

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10517

研究課題名(和文) 吸入麻酔薬曝露後の記憶学習能に関するメカニズムの網羅的解析

研究課題名(英文) The global analyses of memory and learning after the exposure of inhalational anesthetics

研究代表者

伊奈川 岳 (INAGAWA, Gaku)

横浜市立大学・医学研究科・客員准教授

研究者番号：60336584

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：若年雄性Sprague-Dawleyラットにデスフルラン(0.7および1.2 MAC)で2時間麻酔した場合、1.2 MAC群で、対照群と比較し、曝露1日目に海馬依存性文脈的記憶学習の障害を認めたのに対し、0.7 MACでは認めなかった。また曝露後3日目および7日目には学習障害を認めなかった。曝露1日目に1.2 MAC群では対照群と比較し、海馬LTPも抑制され、IA刺激によるGluR1発現も抑制されていた。以上より、若年成体ラットに比較的濃度の高いデスフルラン曝露をすると、AMPA受容体のtraffickingが阻害され、曝露1日後に可逆的な記憶学習障害を生じることを認めた。

研究成果の概要(英文)：Young adult Sprague-Dawley rats were exposed to desflurane (0.7 or 1.2 MAC) for 2 h. The contextual learning was significantly impaired on day 1 of exposure in 1.2 MAC desflurane group compared with the control group, but not in 0.7 MAC group. Learning was not impaired on days 3 and 7. The hippocampal LTP and the GluR1 expression after IA training on day 1 were significantly suppressed in the desflurane group compared with the control group. We therefore concluded that exposure of relatively high concentration of desflurane cause reversible impairment of learning and memory on day 1 of exposure in young adult rats due to inhibition of AMPA trafficking.

研究分野：麻酔科学

キーワード：麻酔科学 神経科学

1. 研究開始当初の背景

吸入麻酔薬による術後の神経認知機能障害は老齢および幼若動物での研究は進んでいるが、成体動物の報告はあまりない。臨床では高齢者のみならず、生産年齢の成人においても生じていることが報告されており、我々は若年成体ラットにおいて、イソフルラン曝露の7日後、AMPA受容体のシナプス膜への移行障害を介して学習・記憶機能が低下することを明らかにした (Uchimoto et al., *Anesthesiology* 2014, 基盤研究C, 課題番号24592308)。2011年臨床使用が開始されたデスフルランは最も新しい吸入麻酔薬であるため、術後神経認知機能における研究は少ない。

2. 研究の目的

デスフルランは、イソフルランと比較すると、神経毒性を生じにくい報告が複数あり、臨床的にも神経認知機能障害を起こしにくいと考えられている。さらに、デスフルランは学習・記憶に対し長期的な影響を及ぼさないことが示されている。そこで我々は、デスフルランの学習・記憶に対する短期的な影響を、若年成体ラットにおいて評価することを目的とし、デスフルラン曝露モデルを作成し、曝露後にまず、海馬依存性の文脈的記憶学習能の変化を行動学的に、次に文脈的記憶学習の神経電気生理学的な基盤である海馬CA1/Schaffer側枝(SC)経路のシナプス可塑性の変化を、続けて海馬CA1/SC経路におけるシナプス可塑性の分子生物学的基盤であるAMPA型グルタミン酸受容体の変化を、検証することとした。

3. 研究の方法

7週齢の雄性Sprague-Dawleyラットにデスフルラン9.6%もしくは5.6%(それぞれ1.2MACもしくは0.7MAC相当)を酸素と窒素と共に流した状態(吸入酸素濃度40-45%)で2時間麻酔をかけデスフルラン

曝露モデルを作成した。この際、麻酔中のバイタルサインを評価し、呼吸抑制や血圧低下を起こさない適正なデスフルラン濃度を決定した。

はじめに、デスフルラン曝露後の海馬依存性文脈的記憶学習の評価を行うため、抑制性回避試験(IA test)を行った。デスフルランの濃度による違いをみるため、無作為に対照群、0.7MAC群、1.2MAC群に割り付け、曝露後1日目にまずトレーニング(暗室入室後に電気刺激を投与)を行い、その24時間後に暗室に入るまでの時間(latency)を測定した。経時変化を観察するために、曝露後3および7日目にも対照群と1.2MAC群に同様に試験を行った。

次に、記憶学習機能が対照群と比較し有意に低下していた曝露後1日目の1.2MAC群でシナプス可塑性の変化を確認するため、多点皿電極を用いて海馬CA1/SCの興奮性シナプス後電位を測定した。高頻度刺激を与えることで長期増強(LTP)を誘導し、記録した。

