

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593068

研究課題名(和文)脳ニューラルネットワーク機構からの新しい歯科治療ストレス軽減法の開発

研究課題名(英文)Development of new dental treatment stress reduction method from the brain neural network mechanism

研究代表者

河原 博(Kawahara, Hiroshi)

鶴見大学・歯学部・教授

研究者番号：10186124

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：急性ストレスである歯科治療ストレスを想定したストレスモデルによって、ストレスラーが生体にストレスを生じる脳内過程と、その脳内過程に対する精神鎮静法薬や急性ストレスを軽減する可能性のある薬物の作用について検討を行った。

その結果、急性ストレスによる脳内神経活動の変化と、その神経活動の変化に対する精神鎮静法薬、さらにストレス軽減作用を持つと考えられる新たな薬物の作用を明らかとした。

研究成果の概要(英文)：We studied effects of the acute stress on neural activity in the rat brain. The actions of the anxiolytic and sedatives on the central nervous system have been studied by microdialysis. This approach has shown that anxiolytic and sedatives suppress the accentuation of the locus coeruleus - medial prefrontal cortex neural activity, the accentuation of the ventral tegmental area - nucleus accumbens neuron activity, and the accentuation of the raphe - amygdala neuron activity in the stress state.

研究分野：歯科麻酔学

キーワード：ストレス 神経科学 脳・神経 薬理学 歯学 精神鎮静法 抗不安薬 マイクロダイアリス

### 1. 研究開始当初の背景

歯科治療はストレスを引き起こすいわゆるストレスラーとなることが少なくない。全身疾患（高血圧症や狭心症、脳血管疾患など）の急性増悪や発作の発症、過換気症候群、血管迷走神経反射など、歯科治療中に発生する全身的偶発症の原因としてストレスは重要な因子でもある。このため歯科麻酔科臨床では、ベンゾジアゼピン系薬、静脈麻酔薬、最近ではノルアドレナリン受容体の一つである<sup>2A</sup>受容体の作動薬を用いた静脈内鎮静法が、歯科治療ストレスを軽減させる方法として行われている。

しかしながら、現在用いられている静脈内鎮静法薬は、鎮静作用以外にも種々の薬理作用を持ち、術中の呼吸抑制や、筋弛緩作用による舌根沈下、術後のふらつき、注意力低下、<sup>2A</sup>受容体作動薬では、循環抑制作用などの臨床的に問題となる副作用も発現する。そのため、静脈内鎮静法の施行にあたっては、気道確保や呼吸管理、循環管理などの全身管理に習熟していることが必要とされている。これらの理由から、静脈内鎮静法は歯科治療ストレス軽減法として有用な方法でありながら、またわが国では診療報酬点数表に掲載されて（いわゆる保険適応）久しいにもかかわらず、一般歯科臨床で広く用いられるまでには至っていない。

### 2. 研究の目的

歯科麻酔科臨床では、ベンゾジアゼピン系薬や静脈麻酔薬、最近では<sup>2A</sup>受容体作動薬を用いた静脈内鎮静法が歯科治療ストレスを軽減させる方法として行われている。これらの静脈内鎮静法薬の中樞神経系作用機序に関する国内外の研究は、脳内抑制性アミノ酸神経系である $\gamma$ -アミノ酪酸（以下、GABA）神経系の受容体の一つGABA<sub>A</sub>受容体を構成するサブタイプと呼ばれる受容体構成蛋白への親和性や作用に関する研究、単一単離ニューロンを用いた研究、細胞内情報伝達系に関する研究など*in vitro*での研究が中心に行われており、*in vivo*での研究は特定脳部位の一つの神経系活動への作用が主な研究対象となっている。<sup>2A</sup>受容体作動薬に関する国内外の研究も同様な*in vitro*での研究、あるいは*in vivo*での特定脳部位の特定の神経系活動への作用を中心に行われている。

これらの国内外の研究で、静脈内鎮静法薬の中樞神経系に対する数々の知見が得られてきたことは言うまでもない。しかしながら、高次脳機能と深い関わりをもつ精神鎮静法薬の中樞神経系作用発現機構の全貌を解明することは、これら従来の研究手法のみからでは困難である。なぜならば、ストレスを認知する機構、不安や恐れなどの情動発現機構、循環系や内分泌代謝系など自律神経系の中樞性調節機構、外的刺激をストレスラーとして学習、記憶する機構、このような精神鎮静法薬の中樞神経系作用機構に関連の深い高次脳機

能は、細胞内情報伝達系や受容体、あるいは特定脳部位の一つの神経系によって形成されているのではなく、複数脳部位の複数神経系から構成されるニューラルネットワークによって形成されているからである。

以上のような静脈内鎮静法薬の中樞神経系作用機構に関する国内外の研究動向から、デュアルプローブ・マイクロダイアリシス（脳内の2部位にマイクロダイアリシスを同時に行い、複数の脳神経系活動動態を観察する）を用いることにより高次脳機能を形成するニューラルネットワーク機構への、ストレス、そして現在用いられている精神鎮静法薬の作用を検討した。

