

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09204

研究課題名(和文) 吸入麻酔薬の意識消失作用におけるニューロテンシン神経系の役割

研究課題名(英文) Do neurotensin influence the effects of general anesthesia?

研究代表者

中村 正帆 (Nakamura, Tadahito)

東北医科薬科大学・医学部・准教授

研究者番号：80734318

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ニューロテンシン神経系が、吸入全身麻酔薬による意識消失作用においてどのような役割を果たしているかを検証した。ニューロテンシンは外側視床下部と扁桃体中心核の神経細胞に発現しており、間脳から延髄まで広範囲に投射していた。これらの神経細胞にはノンレム睡眠やレム睡眠を調節し覚醒を促す作用を認め、化学遺伝学的手法やファイバーフォトメトリーを用いて、ニューロテンシン神経細胞特異的な活性の変化と吸入麻酔薬による意識消失の関係を検討したところ、ニューロテンシン神経細胞の活性は全身麻酔導入あるいは回復と関連しないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

皮質下覚醒系神経回路は、覚醒のみならず認知記憶機能も調節する。本邦では手術麻酔患者が著しく高齢化したため、術後認知機能障害は主要な術後合併症の一つとして喫緊の対策が求められている。今後の研究のさらなる発展によって、ニューロテンシン神経系とその下流の小分子神経伝達物質神経核の吸入麻酔における役割が明らかになれば、皮質下覚醒系神経回路の認知記憶機能における吸入麻酔薬の影響を特異的に解析できるため、術後覚醒遅延や術後認知機能障害の病態解明・治療開発の研究基盤になる可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of the neurotensinergic nervous system in the loss of consciousness caused by inhaled general anesthetics. Neurotensin was expressed in neurons in the lateral hypothalamus and central amygdala, and projected extensively from the diencephalon to the medulla oblongata. We found that these neurons have the effect of regulating NREM sleep and REM sleep and promoting wakefulness. Using methods of chemogenetics and fiber photometry, we presumed that the activity of neurotensinergic neurons was not associated with the induction or recovery of general anesthesia.

研究分野：神経薬理学

キーワード：吸入麻酔薬 ニューロテンシン

1. 研究開始当初の背景

吸入麻酔薬の意識消失のメカニズム、すなわち意識を担う神経回路に対して吸入麻酔薬がどのように作用するかは、全容が明らかになっていない。吸入麻酔薬のターゲットと推定される神経回路の一つとして、大脳皮質-視床-脳幹連関がある (Brown EN et al., N Engl J Med 2010)。大脳皮質-視床-脳幹連関に対して、視床下部や橋の神経細胞群が投射し、その機能を調節している (Koch C et al., Nat Rev Neurosci 2016)。これらの視床下部や橋の神経回路・細胞群は、睡眠覚醒の制御にも深く関わっているため、吸入麻酔薬は覚醒系を抑制あるいは睡眠系を活性化することで、意識消失作用を発揮する可能性が唆される (Franks NP, Nat Rev Neurosci 2008)。

後部視床下部に局在するヒスタミン神経細胞は、その軸索を皮質から延髄まで広範囲に投射しており、ヒスタミン神経系を形成している。ヒスタミン神経系は、睡眠覚醒サイクルの制御に重要な役割を果たしており (Naganuma F, Nakamura T et al., Sci Rep 2017)、ヒスタミン H1 受容体の欠損によって吸入麻酔薬の作用発現が促進し、覚醒が延長するなど、吸入麻酔薬の意識消失作用に関与する。

ヒスタミンはグルタミン酸やアセチルコリンと同じく小分子神経伝達物質に分類されるが、これらのシグナル伝達は神経ペプチドによって制御される (van den Pol A, Neuron 2012)。近年、申請者が所属する研究グループは、視床下部外側部に局在する神経ペプチド、ニューロテンシン神経細胞群が非常に強力な覚醒作用を有することを報告した (Naganuma F et al., PLoS Biol 2019)。この研究報告では、化学遺伝学的手法 (DREADDs) を用いて視床下部外側部ニューロテンシン神経細胞を脳部位特異的・神経細胞特異的に活性化すると、深い眠りであるノンレム睡眠からマウスが速やかに覚醒することが明確に示された。

