



Pentobarbital decreased nitric oxide release in the rat striatum but ketamine increased the release independent of cholinergic regulation.

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-05-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 黒岩, 香里 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2645

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 6 1 4 号	学位授与年月日	平成 2 4 年 3 月 1 9 日
氏 名	黒 岩 香 里		
論文題目	Pentobarbital decreased nitric oxide release in the rat striatum but ketamine increased the release independent of cholinergic regulation. (ラット脳の線条体において、ペントバルビタールは一酸化窒素の放出を減少させ、ケタミンはコリン作動性神経制御と無関係に一酸化窒素の放出を増大させた。)		

博士(医学) 黒 岩 香 里

論文題目

Pentobarbital decreased nitric oxide release in the rat striatum but ketamine increased the release independent of cholinergic regulation.

(ラット脳の線条体において、ペントバルビタールは一酸化窒素の放出を減少させ、ケタミンはコリン作動性神経制御と無関係に一酸化窒素の放出を増大させた。)

論文の内容の要旨

[はじめに]

静脈麻酔薬であるペントバルビタールとケタミンは、脳内の神経伝達物質濃度を変化させる。マイクロダイアリシス(microdialysis: MD)法を用いた従来の研究において、ペントバルビタールはアセチルコリン(Acetylcholine: ACh)作動性神経を介して一酸化窒素(Nitric Oxide: NO)の放出を減少させ、他方、ケタミンはこれを増加させる可能性が報告されている。今回 MD を用いて、ラット脳線条体における NO 放出に関して、ACh 作動性神経の具体的関与を調べた。

[材料ならびに方法]

雄の Sprague-Dawley ラットを用いた。5 %セボフルランで麻酔を行い、ラットの右線条体にガイドカニューレを挿入した。外科的手術侵襲から回復したのを確認した後、極短時間のセボフルラン麻酔を併用しながら MD プローブを慎重に挿入した。プローブは修正リンゲル液(147mEq L⁻¹ Na⁺, 3.0 mEq L⁻¹ K⁺, 2.6 mEq L⁻¹ Ca²⁺, 2.0 mEq L⁻¹ Mg²⁺, 155 mEq L⁻¹ Cl⁻) 2 ml min⁻¹ で灌流を行った。2 時間後より 15 分毎にサンプルを回収し、還元カラムで酸化物質を還元した後、硝酸塩と亜硝酸塩を高速液体クロマトグラフィーで測定した。ラットは自由行動の状態からペントバルビタール、ケタミンの腹腔内投与を受け全身麻酔を導入した。ネオスチグミン(1、10 μM)あるいはメカミラミン(100 μM) を灌流液に加え、Ca と Mg 濃度は、それぞれの実験に応じて ACh 量を変化させるように調節した。実験終了後、脳を取り出し、組織学的に MD プローブが目的の場所に挿入されていたかを確認した。

[結果]

低用量の静脈麻酔薬は、どちらも約 30 分間ラットを不動化し、高容量の麻酔薬は約 90 分間ラットを不動化した。ペントバルビタールは投与量が多いほど、細胞外 NO 酸化物質濃度をより強く抑制した。コリンエステラーゼ阻害薬であるネオスチグミンの灌流は、基準となる NO 濃度を変化させなかったが、ペントバルビタールによる NO 濃度減少を用量依存性に拮抗した。除 Mg リンゲル液は、NO 濃度に影響を与えなかったが、ペントバルビタールによる NO 濃度減少を拮抗した。ケタミンは投与量が多いほど、NO 濃度の増加が大きかった。ニコチン性 ACh レセプター拮抗薬であるメカミラミンの添加と、除 Ca リンゲル液の灌流は、基準となる NO 濃度に影響を与えず、ケタミンによる NO 濃度増加も拮抗

しなかった。

[考察]

