

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2013

課題番号：22591704

研究課題名(和文)アルツハイマー病による全身麻酔薬作用の修飾 - 疾病モデルマウス海馬における検討 -

研究課題名(英文)Modification of general anesthetic actions in hippocampus of the Alzheimer-type dementia model mice

研究代表者

廣田 弘毅 (Hirota, Koki)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・准教授

研究者番号：30218854

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー様の認知障害を示すモデルマウス(SAM-P8)および認知障害を示さない対照マウス(SAM-R1)を用い、海馬スライスでのシナプス伝達に及ぼす全身麻酔薬作用を比較検討した。反回抑制を活性化したネットワークを作成し(RIE回路)、全身麻酔薬の作用を検討した。またシナプス前終末からのGABA放出に及ぼす影響を調べた。揮発性麻酔薬および静脈麻酔薬は集合電位の振幅を抑制したが、その作用はSAM-R1よりもSAM-P8において増強していた。認知障害により全身麻酔薬作用が増強される可能性がある。これはシナプス前終末からのGABA放出促進によると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Clinical anesthesiologists have an increasing opportunity to anesthetize elderly patients with dementia. In order to investigate whether the senile dementia modifies the anesthetic actions in the central nervous systems, we have studied effects of general anesthetics on the hippocampal synaptic transmission in the senescence-accelerated mice (SAM-P8 and SAM-R1). The characteristic feature of SAM-P8 mouse shows Alzheimer-type deficits in learning and memory, whereas SAM-R1 mouse has no neurological impairment. Field population spikes of CA1 pyramidal neurons were elicited, following the activation of recurrent inhibition. The pre-pulses were applied as train stimuli to activate release and then deplete GABA. Volatile and intravenous anesthetics had greater actions on inhibitory synaptic transmission in SAM-P8 than in SAM-R1, due to the increase in GABA release from presynaptic terminals.

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：認知症 アルツハイマー病 海馬 シナプス電位 GABA 全身麻酔薬

1. 研究開始当初の背景

全世界でアルツハイマー病型認知症を罹患する患者は 1500 万人を超えるとされ、その数は高齢化が進むにつれ増加しており、大きな社会問題となっている。近年、全身麻酔薬の作用機序は細胞・分子レベルで解明されつつあり、これらの知見を基盤とした臨床麻酔への応用が急務である。

我々はこれまでに、ラット海馬スライス標本を用いた電気生理学的検討から、全身麻酔薬の作用メカニズムは麻酔薬によって異なる (Agent-specific theory) ことを明らかにした。さらにこの理論を発展させ、様々な臨床的条件の変化 (年齢、細胞外イオン濃度、低酸素負荷、刺激頻度・強度) における全身麻酔薬作用の修飾を基礎的に検討してきた (廣田弘毅: 麻酔科診療プラクティス第 20 巻。文光堂, pp10-16, 2006)。海馬体は記憶の形成に関与することから認知症研究に適している。我々がこれまで培って来た研究手法を応用して、アルツハイマー病による全身麻酔作用の修飾効果およびそのメカニズムを解明したいと考え、当該研究を着想した。

2. 研究の目的

臨床においてアルツハイマー病患者に全身麻酔をかける機会は増加すると考えられるが、アルツハイマー病による全身麻酔薬作用の修飾効果に関する基礎的知見は皆無である。当該研究では、認知症モデルマウス海馬のシナプス伝達における全身麻酔薬作用を電気生理学的に比較検討することにより、アルツハイマー病による全身麻酔作用の修飾メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

《対象》今回我々は、認知症モデルとして SAM-P8 マウス、および認知障害を示さない対照マウス (SAM-R1) を用いた。SAM-P8 は、学習・記憶障害を始めとする行動生理学的障害

を示し (Takeda T. Neurobiology Aging 1999, 20:105), 大脳皮質・海馬において A 抗体陽性タンパクが観察されることからアルツハイマー病モデルとして適切と考えられた (Takemura M, et al. Am J Pathol 1993, 142:1887)。

《電気生理学的方法》

マウスを麻酔した後、大脳を摘出し海馬スライス標本を作成した。シャーファー側枝に刺激電極を置き、CA1 錐体細胞から集合電位を細胞外記録した。海馬白板の刺激により、反回抑制を活性化したネットワークモデルを作成し (Recurrent Inhibition Enhanced Circuit: RIE 回路)、抑制性シナプス伝達を検討した (図 1)。我々の研究室で開発された Pre-pulse train 法により、シナプス前終末からの GABA 放出を促進し、認知症による全身麻酔薬作用の修飾機序を調べた。統計学的検定は paired t-test を用い、 $P < 0.05$ を有意とした。

