

論文の内容の要旨

氏名：梶原美絵

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Propofol decreases spike firing frequency with an increase in cortical spike synchronization and a modulation in spike regularity

（プロポフォールは大脳皮質においてニューロン発火同期性の増強および規則性の変化を伴い発火頻度を減少させる）

大脳皮質は全身麻酔薬の主たる作用部位である。大脳皮質は高次中枢として様々な脳領域から入力を受け、種々のニューロンで構成される局所神経回路で情報処理を行ったのちに、皮質下領域あるいは別の皮質領域へと出力する。大脳皮質局所神経回路を構成するニューロンは、周囲の細胞へ興奮性シナプスを形成し、自身が活動することでシナプス後細胞の活動性を増強するグルタミン酸作動性錐体細胞と、抑制性シナプスを形成し、自身の活性化によりシナプス後細胞の活動を抑制する GABA 作動性介在ニューロンに大別される。全身麻酔薬はこれらのニューロンの活動を抑制することでその意識消失作用を発揮すると考えられているが、その詳細は不明である。

静脈麻酔薬の一種であるプロポフォールは GABA_A 受容体の開口時間を延長することでニューロン活動を抑制し、結果としてニューロンの発火を抑制することで麻酔薬としての作用を発揮する。このプロポフォールの作用は代表的な抑制性ニューロンである fast-spiking neuron (FS) よりも興奮性ニューロンである錐体細胞において大きいことが報告されており、プロポフォールは大脳皮質においてニューロン活動性を一律に抑制するのではなく、ニューロンの種類により異なる抑制効果を示すことでニューロン活動バランスを変化させて意識消失を引き起こしている可能性が考えられる。しかしこれらの報告はいずれも脳スライス標本などでの検討であり、生体内でのプロポフォールの興奮性および抑制性ニューロンに対する作用の詳細は不明である。そこで本研究では、*in vivo* 細胞外記録を行い、興奮性または抑制性ニューロンに分類したうえで、それぞれ発火パターンの変化および発火同期性を検討した。

実験には 8 週齢 Wistar ラットを用いた。イソフルラン麻酔下で頭蓋骨を開窓し、最大 32 個のニューロンの同時記録が可能なマルチチャンネル・ユニット記録用電極を島皮質に挿入した。同時に、前頭前皮質から electroencephalogram (EEG) を記録するために前頭骨と後頭骨を開窓し、記録電極およびアース電極をそれぞれ挿入した。プロポフォールの投与経路として、尾静脈に 26 ゲージ留置針を用いて静脈路を確保した。プロポフォール投与に先立ち、覚醒状態での自発的なニューロン活動を記録した。記録ニューロンは、高頻度かつバースト発火を示す細胞 (high frequency and burst, HFB) と FS 以外の non-HFB (そのほとんどは興奮性ニューロンと考えられる) に分類した。その後プロポフォール (12 mg/kg) を単回投与し、意識消失から再び覚醒するまでのニューロンの発火応答を記録した。プロポフォールにより EEG は低振幅かつ高頻度から高振幅かつ低頻度へ変化し、周波数帯解析によりプロポフォール投与後 α 周波数帯 (8~13 Hz) が増強したことから、プロポフォールによりラットが麻酔状態になったことを確認した。

HFB はプロポフォール投与 10 秒以内に急速な発火頻度の減少を示し、1 分後には、定常的な低頻度発火状態に達し、その後約 10 分間その状態は持続した。一方 non-HFB は、プロポフォール投与直後に一過性の発火頻度の上昇を示した後に緩やかな減少を示した。この間の発火頻度は non-HFB が HFB に対し有意に高かった。また non-HFB の発火頻度減少率は HFB に対して低値を示した。大脳皮質において FS が自己回帰性シナプスを形成することが報告されている。そのためプロポフォール投与直後に自己回帰性シナプスを介した抑制性入力が増強し、HFB の発火頻度が先に減少することで non-HFB の脱抑制が起き、その結果 non-HFB の一過性の発火頻度上昇が発生したと考えられた。またこの HFB および non-HFB の発火頻度の変化パターンの時間的解離が全身麻酔導入時における興奮期を誘発している可能性が示唆された。

次に、同時記録したニューロンのペアを HFB と non-HFB, HFB と HFB, non-HFB と non-HFB に分類し、覚醒時および麻酔時の cross-correlogram (CCG) を作成した。覚醒時において、ヒストグラム

