

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21591968

研究課題名（和文）吸入麻酔薬による術後認知機能低下の機序に関する研究

研究課題名（英文）Mechanisms of postoperative cognitive dysfunction after inhalation anesthesia

研究代表者

堀口 剛（HORIGUCHI TAKASHI）

秋田大学・医学部・准教授

研究者番号：70221570

研究成果の概要（和文）：吸入麻酔薬による術後認知機能低下の機序の一つとして吸入麻酔薬が脳中に長期間残存することが関与しているのではないかとの仮説を検証した。その結果(1)ラットではセボフルラン麻酔後7日経過しても血液中および脳中にセボフルランが残存し、脳中の濃度は血液中の約6倍であった。(2)ヒトでもセボフルラン麻酔後7日経過しても血中にセボフルランが残存した。(3)一方、ラットでプロポフォール麻酔後2日目にはプロポフォールは血中、脳中ともに検出されなかった。

研究成果の概要（英文）：Residual subanesthetic concentration of an inhaled anesthetic may be associated with postoperative impairment of psychomotor and physiologic function. We measured sevoflurane concentrations in blood and brain in rats and blood in humans until 1 week after discontinuation of sevoflurane. Blood and brain in rats contained sevoflurane even 7 days after discontinuation of the anesthetic. The concentrations of sevoflurane in brain 7 days after anesthesia were approximately 6 times their blood concentrations. Blood in humans also contained sevoflurane even 7 days after sevoflurane anesthesia. On the other hand, Propofol disappeared in both blood and brain 2 days after propofol anesthesia.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
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：麻酔学、吸入麻酔薬、術後認知機能低下、セボフルラン、プロポフォール

## 1. 研究開始当初の背景

高齢者における全身麻酔後の中枢神経障害は1)覚醒時から術後24時間に起こる覚醒時譫妄、2)術後24時間から72時間の間に起こる術後譫妄、3)術後、数週間から数カ月

まで続く術後認知機能低下の3期に分けられる。最近の臨床報告によると術後認知機能低下は、成人で一般に見られる現象であるが、60歳以上で有意に長期化し、術後1年以内の死亡率が高い。このため米国では年間20億ド

ルの医療費が余計にかかっており周術期の大きな問題となっている。この原因として、麻酔薬そのものが原因であるという多くの報告、および手術侵襲による中枢神経系の炎症であるという報告があるが、高齢動物を用いた研究は少なく、詳細な機序は明らかではない。

## 2. 研究の目的

従来、吸入麻酔薬の一部は代謝されるが、多くは短時間で呼気により体内から排出されると考えられてきた。しかし実際は脳内に長期間残存し、そのために認知機能低下が長期化するのではないか。その発想に至ったのはMATO細胞の存在、および我々が観察した電子顕微鏡像の知見である。脳内の細動脈は周囲にMATOのFGP (fluorescent granular perithelial) 細胞というマクロファージ系細胞がネットワークを作り異物を貪食処理している。また、我々はセボフルラン麻酔後2日目の高齢ラットの電子顕微鏡像で、非麻酔高齢ラットでは存在しない脂溶性の物質が脳内の貪食細胞内に多数存在することを観察している。これがはたしてセボフルランなのか、ガスクロマトグラフでフッ素化合物が脳内に検出されるか確かめたい。セボフルランの沸点は58.5℃であり、他の吸入麻酔薬より高いことから、技術的に検出可能と考えている。高齢ラットの脳は脂肪組織が多く、このため脂溶性の有機溶剤であるセボフルランがMATO細胞内に侵入しやすいこと、および高齢ラットではMATO細胞の異物処理能力が落ちていることも、以上の仮説を指示する可能性があると考えている。