我々が測定した細胞外 NO 酸化物質濃度の変化、脳神経細胞から放出される NO の総量を反映していると考えられる。NO 放出はペントバルビタールによって減少し、ネオスチグミン、除 Mg リンゲル液灌流によってこの作用は拮抗された。ネオスチグミンはコリンエステラーゼ阻害薬であり、細胞外 ACh 濃度を上昇させる。また細胞外 Mg は神経軸索終末からの ACh 放出を抑制する。ネオスチグミンも、除 Mg リンゲル液も基準となる NO 濃度は変化させなかったが、ペントバルビタールによる NO 濃度減少に拮抗した。中枢神経系では恒常性は厳しく保たれていると考えられるため、ネオスチグミン少量投与による ACh 濃度上昇では、他の神経伝達物質の放出を著しく変化させるには至らないと推測した。また強力な ACh 放出抑制作用のあるアミノ酸やドパミンは、Mg による干渉は受けない。したがって、ペントバルビタールは脳内線条体神経細胞の NO 放出を直接抑制するだけではなく、コリン作動性神経を介して NO 濃度を減少している可能性があると考えられた。この仮説は今回の実験において、ネオスチグミンや除 Mg リンゲル液による ACh 濃度上昇が、ペントバルビタールの NO 放出減少が拮抗されることから支持される。

ケタミンは NO 濃度を上昇させ、この作用はメカミラミン、除 Ca リンゲル液、あるいは高 Mg リンゲル液によっても抑制されなかった。メカミラミンはニコチン作動性 ACh レセプター活性を抑制し、Ca は濃度依存性に神経軸索終末からの ACh の放出を抑制する。今回の実験では、メカミラミン、除 Ca リンゲル液によってもケタミンによる NO 放出増加を拮抗することはできず、ケタミンによる NO 放出増加は ACh 作動性神経を介していない可能性が示唆された。

我々は、ラット脳線条体でペントバルビタールは細胞外ドパミン濃度を減少させることを調べた。細胞外ドパミン濃度は、DA transporter(DAT)により調節されている。この細胞外から細胞質内への DAT による汲み上げは、NO によって抑制される。ペントバルビタールによる NO 抑制は、ドパミンの再取り込みを促進し、細胞外ドパミン濃度を減少させると考えられている。全身麻酔薬は ACh、NO の放出を抑制し、ドパミンを含む神経伝達物質の再取り込みを促進することによって何らかの麻酔作用を示す可能性が考えられる。しかしながら、今回のようにケタミンが NO 放出を直接上昇させている結果も示されており、今後のより詳細な研究が必要と思われた。

[結論]

ペントバルビタールが ACh 作動性神経の作用を介して NO 放出を減少させるのに対し、ケタミンは NO 放出を直接増加させる機序の存在が示された。

論文審査の結果の要旨

[申請者が取り組んだ研究の背景]

静脈麻酔薬は脳内神経活性物質の放出に影響を与えられ、ペントバルビタールはアセチルコリン (ACh) の、ケタミンは一酸化窒素 (NO) の放出を増加させる可能性が報告されている。

[申請者が行った実験]

マイクロダイアリシス法を用いて、ペントバルビタールとケタミンの NO 放出への影響と ACh 作動性神経の関与について調べた。

[実験結果・考察]

雄 SD ラットを用い、マイクロダイアリシスプローブを右線条体に挿入し、修正リング液で灌流した。灌流液は 15 分毎に高速液体クロマトグラフィーで測定した。ラットを自由行動下の状態からペントバルビタール、ケタミンの腹腔内投与で麻酔した。コリンエステラーゼ阻害薬のネオスチグミン (1, 10 μ M) あるいはニコチン性 ACh レセプター拮抗薬のメカミラミン (100 μ M) を灌流液に加え、また、灌流液のカルシウムとマグネシウム濃度を適宜変化させ、それぞれの NO 放出への影響をみた。ペントバルビタールは NO 放出を抑制する一方、ケタミンは増加させた。ネオスチグミンの灌流は基準となる NO を変化させなかったが、ペントバルビタールによる NO 濃度減少を量依存性に抑制した。メカミラミンの添加と除カルシウムリング液の灌流は、基準となる NO 濃度、およびケタミンによる NO 濃度増加のいずれにも影響を与えなかった。

[申請者の導き出した結論]

ペントバルビタールが ACh 作動性神経の活動を介して NO 放出を減少させるのに対し、ケタミンの作用には ACh やシナプス伝達の関与が認められず、直接的な NO 放出促進機構の存在を仮説した。

[本論文を高く評価した点]

審査委員会では、申請者がこれまでの報告に対してさらに検討を加え、ペントバルビタールによる NO 放出抑制を初めて報告し、ACh の関与を証明した点。さらに、ケタミンの NO 放出促進の機序に関しても、直接作用の可能性をあらたに見出した点を高く評価した。

以上により、本論文は博士 (医学) の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	福田 敦夫
	副査	宮嶋 裕明
		副査 杉山 憲嗣