

令和元年6月19日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10927

研究課題名(和文) 全身麻酔・手術後の認知機能障害に対する防止策の機序解明

研究課題名(英文) Preventive measures against cognitive dysfunction following general anesthesia

研究代表者

西川 俊昭 (Nishikawa, Toshiaki)

秋田大学・医学系研究科・教授

研究者番号：50156048

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：高齢者の全身麻酔後には認知機能障害が高頻度で生じる。全身麻酔薬による神経細胞傷害や脳内炎症が機序として考えられている。本研究では、セボフルランによる全身麻酔後の認知機能障害の予防策を、高齢ラットを用いて検討することを目的とした。対照群(吸入麻酔薬投与・手術あり+介入なし群)と比べ、治療介入群の脳内炎症性サイトカイン濃度が低下していることを確認する予定であったが、予備実験で対照群においてもサイトカイン濃度は非常に低値であった。侵襲(麻酔+手術)が不足しているのか、測定方法の問題なのかを検討するため、侵襲の程度や試料抽出方法などを変更して試行錯誤したが、最終的にデータの収集に至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢ラット全身麻酔・手術後認知機能障害モデルを用い、吸入麻酔薬投与・手術後に発症する高次脳機能障害とその防止策の機序を詳細に解明し、より効果的かつ早期に臨床導入可能な防止策の機序を探るのが本研究の特徴であった。近年、国民の高齢化に伴う高齢者の手術数の増加が顕著であり、本研究によりデクスメトミジン、キセノン、リチウムといった比較的早期に臨床応用しやすい薬物の効果が示されれば、学問的な発展のみならず医療の安全性にも著しく貢献することができると考えられた。しかし、薬物の効果を評価する基準となる炎症性サイトカインの測定が難航し、結局期間内に実験データを得ることができなかった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the protective properties of dexmedetomidine, xenon, and lithium against cognitive dysfunction following sevoflurane anesthesia using aged rats. Although we intended to reveal the suppression in the concentrations of inflammatory cytokines by interventions (dexmedetomidine, xenon, and lithium), the concentration of cytokines were very low in the control group (no intervention). We tried to find out the reason why the concentration of cytokines were so low in the no-intervention group by changing the degree of invasiveness of surgery/anesthesia or the technical settings in ELISA. However, we could not overcome this dilemma, and the protective properties of dexmedetomidine, xenon, or lithium against cognitive function were not investigated in this experimental period in the end.

研究分野：麻酔・蘇生学

キーワード：認知機能障害 全身麻酔 セボフルラン キセノン デクスメトミジン リチウム 炎症性サイトカイン アポトーシス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

全身麻酔・手術後に発症する高次脳機能障害あるいは術後認知機能障害(postoperative cognitive dysfunction)は、高齢者や脳血管障害患者で多く、この障害が長期間持続すると死亡率が高くなる。高齢化社会が急速に進行し高齢者の手術患者が増加している本邦では、この麻酔・手術後高次機能障害の詳細な病態究明ならびに、その防止策の探求は急務である。全身麻酔後の高次脳機能障害で推測される主な病態は、全身麻酔薬自体による神経毒性(神経細胞破壊・アポトーシスの誘導)、全身麻酔薬の脳内長期残存、および麻酔、手術に伴う脳内の炎症である。

これまで麻酔薬自体の神経毒性については、多くの研究では幼若神経細胞を対象としており、老齢神経細胞に対する麻酔薬の毒性に関する研究は見当たらない。一方、麻酔薬の神経毒性軽減策として、キセノン吸入、 $\alpha 2$ 受容体作動薬(デクスメドミジン)の併用、リチウムの前投与などがある。

## 2. 研究の目的

老齢ラットにおける吸入麻酔薬投与・手術後に発現する認知機能障害における神経細胞毒性の病態を解明するため、組織学的検査(生存・死亡細胞の判別)および神経細胞のアポトーシスとそのタンパク発現を定量的に評価する。次に脳内炎症の影響を検討するため、海馬ミクログリア内の炎症性サイトカイン産生を定量的に評価する。

老齢ラットと若年ラットにおける吸入麻酔薬投与・手術後の神経細胞毒性と脳内炎症反応の結果と比較することによって、加齢の影響を検討する。

さらに、吸入麻酔薬投与・手術後認知症モデルにおいて、麻酔薬暴露前のキセノン吸入、デクスメドミジンやリチウム投与の効果を比較検討し、吸入麻酔薬投与・手術後の認知機能障害に対する有効な防止策の機序解明が本研究の最大の目的である。