2. 研究の目的

前述の通りニューロテンシン神経細胞は睡眠覚醒サイクルの調節において重要な役割を果たしているが、吸入麻酔薬による全身麻酔との関係はこれまで注目されてこなかった。そこで本研究では、吸入麻酔薬の意識消失作用におけるニューロテンシン神経系の役割を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) ニューロテンシン神経細胞投射先の同定
ニューロテンシン神経細胞が多く局在する視床下部外側部と扁桃体中心核に注目し、これらの領域からのニューロテンシン神経細胞の投射先を免疫組織学的に検討した。
- (2) ニューロテンシン神経細胞の睡眠覚醒サイクル調節における役割
視床下部外側部と扁桃体中心核のニューロテンシン神経細胞が睡眠覚醒サイクルの調節においてどのような役割を果たしているか、ニューロテンシン神経細胞特異的除去や化学遺伝学的手法 (DREADDs) と脳波筋電図解析を用いて検討した。
- (3) ニューロテンシン神経細胞活性が吸入麻酔薬の意識消失に及ぼす影響
薬理遺伝学的手法 (DREADDs) と光遺伝学的手法 (Optogenetics) を用いて、ニューロテンシン神経細胞のみを活性化した。導入・維持・回復の各相でニューロテンシン神経細胞の活性を変化させ、吸入麻酔下の正向反射消失 (LORR) を定量した。
- (4) 吸入麻酔薬によるニューロテンシン神経細胞の活性変化
カルシウムセンサーを対象に *in vivo* ファイバーフォトメトリーを実施した。吸入麻酔濃度依存的にニューロテンシン神経細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度と活動電位を定量し、活性の変化を解析した。

4. 研究成果

- (1) ニューロテンシン神経細胞軸索の分布
外側視床下部にニューロテンシン神経細胞が局在し、分界条床核 BNST, 腹側外側視索前野 VLPO, 前脳基底部無名質 SI, 腹外側中脳水道周囲灰白質 vIPAG, 腕傍核 PB, 青斑核 LC などの睡眠覚醒系に関与する脳領域に、多くの神経線維を投射することが明らかになった。また扁桃体中心核のニューロテンシン神経細胞からは、腹外側中脳水道周囲灰白質 vIPAG, 後前蓋核 PPT, 後外側被蓋核 LDT などへの投射が確認された。

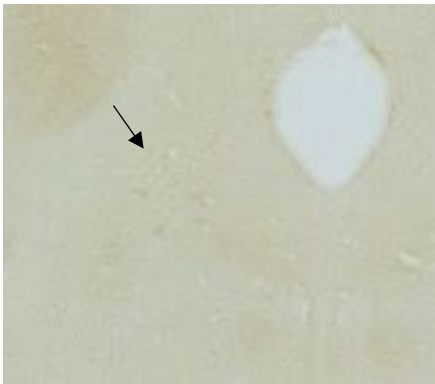


図1．腹外側中脳水道周囲灰白質のニューロテンシン神経細胞軸索（矢印）

- (2) ニューロテンシン神経細胞による睡眠覚醒サイクルの調節
 ニューロテンシン神経細胞を特異的に除去すると有意に覚醒が減少した。またニューロテンシン神経細胞特異的に活性化すると、レム睡眠 (rapid eye movement sleep: REM 睡眠) の回数が減少することが明らかになった。これらの結果は、ニューロテンシン神経細胞が覚醒において重要な役割を担っていることを示唆した。
- (3) ニューロテンシン神経細胞活性化が吸入麻酔薬の意識消失に及ぼす影響
 予備実験ではニューロテンシン神経細胞を特異的に活性化すると、全身麻酔からの回復が有意に早くなったが、本研究ではセボフルラン、イソフルラン、デスフルランいずれにおいても有意差を見出せなかった (Sev: CNO 100.6 ± 67.09 秒 vs SA 84.29 ± 44.35 秒, $P=0.5557$; Iso: CNO 108.3 ± 36.65 秒 vs SA 115.0 ± 33.80 秒, $P=0.5129$; Des: CNO 27.57 ± 17.15 秒 vs SA 35.71 ± 26.93 秒, $P=0.5968$)。また、麻酔投与開始から体動が消失するまでの時間は差が無かった。これらの結果から、ニューロテンシン神経細胞の活性化は全身麻酔導入あるいは回復と関連しないことが示唆された。今後ニューロテンシン神経細胞特異的に細胞活性を抑制すると吸入麻酔薬による全身麻酔の導入と回復に影響があるか検討する必要がある。
- (4) 吸入麻酔薬によるニューロテンシン神経細胞の活性変化
 まず生理的な覚醒、REM 睡眠、NREM 睡眠中におけるニューロテンシン神経細胞の活性変化を定量した。各ステージにおける GCaMP シグナル変化 F/F 値は、覚醒で $59.3 \pm 6.8\%$ 、NREM 睡眠で $43.6 \pm 3.4\%$ 、REM 睡眠で $28.1 \pm 9.9\%$ だった。各ステージ間の比較では、覚醒時の方が REM 睡眠時と比較し、ニューロテンシン神経細胞の GCaMP シグナルが有意に高かった (One-way ANOVA $F=3.8$, $p=0.023$)。一方で、吸入麻酔薬投与下における F/F 値は一定の結果が得られておらず、吸入麻酔薬によってニューロテンシン神経細胞の活性が変化するかどうかは結論づけられなかった。実験方法を改善し引き続き検証する必要がある。

