

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670672

研究課題名(和文) 胎児仮死時の帝王切開時の吸入麻酔薬による全身麻酔の安全性の再評価

研究課題名(英文) Isoflurane inhibits erythropoietin induction under hypoxic condition in pap mime

研究代表者

植木 正明 (UEKI, MASA AKI)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：20213332

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 900,000円、(間接経費) 270,000円

研究成果の概要(和文)：生後7日目のマウスに8%酸素曝露後時に0.5%イソフルラン(ISO)1時間曝露群および非曝露9時間後の海馬caspase-3 mRNA発現にはなかったが、ISO群でBDNF mRNA発現は上昇時、エリスロポイエチン(EPO) mRNA発現は低下し、生後8週後の空間認知学習機能は低下した。低酸素+ISO曝露前に、EPO 5000単位/kg皮下注後の迷路学習に改善作用が認められた。以上より、低酸素症時の0.5%イソフルランの同時曝露は、低酸素応答として発現する内因性エリスロポイエチンの発現増加が抑制され、脳神経発達に影響を及ぼし、EPOの直前投与で改善することができた。

研究成果の概要(英文)：Erythropoietin (EPO), originally identified as a hematopoietic growth factor produced, is endogenously expressed in the central nervous system (CNS). EPO in the CNS is induced under hypoxic conditions and plays a role in neuroprotection. Mice were exposed to 8% oxygen with or without 0.5% isoflurane on postnatal 7day. Expression of EPO mRNA and caspase-3 mRNA and BDNF mRNA in brain was studied. Hypoxia-induced EPO mRNA expression in the brain was significantly suppressed and BDNF mRNA expression was induced by 0.5% isoflurane. Mice after 8% oxygen with 0.5% isoflurane exposure had a greater learning impairment. Subcutaneous injection of EPO (5000 unit/kg) before 8% oxygen with 0.5% isoflurane exposure improved spatial memory/learning.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔科学

キーワード：低酸素症 イソフルラン 脳神経発達 エリスロポイエチン

## 1. 研究開始当初の背景

低酸素誘導性転写因子 (Hypoxia-inducible factor-1; HIF-1)は各種解糖系酵素、グルコース輸送蛋白、血管内皮増殖因子、造血因子エリスロポイエチンなど、多くの遺伝子の発現を転写レベルで制御し、細胞から組織・個体にいたる全てのレベルの低酸素適応を制御している。その中で、エリスロポイエチンは低酸素防御機構の中心的役割を果たし、実験的脳障害時の脳保護作用などが報告されている。

胎児仮死時には児の脳ではHIF-1の活性化を介して、低酸素防御機構が作動している。しかし、低酸素時にHIF-1の活性化を阻害する各種の因子に曝露されると、児の脳はHIF-1による応答が阻害され、脳障害は防御しきれずに、その後の脳高次機能は障害されると推測している。HIF-1の活性化を阻害する因子に吸入麻酔薬などが報告されている。

胎児仮死時の吸入麻酔薬による全身麻酔では児のHIF-1による脳の防御機構が阻害され、その後の脳神経発達が影響を受け、その発達障害機序の中心的役割を果たしているのが、HIF-1活性化により誘導されるエリスロポイエチンの低下であると推測している。

## 2. 研究の目的

帝王切開の胎児側適応に胎児仮死が挙げられているが、くも膜下脊髄麻酔か、硬膜外麻酔か、全身麻酔か、麻酔方法の選択はその時の母児の状態によって決定される。胎児の低酸素症時、本来低酸素刺激に対して、さまざまな防御機構が作動する。その中の一つがHIF-1の活性化である。しかしそのHIF-1活性化は様々な因子により阻害される。その一つに吸入麻酔薬がある。帝王切開時、児が低酸素状態での吸入麻酔薬の曝露がHIF-1活性化を阻害し、本来の生体防御機構が作動せず、児の脳神経発達に影響を与えていると推測される。本研究では胎児仮死時の吸入麻酔薬による全身麻酔による安全性の評価とその

障害発症機序を解明することを目的としている。

## 3. 研究の方法

対象マウス：C57BL マウス

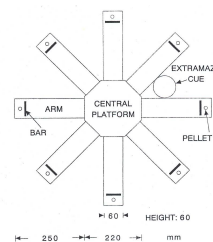
実験群：妊娠マウスから出生した生後7日目の雄マウスを対象に、特製の低酸素ボックスで8%酸素1時間曝露群を対照(HP群)として、8%酸素曝露時に0.5%イソフルラン同時曝露した群(HP+ISO群)に分ける。酸素濃度は麻酔ガスモニター(AS/3モニター、IMI社)で確認する。

### (1)脳由来神経栄養因子(BDNF)、脳アポトーシス(caspase-3)、内因性エリスロポイエチン発現に及ぼす影響

8%酸素曝露終了9時間後にマウスをネブタールで麻酔後に、海馬を取り出し、BDNF、caspase-3、EPO mRNAをreal time PCRで測定する。

### (2)8方向迷路学習及びシナプス形成に及ぼす影響

8%酸素曝露終了後、飼育ゲージに戻し、飼育し、生後8週目に、空間認知記憶学習(8方向迷路学習)と脳シナプス形成(シナプスフィジン免疫染色)を測定する。8方向放射状迷路は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。

