

論文内容要旨

ラット脊髄後角神経からのサブスタンス P 遊離
に及ぼす静脈麻酔薬の影響
—脊髄後根神経節(DRG)培養細胞及び脊髄後角
組織(chopped tissue)を用いた研究—

主指導教員：入船 正浩教授

(統合健康科学部門 歯科麻酔学)

副指導教員：兼松 隆教授

(基礎生命科学部門 細胞分子薬理学)

副指導教員：内田 隆教授

(基礎生命科学部門 口腔細胞生物学)

小川 雄也

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

全身麻酔薬が脳や脊髄に可逆的に作用することにより起こる麻酔状態は、健忘、鎮静、意識消失、鎮痛、侵害刺激による体動の抑制（不動化）、自律神経反射の抑制などの要素からなる。各麻酔構成要素がどのような作用機序を介して生じているのかは今のところよくわかっていないが、全身麻酔作用は、GABA(γ -aminobutyric acid)神経やグリシン神経などの抑制性神経を促進するか、グルタミン酸神経などの興奮性神経を抑制するか、あるいはその両方により生じると考えられている。当研究室では、GABA分解酵素阻害薬である gabaculine の投与により GABA 神経を選択的に促進したり、グルタミン酸受容体サブタイプの 1 つ NMDA(N-methyl-D-aspartate)受容体の拮抗薬である MK-801 とドパミン受容体拮抗薬の haloperidol を併用し興奮性神経を抑制したりすると、意識(正向反射)消失は生じるが不動化は起きないことをすでに明らかにしている。一方、侵害刺激の情報伝達にサブスタンス P が重要な役割を果たしており、侵害刺激による一次知覚神経からのサブスタンス P の遊離はオピオイド受容体作動薬 morphine により抑制される。このことは、全身麻酔薬による鎮痛・不動化作用にサブスタンス P が重要な役割を果たしている可能性を示唆している。そこで、本研究では、静脈麻酔薬が脊髄後角神経からのサブスタンス P 遊離にどのような影響を及ぼすか脊髄後根神経節 (DRG) 培養細胞と脊髄後角組織(chopped tissue)を用いて検討し、全身麻酔における鎮痛・不動化作用とサブスタンス P 遊離の関係を解明することを目的とした。

行動薬理学実験では、実験動物として ddY 系成熟雄性マウスを用い、全ての薬物は全身投与した。全身麻酔作用の評価では、Haffner 法による痛みの消失（鎮痛作用）の 50%有効量(ED₅₀)と侵害刺激による体動の消失（不動化作用）の ED₅₀を算定した。

DRG 初代培養細胞を用いた実験では、Wistar 系成熟ラットから DRG 細胞を取り出し初代培養を 1 週間行った後、capsaicin 刺激もしくは高濃度 K⁺刺激による DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離に及ぼす静脈麻酔薬と morphine の影響を検討した。DRG 培養細胞から遊離したサブスタンス P 量はラジオイムノアッセイ法で測定した。DRG 細胞は侵害受容器と神経終末の両軸索を持つが、他の神経とのシナプスは有していない。

脊髄後角組織を用いた実験では、Wistar 系成熟ラットから L4-L5 相当部の脊髄を取り出した後に細かく刻み、この組織を用いて DRG 初代培養細胞と同様の実験を行った。DRG 細胞とは異なり、この組織には他の神経との多数のシナプスがあると考えられる。

実験結果と結論を以下に示す。

1. Gabaculine あるいは MK-801 と haloperidol の併用による正向反射消失下のマウスにおける不動化に必要な morphine の ED₅₀は、morphine による鎮痛の ED₅₀より大きかった。
2. DRG 培養細胞を用いた実験では、capsaicin 刺激あるいは高濃度 K⁺刺激によりサブスタンス P 遊離量は有意に増加したが、静脈麻酔薬である GABA_A 受容体に作用する propofol, NMDA 受容体拮抗薬 ketamine および morphine はサブスタンス P 遊離に影響を及ぼさなかった。

3. 脊髄後角組織に対する **capsaicin** 刺激あるいは高濃度 **K⁺**刺激によりサブスタンス P 遊離量は有意に増加したが、この増加作用は **morphine** により有意に抑制された。**Propofol** によりサブスタンス P 遊離量は濃度依存性に増加し、この **propofol** によって促進されたサブスタンス P 遊離は **morphine** によって濃度依存性に抑制された。一方、**ketamine** はサブスタンス P 遊離に影響しなかった。

侵害刺激受容後、視床下部から痛みを制御するよう下部神経へ指令が送られるが、これを下行性疼痛抑制系と呼んでいる。この系を介しオピオイド神経は脊髄後角において一次知覚神経とシナプスを形成し、痛みの伝導路である一次知覚神経からの入力をシナプス前抑制することで侵害刺激によるサブスタンス P 遊離を制御している。**Morphine** はこの部位に作用してサブスタンス P 遊離を抑制することにより鎮痛作用を生じると考えられている。本研究により、**GABA** 神経の促進や **NMDA** とドパミン両受容体の遮断による正向反射消失下では、鎮痛に比べ不動化に必要な **morphine** の用量が増加することが明らかになった。このことは、これらの処置が下行性疼痛抑制系を抑制している可能性を示唆している。しかし、**morphine** は **DRG** 細胞からの **SP** 遊離に影響しなかった。これは **DRG** 培養細胞が脊髄後角組織と異なりオピオイド神経からの入力がないことを示している。**Propofol** が脊髄後角組織からのサブスタンス P 遊離を促進する機序はよくわからないが、この促進作用はオピオイド神経刺激によりリバーサされること示された。**Propofol** は **GABA** 神経を促進すると考えられていることから、少なくとも部分的には、この部位で下行性疼痛抑制系を抑制しているのかも知れない。以上より、全身麻酔に使用される薬物は一次知覚神経からのサブスタンス P 遊離に影響を及ぼすことが明確になった。