Recurrent Inhibition Enhanced (RIE)回路

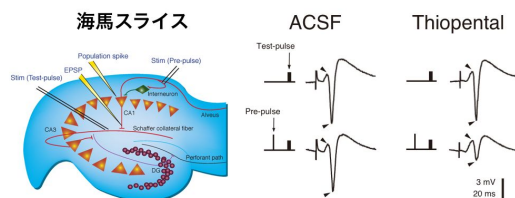


図 1: シャーファー側枝 CA1 錐体細胞樹状突起の経路は、グルタミン酸を興奮性シナプス伝達物質とする単シナプス結合である。一方、海馬白板 CA1 錐体細胞体により GABA を抑制性シナプス伝達物質とする反回性抑制経路が賦活される。この 2 つの経路を適宜電気刺激することにより、興奮性および抑制性シナプス伝達を同時に観察することができる (Asahi T, Hirota K, Sasaki R, et al.: Anesth Analg 2006; 102:772)。

4. 研究成果

認知症海馬において、抑制性シナプス伝達に及ぼす全身麻酔薬の作用が亢進していた(図2)。

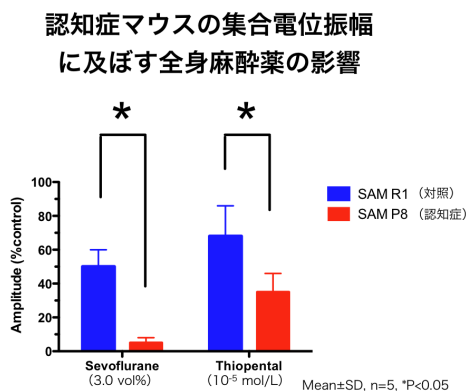


図2: RIE 回路の集合電位に及ぼすセボフルラン(3.0 vol%)およびチオペンタール(10⁻⁵ mol/L)の影響. SAM-R1(対照コントロール), SAM-P8(認知症モデルマウス). *P<0.05

SAM-P8における全身麻酔作用の促進メカニズムを明らかにする目的で、GABA放出・枯渇実験を行った(図3). SAM-P8では全身麻酔薬によるGABAの放出が促進していた。

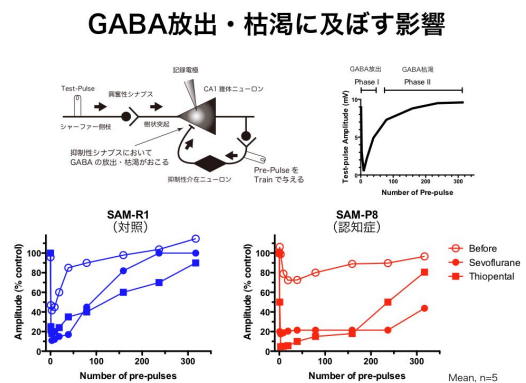


図3: GABA放出・枯渇に及ぼすセボフルラン(3.0 vol%)およびチオペンタール(10⁻⁵ mol/L)の影響. Pre-pulseをトレイン(200Hz)で抑制性介在ニューロンに適用すると、GABAの過剰放出(Phase I)および枯渇(Phase II)が観察される. Phase IおよびIIに及ぼす全身麻酔薬の作用を検討した。

以上の結果から、認知症海馬における全身

麻酔薬作用の亢進は、GABA放出の修飾およびGABA_Aレセプタの感受性変化が関与すると考えられた(図4)。

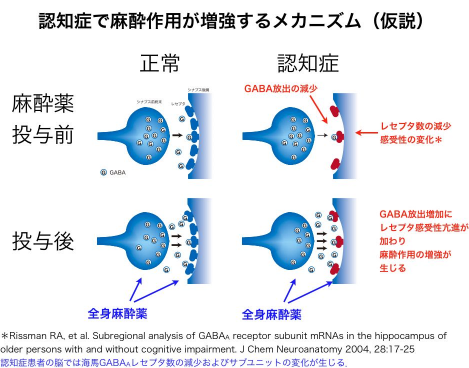


図4: 認知症における全身麻酔作用増強メカニズム

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 7件)