## 3. 研究の方法

(1) SDラットに空気(2.5 L/分)-酸素(0.5 L/分)-セボフルラン(2.0%)で2時間麻酔を行う。麻酔終了5分後、2日後、7日後の3群に分ける。

ペントバルビタール麻酔下に血液採取および脳を生理食塩水で灌流摘出する。

① 採取した血液に100 ppmのハロタン(内部標準物質)を加えた後、クロロホルムを加え攪拌し、Ultrafree-CLフィルターを通し低温遠心する。下層のクロロホルム層液(クロロホルム、セボフルラン、ハロタンを含有)1 μLをガスクロマトグラフ、マススペクトロメーターに注入しライブラリーのセボフルランと照合し定性分析する。内部標準物質としてハロタンを用い検量線を作成し定量した。

② 摘出した脳を冷却しながら6%過塩素酸を加えホモジュナイズする。その後の処理は血液と同様にする。

(2) FGP (fluorescent granular perithelial) 細胞は中枢神経系のスカベンジャー細胞であるが、生後14日以上かけて血管周囲細胞から成長分化する。もしFGP細胞が吸入麻酔薬を貪食保持し、吸入麻酔薬の脳中残存に重要な役割を果たすと仮定すると、年齢により脳中残存吸入麻酔薬の濃度は異なるはずである。そこで、新生ラット(4-10日)と成年ラット(9週)の残存吸入麻酔薬濃度を比較した。新生ラット成年ラットともに麻酔直後、および麻酔2日後の2群に分ける。空気(2.5 L/分)-酸素(0.5 L/分)-セボフルラン(2.5%)麻酔を2時間行う。麻酔直後および2日後にペントバルビタール麻酔下に新生ラットでは脳をそのまま取り出し、摘出した脳を冷却しながら6%過塩素酸を加えホモジュナイズする。以下(1)と同様の処置を行う。成年ラットでは脳を生理食塩水で灌流後摘出し、以後新生ラットと同様にした。

(3) セボフルラン1.5%で麻酔中の患者(4名)、セボフルラン麻酔を行った術後2日目(8名)、7日目の患者、麻酔無し(4名)より採血し、クロロホルムを加え攪拌後、フィルターを通し低温遠心した。その後(1)と同様の処置を行う。

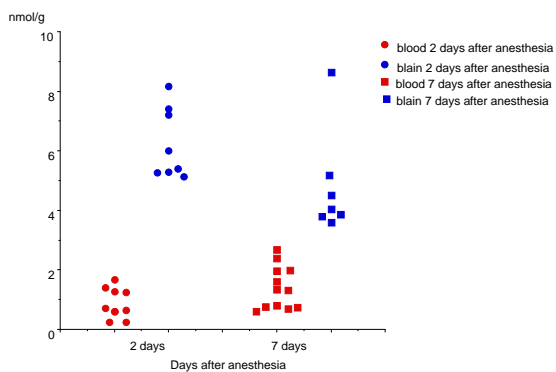
(4) ラットにおける空間認知機能は吸入麻酔後では障害されるが、プロポフォール麻酔後は障害されないとの報告がある。もし、残存麻酔薬が認知機能低下に関与していると仮定するとプロポフォールはセボフルランより早く脳中から消失するはずである。そこでプロポフォールの濃度を測定した。SDラット(9週)に空気-酸素-プロポフォール 0.7 mg/kg/minで麻酔を2時間行い、麻酔直後(n=3)、麻酔後2日目(n=5)、麻酔無し(n=5)のラットをセボフルラン麻酔下に血液を採取した。その後、脳を生理食塩水で灌流し摘出した。血液は、ワーキング溶液(内部標準物質としてチモール 10 ppmを含有したクロロホルム・酢酸エチル混合液)を加え攪拌後、Ultrafree-CLフィルターを通し遠心した。下層のクロロホルム・酢酸エチル層液はガスクロマトグラフで分析した(検出限界0.3 ppm)。脳は冷却しながら0.2M塩化カリウム、0.2M水酸化ナトリウムを加えホモジュナイズし、その後の処置は血液と同様にした。