### 3. 研究の方法

広く認められた信頼性の高い脳図譜が発表され、デュアルプローブ・マイクロダイアリシスの可能な研究動物としてウイスター系ラットを用いた。

ペントバルビタール全身麻酔下に、ラットに外頸静脈カニューレ手術を行った。カニューレ手術後、脳定位固定装置を用いて目的とする脳部位に挿入した。

ペントバルビタール麻酔覚醒 24 時間以降に、無麻酔、無拘束、自由行動状態のラットにマイクロダイアリシスシリジポンプによってマイクロダイアリシス灌流液の灌流を開始した。灌流は、挿入したプローブに同時に行った。透析により脳内からプローブ内に流入してくるシナプス間隙に存在する神経伝達物質を含む灌流液を、オートインジェクターによって、高速液体クロマトグラフィーに注入した。高速液体クロマトグラフィーに注入する灌流液サンプル中のノルアドレナリン、ドーパミン、セロトニンを、高速液体クロマトグラフィー用 ODS 逆相系分離カラムを用いて分離し、マイクロダイアリシス用電極を装着した電気化学検出器で定量した。

各種薬剤を静脈内投与し、ストレスのない自由行動状態、ストレスを負荷した状態での神経伝達物質の変動を検討した。

ラットを安楽死させた後、摘出した脳から標本作製してプローブ部位の組織学的検証を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 急性ストレス時の脳内変化

セロトニン神経系では、その細胞体部位である背側縫線核と神経終末部位である大脳皮質前頭前大脳皮質前頭前野、扁桃体基底外側核、扁桃体中心核、背側海馬のセロトニン神経活動が亢進した。

ノルアドレナリン神経系では、その細胞体部位である青班核と神経終末部位である大脳皮質前頭前野、扁桃体基底外側核のノルアドレナリン神経活動が亢進した。

ドーパミン神経系では、その細胞体部位で

ある腹側被蓋野と神経終末部位である大脳皮質前頭前野、側坐核のドーパミン神経活動が亢進した。

## (2) 薬剤投与時の脳内変化

### ベンゾジアゼピン

青斑核への投与により、青斑核のノルアドレナリン、さらに大脳皮質前頭前野ノルアドレナリン、ドーパミン、扁桃体のノルアドレナリン神経活動を抑制した。次に、青斑核にベンゾジアゼピンを持続投与しながらストレス負荷を行ったところ、ベンゾジアゼピンは、ストレスによる青斑核と大脳皮質前頭前野、扁桃体のノルアドレナリン神経活動の亢進をほぼ抑制し、大脳皮質前頭前野のドーパミン神経活動を軽度抑制した。

腹側被蓋野への投与により、腹側被蓋野のドーパミン、さらに大脳皮質前頭前野、側坐核のドーパミン神経活動を抑制した。次に、腹側被蓋野にベンゾジアゼピンを持続投与しながらストレス負荷を行ったところ、ベンゾジアゼピンは、ストレスによる腹側被蓋野と大脳皮質前頭前野、側坐核のドーパミン神経活動の亢進をほぼ抑制した。

背側縫線核への投与により、縫線核のセロトニン、さらに大脳皮質前頭前野、扁桃体、背側海馬のセロトニン神経活動を抑制した。次に、背側縫線核にベンゾジアゼピンを持続投与しながらストレス負荷を行ったところ、ベンゾジアゼピンは、ストレスによる背側縫線核と大脳皮質前頭前野、扁桃体のセロトニン神経活動の亢進をほぼ抑制した。

### 2A 受容体作動薬

青斑核への投与により、青斑核のノルアドレナリンのシナプス間隙量を増加させ、大脳皮質前頭前野ノルアドレナリン、ドーパミン、扁桃体のノルアドレナリン神経活動を抑制した。次に、青斑核に 2A 受容体作動薬を持続投与しながらストレス負荷を行ったところ、2A 受容体作動薬は、ストレスによる大脳皮質前頭前野、扁桃体のノルアドレナリン神経活動の亢進をほぼ抑制し、大脳皮質前頭前野のドーパミン神経活動を軽度抑制した。

腹側被蓋野への投与により、腹側被蓋野のドーパミンのシナプス間隙量を増加させ、大脳皮質前頭前野、側坐核のドーパミン神経活動を抑制した。次に、腹側被蓋野に 2A 受容体作動薬を持続投与しながらストレス負荷を行ったところ、2A 受容体作動薬は、ストレスによる大脳皮質前頭前野、側坐核のドーパミン神経活動の亢進をほぼ抑制した。

背側縫線核への投与により、背側縫線核のセロトニンのシナプス間隙量を増加させ、大脳皮質前頭前野、扁桃体のセロトニン神経活動を抑制した。次に、背側縫線核に 2A 受容体作動薬を持続投与しながらストレス負荷を行ったところ、2A 受容体作動薬は、ストレスによる背側縫線核と大脳皮質前頭前野、

