

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 14 日現在

機関番号：14501  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23659744  
 研究課題名（和文） 高濃度吸入麻酔薬による胎児麻酔後の脳神経発達障害に及ぼす影響とその機序の解明  
 研究課題名（英文） Effects of Highly-concentrated Inhalational anesthetic exposure during pregnancy on neurodegeneration of neonatal mice  
 研究代表者  
 魚川礼子 (UOKWA REIKO)  
 神戸大学・医学研究科・医学研究員  
 研究者番号：50467651

### 研究成果の概要（和文）：

妊娠17日目の2.9%イソフルラン1時間の曝露は、出生1週間後の脳海馬BDNF発現量に影響を与え、生後8-9週間後に行った空間認知学習機能を低下させ、海馬でのシナプトフィジン免疫染色性を低下させた。さらに妊娠中の高濃度吸入麻酔薬曝露は出生したマウスのさらにNKCC/KCC2mRNA比はイソフルラン曝露で50%酸素曝露に比べて増加し、セボフルラン曝露で減少していた。これらの結果はGABA受容体の未熟脳から成熟脳へのスイッチに影響を与えている可能性が示唆された。

### 研究成果の概要（英文）：

Exposure of 2.9% isoflurane on pregnant mice (embryonic day 17) had an influence on learning function, morphological synapse formation (synaptophysin staining) and BDNF mRNA on postnatal day 7. Furthermore, exposure of 2.9% isoflurane on pregnant mice effected brain NKCC/KCC2mRNA ratio.

### 交付決定額

(金額単位：円)

|       | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|-------|-----------|---------|-----------|
| 交付決定額 | 2,400,000 | 720,000 | 3,120,000 |

研究分野：麻酔科学

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、妊娠、脳神経変性

#### 1. 研究開始当初の背景

胎児診断時の母体の麻酔管理時には、妊婦

の血行動態、胎児の循環動態のモニタリング  
 のうえ、妊娠の継続性を考慮して、高濃度吸  
 入麻酔薬（2MAC 以上）による全身麻酔が推

奨されているが、その安全については、麻酔薬による脳神経発達障害の報告以降、再評価されていない。

## 2. 研究の目的

本研究は妊娠中の母体の高濃度吸入麻酔薬による暴露が出生後の仔の脳神経発達に及ぼす影響とその機序を解明し、その対策・治療法へと展開するための研究基盤を確立することが目的である。研究期間内には以下のことを明らかにする。

(1) 2 MAC の吸入麻酔薬 (イソフルラン、セボフルラン) による母体麻酔後の脳神経発達に及ぼす影響を、8 方向迷路学習と脳神経シナプスの形成の点から検討する。

(2) 2 MAC の吸入麻酔薬による母体麻酔後、生後 1 週間目の海馬での脳由来神経栄養因子 (BDNF) に及ぼす影響を検討する。

(3) 2 MAC の吸入麻酔薬による母体麻酔後の、未熟脳から成熟脳へスイッチに及ぼす影響を、吸入麻酔薬の作用起点である、GABA 受容体の未熟脳から成熟脳へのスイッチに関係する因子への影響から検討する。

## 3. 研究の方法

(1) 妊娠 10 日目、17 日目のマウスに 2.9% イソフルラン及び 4.4% セボフルランで 1 時間暴露させ、出産後、8-9 週間目のマウスに 8 方向放射状迷路を利用し、空間認知記憶学習と脳の組織学的検討を行う。

① 対象動物： C57BL マウス

② 麻酔薬暴露：特製ボックスに飼育ゲージごといれて、酸素濃度 50% で 2.9% イソフルラ

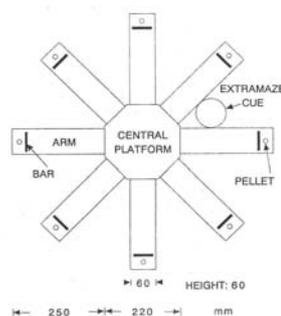
ン及び 4.4% セボフルランを 1 時間暴露させる。酸素、イソフルラン及びセボフルラン濃度は麻酔ガスモニター (AS/3 モニター、IMI 社) で確認する。対照は酸素濃度 50% ガスのみで暴露させる。