(5) 若年ラット(9週)および高齢ラット(20-26カ月)をそれぞれコントロール群、全身麻酔群、「全身麻酔+手術(脾臓摘出)」群

の3群に分けた。空気(2.5 L/分)-酸素(0.5 L/分)-セボフルラン(2.0%)で2時間麻酔を行う。  
 ① 2日目、7日目に脳のH-E染色、TUNEL染色を行い、海馬、大脳皮質を観察した。  
 ② 各群のラットの空間認知機能を調べるため、7日間毎日水迷路試験を行った。

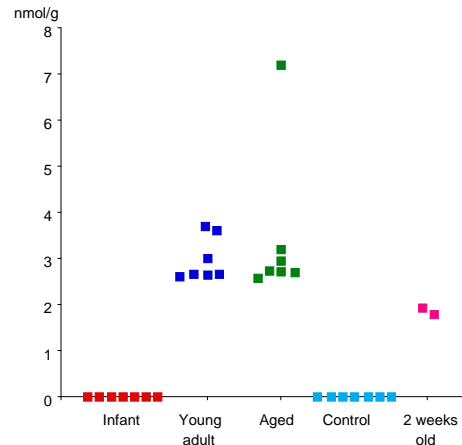
#### 4. 研究成果

(1) ラットではセボフルラン麻酔後7日経過しても血液中および脳中にセボフルランが残存した。セボフルラン麻酔2日後、7日後ともに、脳中の濃度は血液中の約6倍の濃度であった。この結果は脳中に長期間残存する吸入麻酔薬が術後認知機能障害に関与している可能性を示唆するものである(図1)。



(図1)

(2) 若年ラット(9週)、高齢ラット(17-21カ月)、生後2週のラットともにセボフルラン麻酔2日後に脳中にセボフルランが残存していたが、生後4-10日のラットの脳にはセボフルランは検出されなかった(図2)。また、セボフルラン麻酔2日目の高齢ラットの電子顕微鏡像で、非麻酔高齢ラットでは見当たらない内部構造が均一の円形物質が脳内の食細胞内に多数存在していた(図3)。これらの結果は脳内の食細胞でFGP細胞の成長分化の過程と矛盾しないと同時に、吸入麻酔薬による術後認知機能障害の機序は成長過程の脳と成人の脳とで異なる可能性を示唆するものである。

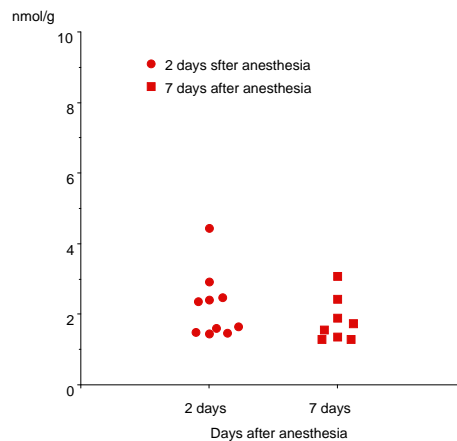


(図2)



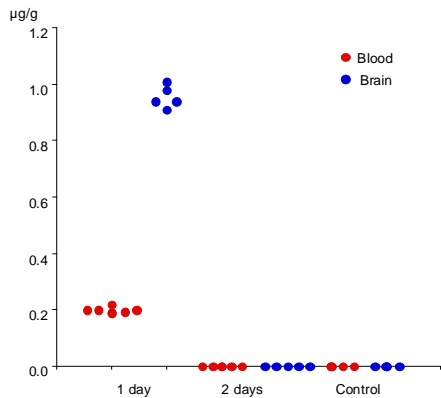
(図3)

(3) ヒトでもセボフルラン麻酔後7日目に血液中にセボフルランが残存した(図4)。セボフルランの血中濃度は2日後で麻酔中の1.2%、7日後で1.0%であった。ラットでの結果からヒトでも脳中のセボフルラン濃度は血中よりはるかに高濃度であることが予想される。



(図4)

(4) プロポフォル麻酔後 2 日目にはプロポフォルは血中、脳中ともに検出されなかった (図 5)。



(図 5)

