

## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 伊藤 亮子

### 学位論文題名

Dexmedetomidine がラット海馬シナプス可塑性へ及ぼす影響  
(The effect of dexmedetomidine on the rat hippocampal synaptic plasticity)

【背景と目的】塩酸デクスメデトミジン (dexmedetomidine; DEX) は、強力かつ選択性の高い中枢性  $\alpha_2$  アドレナリン受容体作動薬である。DEX は脳橋の背外側部にある青斑内の青斑核に存在する中枢性  $\alpha_{2A}$  受容体を介して鎮静作用を発現するとされる。DEX はまた、他の鎮静薬と同様に健忘作用を示すことが報告されているが、その詳細な機序は不明である。

海馬は人間の思考過程に重要な役割を担う脳部位であり、そこで観察されるシナプスの長期増強 (Long-term potentiation; LTP) 現象は、学習や記憶に関連した電気生理学的現象と考えられている。多くの麻酔薬は海馬における GABA 受容体ならびに NMDA 受容体を修飾し、このため LTP 形成を抑制することが知られているが、このような LTP 形成抑制が麻酔薬の健忘作用と密接に関連する可能性が指摘されている。DEX は成マウス由来の海馬スライスにおいて LTP を抑制するという報告、また LTP に影響を及ぼさないという報告すなわち相反する 2 つの報告があり一定の見解は得られていない。すなわち、DEX が海馬 LTP 形成に及ぼす影響については不明な点が残っており、これを調査することは DEX による健忘作用機序を検討する上で重要と考えられる。

さらに近年では、動物実験において幼若期の全身麻酔薬および鎮静薬投与が長期的な神経学的予後を悪化させることが報告されている。発達期における麻酔薬による受容体レベルあるいはシナプスレベルでの長期的な異常が、長期的な神経毒性の機序として示唆されている。DEX の作用機序が他の鎮静薬と異なり主として  $\alpha_{2A}$  受容体を介することから、その発達期の海馬への長期的な影響は他の麻酔薬とは異なる可能性がある。

そこで我々は、第一報として DEX が海馬シナプス可塑性へおよぼす影響を成ラットにおいて調査を行った。第二報として、幼若期に投与した DEX が成長後の海馬シナプス機能へ及ぼす影響を長期的に調査した。本研究ではこれらの結果から DEX が海馬機能に及ぼす影響を総合的に評価することを目的とした。

<研究 1>成ラットにおける DEX 腹腔内投与による海馬シナプス可塑性の変化

【対象と方法】10-12 週齢の Wistar/ST 雄性ラットを無作為に DEX 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  群 (DEX 100)、DEX 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  群 (DEX 30)、DEX 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  群 (DEX 10)、DEX 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  群 (DEX 3)、0.9% 生理食塩水群 (vehicle) の 5 群にわけて全身麻酔下に気道確保を行った。頭部を固定し、CA1 領域の錐体細胞層に記録電極を、CA1 領域に対し同側の Schaffer 側枝に刺激電極を挿入した。最大反応の 50%となる強度をテスト刺激電流強度に設定し、10 分間の集合電位測定後に 0.9%生理食塩水に溶解した DEX を腹腔内投与した。投与から 20 分後に高頻度刺激(HFS)を与えその後 60 分間までの集合電位の変化を測定した (LTP 測定)。集合電位は 30 秒毎に 5 回測定し加算平均して記録した。

【結果及び考察】 Vehicle 群では HFS により集合電位波形は最大で 182.6% (n = 7) まで増加し、LTP が形成された。HFS10 分後から 60 分後にかけての LTP データの曲線下面積を求め、1 元配置分散分析と Bonferroni 多重比較で検討したところ、DEX100 群、DEX30 群と Vehicle との間にそれぞれ有意な差が認められた(vehicle,  $8.81 \pm 0.49$ , n = 7; DEX 100,  $5.10 \pm 0.43$ , n = 5,  $P < 0.01$  vs. vehicle; DEX 30,  $6.02 \pm 0.99$ , n = 6,  $P < 0.05$  vs. vehicle)。すなわち DEX 100、 $30 \mu\text{g/kg}$  の腹腔内投与で海馬 CA1 領域の LTP 形成を抑制することが示された。DEX の投与でシナプス前に存在する  $\alpha_{2A}$  受容体が刺激されると、フィードバック機構を介してその抑制性の作用を発現する。すなわちノルアドレナリンの放出量が減少し、 $\alpha_1$ 、 $\beta$  アドレナリン受容体の活性化が阻害され、その結果 DEX により間接的に LTP が抑制されると考えられた。

<研究 2> 幼弱ラットにおける DEX 投与後、成長後の海馬シナプス可塑性の変化

【対象と方法】 妊娠 14 日目の Wistar/ST ラットを 7 腹購入しそれぞれ別ケージで飼育した。実験当日、生後 7 日目ラットの体重測定、雌雄判別ならびにマーキングを行い生後 7 日目の雄性ラット (体重 10-12 g) を無作為に DEX 5  $\mu\text{g/kg}$  群 (DEX 5,) DEX 10  $\mu\text{g/kg}$  群 (DEX 10)、0.9% 生理食塩水 0.02ml/g 投与群 (vehicle) にわけた。DEX はそれぞれ 0.02ml/g となるよう 0.9% 生理食塩水により溶解され、腹腔内投与された。自発運動の消失を確認し有鉤ピンセットによる侵襲に対する麻酔深度の測定を行った。ラットは母ラットのケージに戻され、電気生理学的検討を行う 10-12 週令までケージ内で飼育された。雄性ラットのみが以降の実験に用いられた。研究 1 と同様に全身麻酔下に気道確保し、抑制性シナプスへの影響を調べるため paired-pulse response の測定を行った後、高頻度刺激を与え研究 1 と同様に LTP 測定を行った。

【結果及び考察】 生後 7 日目ラットにおいて、DEX (5  $\mu\text{g/kg}$ , 10  $\mu\text{g/kg}$ ) の投与ではラットの自発運動は抑制されたが、ピンセットによる足底への刺激に対しては両投与群においてペダリング反応すなわち痛覚の残存を示し、鎮静量であることが示された。成長後 paired-pulse response の測定を行ったところ、抑制性シナプスによるフィードバック機能の発動により、二発目の集合電位は抑制される (Paired-pulse inhibition; PPI) のが認められた。PPI について、幼若期 DEX (5 or 10  $\mu\text{g/kg}$ ) の投与による有意な変化は認められず、抑制性シナプスの機能発達に影響を及ぼさない可能性が示唆された。さらに HFS を与えると、vehicle 群で集合電位は最大で  $216.0 \pm 11.8\%$  まで増加し LTP が形成された。このような LTP 形成の立ち上がりは幼若期 DEX 投与群でも同様に認められ、幼若期における DEX の投与は、海馬 CA1 シナプス可塑性に長期的な影響を及ぼさない可能性が示唆された。

【結論】 本研究では、青斑核からの NA 神経系の投射が正常に存在する生体ラットを用いて DEX による海馬 LTP の修飾を検討した。また、ノルアドレナリン神経系への作用に着目し、海馬シナプス応答に及ぼす幼若期 DEX の影響を検討した。その結果、①DEX は海馬 CA1 領域における LTP 形成を抑制することが明らかとなり、②幼若期に DEX を投与したラットでの海馬シナプス可塑性の修飾は、幼若期とくに生後 7 日目ラットにおいては軽微である可能性が示唆された。これらの解析は、DEX による鎮静・健忘作用の機序を解明するとともに、臨床小児麻酔における安全な麻酔薬の展開に結びつくものと期待される。