

令和 6 年 4 月 24 日現在

機関番号：20101  
研究種目：若手研究  
研究期間：2020～2023  
課題番号：20K17786  
研究課題名（和文）幼若脳の麻酔薬神経毒性に対する新たなアプローチ-「脳腸相関」から予防法を探索する  
研究課題名（英文）The influence of microbiota to neurotoxicity of general anesthesia for developing brain  
研究代表者  
茶木 友浩（Chaki, Tomohiro）  
札幌医科大学・医学部・助教  
研究者番号：30758701  
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：幼若ラットに対して、生後7-13日の連続7日間、セボフルラン2.1% 2時間の曝露を行った結果、生後21日の腸内細菌叢において、酪酸産生菌であるFirmicutes門、Ruminococcus科が減少することを明らかにした。さらに、健常ラットからの糞便細菌叢移植によって、酪酸産生菌の割合が増加するとともに、糞便中酪酸濃度、海馬におけるヒストンアセチル化、BDNF遺伝子発現量増加、神経細胞アポトーシス減少、成長後学習能力改善を認めた。本研究により、幼若脳麻酔薬神経毒性に対して、腸内細菌叢の是正から学習障害改善を期待できる結果が得られた。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果から、小児麻酔において重大な課題として認識されている幼若脳麻酔薬神経毒性に対し、脳腸相関というアプローチから予防法の可能性を示すことができた。今後、プロバイオティクスといった経口的な介入方法による予防効果を検証し、臨床における予防法として確立することを目的とし、研究を継続していく予定である。

研究成果の概要（英文）：The significant alternation of gut microbiota was induced by 2.1% sevoflurane 2-hour exposure during post-natal days 7-13. Sevoflurane exposure decreased the relative abundance of Firmicutes phylum, Ruminococcus family. On the other hand, fecal microbiota transplantation (FMT) from healthy rats significantly increased the relative abundance of Firmicutes phylum, Ruminococcus family. Moreover, FMT increased histone acetylation and the expression of BDNF mRNA in the hippocampus and improved spatial learning ability. Our results suggest that developmental anesthetic neurotoxicity has a solid relationship to gut microbiota, and the modulation of gut microbiota has the potency to prevent developmental anesthetic neurotoxicity.

研究分野：小児麻酔

キーワード：幼若脳麻酔薬神経毒性 腸内細菌叢 脳腸相関 学習障害 BDNF エピジェネティクス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

幼若期の麻酔薬曝露が脳発達を抑制し、学習障害を呈することは、齧歯類を対象とした数多くの動物実験により明らかにされてきた。全身麻酔薬曝露による神経細胞アポトーシス誘導がこれらのメカニズムとして挙げられているが、その詳細な機序は未だ明らかにされておらず、予防的アプローチも提唱されるに至っていないのが現状である。近年、小児精神領域では、自閉スペクトラム症を有する児の腸内細菌叢に変化が生じていることが明らかにされ、「脳腸相関」に注目が集まっている。ビフィズス菌などにより産生される酢酸や酪酸などの短鎖脂肪酸は、脳内で産生される脳由来神経栄養因子(BDNF)の産生を誘導し、神経発達を促進する。自閉スペクトラム症の児では、短鎖脂肪酸を産生できる細菌が減少していることが明らかにされており、短鎖脂肪酸およびBDNFが減少する結果、自閉スペクトラム症の発症・増悪に関わっていると考えられている(Kang DW, Sci Rep. 2019)。この「脳腸相関」の概念から、麻酔薬による幼若脳学習障害という事象にアプローチした報告は未だ無い。本研究によって学習障害と「脳腸相関」に関連があることが証明できれば、「腸内細菌移植やプレバイオティクスによって腸内細菌叢を正常化させる」という全く新しい側面から脳発達障害・学習障害を予防する手法を提唱できる可能性がある。

### 2. 研究の目的

本研究では、幼若脳麻酔薬神経毒性の病態に腸内細菌叢、脳腸相関が関わることを明らかにし、幼若脳麻酔薬神経毒性の予防法・治療法として、腸内細菌叢の正常化(プレバイオティクス、プロバイオティクス)の可能性を見出すことにある。