(5) ① セボフルラン麻酔後 2 日目の海馬には変性萎縮細胞が手術施行の有無にかかわらず若年ラットおよび高齢ラットでみられた。変性萎縮細胞の数は若年ラットより高齢ラットで多かった。7 日後には正常細胞の数は増加した (図 6)。同様に、大脳皮質においても手術施行の有無にかかわらずセボフルラン麻酔後 2 日目には若年ラットおよび高齢ラットともに正常細胞の数は減少した。しかし、7 日目には正常細胞の数は若年ラットでは増加したが、高齢ラットでは変化しなかった (図 7)。アポトーシスは海馬および大脳皮質で若年ラットおよび高齢ラットともにみられなかった。

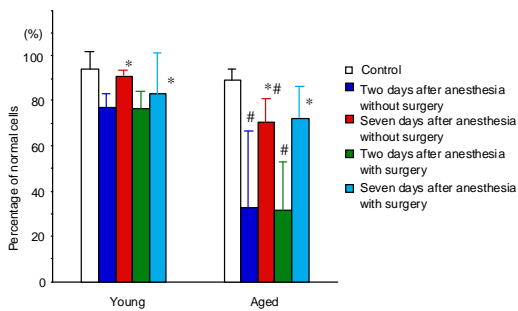


Fig. 1. Percentage of normal cells in the hippocampal CA1 field. The magnitude of reduction of normal cells after sevoflurane anesthesia was greater in aged rats than young rats. Seven days after sevoflurane anesthesia, normal cells increased in both young and aged rats. Values represent mean  $\pm$  SD, \*  $P < 0.05$  versus two days after anesthesia, #  $P < 0.05$  versus young.

(図 6)

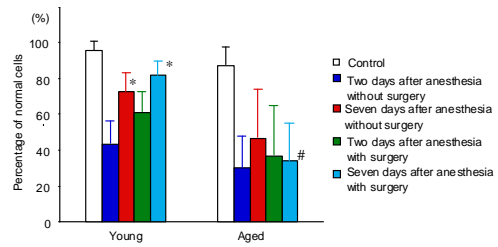
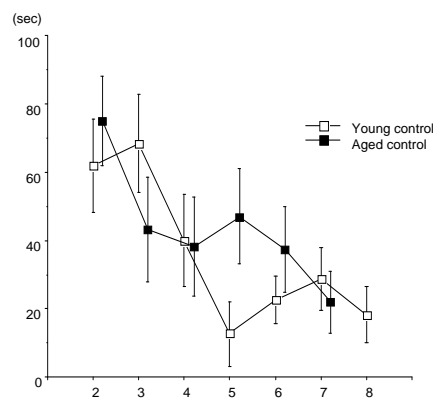


Fig. 2. Percentage of normal cells in the cortex M1 field decreased after sevoflurane anesthesia in both young and aged rats. Seven days after sevoflurane anesthesia, the number of normal cells increased in young rats. However, they remained unchanged in aged rats. Data represent mean  $\pm$  SD, \*  $P < 0.05$  versus two days after anesthesia, #  $P < 0.05$  versus young.

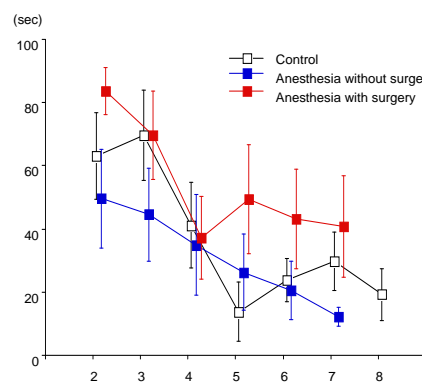
(図 7)