## 3. 研究の方法

平成 28 年度

- 雄性老齢 SD ラット(20 - 26 週)30 匹に、八方向放射状迷路による空間学習・記憶機能訓練を 7 日間行う。
- 2%セボフルランを 2 時間吸入させ、その間に開腹し 3 時間腸管を用手操作し閉腹する。ラットは以下の 5 群に分ける。
- 対照シャム群(n = 6): 全身麻酔なし、開腹手術なし
- セボフルラン群(n = 6): セボフルラン麻酔下に開腹手術
- キセノン群(n = 6): 70%キセノン 2 時間吸入 24 時間後に、セボフルラン麻酔下に開腹手術
- デクスメドミジン群(n = 6): デクスメドミジン 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  腹腔内投与直後に、セボフルラン麻酔下に開腹手術
- リチウム群(n = 6): リチウム 6  $\text{mEq}/\text{kg}$  腹腔内投与 24 時間後に、セボフルラン麻酔下に開腹手術
- 翌日より再度八方向放射状迷路による空間認識・記憶機能の評価を 7 日間行う。
- 7 日後、ペントバルビタール 100  $\text{mg}/\text{kg}$  腹腔内投与後、脳を灌流固定し、ヘマトキシリン - エオジン染色及び免疫染色を行い、組織学的傷害の評価とアポトーシス関連タンパクの定量評価を行う。

【平成 30 年度】同様の実験を若年ラット（8 - 9 週）30 匹を用いて行う。

【平成 31 年度以降】老齢ラット用い、灌流した脳から海馬のミクログリアを分離、培養後、炎症性サイトカインを測定する。

#### 4 . 研究成果

##### 【平成 28 年度】

生後 20 ~ 26 週令の老齢ラットを用い、2%セボフルラン麻酔下に開腹し、3 分間腸管を用手操作した後の認知機能及び組織学的評価を行う予定であった。

以前の我々の研究で、認知機能評価法としてのモリス水迷路試験は運動能力の低下した老齢ラットにおいては適当でないことが明らかとなったため、新たに八方向放射状迷路試験を導入したが、この方法も麻酔・手術前のトレーニングに長い期間を要するうえにセボフルラン吸入による認知機能の変化を検出できなかったために、評価法としては適当でないと判断した。近年普及してきた新奇物体認識試験 ( Novel Object Recognition Test ) は、報酬や嫌悪刺激といった強化因子を用いない比較的簡便な認知機能試験であるため、予備実験を行ったところ、前に挙げた 2 つの方法と比較し今回の実験にはより適当であるとの結論に至った。

平成 28 年度は、以上のように認知機能試験法の選択に時間を要したため、データの収集には至らなかった。

##### 【平成 29 年度】

前年度に、認知機能障害の評価法を決定できたので、次いで脳内炎症の評価法として炎症性サイトカインを Enzyme Linked Immunosolvent Assay ( ELISA ) で測定することとした。しかし予備実験にとどまり、データの収集には至らなかった。

##### 【平成 30 年度】

脳内炎症の評価法として、炎症性サイトカイン ( TNF- $\alpha$ 、IL-6 ) を Enzyme Linked Immunosolvent Assay ( ELISA ) で測定することとした。対照群 ( 吸入麻酔薬投与・手術あり + 介入なし群 ) と比べ、治療介入群 ( 吸入麻酔薬投与・手術あり + キセノン・ $\alpha$  2 受容体作動薬・リチウム投与群 ) の脳内炎症性サイトカイン濃度が低下していることを確認する予定であったが、実際に測定してみたところ、対照群においても脳内炎症性サイトカイン濃度は非常に低値であった。この原因がラットに加えた侵襲 ( 麻酔 + 手術 ) が不足しているためか、測定方法の問題のためかを検討するため、侵襲の程度や ELISA の試料抽出方法などを変更して試行錯誤したが、最終的にデータの収集に至らなかった。

#### 5 . 主な発表論文等

なし

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

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

○取得状況（計 件）

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

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：木村 哲  
ローマ字氏名：Tetsu Kimura  
所属研究機関名：秋田大学  
部局名：医学（系）研究科（研究院）  
職名：准教授  
研究者番号（8桁）：00312702

研究分担者氏名：合谷木 徹  
ローマ字氏名：Toru Goyagi  
所属研究機関名：秋田大学  
部局名：医学部附属病院  
職名：講師  
研究者番号（8桁）：30302277

研究分担者氏名：堀口 剛  
ローマ字氏名：Takashi Horiguchi

所属研究機関名：秋田大学

部局名：医学部附属病院

職名：准教授

研究者番号（8桁）：70221570

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。