### 3. 研究の方法

#### 実験1)

幼若ラットをControl(C)群:セボフルラン曝露を実施しない群、Sevo(S)群:生後7-13日にセボフルラン2.1%2時間の曝露を連日実施する群に分け、生後21日目に糞便を採取した。検体として採取した糞便を用いて、糞便細菌叢解析を実施した。

#### 実験2)

幼若ラットをSevo(S)群:生後7-13日にセボフルラン2.1%2時間の曝露を連日実施する群と、Sevo+FMT(SF)群:生後7-13日にセボフルラン2.1%2時間の曝露と健常ラットからの糞便細菌叢移植(FMT)を連日実施する群に分け、生後28日から行動実験(Open field試験、Y maze試験、Morris water maze試験)を実施した。検体は生後21日に糞便および海馬、行動実験終了後に海馬を採取した。糞便は糞便細菌叢解析および糞便中有機酸解析、海馬はrt-PCR、ヒストンアセチル化解析、免疫組織学的検査およびTUNEL染色による神経細胞アポトーシス評価を実施した(図1)。

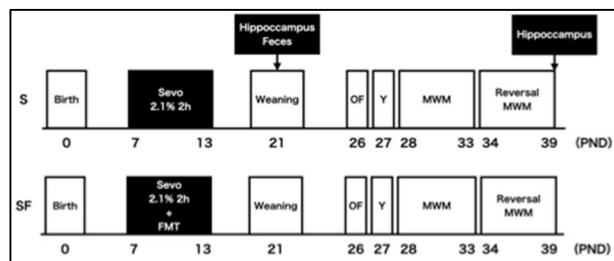


図1. 実験2のプロトコール。S群では、生後7-13日にセボフルラン2.1%2時間の曝露を連日実施し、SF群では生後7-13日にセボフルラン2.1%2時間の曝露の後、健常ラットからの糞便細菌叢移植を実施した。

#### 4. 研究成果

##### 実験1)

幼若ラットに対して、生後7-13日の連続7日間、セボフルラン2.1%2時間の曝露を行った結果、生後21日の腸内細菌叢において、酪酸産生菌である Firmicutes 門、Ruminococcus 科が減少することを明らかにした。

##### 実験2)

健常ラットからの糞便細菌叢移植を行うことで、セボフルラン曝露によって減少した Firmicutes 門、Ruminococcus 科および酪酸産生菌の割合が増加するとともに、糞便中酪酸濃度、海馬におけるヒストンアセチル化、BDNF 遺伝子発現量増加、神経細胞アポトーシス減少、成長後学習能力改善を認めた(図2)。本研究により、幼若脳麻酔薬神経毒性に対して、腸内細菌叢の是正から学習障害改善を期待できる結果が得られた。本研究結果は論文化し、現在英文誌に投稿中である。

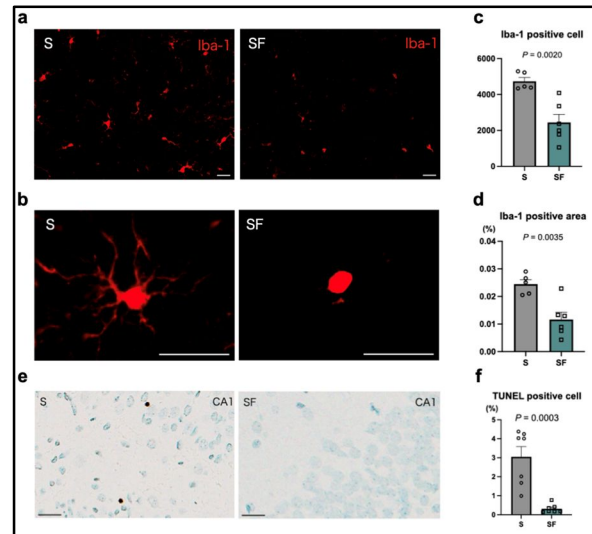


図2. 糞便細菌叢移植 (FMT) による麻酔薬誘発性神経炎症および神経細胞アポトーシス抑制作用。a,b) 海馬中のミクログリア。c,d) FMT により神経炎症が抑制され、遊走するミクログリアが減少した。e,f) FMT により神経細胞アポトーシスが抑制された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------