(5) ① コントロール群では若年ラット、高齢ラットともに空間記憶学習は可能であった (図 7)。

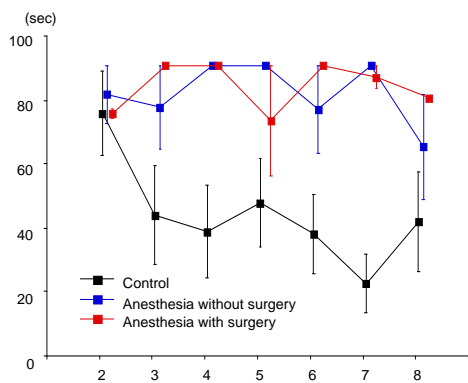


(図 8)

② 手術施行の有無にかかわらず、空間認知機能は麻酔後若年ラットでは障害されなかったが (図 9) 高齢ラットでは障害された (図 10)。



(図 9)



(図 10)

### 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 1 件)

- 堀口 剛, 真崎容子, 西川俊昭: セボフルラン麻酔後の脳内・血液内のセボフルラン量. 神経麻酔・集中治療 2009 (査読無): 59-60. 2009

[学会発表] (計 10 件)

- Horiguchi T, Masaki Y, Nishikawa T: Residual concentrations of propofol in the blood and brain after administration in rats. 15th WFSA World Congress of Anaesthesiologists, March 27, 2012 Buenos Aires, Argentina,
- Horiguchi T, Masaki Y, Muto H, Nishikawa T: Residual concentration of sevoflurane in blood after sevoflurane anesthesia in humans. The 64th American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting, October 18, 2011, Chicago, IL, USA
- 堀口 剛, 真崎容子, 西川俊昭: セボフルラン麻酔後の血中残存セボフルラン濃度. 日本臨床麻酔学会第 31 回大会, 2011 年 11 月 5 日, 宜野湾
- 堀口 剛, 真崎容子, 西川俊昭: プロポフォール麻酔 2 日後の脳内プロポフォール濃度. 日本麻酔科学会第 58 回大会, 2011 年 5 月 20 日, 神戸
- Horiguchi T, Masaki Y, Nishikawa T, Tobe Y: Residual concentration of sevoflurane in brain after sevoflurane anesthesia differed among ages in rats. The 63th American Society of Anesthesiologists

(ASA) Annual Meeting, October 19, 2010, San Diego, CA, USA

- 堀口 剛, 真崎容子, 西川俊昭: セボフルラン麻酔後 2 日目の血中セボフルラン濃度. 日本臨床麻酔学会第 30 回大会, 2010 年 11 月 4 日, 徳島
- 堀口 剛, 真崎容子, 西川俊昭: 新生ラットと成年ラットにおけるセボフルラン麻酔後 2 日目の脳内セボフルラン残存の有無. 日本麻酔科学会第 57 回大会, 2010 年 6 月 4 日, 福岡
- Horiguchi, T, Masaki, Y, Nishikawa, T, Tobe, Y: Histological changes and acquisition of spatial memory after sevoflurane anesthesia in rats. The 62th American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting, October 18, 2009, New Orleans, LA, USA
- Horiguchi, T, Masaki, Y, Nishikawa, T, Tobe, Y: Residual concentration of sevoflurane in blood and brain after sevoflurane anesthesia in rats. The 62th American Society of Anesthesiologists (ASA) Annual Meeting, October 18, 2009, New Orleans, LA, USA
- 堀口 剛, 真崎容子, 西川俊昭: 高齢ラットではセボフルラン麻酔後、セボフルランは脳内に長期間残存する. 日本麻酔科学会第 56 回大会, 2009 年 8 月 17 日, 神戸

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

堀口 剛 (HORIGUCHI TAKASHI)  
秋田大学・医学部・准教授  
研究者番号: 70221570

#### (2) 研究分担者

真崎容子 (MASAKI YOKO)  
秋田大学・医学研究科・助教  
研究者番号: 30125744  
川村公一 (KAWAMURA KOICHI)  
秋田大学・医学研究科・准教授  
研究者番号: 00091801  
安部恭子 (ABE KYOKO)  
秋田大学・医学部・助教  
研究者番号: 30311575  
西川俊昭 (NISHIKAWA TOSHIAKI)  
秋田大学・医学研究科・教授  
研究者番号: 50156048