性ホルモンが学習機能に影響を与えるので、雄マウスのみを使用する。

### (3)エリスロポイエチンによる8方向迷路学習に及ぼす影響

EPO ( 5000 単位/kg ) を皮下注後に、 8 % 低酸素+0.5%イソフルラン曝露を行い、 8 生後 8 週後に、 8 方向迷路学習を行う。

#### 4 . 研究成果

(1)8 % 酸素曝露終了 9 時間後の海馬 caspase-3 mRNA 発現に両群で有意差はなかったが ( 図 1 )、 HP+ISO 群で有意に BDNF mRNA 発現は上昇し ( 図 2 )、 EPOmRNA 発現は低下していた ( 図 3 )。

図 1

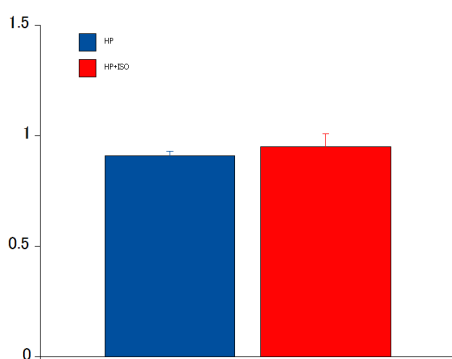


図 2

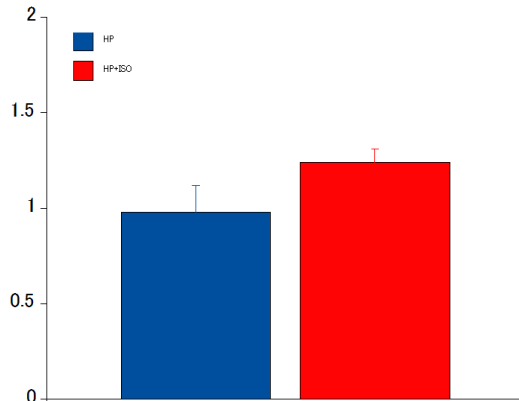
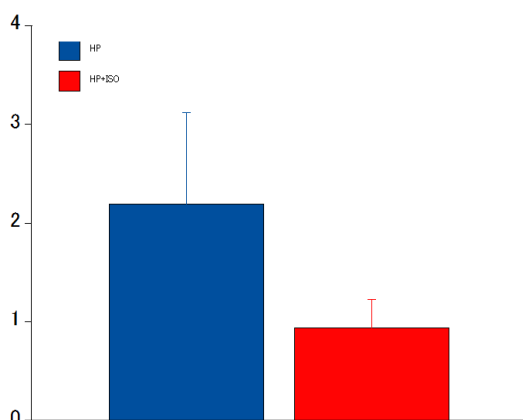
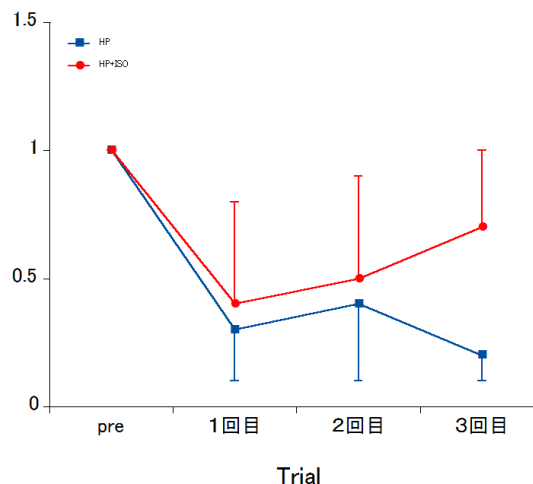


図 3



(2)ISO 群で有意に施行 3 日後の学習機能は低下し ( 図 4 )、海馬のシナプトフィジン免疫染色性も低下していた。



(3)エリスロポイエチン投与後の 8 % 低酸素 +0.5%イソフルラン曝露では、 8 週間後の 8 方向迷路学習機能は改善していた。

以上より、低酸素症時の 0.5%イソフルランの同時曝露は、本来、低酸素応答として発現する内因性エリスロポイエチンの発現増加が抑制され、脳神経発達に影響を引き起こし、BDNF mRNA 発現は増加し、学習機能が低下したものと考えられる。

この結果は、ヒトの低酸素症時の帝王切開にイソフルランを使用すると、その後の学習機能に影響を与える可能性があるが、エリスロポイエチン投与で改善でき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 )

[ 雑誌論文 ] ( 計 0 件 )

[ 学会発表 ] ( 計 2 件 )

植木正明、麻醉薬の発達期の脳に及ぼす影響、日本小児麻醉学会第 19 回大会、2013.9.29、神戸

植木正明、牛尾 将洋、森下 淳、前川 信博、低酸素症時の吸入麻醉薬による全身麻酔は脳神経発達障害を引き起こす、日本麻醉科学会第 60 回学術総会、

2013.5.24、札幌

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植木 正明 (UEKI MASAOKI)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：20213332

