

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	菊池 友香
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
各種神経作動薬による行動薬理作用と脳波・筋電位変化の関係解析			
論文審査担当者			
主査	教授	杉田 誠	印
審査委員	教授	津賀 一弘	
審査委員	教授	森岡 徳光	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>全身麻酔薬による薬理作用は、健忘、意識消失、鎮痛、骨格筋弛緩、侵害刺激による体動の抑制（不動化）など種々の要素からなるが、各麻酔要素がどのような作用機序により引き起こされているのか今のところ明確ではない。しかし、全身麻酔作用はGABA (γ-aminobutyric acid) 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ていると考えられている。当研究室では、これまでに、GABA_A受容体に作用する静脈麻酔薬の pentobarbital、興奮性アミノ酸受容体サブタイプの一つである NMDA (N-methyl-D-aspartic acid) 受容体チャネルを遮断する静脈麻酔薬の ketamine やグルタミン酸遊離抑制薬の riluzole が用量依存性にマウスの正向反射を消失させることや、選択的 NMDA 受容体チャネル遮断薬の MK-801 が低用量のドパミン D₂ 受容体拮抗薬 haloperidol を前投与しておくとも用量依存性に正向反射を消失させることを明らかにしてきた。しかし、これまで当研究室で意識消失の指標として用いてきた正向反射消失は筋弛緩作用でも起こり得るため、正確さに欠ける可能性がある。意識消失の指標としては他に臨床でも用いられている脳波解析があり、覚醒時と薬物投与後の脳波・筋電位変化を比較、解析することで、脳の活動を客観的に捉えることができるといわれている。</p> <p>そこで、本研究では、pentobarbital、ketamine、riluzole および MK-801 について、同程度の正向反射消失時間を示す用量を投与した場合の正向反射消失時間と、脳波・筋電位解析で求めた睡眠時間の関係を調べ、脳波・筋電位解析が意識消失の指標として有効であるか検討した。</p> <p>実験動物として ddY 系成熟雄性マウスを用い、薬物は全て腹腔内に投与した。正向反射消失実験では、薬物を投与した直後にマウスを一匹ずつビーカーに入れ、2分毎にビーカーの底面を水平面から約 45 度傾けることでマウスの背部を下にさせる操作を 3 回連続して行った。各薬物について種々の用量を投与し、3 回とも 10 秒以内に正位に戻らなかった場合を正向反射消失とみなした。次に、各薬物の正向反射消失が 30 分程度持続する用量を求め、それらを投与した際のマウスの脳波と筋電位を測定、記録した。睡眠解析研究用プログラムの Sleep Sign を用いて、薬物投与後 10 分毎の各周波数帯の脳波の average FFT 値と筋電位積分値を解析し、睡眠時間を求めた。なお、マウスの脳波は、周波数帯によって delta (δ; 0.65-4 Hz)、theta (θ; 6-10 Hz)、alpha (α; 10-12 Hz)、beta (β; 12-20 Hz)、gamma (γ; 20-40 Hz) に分類し、δ 波と θ 波の両 FFT 値が増大し、筋電位積分値が低下している状態を睡眠とみな</p>			

した。最終的には、観察者がこれらを総合して判断した。

結果を以下に示す。

1. Pentobarbital、ketamine と riluzole の単独、あるいは MK-801 と haloperidol (0.2 mg/kg)前投与の併用では、それぞれ用量依存性にマウスの正向反射を消失させた。しかし、MK-801 単独では高用量(50 mg/kg)でも正向反射の消失を認めなかった。
2. 正向反射消失が 30 分程度持続する用量は、それぞれ pentobarbital が 40 mg/kg、ketamine が 150 mg/kg、riluzole が 30 mg/kg、haloperidol を前投与した MK-801 が 3 mg/kg であったため、これらの用量を投与した各薬物について投与前後の脳波と筋電位を測定した。また、正向反射消失は生じなかったが、低用量の pentobarbital (20 mg/kg)と MK-801 (3 mg/kg)単独投与についても脳波・筋電位変化を検討した。
3. 高用量の pentobarbital (40 mg/kg)と ketamine (150 mg/kg)は、脳波上有意な δ 波と θ 波の FFT 値の増大と筋電位積分値の低下があり、脳波・筋電位解析による睡眠を認めた。正向反射消失時間との比較では、両静脈麻酔薬とも睡眠時間とほぼ一致した。
4. 一方、低用量の pentobarbital (20 mg/kg)は θ 波の FFT 値の有意な増大を認めたが、 δ 波の増大と筋電位積分値の低下はなく、脳波上睡眠はみられなかった。
5. また、MK-801 (3 mg/kg)単独では δ 波の FFT 値の有意な増大のみを認めた。しかし、低用量の haloperidol (0.2 mg/kg)を前投与すると、正向反射は消失し脳波上睡眠を認めた。正向反射消失時間と睡眠時間はほぼ一致したが、筋電位で体動がみられたことから、睡眠とは確定できなかった。Haloperidol 投与後の各周波数帯の FFT 値と筋電位積分値は投与前と比べ変化はなかった。
6. Riluzole は正向反射消失を引き起こし、筋電位積分値を有意に低下させたが、すべての周波数帯で FFT 値が低下しており、脳波上睡眠とは認められず、昏睡をもたらした可能性があった。

以上より、作用部位の異なる 2 つの静脈麻酔薬については、ketamine は意識消失時に脳波上大脳皮質が抑制される一方で大脳辺縁系が賦活され、pentobarbital などのバルビツレートによる脳波変化とは異なるといわれているが、今回の実験では両薬物とも同様の脳波・筋電位変化を示し、睡眠時間と正向反射消失時間も一致した。MK-801 も、ドパミン D₂受容体を遮断しておくこと、これらの静脈麻酔薬と同様の脳波変化を示したが、ドパミン神経刺激による運動亢進作用が強いためか、筋電位積分値は低下しなかった。逆に、riluzole では、体動は完全に抑制されていたが、睡眠を示す脳波は認めなかった。今回の実験から、行動薬理学上正向反射消失を認める場合であっても、必ずしも電気生理学上脳波・筋電位解析での睡眠を認めないことがあることが示唆された。

以上の結果から、本論文は、正向反射消失を認める場合であっても脳波・筋電位解析上睡眠を認めないことがあることを示した。また、全身麻酔薬による意識消失を評価する場合、睡眠と麻酔状態が異なることをふまえて、脳波・筋電位解析を行う際には今回用いた睡眠の定義は再考する必要があることを示唆した。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 歯学 ）	氏名	菊池 友香
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
各種神経作動薬による行動薬理作用と脳波・筋電位変化の関係解析			
最終試験担当者			
主 査	教授	杉田 誠	印
審査委員	教授	津賀 一弘	
審査委員	教授	森岡 徳光	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成29年12月6日の第7回広島大学研究科発表会（歯学）及び平成30年2月6日日本委員会において最終試験を行い、主として次の試験を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 脳波・筋電位実験で使用した各薬物の用量の決定方法 2 作用部位が同じ ketamine と MK-801 で、ketamine は単独で正向反射が消失したのに対し MK-801 では haloperidol が必要であった理由 3 Haloperidol の薬理作用の脳内責任部位 4 脳波・筋電位実験のデータ処理方法 5 脳波・筋電位に及ぼす各薬物の影響が異なっていた理由 6 全身麻酔作用を検討する方法としての正向反射評価、脳波測定および筋電位測定の組み合わせの妥当性 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			