Effect of the neuronal nitric oxide synthase inhibitor 7nitroindazole on the righting reflex ED50 and minimum alveolar concentration during sevoflurane anaesthesia in rat

著者	小林 俊司
雑誌名	浜松医科大学学報. 学位授与記録
巻	20
ページ	39-41
発行年	2003-03-26
URL	http://hdl.handle.net/10271/1249

doi: 10.1017/S026502150300036X

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 396号	学位授与年月日	平成15年 3月26日
氏 名	小 林 俊 司		
論文題目	<p>Effect of the neuronal nitric oxide synthase inhibitor 7-nitroindazole on the righting reflex ED₅₀ and minimum alveolar concentration during sevoflurane anaesthesia in rat (神経性一酸化窒素合成酵素阻害薬、7-ニトロインダゾールがラットのセボフルラン立ち直り反射 50%有効量と最小肺胞濃度を与える影響)</p>		

博士(医学) 小林 俊 司

論文題目

Effect of the neuronal nitric oxide synthase inhibitor 7-nitroindazole on the righting reflex ED_{50} and minimum alveolar concentration during sevoflurane anaesthesia in rat

(神経性一酸化窒素合成酵素阻害薬、7-ニトロインダゾールがラットのセボフルラン立ち直り反射50%有効量と最小肺胞濃度に与える影響)

論文の内容の要旨

[はじめに]

Nitric oxide (NO) は重要な情報伝達物質として知られているが、吸入麻酔薬の麻酔作用に及ぼす影響はあまり知られていない。そこで neuronal NO synthase (nNOS) に特異的な阻害薬、7-nitroindazole (7-NI) による、吸入麻酔薬 sevoflurane の立ち直り反射50%有効量 (righting reflex ED_{50} ; RR) と痛みに対して体動を起こさない最小肺胞濃度 (minimum alveolar concentration; MAC) に及ぼす影響と、NO の代表的な効果物質である cyclic 3', 5'-guanosine monophosphate (cGMP) の中枢神経系における濃度変化を調べた。

[材料ならびに方法]

研究1：雄の Sprague-Dawley ラット (250–350g) を各々急性、慢性投与群に分けた (各群 $n=10$)。急性投与群は 7-NI を 0、50、100mg/kg 腹腔内投与し、慢性投与群は 0.75mg/kg を12時間毎に4日間経口投与した (各測定の間は一週間以上あけた)。麻酔は40%酸素と sevoflurane を用い、自発呼吸とした。MAC と RR 測定法は過去の文献に従った。すなわち、MAC はプラスチックチャンバー内にラットを留置し、テールクランプ法にて測定、四肢、躯幹、頭部の動きを陽性反応とみなした。RR はプラスチックチャンバー内に設置したメッシュローター内にラットを置き、毎分4回転のスピードで5回転させ、2回以上仰臥位になれば立ち直り反射の欠如とみなした。

研究2：ラットを各々対照群と 7-NI 100mg/kg 急性投与群に分けた (各群 $n=6$)。頸椎脱臼により屠殺、緩衝液を経左心的に灌流し、大脳、小脳、脊髄を速やかに摘出、直ちに液体窒素で凍結した。酵素抗体法にて、単位タンパク質量あたりの cGMP 濃度を測定した。

統計測定：paired-test 及び ANOVA と Bonferroni's multiple comparison test で行い、 $p<0.05$ を有意とした。

[結果]

研究1：急性投与群における MAC と RR の前値は、それぞれ 2.34 ± 0.19 (Mean $\pm$ SD, vol %)、 1.09 ± 0.07 。慢性投与群では 2.31 ± 0.20 、 1.04 ± 0.15 で、各プロトコル間に有意差はなかった。溶媒のみの投与後、MAC と RR は急性投与群で、それぞれ 2.40 ± 0.14 、 1.03 ± 0.09 、慢性投与群では 2.28 ± 0.18 、 0.98 ± 0.09 であり、前値に比して有意な変化はなかった。7-NI の 50、100mg/kg 急性投与時、MAC は 1.41 ± 0.26 、 1.34 ± 0.29 と溶媒のみ投与時に比べ、有意に低下した ($p<0.01$)。RR も 0.28 ± 0.14 、 0.14 ± 0.10 と溶媒のみ投与時に比べ、低下した ($p<0.01$)。RR の値は 50 と 100mg/kg 投与の間に有意差があった ($p<0.05$) が、MAC では有意差はなかった。慢性投与時 MAC は 2.31 ± 0.18 と変化しなかったが、RR は 0.64 ± 0.15 と低下した ($p<0.01$)。MAC と RR の低下には、相関が認められなかった。