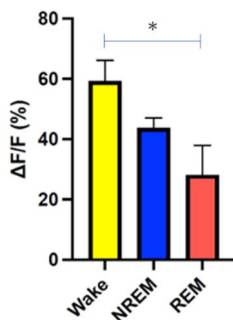


図2．各ステージにおけるニューロテンシン神経細胞の活性変化

- (5) ニューロテンシン神経系は、睡眠覚醒に関連する神経核に広く投射しており、強く覚醒を惹起することから、これらの覚醒関連神経核の上位機構、即ち皮質下覚醒系神経回路の中心的な制御系の一つであると考えられた。本研究は視床下部から橋に存在する皮質下覚醒系神経回路が吸入麻酔において果たす役割を包括的に理解する手がかりになるだろう。皮質下覚醒系神経回路は、覚醒のみならず認知記憶機能も調節することが知られている。本邦では手術麻酔患者が著しく高齢化したため、術後認知機能障害は主要な術後合併症の一つとして喫緊の対策が求められている。ニューロテンシン神経系とその下流の小分子神経伝達物質神経核の吸入麻酔における役割が明らかになれば、皮質下覚醒系神経回路の認知記憶機能における吸入麻酔薬の影響を特異的に解析できるため、術後覚醒遅延や術後認知機能障害の病態解明・治療開発の研究基盤になる可能性があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Naganuma Fumito, Nakamura Tadahito, Kuroyanagi Hiroshi, Tanaka Masato, Yoshikawa Takeo, Yanai Kazuhiko, Okamura Nobuyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Chemogenetic modulation of histaminergic neurons in the tuberomammillary nucleus alters territorial aggression and wakefulness	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17935
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-95497-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yoshikawa Takeo, Nakamura Tadahito, Yanai Kazuhiko	4. 巻 178
2. 論文標題 Histaminergic neurons in the tuberomammillary nucleus as a control centre for wakefulness	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 750 ~ 769
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/bph.15220	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	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 0件）

1. 発表者名 長沼史登、中村正帆、Vetrivelan Ramaliganam、岡村信行
2. 発表標題 吸入麻酔薬がニューロテンシン神経細胞の神経活動に及ぼす影響の検討
3. 学会等名 第72回日本薬理学会北部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村正帆、長沼史登、黒柳浩志、田中聖人、吉川雄朗、谷内一彦、岡村信行
2. 発表標題 ヒスタミン神経細胞特異的な活性化が攻撃行動と覚醒睡眠サイクルに及ぼす影響
3. 学会等名 第23回日本ヒスタミン学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中村正帆、長沼史登、岡村信行
2. 発表標題 ニューロテンシン神経細胞特異的活性化はセボフルラン麻酔からの覚醒を促進する。
3. 学会等名 日本麻酔科学会第67回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長沼史登, 中村正帆, ベトリベランラマリンガム, 吉川雄朗, 岡村信行
2. 発表標題 視床下部外側ニューロテンシン神経は睡眠覚醒サイクルに重要である
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中村正帆, 長沼史登, 田中聖人, 井上まり絵, 直野留美, 吉川雄朗, 岡村信行
2. 発表標題 扁桃体中心核ニューロテンシン神経細胞の睡眠覚醒サイクルにおける役割の検討
3. 学会等名 第23回応用薬理シンポジウム
4. 発表年 2022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	吉川 雄朗 (Yoshikawa Takeo) (70506633)	東北大学・医学系研究科・准教授 (11301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	長沼 史登 (Naganuma Fumito) (80780519)	東北医科薬科大学・医学部・助教 (31305)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関