1. 佐々木 利佳, 廣田 弘毅: 吸入麻酔薬の作用機序. Anet 2014 (in press) 《査読なし》
2. 廣田 弘毅, 佐々木 利佳: 麻酔薬作用の修飾機序に関する電気生理学的アプローチ. 臨床麻酔 2013; 37:603-14 《査読なし》
3. Hirota K, Sasaki R, Yamazaki M: Pre-synaptic function explains age-dependent actions of general anesthetics in the rat hippocampal synaptic transmission. Toxicol In Vitro 2012; 26:872-7 《査読あり》
4. Yamada M, Sasaki R, Hirota K, Yamazaki M: Dementia enhances inhibitory actions of general anesthetics in hippocampal synaptic transmission. ISRN Anesthesiology 2011; doi:10.5402/2011/837937 《査読あり》
5. Sasaki R, Hirota K, Yamazaki M:

Effects of barbiturate and benzodiazepine on hippocampal synaptic transmission in dementia model animals. *Minerva Medica* 2011; 102S:96 《査読なし》

6. 廣田 弘毅, 佐々木 利佳: 全身麻酔薬作用の電気生理学的検討(特集「全身麻酔のメカニズム解明はどこまで進んだか?」). *麻酔* 2011; 60:574-81 《査読なし》
7. Hirota K, Sasaki R, Roth SH, Yamazaki M: Presynaptic actions of general anesthetics are responsible for frequency-dependent modification of synaptic transmission in the rat hippocampal CA1. *Anesth Analg* 2010; 110:1607-13 《査読あり》

〔学会発表〕(計 8 件)

1. 廣田 弘毅: 麻酔をめぐるミステリー . 富山大学眼科同門会 2013 年 6 月 . 富山 (招待講演)
2. 佐々木 利佳, 廣田 弘毅, 山田正名, 山崎光章: 扁桃体機能は海馬における全身麻酔薬作用を修飾する一扁桃体/海馬複合体スライスを用いた検討一 . 第 60 回日本麻酔科学会 2013 年 5 月 . 札幌 (最優秀演題賞受賞)
3. 佐々木 利佳, 廣田 弘毅, 山田正名, 山崎光章: 認知障害は海馬シナプス伝達における全身麻酔作用を増強する . 第 59 回日本麻酔科学会 2012 年 6 月 . 神戸 (優秀演題)
4. Hirota K, Sasaki R, Yamazaki M: Age-dependent effects of barbiturate and benzodiazepine on hippocampal synaptic transmission in the rats. *World Anesthesia Congress*. April 2011. Rome, Italy
5. Sasaki R, Hirota K, Yamazaki M:

Effects of barbiturate and benzodiazepine on hippocampal synaptic transmission in dementia model animals. *World Anesthesia Congress*. April 2011. Rome, Italy

6. 廣田 弘毅: 中枢シナプス伝達に及ぼす全身麻酔薬の作用とその臨床的考察(シンポジウム「臨床に役立つ麻酔メカニズム Bench to Bed, Bed to Bench」). 第 57 回日本麻酔科学会 . 2010 年 6 月, 福岡 .
7. Hirota K, Sasaki R, Iwase Y, Yamazaki M: Effects of new benzodiazepine receptor agonist, JM-1232(-), on hippocampal synaptic transmission in the elderly and dementia model animals. *The 8th International Conference on Mechanisms of Anesthesia*. Jun 2010. Toronto, Canada
8. Sasaki R, Hirota K, Iwase Y, Yamazaki M: Senile dementia enhances the actions of general anesthetics on hippocampal synaptic transmission. *The 8th International Conference on Mechanisms of Anesthesia*. Jun 2010. Toronto, Canada

〔図書〕(計 1 件)

廣田 弘毅: 麻酔をめぐるミステリー 《手術室の「魔法」を解き明かす》. 化学同人 (京都), 2012 . 総ページ数 208

〔その他〕

ホームページ
Anesthetic Mechanism
<http://doctor-koki.sakura.ne.jp>

- 6 . 研究組織
(1)研究代表者
廣田 弘毅 (HIROTA, Koki)

富山大学大学院 医学薬学研究部 (医学)・准
教授

研究者番号：30218854

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

佐々木 利佳 (SASAKI, Rika)

富山大学大学院 医学薬学研究部 (医学)・助
教

研究者番号：10345572