、顕微鏡下にマニピレーターを用いて目的とする細胞に誘導する。軽い陰圧によってギガオームシールを形成させた後、強い陰圧をかけ細胞膜を破り脊髄前角または脊髄後角(主に第II層)細胞よりホールセルパッチクランプ記録を行う。得られた電流は、パッチクランプ用増幅器: Axopatch200Bにより増幅し、コンピューターに記録後、データ解析用ソフトウェアを用いて解析する。細胞におけるシナプス応答を誘起するため、後根を吸引電極に装置する。膜電位固定法で膜電位を-70 mVに固定すると興奮性シナプス後電流 (EPSC: excitatory postsynaptic current) が、0 mVに固定すると抑制性シナプス後電流 (IPSC: inhibitory postsynaptic current) のみが観察できる。刺激強度を変えることと応答の潜時によって、非侵害刺激を伝えるA β 線維と侵害刺激を伝えるA δ およびC線維に分けることができる。また、脊髄後角内の局所刺激は単極性電極を用いて行う。後根誘起のシナプス応答が単シナプスか否かの同定は、刺激からの潜時と後根の高頻度(A線維)または低頻度(C線維)刺激で、潜時が一定かつ欠落のないものを単シナプス電流とする。以下の実験を亜酸化窒素またはキセノンで飽和させたクレブス液を灌流投与して行う。

(2) *in vivo* 脊髄標本を用いた麻酔薬の作用

の解析

ラットをウレタンで麻酔した後、気管切開を施行し、ベンチレーターを用いて人工呼吸をする。腰部脊柱の椎弓切除を施行し脊髄を露出した後、動揺を最小限にするために脊柱をフレームで固定する。さらに脳固定装置で固定を行い、脊髄腰膨大部のクモ膜を部分的に剥離し、記録電極がアプローチし易いように処置しておく。記録は基本的に*in vitro* 脊髄スライス標本と同様に行う。脊髄表面をクレブス液で灌流し、脊髄表面への薬剤はここからの灌流投与とする。

4. 研究成果

(1) 50%亜酸化窒素の脊髄での抑制性伝達に対する作用を検討した。亜酸化窒素はGABA灌流投与による電流の振幅(図1)およびGABA受容体を介する微小抑制性シナプス後電流の頻度、振幅(図2)に影響を与えなかった。

