

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591802
 研究課題名 (和文) 吸入麻酔薬による新生時期の全身麻酔薬の安全性の再評価
 研究課題名 (英文) Reevaluation of the safety of general anesthesia in developing mice with inhalation anesthetics
 研究代表者
 植木 正明 (UEKI MASAOKI)
 神戸大学・医学部附属病院・准教授
 研究者番号：20213332

研究成果の概要：

神経系ネットワーク形成時期 (生後 7 日) での 6 時間のイソフルランによる暴露はその後の脳神経発達に影響を与えていた。しかし、生後 7 日目以降の暴露では、神経細胞の萎縮・変性は軽度で、脳神経細胞変性には暴露時間と時期が影響することが示唆された。さらにエリスロポイエチンの前投与により、イソフルラン 6 時間暴露後の海馬歯状回の神経変性は軽減し、その後の学習機能は維持され、その有用性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	600,000	180,000	780,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,500,000	450,000	1,950,000

研究分野：麻酔・集中治療医学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔蘇生学

キーワード：吸入麻酔薬、新生仔マウス、脳神経変性、海馬

1. 研究開始当初の背景

(1) 新生児期に全身麻酔を受ける患児は多いが、新生児期の吸入麻酔薬の暴露による脳の高次機能への影響はないと考えられていた。しかし、1999 年の NMDA receptor の antagonist が脳の発達に影響を及ぼすと報告されてから、エタノールによる脳の発達障害など、さまざまな薬剤について、脳の発達

に及ぼす影響が報告されてきた。吸入麻酔薬では 2003 年に生後 1 週間目のラットに NMDA receptor の antagonist である吸入麻酔薬 (イソフルラン) や鎮静剤の投与がその後の脳の神経変性を引き起こし、その後の学習効果が生じると報告された。これは麻酔科医にとってショッキングな報告であったが、この吸入麻酔薬による新生仔ラットへの暴露後の神経変性の機序ははまだ、解明されてい

い。

(2) 一方、吸入麻酔薬による脳への作用については、以前私たちは吸入麻酔薬による成人マウスの記憶学習効果の増強作用を報告した。吸入麻酔薬のこの相反する作用には、脳神経系ネットワーク形成時期における吸入麻酔薬の暴露時間と暴露時期が影響を与えている可能性が考えられる。

そこで、吸入麻酔薬によるマウスの学習効果解析システムを利用して、新生期に対する全身麻酔の安全性を再評価することが必要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は以下の2つである。

①ヒトに近いマウスを対象に、イソフルランによる暴露が脳の発達過程に及ぼす影響を、生後1週間目（脳の神経ネットワーク形成時期に相当）のマウスへの吸入麻酔薬の暴露時間を1、3、6時間の群と、また生後2、3、4週間目に6時間暴露させる群に分け、その後生後8週間目に8方向迷路による空間認知記憶学習と脳組織学的検討から、全身麻酔薬としての吸入麻酔薬の暴露による安全性を暴露時期と時間の点から解析する。

②近年脳虚血性障害の軽減薬として、エリスロポイエチンの有効性が報告されている。生後1週間目のイソフルラン暴露後の神経変性の軽減に、エリスロポイエチンが有効であるかどうかを検討し、エリスロポイエチンによるイソフルラン暴露後の脳の神経変性防止効果の可能性を探る。

3. 研究の方法

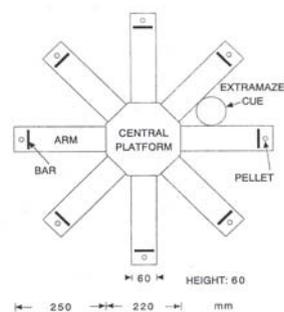
①

1) 生後2、3、4週間目の6時間イソフルランの暴露がその後の迷路学習効果に及ぼす影響の解析

グループ分け：週齢1～4の各時期にイソフルラン6時間で暴露する群（Iso群）とそれぞれの時期に空気に暴露する群（Control群）に分ける。

その後、生後8週間目に、空間認知記憶学習を行う。学習終了後、脳を灌流固定し、ニッスル染色を行い、学習と特に関係が深い海馬領域の神経細胞変性を評価する。

空間認知記憶学習方法：生後8週時期に8方向放射状迷路を利用して空間認知記憶学習を行う。8方向放射状迷路は下図のように透明プラスチック製8方向放射状迷路の各迷路の先端に餌を置き、これを取るようにトレーニングを行う。試行は1日1回で、4日間連続して行う。まだ入ったことのない初めてのアームに入り、餌を食べた場合を正選択、既に餌を取り終えたアームに再び入った場合を誤選択とする。最初の8選択における誤選択数を対照日に対して比較検討する。



学習終了後、脳を灌流固定し、ニッスル染色を行い、学習と特に関係が深い海馬領域の神経細胞変性を評価する。

2) 生後1週間のイソフルランの暴露時間がその後の迷路学習効果に及ぼす影響の解析

グループ分け：生後1週間目の時期にイソフルランに1, 3, 6時間暴露する群 (Iso 群) とそれぞれの時期に空気に暴露する群 (Ctrl 群) に分ける。

イソフルラン暴露：温度およびガスモニタリングができるプラスチック容器を1%イソフルラン (Iso 群)、あるいは空気 (Control 群) で満たしておき (流量4L/分)、その中にマウスを1, 3, 6時間入れる。

