

平成 22 年 5 月 10 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20791513

研究課題名（和文）

静脈麻酔薬および吸入麻酔薬による中枢の酸化ストレス抑制効果の検討

研究課題名（英文）

The Study of Protective Effect of Intravenous and Inhalation Anesthetic to Oxidative Stress in Central Nerve System

研究代表者

樋口 仁 (Higuchi Hitoshi)

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：30423320

研究成果の概要（和文）：

申請者は手術時に脳内でおこる酸化ストレスへの麻酔薬の影響を研究するため、まずその実験モデルの確立を目指した。申請者は実験的にラットを脱血し、低血圧を1時間維持した後、正常血圧に戻す出血性ショックモデルを作成し、そのラットの脳における酸化ストレスの状態を調べた。その結果、脳内にヘムオキシゲナーゼ-1と呼ばれる酸化ストレスにより特異的に誘発される酵素の発現を見いだした。すなわち本実験モデルは手術時の脳における酸化ストレスモデルとなることが判明した。

研究成果の概要（英文）：

I aimed the establishment of experimental animal model of the oxidative stress in the central nerve system (CNS) to research the protective effect of anesthetics to oxidative stress in CNS. I made the rat Hemorrhage shock model that was initiated by bleeding, kept low blood pressure for 1 hour, and returned to normal blood pressure. After that, I studied whether oxidative stress was present in CNS. In the result, I could detect the expression of Heme Oxygenase-1 that was oxidative stress-specific enzyme in CNS. This means that Hemorrhage shock model is the experimental animal model of the oxidative stress in CNS.

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	2,000,000	600,000	2,600,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：中枢神経、酸化ストレス、麻酔薬

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 周術期における中枢の酸化ストレス

手術を含めた周術期には数多くのストレスが存在し、これらストレスに対する過度の生体反応はいわゆる術中・術後合併症を引き起こす。近年、これら周術期合併症の中で術後認知症が問題視されている。しかしこの術後認知症のメカニズムについてはいまだに明らかとされていない。この術後認知症と類似した病態にアルツハイマー病が挙げられるが、このアルツハイマー病等の中枢神経障害の病態との関与が注目されているものに、中枢の酸化ストレスがある。そこで申請者は、術後認知症のメカニズムを解明するにあたり、周術期における中枢の酸化ストレスに注目した。

### (2) 麻酔薬の抗酸化作用

これまで全身麻酔薬はいわゆる「脳保護作用」を有するとされている。その作用の一つとして近年、ペントバルビタール、プロポフォールなどは中枢における抗酸化作用が示されている。しかしこれら麻酔薬は、それぞれ特有の作用機序を有しており、抗酸化作用にも違いあるものと思われるが、これらは明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

### (1) 周術期脳酸化ストレスモデルの確立

術後認知症と脳酸化ストレスの関係を調べるため、まず周術期脳酸化ストレスの実験モデルの確立を目指す。ラットを麻酔下に脱血し低血圧を維持した後正常血圧に戻す、ラット出血性ショックモデルにおいて、脳の酸

化ストレスおよびその病理学的変化を検討し、本モデルが周術期脳酸化ストレスモデルとなるかを検討する。

### (2) 麻酔薬の抗酸化作用の検討

出血性ショックモデル作製時に使用する麻酔薬を変えることによる、脳の酸化ストレスの変化を観察し、麻酔薬の抗酸化作用の違いを検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) 周術期脳酸化ストレスモデルの確立

雄性 Sprague-Dawley ラット (9 週齢) をペントバルビタールにて麻酔後、大腿動脈を露出させ、同動脈にカニューレーションを行うと共に圧トランスデューサーに接続し、モニター装置にて動脈圧をモニターする。その後同動脈より脱血を行い、平均血圧 (MAP) が 30mmHg となるまで脱血を続け、ショック状態を 1 時間維持した後、脱血した血液を返血し蘇生を行うラット出血性ショックモデルを作成する。蘇生 1 日後、3 日後、7 日後にラットを犠牲させ、大脳皮質・海馬・視床下部の標本を採取する。採取した標本それぞれより cDNA を作成し、Real time PCR 法により HO-1 の定性・定量を行い中枢の酸化を検討する。さらに inducible nitric oxide synthase (iNOS)、ムスカリン型アセチルコリン受容体 (M1、M2、M4)、ニコチン型アセチルコリン受容体である  $\alpha 3$  および炎症性サイトカインである interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、IL-6 mRNA の発現を同様に Real time PCR 法にて検討し、酸化のメカニズムおよび病態をより詳しく検討する。

(2) 麻酔薬の抗酸化作用の検討

プロポフォール、セボフルレン麻酔下にラット出血性ショックモデルを作成する。①と同様に1日後、3日後、7日後にラットを犠牲させ、大脳皮質・海馬・視床下部でのHO-1の発現をReal time PCR法にて定性・定量する。HO-1の発現をペントバルビタール、プロポフォール、セボフルレン麻酔下ラット出血性ショックモデル間で比較し、麻酔薬による抗酸化作用を比較する。

4. 研究成果

出血性ショック1日後、3日後、7日後の大脳皮質、海馬および視床下部においてHO-1 mRNAの発現を検討したところ、3日後の大脳皮質および7日後の海馬においてHO-1 mRNAの有意な発現が認められた。