③ 実験群：妊娠 10 日目、17 日目のマウスに 50% 酸素濃度下に 2.9% イソフルラン及び 4.4% セボフルランを 1 時間暴露する群 (イソフルラン、セボフルラン群、それぞれ N=4 腹) と、対照として、50% 酸素濃度下に 1 時間暴露する群 (対照群、それぞれ N=4 腹) に分けて、暴露させる。1 妊娠マウスから 4-6 匹出産すると仮定。その後生後 8 週間目に、仔マウスで空間認知記憶学習 (N=15) と脳組織学的検討 (N=5) を行う。

④ 空間認知記憶学習方法：生後 8-9 週間目に 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 方向迷路学習：

生後 8 週間目に 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 方向放射状迷路は左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。



⑤脳組織学的検討：生後8-9週間目での空間認知記憶学習終了後、脳を灌流固定し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色及びシナプトフィジン免疫染色を行う。

（2）妊娠 10 日目、17 日目のマウスに 2.9%イソフルラン及び 4.4%セボフルランで 1 時間暴露させ、出産後、2 週間目のマウス脳から海馬を取り出し、RNA を抽出し、BDNFmRNA を RT-PCR で測定し、比較検討した。

（3）妊娠 10 日目、17 日目のマウスに 2.9%イソフルラン及び 4.4%セボフルランで 1 時間暴露させ、出産後、1、2 週間目のマウス脳から海馬を取り出し、RNA を抽出し、NKCC1 および KCC2mRNA を RT-PCR で測定し、比較検討した。

#### 4. 研究成果

（1）妊娠 17 日目の 2.9% (2MAC) イソフルラン 1 時間の暴露で、出生後の 8-9 週間後に行ったマウスの空間認知学習機能は低下し、シナプトフィジン免疫染色性が大腦皮質および海馬で低下していたが、4.4% (2MAC) セボフルラン暴露後には影響を与えなかった。妊娠 10 日目の 2.9%イソフルラン及び 4.4%セボフルラン 1 時間暴露では出生後の 8-9 週間後に行ったマウスの空間認知学習及びシナプトフィジン免疫染色に影響は与えなかった。

（2）高濃度イソフルランによる脳神経発達障害機序の解明のために、大腦皮質や記憶形成に係わる海馬の神経回路発達変化を制御する最も重要な制御因子の一つで、発達脳における臨界期の決定に大きな影響を及ぼ

す脳内脳由来神経栄養因子（BDNF）の発現に関係があるかどうかを検討したところ、妊娠 17 日目の 50%酸素暴露後の出生したマウスは生後の 2 週間目に脳内 BDNFmRNA 発現は大幅に増加するが、イソフルラン及びセボフルラン暴露後に出生したマウスは抑制されていた。しかし、妊娠 10 日目の暴露では生後 2 週間目の BDNFmRNA 発現の抑制は認められなかった。

（3）高濃度麻酔薬の暴露が出生後のGABA受容体の未熟脳から成熟脳へのスイッチに関連する因子に関係があるかどうかを検討するために、妊娠10日目及び妊娠17日目に2MACのイソフルランおよびセボフルラン暴露後、生後1週間、2週間後の海馬でのNKCC1およびKCC2mRNAをRT-PCRで測定し、比較検討した。妊娠10日及び17日目の50%酸素暴露後の、生後1週間、生後2週間目のKCC2 mRNA発現にイソフルラン及びセボフルラン暴露は影響を与えていなかったが、NKCC1mRNA発現はイソフルラン暴露でその発現量は増加し、セボフルラン暴露で軽度減少していた。その結果、NKCC/KCC2mRNA比はイソフルラン暴露で50%酸素暴露に比べて増加し、セボフルラン暴露で減少していた。

以上より、妊娠中の高濃度吸入麻酔薬暴露は出生したマウスの脳内BDNF発現量に影響を与え、またGABA受容体の未熟脳から成熟脳へのスイッチに何らかの影響を与えている可能性が示唆された。

#### 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）

〔学会発表〕（計 1 件）

魚川 礼子, 植木 正明, 森下 淳, 上嶋  
江利, 大井 まゆ, 前川 信博.

妊娠マウスへの 2MAC 吸入麻酔薬暴露は出生  
後の仔マウスに脳神経発達障害を及ぼす.

第 58 回日本麻酔科学会学術集会.

2011. 5. 19、神戸

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

魚川 礼子 (UOKAWA REIKO)

神戸大学・大学院医学研究科・医学研究員

研究者番号 : 50467651

### (2) 研究分担者

植木 正明 (UEKI MASA AKI)

神戸大学・大学院医学研究科・医学研究員

研究者番号 : 20213332

### (3) 連携研究者

なし