

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 1日現在

機関番号： 32703
 研究種目： 若手研究（B）
 研究期間： 2011 ～ 2012
 課題番号： 23791732
 研究課題名（和文）延髄呼吸リズム形成機構ニューロンへの麻酔関連薬の影響：スライスパッチ法による解析
 研究課題名（英文）Effects of anesthesia-related substance orexin on respiratory neurons in the isolated brainstem-spinal cord preparation of newborn rats
 研究代表者
 桜庭 茂樹（SAKURABA SHIGEKI）
 神奈川歯科大学・歯学部・非常勤講師
 研究者番号： 00383729

研究成果の概要（和文）：吸入麻酔薬は中枢性呼吸調節機構に作用して呼吸を抑制する。また、吸入麻酔薬の麻酔作用は GABA 受容体を介していると言われている。しかし、過去の論文では GABA 受容体を介した機序だけでは麻酔薬の作用を完全には説明できていない。最近、覚醒-睡眠サイクルを司る覚醒作用を有する神経ペプチドオレキシンが吸入麻酔薬の睡眠作用に関与していることが指摘され始めている。そこで、本研究では、新生ラット摘出脳幹標本を用いてオレキシンの中枢性呼吸調節機構における作用機序を解明した。オレキシンは前吸息性ニューロンおよび吸息性ニューロンを脱分極させるおよび膜抵抗を低下させることで中枢性呼吸調節機構を刺激していることが明らかになった。また、呼息性ニューロンを脱分極させることで呼吸サイクルを早めていることで中枢性呼吸調節機構を刺激していることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Inhibitory effects of volatile anesthetic on respiratory activities are induced through its effects on central respiratory control. Past papers indicates that volatile anesthetic are though to induce anesthetic effects by its effects on GABA receptor. However, endogenous neuropeptide orexin is recently believed to play an important role in sleep/wakefulness of anesthesia. Thus, this project analyse effects of orexin on central respiratory control using brainstem-spinal cord preparation of newborn rats. The application of Orexin B resulted in dose-dependent increases in C4 burst rate via brainstem, not via spinal cord. The increases in C4 burst rate induced concomitant increases in the depolarizing cycle rate of preinspiratory (Pre-I) neurons and inspiratory (Insp) neurons. The rhythmic bursts of C4 and Pre-I neurons finally became to be tonic, although the rhythmic bursts of Insp neurons were maintained. Expiratory (Exp) neurons were also depolarized by the application of Orexin B. Our findings indicate that Orexin B activates central respiratory activity mainly through depolarizing and increases in membrane resistance of Pre-I neurons and Insp neurons, and possibly through early start of expiratory phase induced by depolarization of Exp neurons.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,000,000	600,000	2,600,000

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：呼吸中枢、吸入麻酔薬、オレキシン

1. 研究開始当初の背景

吸入麻酔薬は中枢性呼吸調節機構に作用して呼吸を抑制する。しかし、その作用機序は

解明されていない。また、吸入麻酔薬の麻酔作用は GABA 受容体を介していると言われている。しかし、過去の論文では GABA 受容体を介した機序だけでは麻酔薬の作用を完

全には説明できていない。

2. 研究の目的

最近、覚醒-睡眠サイクルを司る覚醒作用を有する神経ペプチドオレキシンが吸入麻酔薬の睡眠作用に関与していることが指摘され始めている。そこで、本研究では、オレキシンの中枢性呼吸調節機構における作用機序を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

新生ラット (0-4 日齢) をエーテル麻酔下で解剖し、酸素化した人工脳脊髄液中 ((in mM) 126 NaCl, 5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 1.5 CaCl₂, 1.3 MgSO₄, 26 NaHCO₃ and 30 glucose) で脳幹脊髄を摘出する。レコーディングチャンバーに固定し、酸素化した脳幹脊髄標本で灌流させて実験を行う。

C4 根をガラス管で吸引し、呼吸数、呼吸振幅の指標として記録する。

呼吸ニューロンは前吸息性ニューロン、吸息性ニューロン、呼息性ニューロンをパッチクランプ法で記録する。

実験1

オレキシンのC4への作用を調べる。C4の記録が安定したら、コントロール人工脳脊髄液をオレキシン0.01 μ M、0.1 μ M、1.0 μ M溶解した人工脳脊髄液に切り替えてC4への作用を解析する。