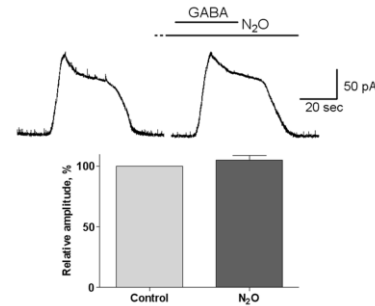


図1 GABA誘起性電流に対する亜酸化窒素の効果

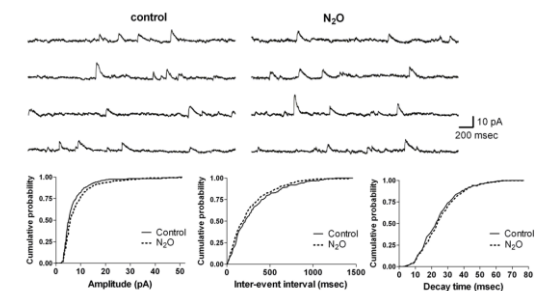


図2 GABA受容体を介する微小抑制性シナプス後電流に対する亜酸化窒素の効果

同様にグリシン灌流投与による電流の振幅およびグリシン受容体を介する微小抑制性シナプス後電流の頻度、振幅に対しても亜酸化窒素はなんら作用を及ぼさなかった。

さらに、脊髄後角内の局所刺激によって誘起されるGABAおよびグリシン受容体を介する抑制性シナプス後電流の振幅に対しても亜酸化窒素は作用を及ぼさなかった。

(2) 50%キセノンの脊髄での興奮性伝達に対する作用を検討した。キセノンはA δ および

C線維刺激による興奮性シナプス後電流の振幅を抑制した(図3)。

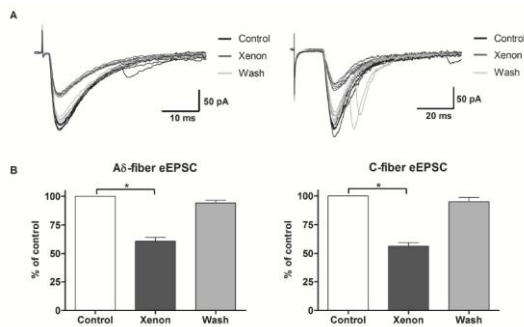


図3 後根刺激による興奮性シナプス後電流に対するキセノンの効果

同様にキセノンはNMDA型およびAMPA型グルタミン酸受容体アゴニスト灌流投与による電流の振幅、面積を抑制した(図4、5)。

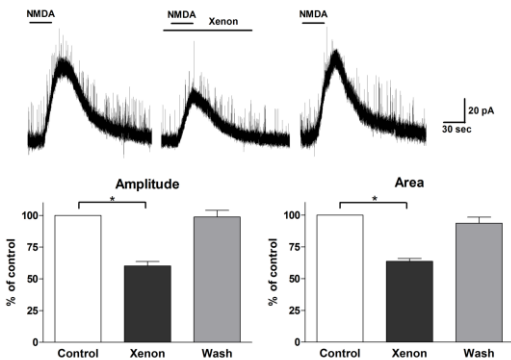


図4 NMDA 誘起性電流に対するキセノンの効果

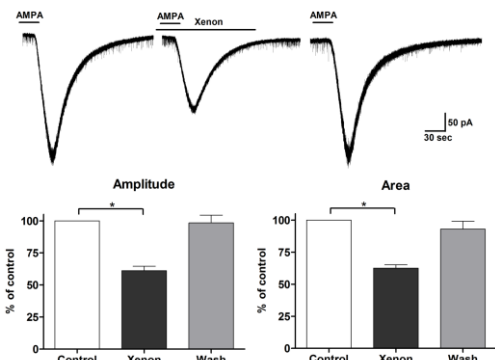


図5 AMPA 誘起性電流に対するキセノンの効果

さらに、*in vivo* 脊髄標本を用いたキセノンの作用を解析した。キセノンは受容野の侵害刺激によって誘起される興奮性シナプス後電流の振幅、面積を抑制した(図6)。

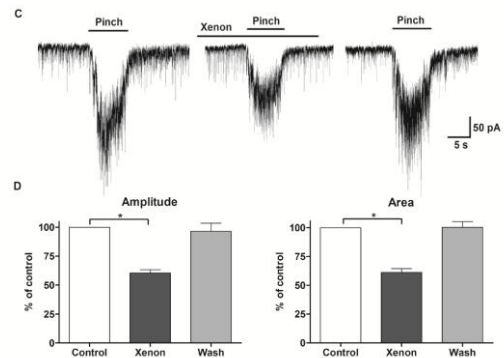


図6 *in vivo* 脊髄標本での興奮性シナプス後電流に対するキセノンの効果

しかし、キセノンはGABAおよびグリシン受容体を介する抑制性シナプス伝達に対する作用は認められなかった。

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)

- ① □ Stefan K Georgiev、Hiroshi Baba、Tatsuro Kohno、Nitrous oxide and the inhibitory synaptic transmission in rat dorsal horn neurons、*European Journal of Pain*、査読有、14、2010、17-22
- ② □ Stefan K Georgiev、Hidemasa Furue、Hiroshi Baba、Tatsuro Kohno、Xenon inhibits excitatory but not inhibitory transmission in rat spinal cord dorsal horn neurons、*Molecular Pain*、査読有、6、2010、25
- ③ □ ゲオルギエフ・ステファン、馬場洋、河野達郎、亜酸化窒素の脊髄後角 II 層における抑制性シナプス伝達に対する作用、*脊髄機能診断学*、査読有、33 巻、2010、12-18
- ④ □ ゲオルギエフ ステファン、古江秀昌、河野達郎、キセノンの脊髄後角における興奮性・抑制性シナプス伝達に対する作用、*脊髄機能診断学*、査読有、32 巻、2011、214-216
- ⑤ □ 山本知裕、本田博之、河野達郎、脊髄における全身麻酔薬の作用機序、*麻酔*、査読有、60、2011、582-589

[学会発表] (計5件)

- ① Stefan K Georgiev、Hidemasa Furue、Tatsuro Kohno、Xenon inhibits excitatory but not inhibitory transmission in rat spinal cord dorsal

horn neurons、40th Annual meeting of neuroscience、2010年11月15日、San Diego (CA, USA)

- ② ゲオルギエフ ステファン、河野 達郎、
亜酸化窒素の脊髄第 II 層における抑制性
シナプス伝達に対する作用、第 31 回脊髄
機能診断研究会、2009 年 2 月 7 日、東京
都
- ③ ゲオルギエフ ステファン、古江秀昌、河
野 達郎、キセノンの脊髄後角における興
奮性・抑制性シナプス伝達に対する作用、
第 32 回脊髄機能診断研究会、2010 年 2
月 6 日、東京都
- ④ 河野 達郎、ゲオルギエフ ステファン、
キセノンの脊髄後角における興奮性・抑制
性シナプス伝達に対する作用、第 57 回日
本麻酔科学会学術集会、2010 年 6 月 4 日、
福岡県
- ⑤ 山本知裕、本田博之、河野達郎、脊髄運動
ニューロンのシナプス伝達に対するキセ
ノンの作用、第 58 回日本麻酔科学会学術
集会、2011 年 5 月 20 日、兵庫県

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河野 達郎 (KOHNO TATSURO)
新潟大学・医歯学系・准教授
研究者番号：00313536

(2) 研究分担者

生駒 美穂 (IKOMA MIHO)
新潟大学・医歯学総合病院・助教
研究者番号：30432082

(3) 連携研究者

中塚 映政 (TERUMASA NAKATSUKA)
佐賀大学・医学部・准教授
研究者番号：30380752