

論 文 内 容 の 要 旨

**Identification of brain regions activated by
sevoflurane and propofol
and regional changes in gene expression**

セボフルランとプロポフォールの標的脳領域の同定
および遺伝子発現変動解析

日本医科大学大学院医学研究科 疼痛制御麻酔科学分野

大学院生 亀 井 信 孝

Acta Histochemica et Cytochemica 掲載予定

背景

全身麻酔薬はその作用機序により効果や副作用の発現率が異なるが、麻酔薬の詳細な比較研究は不完全である。我々の先行研究では、セボフルランにより概日リズムを制御する時計遺伝子群が脳で変化した。またセボフルランにより概日リズムの中核である視交叉上核の時計遺伝子が増加し、概日行動リズムの位相がずれることを明らかにした。しかし、これらの焦点を絞った解析では、複数の全身麻酔薬に共通するより一般的な作用機序や、異なる副作用発症率の原因となる機序の解明には至っていない。麻酔薬の作用機序や副作用機序を解明するためには、麻酔薬が標的である脳のうちの領域・神経核に影響を与えるか、またその標的領域でどのような分子生物学的・生化学的変化が誘導されているかを検討する必要がある。本研究では手術で頻用される全身麻酔薬である吸入麻酔薬セボフルランと静脈麻酔薬プロポフォール®の標的脳領域の同定と、その脳領域での遺伝子発現解析の神経基盤データの記述を通して、麻酔薬の作用機序や副作用機序の一端を解明することを目的とした。

方法

雄 Wistar ラット (8-10 週齢) を用いた。セボフルランはセボフルラン群 (2.4%、1MAC) もしくはコントロール群 (酸素投与のみ) を設定した。一方でプロポフォールはプロポフォール群 (10 mg/kg 静脈投与後 36 mg/kg/hr 持続静注)、イントラリポス群 (プロポフォールと同容量) もしくはシヤム群に分けた。1 時間麻酔負荷後、脳切片を作成し、*in situ hybridization* 法および免疫組織化学法で神経活性化マーカーである c-Fos を用いて可視化し c-Fos 陽性細胞数の計測を行い、対照群 (各 n=4) と比較した。同様に麻酔負荷したラット各 5 匹から c-Fos の組織学解析で同定した神経活性化部位 (4 領域) をレーザーマイクロダイセクションにより採取し、RNA を抽出し遺伝子発現解析及び Gene Ontology (GO) 解析を行った。麻酔による発現変動遺伝子を選択する基準は、fold change (FC) >2 または FC < 0.5 とした。統計解析は Student's t test、one-way ANOVA および Fisher's exact test を用いて p < 0.05 で有意とした。

結果

セボフルラン群ではカジェハ島、扁桃核、内側手綱核、脚間核、前庭神経核、孤束核、下オリーブ核で、一方プロポフォール群では外側手綱核、前庭神経核、下オリーブ核で神経活動が変化した。麻酔の副作用の一つに術後悪心嘔吐 (PONV) があるため、嘔吐に関連する神経核である前庭神経核と孤束核、またプロポフォールの鎮静作用発現に重要と報告されている手綱核で遺伝子発現解析を行った。23188 遺伝子を対象にした発現アレイ解析により、両麻酔薬によりそれぞれの領域で 1.05% - 4.12% の遺伝子発現に影響をうけることがわかった。それらのうち両麻酔薬で共通して c-Fos 発現が上昇した前庭神経核では 30 個の共通遺伝子が両麻酔薬によって変化していた。一方で、両麻酔薬で c-Fos 発現の異なる内側手綱核、外側手綱核や孤束核では共通して変化した遺伝子は比較的少数 (それぞれ 9、6、7 遺伝子) あった。GO 解析の結果、外側手綱核のみでプロポフォール

ールによる神経ペプチド受容体結合関連遺伝子に偏った変動が観察されたが、その他の領域では2種類の全身麻酔薬によって脳内で誘導される遺伝子は特定の機能に偏らず、各機能領域に均等に分布していることがわかった。

考察

本研究では、全身麻酔薬セボフルランとプロポフォールの特徴を、脳内の標的領域とその領域での遺伝子発現変化という2つの視点から網羅的に解析し、相違点を明らかにした。下オリーブ核と前庭神経核の活性化など両麻酔薬で共通する変化は全身麻酔に共通する一般的作用機序に関与する可能性がある。一方、両麻酔薬で異なる変化は、副作用発生率の違いなど麻酔薬ごと差異を作る機序の解明に有用なデータになると考えられる。

PONVの発生率は全身麻酔薬の種類と関連し、セボフルランの使用はリスク因子である一方でプロポフォールの使用はPONVの発生率を低下させる。嘔吐中枢の一つである孤束核での*Egr1*発現の増加、カテコールアミン生合成経路のドーパミンβ-水酸化酵素遺伝子の発現の減少がPONV発症に関与していることが報告されている。本研究ではセボフルラン群でそれぞれ同様の遺伝子変化を認めたことから、孤束核の神経活性化の違いが両麻酔薬のPONV発症率の違いに寄与していることが示唆された。また本研究では外側手綱核でGABA合成酵素をコードする*Gad2*の発現がプロポフォールにより抑制された。外側手綱核の*Gad2*発現ニューロンの活性化が攻撃性を促進することやプロポフォールは揮発性麻酔薬に比べて覚醒時興奮のリスクが低いという報告から、麻酔薬による外側手綱核の*Gad2*発現が覚醒時興奮に関与している可能性が考えられた。

結語

セボフルランとプロポフォールの脳内標的領域の違い、およびその領域における遺伝子発現の変化が、麻酔薬による有害事象リスクの違いの神経基盤になる可能性が示唆された。本研究で得られたデータは、今後の全身麻酔薬の安全性に関する研究の基礎となる。