さらに、ウェスタンブロッティングによりLTP誘導後にシナプス膜表面に移動する(trafficking)AMPA受容体を測定し、その移動の動向を調べた。こちらは、IA testによりAMPA受容体のtraffickingが引き起こされるため、デスフルラン群およびコントロール群それぞれの半数はIAを行い、半数は行わず対照として、AMPA受容体のサブユニットであるGluR1の発現量を比較した。

4. 研究成果

デスフルラン曝露モデル

1.2MACデスフルランで麻酔中、酸素飽和度、心拍数、体温は正常範囲内に、動脈血圧は一定に保たれた。2時間後の血液ガス分析の結果、pH 7.38 ± 0.02 , PaCO₂ 42.0 ± 2.8 , PaO₂ 185.0 ± 11.1 , HCO₃⁻ 24.0 ± 0.5 (mean \pm SEM)と問題なかった。

行動学的検証

デスフルラン曝露後 1 日目の IA latency は対照群で 273 ± 31 秒, 0.7 MAC 群で 206 ± 39 秒, 1.2 MAC 群で 105 ± 34 秒と, 1.2 MAC 群で有意に低下した (一元配置分散分析, $F [2,48] = 5.974$, $P = 0.005$, *post hoc* Tukey's 多重比較検定, 平均差 [95%信頼区間], 対照 vs. 1.2 MAC, 168 [49.9 to 287], $P = 0.004$; 1.2 MAC vs. 0.7 MAC, -101 [-220 to 17.7], $P = 0.110$; 対照 vs. 0.7 MAC, 67.5 [-51.2 to 186], $P = 0.362$).

デスフルラン曝露後 3 日目の IA latency は対照群で 264 ± 38 秒, 1.2 MAC 群で 229 ± 32 秒, 7 日目の IA latency は対照群で 159 ± 35 秒 1.2 MAC 群で 160 ± 44 秒いずれもと有意差はなかった (二元配置分散分析, 群, $F [1,90] = 5.426$, $P = 0.022$; 日, $F [2,90] = 0.052$, $P = 0.417$; 群 x 日, $F [1,90] = 3.263$, $P = 0.043$, *post hoc* Sidak's 多重比較検定, 3 日目, 対照 vs. 1.2 MAC, $P = 0.861$; 7 日目, 対照 vs. 1.2 MAC, $P > 0.999$)

電気生理学的検証

曝露 1 日目の海馬 LTP は対照群 $165 \pm 8\%$ に対し, 1.2 MAC 群 $138 \pm 4\%$ と有意に低下していた (*t* 検定, $P = 0.006$)

分子生物学的検証

対照群では IA された群で IA されていない群の $145.9 \pm 11.6\%$ と GluR1 発現量が有意に上昇した. 一方, 1.2 MAC 群では IA された群でも IA されていない群の $103.8 \pm 8.9\%$ と GluR1 発現量は上昇しなかった. また, IA されていない群の対照群および 1.2 MAC 群に有意差はなかった (二元配置分散分析, 群 x IA, $F [1,35] = 4.490$, $P = 0.041$; 群, $F [1,35] = 0.305$, $P = 0.585$; IA, $F [1,35] = 6.851$, $P = 0.013$; *post hoc* Sidak's 多重比較検定, 対照群において IA されていない vs. IA された, $P = 0.010$; 1.2 MAC 群において IA さ

れていない vs. IA された, $P = 1.000$; IA されていない群の対照 vs. 1.2 MAC, $P = 0.326$).

以上より, 若年成体ラットに比較的濃度の高いデスフルラン曝露をすると, AMPA 受容体の trafficking が阻害され, 曝露 1 日後に可逆的な記憶学習障害を生じることを認めた.

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

現在論文投稿中

〔学会発表〕(計 2 件)

Asakura A., Uchimoto K., Inagawa G., Goto T., Effects of desflurane exposure on hippocampal learning, Euroanaesthesia 2017

朝倉彩子, 内本一宏, 伊奈川岳, 後藤隆久 デスフルラン曝露が海馬記憶学習に与える影響 日本麻酔科学会第 6 4 回学術集会, 優秀演題

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 なし(計 0 件)

取得状況 なし(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等
特になし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

伊奈川 岳 (INAGAWA, Gaku)

横浜市立大学・医学研究科・客員准教授

研究者番号：60336584

(2)研究分担者

後藤 隆久 (GOTO, Takahisa)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：00256075

内本 一宏 (UCHIMOTO, Kazuhiro)

横浜市立大学・附属市民総合医療センター・

助教

研究者番号：50710951

宮崎 智之 (MIYAZAKI, Tomoyuki)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：30580724

水原 敬洋 (MIHARA, Takahiro)

横浜市立大学・附属病院・講師

研究者番号：00637712

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

朝倉 彩子 (ASAKURA, Ayako)