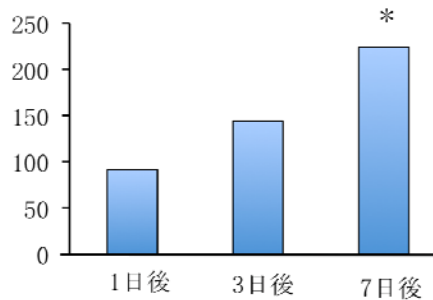


図1. 出血性ショック後の海馬におけるHO-1mRNAの変化  
\* コントロールと比較し統計学的有意差あり

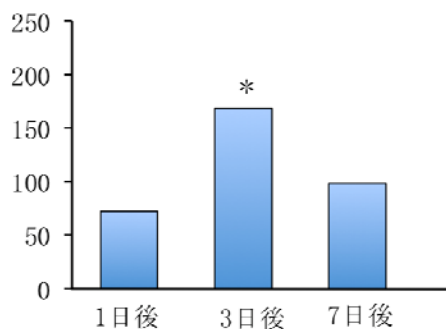


図2. 出血性ショック後の大脳皮質におけるHO-1mRNAの変化  
\* コントロールと比較し統計学的有意差あり

同様に出血性ショック後の大脳皮質およ

び海馬において、iNOS、ムスカリン型レセプターのM1、M2、M4レセプター、ニコチン型レセプターのα3レセプターのmRNAの発現を検討した。その結果ショック7日後の海馬においてiNOS mRNAおよびM4レセプター mRNAの発現の増加、およびショック3日後の大脳皮質においてM4レセプターの増加が認められた。

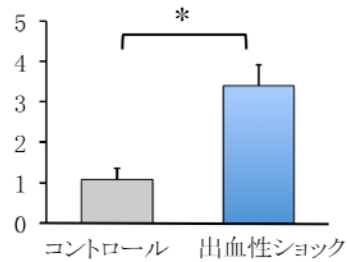


図3 海馬(7日後)におけるiNOS mRNAの発現  
\* 統計学的有意差あり

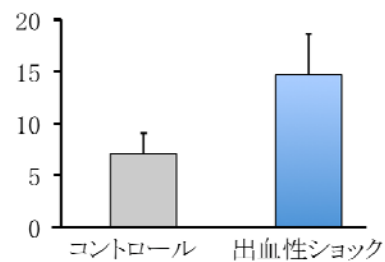


図4 海馬(7日後)におけるムスカリンレセプター(M4)mRNAの発現

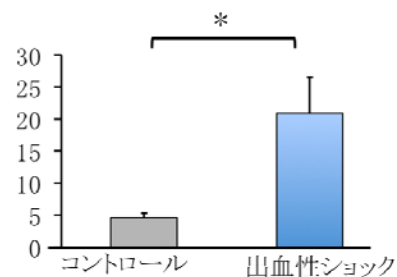


図5 大脳皮質(3日後)におけるムスカリンレセプター(M4)mRNAの発現  
\* 統計学的有意差あり

さらに IL-1β、IL-6 mRNAの発現を検討したが、これら炎症性サイトカインの増加は認められなかった。

以上のことから、出血性ショックは中枢に

酸化ストレスを引き起こし、何らかの中枢機能の変化を引き起こされている可能性が示唆された。またこれらの変化は炎症性反応によらないことが示唆された。

現在引き続き、プロポフォール、セボフルレンを用いた麻酔下に作成した出血性ショックモデルにおいても中枢での酸化ストレスを調べ、麻酔薬による抗酸化作用の違いを検討中である。

#### 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)

[雑誌論文] (計2件)

1. Ichiro Nakatsuka, Shigeru Maeda, Tsugunobu Andoh, Yukiko Hayashi, Ryuichiro Mizuno, Hitoshi Higuchi, Takuya Miyawaki: Oxidative changes in the rat brain by intraperitoneal injection of ferric nitrilotriacetate. Redox Rep. 14: 109-114, 2009. 査読有り
2. Shigeru Maeda, Ichiro Nakatsuka, Yukiko Hayashi, Hitoshi Higuchi, Masahiko Shimada, and Takuya Miyawaki: Heme oxygenase-1 induction in the brain during lipopolysaccharide-induced acute inflammation. Neuropsychiatr Dis Treat. 4: 663-667, 2008. 査読有り

[学会発表] (計3件)

1. 前田 茂, 新井 由起子, 須田 通代, 樋口 仁, 宮脇 卓也: 中枢神経興奮薬によるアセチルコリン受容体サブタイプの変化と, それに対する静脈麻酔薬の

影響について, 第37回日本歯科麻酔学会総会・学術集会, 2009年10月9日, 名古屋

2. Higuchi H, Maeda S, Takahashi T, Hayashi Y, Miyawaki T. Hemorrhagic shock followed by resuscitation induces heme oxygenase-1 mRNA in rat brain. Neuroscience 2008, 2008年11月18日, Washington DC.
3. Maeda S, Hayashi Y, Mizuno R, Higuchi H, Miyawaki T. Brain reactions to continuous intracerebroventricular injection of ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA). Neuroscience 2008, 2008年11月18日, Washington DC.

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

樋口 仁 (Higuchi Hitoshi)

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号 30423320