

機関番号：22701

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591840

研究課題名 (和文) 老齢ラットにおける全身麻酔後の長期学習障害に関する基礎研究

研究課題名 (英文) Studies on the long-term effects of general anesthetics on the learning ability of aged rats

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

研究成果の概要 (和文) : 吸入全身麻酔薬イソフルランは、麻酔覚醒から数週間後でも認知機能を低下させることが、老齢動物を用いた実験で示されている。本研究では、8 週齢ラットにおける、イソフルラン麻酔から覚醒後の空間記憶形成能の変化と、麻酔を行う時間が明期・暗期で効果が異なるかどうかを、行動学的手法を用いて研究を行った。ラットを麻酔群と非麻酔 (対照) 群それぞれに対して明期・暗期 2 群ずつの計 4 群に分け、麻酔覚醒後 2 日目から 21 日間、8 方向放射状迷路を行った。結果は、測定した 4 項目のどれにおいても差は見られなかった。若年成熟ラットでは、イソフルラン麻酔後に空間記憶形成能は変化せず、明期・暗期のいずれに麻酔を行ったかでも影響されないことが示唆された。

研究成果の概要 (英文) : It has been reported that isoflurane, an inhalational general anesthetic, impairs spatial learning in rats weeks after the animals wake up from anesthesia. In this study, we tested the hypotheses that (1) isoflurane affects spatial learning after anesthesia in young adult rats, and that (2) this effect is more pronounced if anesthesia is performed during the night time while the rat is more active. The rats were divided into 4 groups (1) isoflurane 1.2% for 2 hours during the day time, (2) no anesthesia but otherwise handled identically as in (1) during the day time, (3) isoflurane 1.2% for 2 hours during the night time, (4) no anesthesia but otherwise handled identically as in (4). The 8-arm radial maze test was started 2 days after anesthesia or handling and continued for 21 days. These 4 groups of rats did not differ in any of the measured parameters for this test, such as the number of days required to learn the maze. We conclude that isoflurane does NOT affect spatial learning ability after anesthesia in young adult rat, irrespective of whether anesthesia was administered during the day or night.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

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：全身麻酔、認知機能、概日リズム

## 1. 研究開始当初の背景

全身麻酔薬は、高齢者の術後認知機能障害にみられるように、麻酔からの覚醒後に脳機能障害を残しうることが明らかになってきた。この原因としてわれわれは世界で初めて、概日リズムの乱れの可能性を示唆する生化学的証拠を報告した。

## 2. 研究の目的

(1) これに基づき本研究ではまず、若年成熟ラットを用いて、概日リズムの乱れがイソフルランによる全身麻酔後の記憶形成能力障害を増悪させるという仮説を検討した。記憶形成能力の測定方法として、すでに先行研究が発表されている、放射状迷路テスト (radial arm maze (RAM) test) を行った。

(2) (1) の実験でイソフルランの空間記憶能力に対する影響が認められなかった。しかし、放射状迷路テストは終了までに3週間を要するので、長期記憶を調べるテストである。このため、短期記憶を調べる Inhibitory Avoidance テストを同時に施行したところ、障害が認められる傾向が明らかになった。そこで、Inhibitory Avoidance テストを用いて、イソフルランの記憶に対する影響の用量依存曲線を描き、またイソフルラン麻酔後、何日目にその効果が最大となり、何日たつと回復するか、その時間経過を観察することとした。

## 3. 研究の方法

(1) 8週齢の Wistar-Imamichi ラットを、(1) イソフルラン 1.2%にて昼間に2時間全身麻酔を行う群 (N=12) (2) 同じ麻酔を夜間に行う群 (N=15)、(3) 麻酔箱に空気のみを流し、昼間に2時間さらず群 (N=16)、(4) (3) と同様のことを夜間に行う群 (N=15) の4群に分け、8-arm radial maze を昼間群では48時間後、夜間群では60時間後より3週間毎日行った。

主要観察項目(primary endpoint)として、RAM 習得日数をとった。これは、一度入ったアームにもう一回入ること、およびまだチーズのあるアームに入ってもチーズを食べることなく出て行った場合をエラーと定義す

ると、最初の8回アームに入る間にエラーが0回または1回の日(すなわち最初の8回アームに入る間に、7回以上、それまでに入ったことのないアームに入る日)が連続して5日間続いたとき、そうなった最初の日までに、試験開始日から要した日数(RAM 習得日数)と定義される。これは、RAMの8本のアームの位置関係、および一回入ったところには2度は餌がないことに関する学習が成立するのに要した日数と解釈される。

その他、RAM 完了時間(それぞれの日に、RAMの8本のアーム全てに入り終わってプラットフォームに戻ってくるまでの時間)、最初のエラーまでの正解数(最初にエラーするまでに入ったアームの数)、エラー総数(8本のアーム全てに入り終わるまでに観察されたエラーの総数)を記録した。

データは明期・暗期および麻酔の有無を2要因とする2-way ANOVAで行った。

(2) (1) の研究で各群に有意差は見られなかったが、同時に行った inhibitory Avoidance テストで麻酔の有無に差が認められる傾向が見られた。そこで、これを詳しく実証するため、以下の研究を行った。

8週齢の Wistar-Imamichi ラットに、イソフルラン麻酔を2時間かけ(対照群は麻酔をかける箱に入れて空気を送り)、

1. 翌日
2. 3日後
3. 7日後

に、Inhibitory Avoidance テストを行った。Inhibitory Avoidance は、ライトで照らした明るい箱と暗い箱を隣り合わせにおいてラットが自由に行き来できるようにし、明るい箱にラットを置く。暗い箱の床には金属のグリッドを置き、研究者の手元スイッチで通電すると、ラットの足に電気ショックを与えることができるようになっている。最初、ラットを明るい箱において、暗い箱に入ったときに電気ショックを与える。30分後、もう一度ラットを明るい箱に入れ、暗い箱に入るまでの時間を測定する。(学習が成立すると、暗い箱になかなかはいらない。)