研究2：対照群の cGMP 濃度は、大脳、小脳、脊髄の順に、 7.2 ± 2.1 (Mean $\pm$ SD, pmol/mg protein)、 44.9 ± 14.5 、 8.5 ± 3.8 、7-NI 投与群で、 6.8 ± 2.1 、 20.0 ± 9.2 、 6.6 ± 4.4 であり、小脳においてのみ低下した。

($p < 0.01$)。

〔考察〕

研究1：7-NIの急性投与によりMACとRRは低下した。過去の研究から、中枢神経系のcGMP濃度低下が中枢神経系の抑制と関係があること、吸入麻酔薬が中枢神経系のcGMP濃度を低下させることが知られている。したがってMACとRR低下の機序としては、7-NIによるNO-cGMP系の抑制により、中枢神経系におけるcGMP濃度が低下し、吸入麻酔薬の作用を増強した可能性が考えられる。一方、MACとRRに対する7-NIの効果は異なっていた。MACの低下には天井効果が認められたが、RRには認められず、それぞれの低下率は相関しなかった。また慢性投与において、RRは低下したが、MACは変化しなかった。7-NIの急性投与によりMACとRRがともに低下したことから、NO-cGMP系はMACとRRの両者に関わっていることがわかる。しかしMACに対する効果は急性投与で、7-NIの天井効果が出現し、慢性投与で低下が見られなかったことから、NO-cGMP系のMACへの関与が部分的で、弱いことを示唆している。一方RRに関しては、急性投与において天井効果がなく、慢性投与においても低下が見られたことから、NO-cGMP系の関与がMACより大きいことが示唆される。

研究2：研究1で示唆された、MACとRRに対するNO-cGMP系関与の程度の違いを裏付けるため、7-NI投与時の中枢神経系におけるcGMP濃度の変化を測定した。過去の研究から、MACは脊髄レベルの、RRは小脳を中心とした脊髄以上のレベルの関与が強いとされている。測定の結果、cGMP濃度は脊髄、大脳に比べ、小脳では極めて高く、7-NI投与時の低下率も大きかった。脊髄、大脳では濃度も低く、低下率も小さかった。研究1では、NO-cGMP系の関与がMACにおいては部分的で弱く、一方RRでは主体的で強いことが示唆されたが、小脳においてcGMP濃度の絶対値と、その低下率が大きく、脊髄で小さいことは、それを裏付ける結果となった。

〔結論〕

NO-cGMP系はMACよりRRに強く関与している。その機序はNO-cGMP系関与の程度が脊髄より小脳で強いと思われる。

論文審査の結果の要旨

Nitric oxide(NO)は中枢神経系の重要な情報伝達物質の一つであるが、その吸入麻酔薬の作用に及ぼす影響はあまり知られていない。申請者らはneuronal NO synthase(nNOS)に特異的な阻害薬、7-nitroindazole(7-NI)によるNOの抑制下における、吸入麻酔薬sevofluraneの立ち直り反射50%有効量(righting reflex ED₅₀; RR)と痛みに対して体動を起こさない最小肺胞濃度(minimum alveolar concentration; MAC)の変化を調べた。また、NOの代表的な効果物質として知られているcyclic3', 5'-guanosine monophosphate(cGMP)の中枢神経系における濃度変化を測定した。

雄性Sprague-Dawleyラット(250-350g)に7-NIを0.50、100mg/kg腹腔内投与(急性投与群、 $n=10$)または0.75mg/kgを12時間毎に4日間経口投与した(慢性投与群、 $n=10$)。麻酔は40%酸素とsevofluraneを用いた。プラスチックチャンバー内にラットを置き、尾をクランプしたとき四肢、躯幹、頭部の動きが認められなくなる最小濃度をMACとした。プラスチックチャンバー内に設置したメッシュローター内にラットを置き、毎分4回転のスピードで5回転させ、2回以上仰臥位になったとき立ち直り反射の欠如とみなし、50%有効量をRRとした。