扁桃体のセロトニン神経活動の亢進をほぼ抑制した。

## 5. 主な発表論文等

### [雑誌論文](計3件)

Kishikawa Y, Kawahara Y, Yamada M, Kaneko F, Kawahara H, Nishi A, The spontaneously hypertensive rat/lzm (SHR/lzm) shows attention deficit/hyperactivity disorder-like behaviors but without impulsive behavior: Therapeutic implications of low-dose methylphenidate, Behavioural Brain Research, 査読有, 2014, 274,235-242  
DOI: 10.1016/j.bbr.2014.08.026

Yamada M, Kawahara Y, Kaneko F, Kishikawa Y, Sotogaku N, Popping WJ, Folgering JHA, Dremencov E, Kawahara H, Nishi A, Upregulation of the dorsal raphe nucleus-prefrontal cortex serotonin system by chronic treatment with escitalopram in hyposerotonergic Wistar-Kyoto rats, Neuropharmacology, 査読有, 2013,72,169-178  
DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.04.044

Kawahara Y, Kaneko F, Yamada M, Kishikawa Y, Kawahara H, Nishi A, Food reward-sensitive interaction of ghrelin and opioid receptor pathways in mesolimbic dopamine system, Neuropharmacology, 査読有 2013,67,395-402  
DOI: 10.1016/j.neuropharm.2012.11.022

### [学会発表](計9件)

Kawahara Y, Shuto T, Hanada Y, Kawahara H, Nishi A, Chronic treatment with fluoxetine suppresses the stress response of serotonin by up-regulating dopamine D1 receptor signaling in the DG, 第25回マイクロダイアリス研究会, 2014/12/20, お茶の水女子大学(東京都)

河原 博, 有病者の安全な周術期管理 歯科外科治療時の周術期管理総論, 第23回有病者歯科医療学会学術大会, 2014/3/22-23, 福岡国際会議場(福岡県・福岡市)

Kishikawa Y, Kawahara Y, Yamada M, Kaneko F, Kawahara H, Nishi A, Effects of low-dose methylphenidate on

attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD)-like behaviors in the spontaneously hypertensive rat, an animal model of ADHD  
第 24 回マイクロダイアリシス研究会,  
2013/12/14, お茶の水女子大学(東京都)

Kawahara Y, Kaneko F, Yamada M, Kishikawa Y, Kawahara H, Nishi A, Food reward-sensitive interaction of ghrelin and opioid receptor pathways in mesolimbic dopamine system,  
第 43 回日本精神神経薬理学会年会,  
2013/10/24-26, 沖縄コンベンションセンター(沖縄県・宜野湾市)

河原幸江, 金子富美, 山田麻記子, 岸川由紀, 河原博, 西 明德,  
グレリンの脳内オピオイドを介した食物報酬に関する中脳辺縁系ドーパミン神経調節,  
第 15 回ブレインサイエンス研究会,  
2013/6/1-2, 福岡国際会議場(福岡県・福岡市)

Yamada M, Kawahara Y, Kaneko F, Kishikawa Y, Kawahara H, Nishi A, Comparison of serotonergic system in WKY and Wistar rats,  
第 86 回日本薬理学会年会, 2013/3/21-23,  
福岡国際会議場(福岡県・福岡市)

Kawahara Y, Kaneko F, Yamada M, Kishikawa Y, Kawahara H, Nishi A, Food reward-sensitive interaction of ghrelin and opioid receptor pathways in mesolimbic dopamine system,  
第 86 回日本薬理学会年会, 2013/3/21-23,  
福岡国際会議場(福岡県・福岡市)

Yamada M, Kawahara Y, Kaneko F, Kishikawa Y, Kawahara H, Nishi A, Altered responses of serotonergic system to acute and chronic escitalopram in WKY rats,  
第 23 回マイクロダイアリシス研究会,  
2012/12/8, お茶の水女子大学(東京都)

Kawahara Y, Kaneko F, Yamada M, Kishikawa Y, Kawahara H, Nishi A, Systemic ghrelin associated with food reward regulates mesolimbic dopamine system via modulation of kappa and mu opioid receptor pathways,  
第 39 回日本脳科学学会学術集会,  
2012/10/6-7, リーガロイヤルホテル小倉  
(福岡県・北九州市)

〔図書〕(計 1 件)

河原幸江, マイクロダイアリシス研究会,  
分子のささやきを聞く マイクロダイアリシス研究の歩みと展開, 2014, 67-74

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

河原 博 (KAWAHARA Hiroshi)  
鶴見大学・歯学部・教授  
研究者番号: 10186124

### (2) 研究分担者

河原 幸江 (KAWAHARA Yukie)  
久留米大学・医学部・講師  
研究者番号: 10279135

阿部 佳子 (ABE Keiko)  
鶴見大学・歯学部・講師  
研究者番号: 30401334

原野 望 (HARANO Nozomu)  
九州歯科大学・歯学部・助教  
研究者番号: 50423976

### (3) 連携研究者

なし