

機関番号：13701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20591799

研究課題名（和文） グルタミン酸受容体作動薬の脳微小血管およびAQP-4に与える影響に関する検討

研究課題名（英文） The effect of glutamate receptor agonist on cerebral microcirculation and to appearance of AQP-4 in perivascular area during various anesthetic state.

研究代表者

大島 博人 (OHATA HIROTO)

岐阜大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：60311700

研究成果の概要（和文）：グルタミン酸受容体は生体内の情報伝達に関与しており、とくにAMPA型受容体はニューロンにおける神経活動の興奮をアストロサイトに伝達し、脳細動脈の拡張に関与している。麻酔薬によるこの影響とまた脳浮腫の形成に関与するAQP-4の局在に与える影響をラットを用いて検討した。AMPAによる脳血管拡張反応は麻酔薬により異なった反応を示したが、AQP-4の局在には影響を与えないことを示唆する結果を得た。

研究成果の概要（英文）：

To examine whether anesthetic agents as well as drugs used during general anesthesia could affect cerebral microcirculation induced by glutamate receptor agonists, especially AMPA, and could affect an appearance of water channel AQP-4 concentrated in astrocyte of perivascular areas in rat brain.

AMPA-induced dilation of pial arterioles in rats was observed all anesthetic agents (isoflurane, sevoflurane, propofol, and dexmedetomidine), whereas the dilatatory response to AMPA anesthetized with intravenous anesthetics was smaller than that of inhalational anesthetics.

We could not observe the differences of localization to AQP-4 among anesthetic agents in rat cortical brain slices superfused with AMPA.

The results of this study suggested that cellular mechanisms underlying functional hyperemia might be affected by the type of general anesthetics, however water metabolism in glial cells might be unchanged during functional hyperemia in rat brain.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

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

キーワード：グルタミン酸受容体作動薬、AMPA、脳微小循環、AQP-4、高二酸化炭素血症、ラット

1. 研究開始当初の背景

近年、神経細胞の活性化に伴う脳血流の増加（いわゆる **functional hyperemia**）にアストロサイトなどのグリア細胞が大きな役割を果たしていることが明らかになってきた。このニューロン・アストロサイト・脳血管という一連のユニット（**neurovascular unit**）の詳細な構造やそこで生じているカルシウム動態が明らかとなり、**functional hyperemia** のメカニズムが解明されてきている。このメカニズムの中でグルタミン酸のイオン型受容体の一つである **AMPA** 型受容体と代謝型グルタミン酸受容体が、ニューロンにおける神経活動の興奮をアストロサイトに伝達し、アストロサイト内でカルシウムの動員を起し、脳細動脈の拡張に関与していることが明らかとなった。また一方で脳血管周囲に存在するアストロサイト内には、水チャンネルファミリーのひとつである **AQP-4** の局在が認められ、この **AQP-4** は脳浮腫の形成に関与していると報告されている。

2. 研究の目的

われわれが日常臨床で用いている全身麻酔薬は、種々のグルタミン酸受容体に影響を及ぼしていることが報告され、個々の受容体活性は麻酔薬によって増強、不変、あるいは抑制されるとされている。また、麻酔薬の種類によって **NMDA** および **AMPA** 受容体の直接刺激による神経細胞障害の程度に相違を認めるとも報告されている。従って、麻酔薬の違いがグルタミン酸受容体の関与する生体内の情報伝達やその結果生じてくる反応に変化を与えることが推測され、同様に脳血流の調節機構にも影響を与えるものと考えられる。そこで、われわれが一般的に利用している全身麻酔薬の違いによるグルタミン酸受容体を介した脳血流調節への影響を明らかにすることを目的とした。また全身麻酔薬の違いがアストロサイト内での **AQP-4** の発現に影響を与えるかどうかを検討することも目的とした。さらに全身麻酔中には様々な薬物との併用や、種々の非生理的な状況におかれることも多い。そのため、麻酔中において種々の血管作動薬が用いられている場合や、一時的な脳血流低下や遮断後の再還流時、さらには

低酸素血症や高二酸化炭素血症などの状況における脳血管の反応にも差異が出てくる可能性が十分に考えられる。特に近年、周術期管理において、動脈血二酸化炭素分圧を軽度高値に維持することの重要性が報告されており、この高二酸化炭素血症時のグルタミン酸受容体作動薬が脳血流に与える影響を検討することも目的とした。

3. 研究の方法

ラットを対象として、ハロセン麻酔下に気管切開を行い、酸素化空気にて動物用人工呼吸器を用いて、終末呼気二酸化炭素分圧を **35-40mmHg** に維持するように調節呼吸を行う。また直腸温を小動物体温保持装置を用いて、**36.5-37.5°C** に維持する。直接動脈圧測定用、および血液分析用採血路として尾動脈に、輸液および薬物投与路として大腿静脈に静脈路を確保する。

