

論文要旨等報告書

氏	新井 由起子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与の番号	博 甲 第 3 8 4 6 号
学位授与の日付	平成 2 1 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	中枢神経興奮薬によるマウス脳の酸化と静脈麻酔薬の影響について
論文審査委員	教授 北山 滋雄 教授 杉本 朋貞 教授 宮脇 卓也

学位論文内容の要旨

緒言

高齢社会を迎え、合併症を持つ患者の手術・麻酔症例が増加している。それとともに術後の脳卒中、術後高次脳機能障害 postoperative cognitive dysfunction (POCD) および譫妄が増加しており、60歳以上の手術患者ではPOCDのリスクが増加することがわかっている。POCDや譫妄の発症には酸化反応が関与していることが示唆されている。一方で、麻酔薬の脳保護作用についての研究がみられるが、脳の酸化モデルが十分に確立されていないため、脳の酸化反応に対する麻酔薬の影響に関しては十分解明されていない。そこで、本研究では、脳酸化モデルを作成し、脳の酸化反応に対する静脈麻酔薬の影響をみることを目的とした。脳酸化モデル作成にあたっては、中枢神経興奮薬投与によって脳に酸化反応が誘発されることが報告されていることより、中枢神経興奮薬による痙攣モデルを応用することを考えた。中枢神経興奮薬として、Pentylentetrazol (以下 PTZ) と Picrotoxin (以下 PTX) を用い、痙攣および酸化反応を誘発した。酸化反応の指標として、ヘムの代謝酵素である Heme oxygenase-1 (以下 HO-1) の遺伝子発現と、脂質過酸化生成物である Malondialdehyde (以下 MDA) の産生量を測定し、中枢神経興奮薬によって誘発された酸化反応に対する静脈麻酔薬の影響について調べた。

材料・方法

対象として、6~8週齢の雄 Slc:ddY クリーンマウスを使用した。中枢神経興奮薬として、PTZ は 60mg/kg body weight, PTX は 7.5mg/kg body weight を腹腔内投与した。中枢神経興奮薬投与後 30 分間観察し、痙攣の評価を行った。中枢神経興奮薬投与後 1, 3, 6, 12 時間後に断頭し、脳組織を大脳皮質、海馬、視床下部に分けて取り出し Real-time RT-PCR 法によって、HO-1 mRNA 発現量を測定した。内部標準物質は beta-actin mRNA を使用した。MDA 産生量については、中枢神経興奮薬投与後 1 時間後に頸椎脱臼し、生理食塩水で灌流を行い断頭、大脳中央部（大脳皮質、海馬、中脳、視床下部、線条体を含む）を採取し、MDA 測定キットを用いて測定した。静脈

麻酔薬として、Phenobarbital（以下PB）25mg/kg body weight と Midazolam（以下MDZ）70mg/kg body weight を用い、中枢神経興奮薬投与 15 分前に腹腔内投与した。痙攣の評価、HO-1 mRNA 発現量および MDA 産生量の測定を行い、静脈麻酔薬の影響を評価した。

統計処理は、one-way ANOVA と Dunnett post hoc test または Bonferroni post hoc test を用い、 $p < 0.05$ で有意差ありとした。

結果

中枢神経興奮薬によりすべてのマウスで痙攣が誘発され、PB は PTZ と PTX の両者の痙攣を有意に抑制した。MDZ は PTZ の痙攣を有意に抑制したが、PTX の痙攣を抑制しなかった。大脳皮質において、PTZ 投与後 HO-1 遺伝子発現は有意な増加はみられなかったが、PTX 投与後は経時的に増加し 6 時間後にピークがみられた。海馬において、PTZ および PTX 投与後 HO-1 遺伝子発現は経時的に増加し 3 時間後にピークがみられた。視床下部において、PTZ 投与後 HO-1 遺伝子発現は明らかな増加はみられなかったが、PTX 投与後は経時的に増加し 3 時間後にピークがみられた。中枢神経興奮薬投与により HO-1 遺伝子発現の増加が 3 時間後の海馬で共通してしてみられたため、3 時間後の海馬における、静脈麻酔薬による影響を調べた。その結果、PTZ による HO-1 遺伝子発現の増加は PB と MDZ の両者で抑制された。一方、PTX による HO-1 遺伝子発現の増加は PB によって抑制されたが、MDZ では抑制されなかった。PTZ 投与後の大脳中央部において MDA 産生量を測定した結果、1 時間後に MDA 産生量の増加がみられ、PB と MDZ は PTZ による MDA 産生の増加を抑制した。一方、PTX 投与後 1 時間後の大脳中央部では MDA 産生量の増加はみられなかった。

結論

中枢神経興奮薬である PTZ と PTX をマウスに投与したところ、痙攣が出現し、脳に酸化反応が認められた。酸化反応の指標としては、HO-1 遺伝子発現が鋭敏であり、麻酔薬の影響を調べるのに有用な脳酸化モデルであることが示された。さらに、この方法を用いて静脈麻酔薬である PB と MDZ の脳酸化反応への影響を調べた結果、PB と MDZ は脳において、抗酸化作用を有していることが示唆された。しかし、脳の部位や薬物の種類によって効果に違いがみられ、今後さらに検討が必要であると考えられた。

論文審査結果の要旨

本研究は、GABA_A受容体遮断作用を持つ中枢神経興奮薬で誘発された痙攣および脳酸化反応に対して、静脈麻酔薬の影響をみたものである。実験では、マウスに中枢神経興奮薬としてPentylentetrazol (以下PTZ) とPicrotoxin (以下PTX) を腹腔内投与し、痙攣の程度を評価し、酸化反応の指標としてHeme oxygenase-1 (以下HO-1) の遺伝子発現と、Malondialdehyde (以下MDA) の産生をみている。また、静脈麻酔薬としてPhenobarbital (以下PB) とMidazolam (以下MDZ) を使用して、痙攣および脳酸化反応に対する抑制効果を検証している。実験の結果、PTZ, PTXにより痙攣が惹起され、HO-1遺伝子発現が増加し脳酸化反応を認めた。MDA産生に関しては、PTZでは増加したが、PTXでは変化がみられなかった。静脈麻酔薬の影響については、PBはPTZ, PTXによる痙攣およびHO-1遺伝子発現を有意に抑制したが、MDZはPTXによる痙攣およびHO-1遺伝子発現を抑制しなかった。また、PTZにより増加したMDAの産生は、PB, MDZにより抑制した。これらのことから、本研究で用いた中枢神経興奮薬投与による痙攣マウスは脳酸化モデルとして有用であり、静脈麻酔薬の抗酸化作用が示唆された。

近年麻酔科領域では、術後の脳卒中、術後高次脳機能障害postoperative cognitive dysfunction (POCD) および譫妄が増加してきており、これらは脳の酸化反応が関与していることが示唆されている。脳における麻酔薬の抗酸化作用の研究を行うためには脳酸化モデルが必要であり、本研究をさらに進めることにより、脳酸化モデルの確立および麻酔薬の抗酸化作用の解明に寄与するものとなり得る。

よって、審査委員会は本論文に博士（歯学）の学位論文としての価値を認める。