上で-5~5 ms にピークを示す同期発火が示唆されるペアを *simultaneous spike firing* (SSF), ヒストグラムに明瞭なピークを示さず発火同期性を示さないペアを *asynchronized spike firing* (ASF) とした。SSF と ASF それぞれにおいてヒストグラムの-5~5 ms を *peak*, -50~-6 ms, 6~50 ms を *base* と定義し, 同期性の強さを表す *peak/base* 比 (P/B 比) を求めた。その結果, HFB, non-HFB ペアの CCG の内 SSF グループは 24.0%, ASF グループは 76.0% 存在した。SSF グループの P/B 比はプロポフォールにより有意に増大した。ASF グループの内 28.6% はプロポフォールによりニューロンが同期発火し, P/B 比も有意に増大した。この結果は覚醒時における HFB および non-HFB 間の発火同期性の有無に関わらず, プロポフォールは同期発火を増強させつつ発火頻度を減少させることを示している。また, 覚醒時と麻酔時の P/B 比には相関が認められ, これは覚醒時において発火同期性が高いニューロンペアほどプロポフォールにより同期性の増強が誘発されることを示している。同様に HFB, HFB ペアおよび non-HFB, non-HFB ペアについても SSF グループ, ASF グループに分類した。HFB, HFB ペアの CCG においてプロポフォールは SSF グループの P/B 比を増大させる傾向にあり, ASF グループでは有意に増大を認めた。non-HFB, non-HFB ペアの CCG においては SSF グループ, ASF グループともにプロポフォールは P/B 比を有意に増大させた。また両ペアともに覚醒時と麻酔時の P/B 比に相関を認めた。

さらに, プロポフォールによる HFB および non-HFB それぞれの発火パターンの変化を検証するため *auto-correlogram* (ACG) を作成した。HFB は覚醒時にヒストグラム (-50~50 ms) の 0 ms 周囲に左右対称なピークを示す ACG が 30.0% 存在した。これはニューロンがバースト発火していることを示していると考えられる。一方 non-HFB は, ACG に明瞭なピークが存在せず, 覚醒時に不規則な発火をしていると考えられた。しかしプロポフォールの投与により HFB, non-HFB ともに ACG において P/B 比が有意に増大した。覚醒時と麻酔時の P/B 比は HFB で相関が認められたが, non-HFB では認められなかった。これらの結果からプロポフォールは HFB, non-HFB ともにバースト発火を増強し, 覚醒時に P/B 比が大きい HFB は, プロポフォールによりバースト発火が増強されることが示唆された。

EEG に反映されるニューロンの発火頻度の分布は不明であることから, 次に覚醒時およびプロポフォールによる麻酔時の *interspike interval* (ISI) を解析した。覚醒時の HFB および non-HFB の ISI のヒストグラム (1~200 ms) はともに 0 ms 付近に収束し, ピークは HFB では 3 ms, non-HFB では 4 ms に認められた。プロポフォール投与により HFB において ISI ヒストグラムの 10~57 ms が減少し, non-HFB においては 12~58 ms が減少したことで HFB, non-HFB ともに 50~120 ms に小さなピークが出現した。この結果 20~100 Hz の発火頻度が減少し, 8~15 Hz の発火頻度が増加した。

発火の規則性を検討するため, *random matrix theory* に基づく *unfolding transformation* を適用させて得られたヒストグラムが *exponential decay* または *power decay* のどちらかに一致するか, またヒストグラムの *repulsion* の有無を検証した。プロポフォールにより HFB, non-HFB ともに *repulsion* を有するヒストグラムの割合が減少した。また non-HFB では *exponential decay* に適合するヒストグラムの割合は減少したが, HFB では変化しなかった。この結果からプロポフォールによるニューロンの発火規則性に対する影響は non-HFB よりも HFB の方が小さいことが示唆された。

以上の結果から, プロポフォールはニューロンの発火同期性を増強しつつ HFB, non-HFB ともに発火頻度を減少させることが明らかとなった。これらの皮質ニューロンの発火同期を引き起こすメカニズムとして, これまで報告されている視床からの入力に加えて, 自身に投射する自己回帰性シナプスの寄与が考えられる。既に島皮質内の FS が自己回帰性シナプスを形成しており, FS 自身の発火のタイミング制御に関与することが明らかとなっている。プロポフォールは GABA_A 受容体を介する抑制性入力を増強するが, 自己回帰性シナプスにおいても例外ではない。このことから視床からの同期性興奮性入力だけでなくプロポフォールによる自己回帰性シナプスの抑制性シナプス電流増強も HFB と non-HFB の同期性発火の増強に関与すると考えられた。また CCG および ACG における P/B 比の増大が表す HFB および non-HFB の発火同期性の増強が ISI を変化させ発火頻度が α 周波数帯に収束することで, EEG においてプロポフォールは α 周波数帯を増強することが示唆された。