実験2

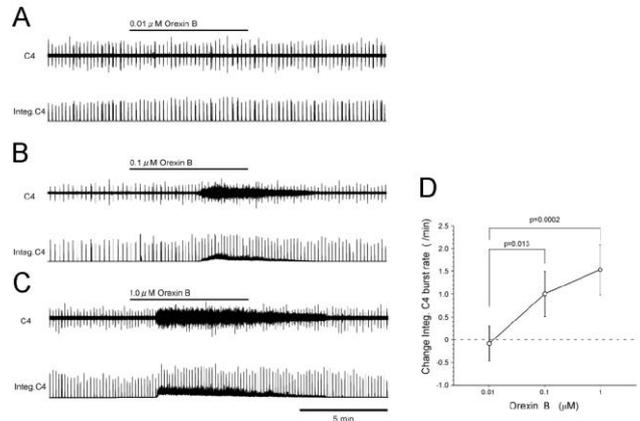
新生ラット脳幹脊髄標本をアクリル板で、脳幹と脊髄で仕切り、別々に灌流させる。灌流液はそれぞれコントロール人工脳脊髄液とオレキシン0.1 μ Mを溶解させた人工脳脊髄液を用いて、オレキシンの作用側が脳幹か脊髄か調べる。

実験3

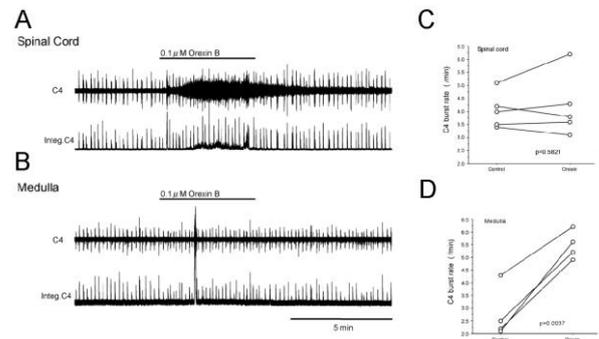
C4、前吸息性ニューロン、吸息性ニューロン、呼息性ニューロンをパッチクランプ法で記録しながら、灌流液をコントロール人工脳脊髄液からオレキシン溶解人工脳脊髄液に切り替え、オレキシンの呼吸ニューロンへの作用を検討する。

4. 研究成果

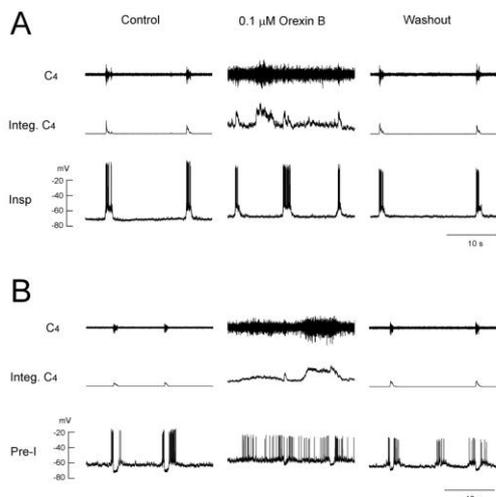
実験1より、オレキシンは用量依存性に中枢性呼吸調節機構を刺激し呼吸数 (C4)を増加させた。



また、実験2より摘出脳幹標本を脳幹側、脊髄側に分けて作用部位を調べ、オレキシンは脳幹側に作用していることが明らかになった。



最後に、実験3でパッチクランプを用いてオレキシンの吸息性、前吸息性、呼息性ニューロンへの作用を調べ、呼吸数の増加は前吸息性ニューロン、吸息性ニューロンの脱分極サイクルの増加と同期していることが明らかになった。オレキシンの作用により、前吸息性ニューロンとC4はトーニックになったが、吸息性ニューロンの活動は維持された。呼息性ニューロンはオレキシンにより脱分極した。



よって、本研究結果より、オレキシンは前吸
息性ニューロンおよび吸息性ニューロンを
脱分極させるおよび膜抵抗を低下させるこ
とで中枢性呼吸調節機構を刺激しているこ
とが明らかになった。また、呼息性ニュー
ロンを脱分極させることで呼息サイクルを早
めていることで中枢性呼吸調節機構を刺激
していることが明らかになった。

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0件)

[学会発表] (計1件)

**Kuwana S, Sugita T, Kaku Y, Arisaka H,
Sakuraba S**

**Orexin induces excitation of respiratory neuron
neuronal network in the isolated brainstem-spinal
cord of neonatal rat**

International Brain Research 2012.8.16

[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

桜庭 茂樹 (SAKURABA SHIGEKI)

神奈川歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：00383729