ラットを脳固定装置に固定し、脳軟膜血管を直接観察するために、頭部に有窓（**cranial window**）を作成する。**Closed window** 下にある脳軟膜血管を生体顕微鏡で拡大し、各々の血管径を測定する。**Window** 作製後、全身麻酔薬として吸入麻酔薬（イソフルラン、セボフルラン）または静脈麻酔薬（プロポフォール、デキサメデトミジン）で麻酔維持を行い、60分後にグルタミン酸受容体作動薬（**AMPA**）を **window** 内に5分間投与して、血管径を含む諸量を連続的に測定し、全身麻酔薬との相互作用を検討する。その後、**AQP-4** に対するポリクロナル抗体（**AB3068,1:100;Chemicon International, Temecula, CA**）を用いて免疫染色を行い **AQP-4** の局在を検討する。また高二酸化炭素血症時の、脳血管反応性の違いを検討するために、同様の方法を用いて、麻酔回路の吸気に二酸化炭素を付加して、動脈血二酸化炭素分圧が **55-60mmHg** の状態を作成し、同様のプロトコールでグルタミン酸受容体作動薬（**AMPA**）の脳血管反応性を検討する。

4. 研究成果

1) 全身麻酔薬の違い（吸入麻酔薬および静脈麻酔薬）による **AMPA** の脳血管反応性の相違について

グルタミン酸受容体作動薬の **AMPA** は、

吸入麻酔薬（イソフルラン、セボフルラン）および静脈麻酔薬（プロポフォール、デクサメドミジン）による全身麻酔下のラット脳微小循環において脳細動脈を拡張させた。この血管拡張作用は、静脈麻酔薬使用時の方が吸入麻酔薬使用時と比較して軽度であることが判明した。脳血管径の変化率は、イソフルラン = セボフルラン >> プロポフォール > デクサメドミジンの順番を示した。従って脳微小循環におけるグルタミン酸受容体作動薬（AMPA）が関与する代謝性血流増加状態において、吸入麻酔薬よりも静脈麻酔薬の方が脳血流量の増加を抑制する可能性が示唆されたが、そのメカニズムの解明にまでは至らず、またプロポフォールとデクサメドミジンの比較における差異のメカニズムも解明はできなかった。

2) AMPA 投与時のグリア細胞における AQP-4 の発現に関して

脳血管周囲のグリア細胞におけるアキアポリン 4（AQP-4）の発現は、定性的な検討では、麻酔薬の違いによる差異を認めなかった。またそれぞれの麻酔薬による全身麻酔下で、AMPA 投与によって生じた脳血管拡張反応後の脳血管周囲のグリア細胞での AQP-4 の発現も定性的な検討では、麻酔薬の違いによる発現部位の差異は認めなかった。また定量的評価は今回の検討では行えていないため、AQP-4 の発現量に差異が生じていたかどうかに関しては検討できていない。従って、少なくともグルタミン酸受容体作動薬の中での AMPA が関与する代謝性血流増加状態において、全身麻酔薬の違い、および AMPA の脳内濃度の上昇は脳細動脈周囲に存在するグリア細胞における水代謝には影響を与えないことが示唆された。

3) 高二酸化炭素状態での AMPA の脳血管反応性について

高二酸化炭素状態での AMPA による血管反応性は、吸入麻酔薬（セボフルラン）と静脈麻酔薬（プロポフォール）を用いた検討で、ともに軽度の脳血管径の拡張を認めたが、この拡張の程度は正常な動脈血二酸化炭素分圧での測定時に比べ示した反応は小さかった。これは動脈血二酸化炭素分圧の上昇による脳血管径の拡張がベースにあったことが要因であったと考えら

れた。吸入麻酔薬と静脈麻酔薬での違いで反応性に差異を認めなかったことのメカニズムは解明できなかったが、二酸化炭素分圧の変化が脳血管拡張の主たる要因となっており、AMPA による血管拡張反応のメカニズムと重なる部分があると考えられた。

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）

1. Ohata H, Gebremedhin D, Narayanan J, Harder DR, Koehler RC. Onset of pulmonary ventilation in fetal sheep produces pial arteriolar constriction dependent on cytochrome p450 ω -hydroxylase activity. *J Appl Physiol* 2010; 109: 412-7. 査読あり
2. Harris AP, Ohata H, Koehler RC. Role of nitric oxide in cerebrovascular reactivity to NMDA and hypercapnia during prenatal development in sheep. *Int J Dev Neurosci*. 2008; 26: 47-55. 査読あり

〔学会発表〕（計 2 件）

1. 大島博人, 飯田祐子, 鬼頭和裕, 河村三千香, 山下実華, 太田宗一郎. 抗 NMDA 受容体脳炎患者の卵巣奇形腫摘出術の麻酔管理. 日本麻酔科学会 第 57 回学術集会 福岡, 2010 年 6 月 3 日
2. 大島博人, 長瀬清, 土肥修司. 亜酸化窒素の利点・欠点. 日本麻酔科学会 第 55 回学術集会 横浜, 2008 年 6 月 13 日

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大島 博人 (OHATA HIROTO)
岐阜大学・医学系研究科・非常勤講師
研究者番号：60311700

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：