麻酔の濃度は、それぞれの群で、0%(対照群)、0.6%、1.2%、1.8%の4通りとした。また、麻酔箱にいれない動物のテストも行った

ので、動物は全部で13群テストした。

#### 4. 研究成果

(1) 図1にRAM習得日数をしめす。

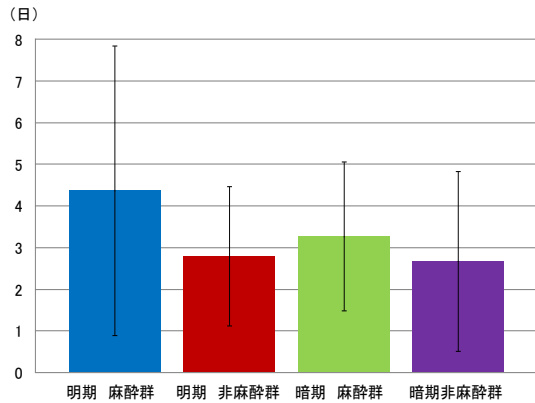


図1 RAM 習得日数 (エラーが0回または1回の日が5日以上続くとき、その初日までに要した日数。)

- (1) 麻酔の有無の主効果は  $P=0.086$  で見られる傾向にはあったが、有意差には達しなかった。
- (2) 明期・暗期の主効果はなかった。  
( $P=0.333$ )
- (3) 麻酔の有無と明期・暗期の相互作用も認められなかった。  
( $P=0.436$ )

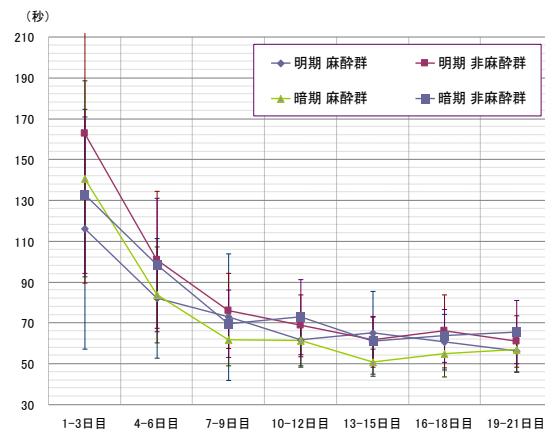


図2 RAM 完了時間。8本のアーム全てに入り終わるまでの時間。

図2にRAM完了時間を示す。日数がたつにつれ、動物は放射状迷路を学習し、8本のアーム全てに入り終わるまでの時間は短縮した。しかし、群間の差は認められなかった。

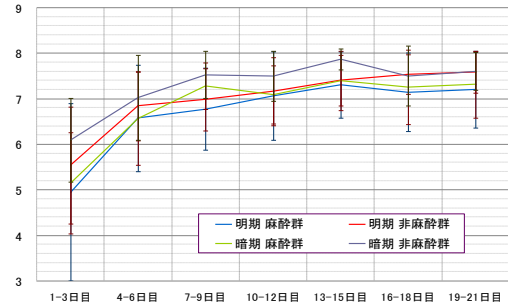


図3 最初のエラーまでの正解数

図3は最初にエラーを侵すまでに入ったアームの数である。時間が経つにつれて増え、学習効果を示したが、群間差はなかった。

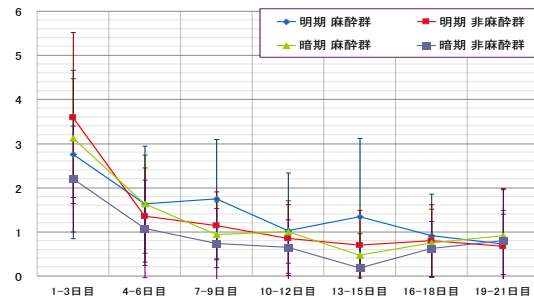


図4 エラー総数

図4は、8本のアーム全てに入るまでのエラーの総数である。全ての群で時間が経つにつれ、エラーは減っていったが、群間の差は認められなかった。

以上より、1.2%イソフルラン2時間の全身麻酔は、ラットの空間学習能を悪化させる傾向にあるが、有意差には達しなかった。概日リズムの乱れはこの空間学習能への影響と関連していなかった。

(2)の Inhibitory Avoidance を用いた研究は、当初の研究計画には入っていなかった。(当初の研究計画では、イソフルランで有意差が見られたら、より覚醒の早いキセノン麻酔ではどうなるかを調べる予定であった。)従って、研究期間内に結果を出すことができなかった。

平成23年5月に結果が出揃った。現在、最も主な知見の部分の追試を行っている段階である。追試で確認でき次第、学会発表および論文作成を行う予定である。

#### 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)

〔その他〕  
ホームページ等

この研究の前半の結果は、本学大学院医学研究科医科学専攻修士課程に在籍した、西澤絢子の修士学位論文となった。(平成 22 年 3 月卒業)

## 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

菊地 龍明 (KIKUCHI TATSUAKI)  
横浜市立大学・附属病院・准教授  
研究者番号：70285138

### (3) 連携研究者 なし

### (4) 研究協力者

西澤 絢子 (NISHIZAWA AYAKO)  
横浜市立大学・医学研究科 医科学専攻修士課程 (平成 22 年 3 月卒業)

内本 一宏 (UCHIMOTO KAZUHIRO)  
横浜市立大学・医学研究科 医科学専攻博士課程 (平成 25 年 3 月卒業予定)