その後、生後8週間目に、8方向迷路による空間認知記憶学習を行う。

②

生後1週間目のイソフルラン暴露による脳神経変性に対するエリスロポイエチンの有用性の検討

生後1週間目のマウスにイソフルランの暴露前にエリスロポイエチン (EPO) 投与でイソフルラン暴露後の脳神経変性を改善できるかどうかを検討する。

実験群：生後1週間目のマウスにエリスロポイエチン 5万単位/kg を皮下注後、1%イソフルランを6時間暴露させる。その後生後8週間目に、空間認知記憶学習と脳の組織学的検討を行い、エリスロポイエチンの脳神経変性に対する有用性を検討する。

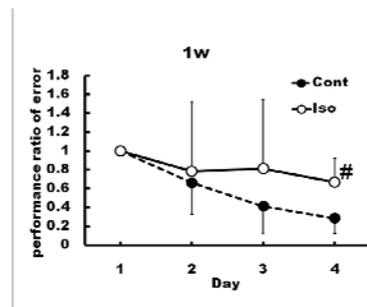
4. 研究成果

①

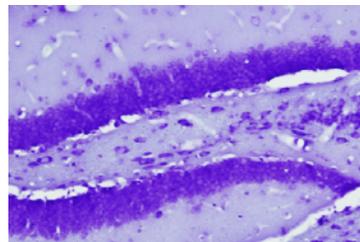
1) 生後2, 3, 4週間目の6時間イソフルランの暴露がその後の迷路学習効果に及ぼ

す影響の解析

1週間目にイソフルラン暴露した群では Control 群に比べ迷路4日目の performance ratio of error が有意に高値 ($\#p<0.01$) であったが、以後の週齢に暴露した群では有意な差がみられなかった



1週間目にイソフルラン暴露した群 (下図) では、海馬歯状回門領域の狭小化を認め、核濃縮が見られる。以後の週齢では軽減されていた。



今回の結果から、神経系ネットワーク形成時期 (生後7日) での長時間のイソフルランによる暴露はその後の脳神経発達に影響を与えていた。しかし、神経系ネットワーク形成時期を経過した後の暴露では、空間認知記憶学習の障害は軽減され、組織学的にも海馬の歯状回領域を中心に神経細胞の萎縮・変性は軽度に留まった。

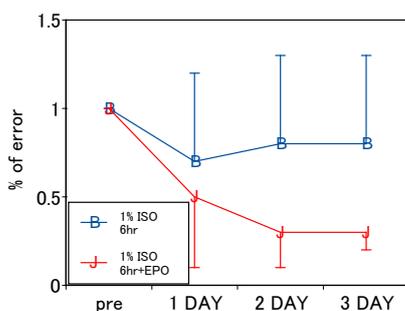
2) 生後1週間のイソフルランの暴露時間がその後の迷路学習効果に及ぼす影響の解析

生後1週間目のイソフルランの暴露では暴露時間が短くなるにつれ、海馬の歯状回での神経変性は軽減し、performance ratio of error で示される空間認知記憶学習に差は認められなかった。

以上の結果より、イソフルラン暴露による、マウスの脳神経細胞変性には暴露時間と時期が影響することが示唆された。

② イソフルランの生後1週間目の暴露による脳神経変性に対する新しい治療法の検討

EPO 投与により、イソフルラン6時間暴露で認められた空間認知記憶学習障害は改善し、組織学的検討でも、核の濃縮などの神経変性像は軽減していた。



イソフルランによる神経細胞変性及び記憶学習障害に影響を及ぼす機序については明らかになっていない。EPO が脳障害に対して有効であるとの報告はいくつかなされており、NMDA receptor antagonist による脳神経細胞変性に対して EPO が brain-derived neurotrophic factor (BDNF) 等のニューロ

トロフィンの介在する経路に働きかけて神経細胞変性を抑制する可能性が考えられるが、今後の検討課題である。

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)

[学会発表] (計 3 件)

- ①小野純一郎, 植木正明, 土本鉄平、シンポジウム「新生仔マウスの神経発達に及ぼすイソフルランの暴露時間及び週数の影響」、日本麻酔科学会第56回学術集会、2009.5.23, 神戸。
- ②森下 淳, 植木正明, 土本鉄平, 前川信博、一般演題「マウスへのイソフルラン暴露後の脳神経細胞変性に暴露時期が影響するか?」、日本麻酔科学会第56回学術集会、2009.5.22, 神戸。
- ③土本鉄平, 植木正明, 森下淳, 前川信博、一般演題「エリスロポイエチンはイソフルランによるマウスの脳発達時期の暴露後の神経細胞変性を抑制し、記憶学習障害を軽減する」、日本麻酔科学会第56回学術集会、2009.5.22, 神戸。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植木 正明 (UEKI MASA AKI)

神戸大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号: 20213332

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし