

機関番号：21601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591839

研究課題名（和文） 術後せん妄の神経化学的研究

研究課題名（英文） Neurochemical study for post-operative delirium

研究代表者

村川 雅洋（MURAKAWA MASAHIRO）

福島県立医科大学・医学部・病院長

研究者番号：90182112

研究成果の概要（和文）：手術患者の予後に重大な影響を与える術後せん妄の神経化学的機序解明を目的として、ラットを用いて麻酔中の侵害刺激と鎮静による脳内神経伝達物質アセチルコリン放出の変化を検討した。その結果、現在一般的に用いられている全身麻酔薬と術後鎮静薬はアセチルコリン放出量に影響を及ぼすことが明らかとなり、大脳皮質のアセチルコリン放出の変化が術後せん妄に影響を与えていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：To clarify the neurochemical basis for postoperative delirium, the changes of acetylcholine release in rat cerebral cortex by the painful stimulation during general anesthesia and by the sedation were studied using brain microdialysis. The acetylcholine release was significantly affected by widely-used inhalational anesthetics and sedatives. The results of this study suggest that the occurrence of post-operative delirium is related to the changes in cholinergic neuronal activities in the brain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
20年度	1,100,000	330,000	1,430,000
21年度	1,100,000	330,000	1,430,000
22年度	1,300,000	390,000	1,690,000
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：術後せん妄、吸入麻酔薬、鎮静薬、手術ストレス、アセチルコリン、脳内微小透析法

## 1. 研究開始当初の背景

術後せん妄は大手術後に意識混濁に加えて幻覚や錯覚がみられる状態で、人工呼吸用気管チューブや輸液用カテーテルの自己抜去などを引き起こし、手術患者の予後に重大な影響を与える合併症である。向精神薬や抗コリン薬の投与によって軽減されることが多いが、その神経化学的機序は明らかでなく、

有効な治療手段が確立されていない。

脳内の神経伝達物質のひとつであるアセチルコリンは睡眠および覚醒、さらには記憶、注意などに関与する。脳内のコリン作動性ニューロンは、橋中脳被蓋野に存在するアセチルコリン含有神経細胞が網様体神経細胞と随伴して視床から大脳皮質に非特異的に投射する背側経路と、視床下部後側-前脳基底

核を通して大脳皮質に投射する背側経路からなりたっている。麻酔中の鎮静薬として使用されるセボフルラン、イソフルランなどの吸入麻酔薬やプロポフォール、ミダゾラムなどは脳内の GABA 受容体に作用することによって鎮静作用を発揮するが、これらの薬物は、大脳皮質におけるアセチルコリン放出を抑制することが知られている。しかし、麻酔状態に手術侵襲(ストレス)が加わった場合の変化については研究されていない。

また、術後の鎮静にもプロポフォールやミダゾラムが従来より使用されてきたが、近年、 $\alpha 2$  アドレナリン受容体に作用して鎮静鎮痛効果を発揮するデクスメデトミジンも使用されるようになってきている。デクスメデトミジンは大脳青斑核に作用してその鎮静効果を発揮し、脊髄後角の $\alpha 2$  アドレナリン受容体に作用することにより鎮痛効果を発揮するといわれている。デクスメデトミジンはプロポフォールやミダゾラムに比べてより自然な睡眠に近い鎮静が得られ、さらに鎮痛効果も有することより鎮静中に使用する麻薬の量を減らすことができる。また、プロポフォールに比べ投与中の血圧の低下や呼吸抑制が少ないため最近では広く使用されるようになってきている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、全身麻酔による脳内神経伝達物質放出の変化のみならず、全身麻酔下に侵害刺激(ストレス)を加えた場合および麻酔覚醒後、さらに鎮静中の脳内神経伝達物質放出の経時的変化を検討することによって、術後せん妄の神経化学的発生機序を解明することである。

具体的には、脳内神経伝達物質として、意識状態に影響を及ぼすアセチルコリンに注目し、そのラット大脳皮質における放出量を脳内微小透析・高速液体クロマトグラフィ法を用いて測定し、各種鎮静薬投与による影響と各種全身麻酔薬投与による影響並びに麻酔中に疼痛刺激を加えた場合の反応を検討する。

## 3. 研究の方法

(1)脳内マイクロダイアリーシス・液体クロマトグラフィ法によるラット大脳皮質におけるアセチルコリン放出の測定

本実験に際し、福島県立医科大学医学部倫理委員会の承認を得た。実験には、雄性 Wistar rat(180~250g)を使用した。ラットは12時間周期の明暗室で自由に水、餌を摂取できる環境にて飼育された。

ペントバルビタール 50mg/kg を腹腔内投与して麻酔後、脳固定装置を用いて、Paxson and Watson の脳図譜に従って右大脳領域(Bregma 縫合より側方 3mm、前方 3mm、

腹側 2mm) の場所にガイドカニューラを挿入し、歯科用セメントとネジ 2 本で頭蓋骨に固定した。また尾静脈より留置針を挿入し、ビニールテープでしっかりと固定した。手術の影響をなくすためにダミーカニューラを挿入し 12 時間以上経過した後に直管型透析プローベを挿入し、無拘束下で脳内微小透析法を行った。

微量注入ポンプを用いてプローベを  $2 \times 10^{-4} \text{M}$  エゼリン入りリンゲル液  $2 \mu \text{l/min}$  で灌流した。灌流開始と同時に内部標準試薬(イソプロビルホモコリン  $5 \times 10^{-7} / 10 \text{mM}$  EDTA-2Na を含む  $0.025 \text{M}$  リン酸緩衝液 pH3.5) を灌流液中に  $2 \mu \text{l/min}$  で混合し、灌流開始 120 分後より 15 分間隔で高速液体クロマトグラフィ・電気化学検出法にて灌流液中のアセチルコリン濃度を測定した。

結果は平均値±標準語差で表し、数値はアセチルコリンの基礎放出量に対する割合で示した。基礎放出量は薬物投与前の 4 検体の平均とした。統計的検討は反復測定による分散分析と Bonferroni 法にて対応のない t-検定を行い、 $p < 0.05$  を有意とした。

(2)吸入麻酔薬イソフルラン麻酔中の侵害刺激が大脳皮質アセチルコリン放出および血中 ACTH 濃度に及ぼす影響

①ラットにイソフルラン 1.5MAC を吸入させ、90 分後に腹部を正中切開して開創器をかけた。イソフルラン吸入前から、吸入中 90 分、腹部切開後 90 分後まで、継続して大脳皮質におけるアセチルコリン放出量を測定した。

②ラットにイソフルラン 1.5MAC、2.0MAC を吸入させ、90 分後に腹部正中切開を行って大動脈から採血し、ストレスホルモンの一種である ACTH 濃度を測定した。イソフルラン吸入 90 分後に断頭して血液を採取して ACTH 濃度を測定したものを対照とした。

(3)各種吸入麻酔薬中の侵害刺激が大脳皮質アセチルコリン放出に及ぼす影響

①無麻酔ラットの後肢足底背に、5%ホルマリンを  $50 \mu \text{l}$  皮下注して疼痛刺激を与え、前後の大脳皮質アセチルコリン放出量の変化を検討した。

②ラットに吸入麻酔薬イソフルラン 1.0 MAC、1.5 MAC、セボフルラン 1.0 MA、1.5MAC, エンフルラン 1.0 MAC, ハロタン 1.0 MAC をそれぞれ吸入させ、大脳皮質アセチルコリン放出量が安定した時点で、後肢足底背に、5%ホルマリンを  $50 \mu \text{l}$  皮下注して疼痛刺激を与え、前後の大脳皮質アセチルコリン放出量の変化を検討した。

(4)各種鎮静薬が大脳皮質アセチルコリン

放出に及ぼす影響

ラットにプロポフォール 50mg/kg/h、ミダゾラム 20mg/kg/h、デクスメデトミジン 0.3  $\mu$ g/kg/min を 2 時間投与した。薬剤投与前 1 時間、薬剤投与中、薬剤投与後 2 時間、大脳皮質のアセチルコリン放出量を測定した。

#### 4. 研究成果

(1) 吸入麻酔薬イソフルラン麻酔中の侵害刺激が大脳皮質アセチルコリン放出および血中 ACTH 濃度に及ぼす影響

①ラットにイソフルラン 1.5MAC を吸入させたところ大脳皮質のアセチルコリン放出量は麻酔前の  $23.5 \pm 20.2\%$  に有意に減少し、腹部正中切開を加えても  $29.4 \pm 31.7\%$  と有意な変化を示さなかった。

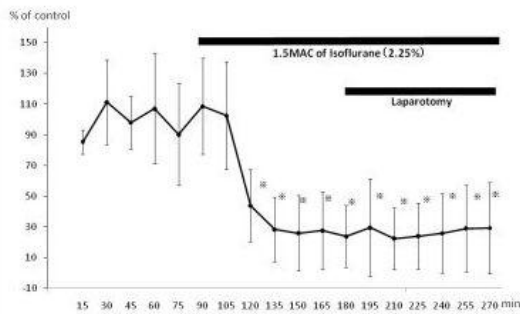


Figure 1: The change of acetylcholine release from rat cerebral cortex with laparotomy as the surgical stress under Isoflurane inhalation. ※:  $p < 0.05$  v.s. control acetylcholine level.

②ラットにイソフルラン 1.5MAC、2.0MAC を吸入させた状態で、腹部正中切開を行って大動脈から採血した動脈血中の ACTH 濃度は、断頭によって採血した血液の約 10 倍と有意に多かった。1.5MAC 群と 2.0MAC 群間では差がなかった。

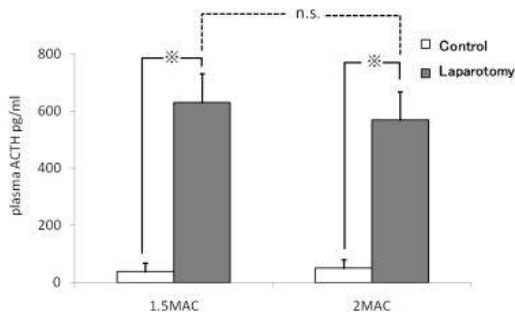


Figure 2: Effect of the Isoflurane concentration on plasma ACTH level under surgical stress. ※:  $P > 0.05$  v.s. control. n.s.: not significant.

(2) 各種吸入麻酔薬中の侵害刺激が大脳皮質アセチルコリン放出に及ぼす影響

①無麻酔ラットの後肢足底背に、5%ホルマリンを  $50 \mu$ l 皮下注したところ、大脳皮質アセチルコリン放出量は基礎放出量の  $205 \pm$

74% に有意に増加した。

②ラットに吸入麻酔薬イソフルラン 1.0 MAC、1.5 MAC、セボフルラン 1.0 MAC、1.5MAC、エンフルラン 1.0 MAC、ハロタン 1,0 MAC をそれぞれ吸入させると、大脳皮質のアセチルコリン放出は基礎放出量の  $16 \pm 15\%$ 、 $9 \pm 3\%$ 、 $21 \pm 18\%$ 、 $13 \pm 5\%$ 、 $5 \pm 4\%$ 、 $7 \pm 3\%$  にそれぞれ減少し、ホルマリン皮下注後はいずれの群でも有意の変化を示さなかった。

Figure 3

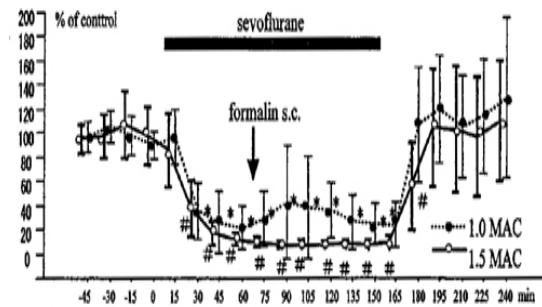
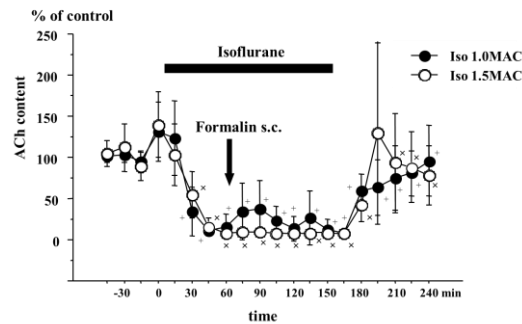


Figure 4: The change of acetylcholine release from rat cerebral cortex with subcutaneous formalin under Sevoflurane inhalation. \*  $p < 0.05$  v.s. 1.0MAC 0 min #  $p < 0.05$  v.s. 1.5MAC 0 min

Figure 5

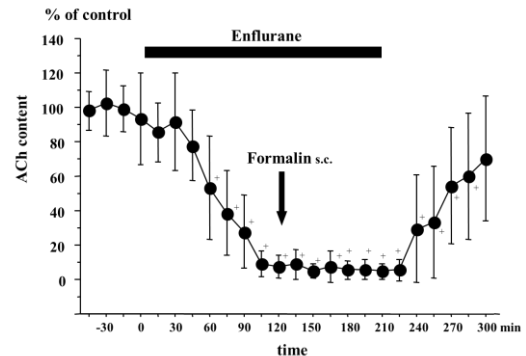
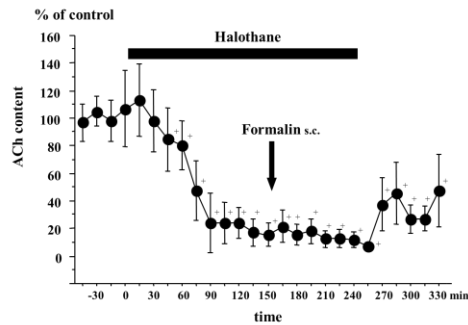
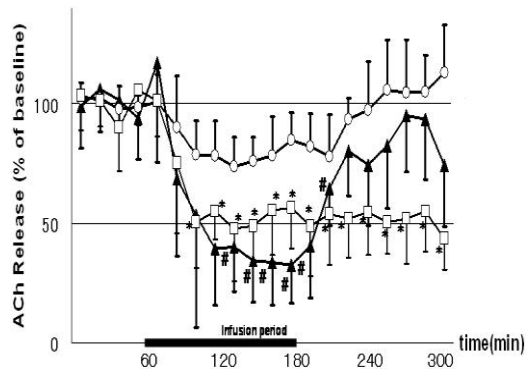


Figure 4



(3) 各種鎮静薬が大脳皮質アセチルコリン放出に及ぼす影響

ラットにプロポフォール 50mg/kg/h、ミダゾラム 20mg/kg/h、デクスメドミジン 0.3 μg/kg/min をそれぞれ投与したところ、15分以内に正向反射の消失が得られた。プロポフォールの投与によりアセチルコリンの放出は基礎放出量に比べて 32±16%まで有意に減少し、投与中止後 30 分で基礎放出量に回復した。ミダゾラム群においても同様に、投与開始 45 分後よりアセチルコリンの放出は有意に減少した。しかし、投与中止後もアセチルコリンの放出は減少したままであり、基礎放出量に比べて 43±13%であった。一方、デクスメドミジン群においては、その投与によりアセチルコリンの放出が減少する傾向にあったものの、最小で基礎放出量の 74±12%であり、有意差は認められなかった。



これらの研究成果は、全身麻酔中の鎮静を得るために用いられる各種吸入麻酔薬やプロポフォール、ミダゾラムなどの GABA 受容体に作用する薬物は、大脳皮質でのアセチルコリン放出を抑制することが確認された。大脳皮質コリン作動性ニューロンが分布する前脳基底核から視床下部外側、後側部への支配神経には GABA 含有細胞が含まれており、GABA ニューロンとコリン作動性ニューロンが麻酔・鎮静状態に密接に関与していることを示唆する。そして、全身麻酔によってコリン作動性ニューロンの活動が低下し、手術刺激を受けても活動が賦活しなかったことや、麻酔覚醒後もある程度の活動低下傾向が

持続していることは、コリン作動性ニューロンの活動低下が意識混濁に影響していることを示唆する。

また、麻酔と同様に、術後鎮静に用いられるプロポフォールとミダゾラムを比較すると、プロポフォールは投与開始後アセチルコリン放出を抑制し、投与中止後は速やかにアセチルコリンの放出もコントロールレベルにまで回復するが、ミダゾラムによる大脳皮質におけるアセチルコリン放出は投与を中止した後も持続することが明らかとなった。この大脳皮質の活動性低下が覚醒後もある程度持続するとすれば、神経回路網に複雑な影響を与え、術後せん妄の誘引となる可能性が示唆された。

一方、GABA 受容体ではなく、α2 受容体に作用するデクスメドミジンは脳内アセチルコリン放出に影響を及ぼさなかった。デクスメドミジンの鎮静効果はプロポフォールやミダゾラムとは異なりアセチルコリンは関与していないと考えられ、これが、術後せん妄を起こしにくいといわれる根拠とな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 2 件)

- ① Hakozaki T, Imaizumi T, Hosono A, Takahashi S, Murakawa M. Isoflurane suppresses the increase of acetylcholine release in the rat brain with surgical stress. ASA annual meeting 2010 年 10 月 17 日 San Diego
- ② Nemoto C, Hakozaki T, Obara S, Isosu T, Murakawa M. Effects of sedative drugs on acetyl choline release from rat cerebral cortex. ASA annual meeting 2008 年 10 月 20 日 Orland

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村川 雅洋 (MURAKAWA MASAHIRO)  
福島県立医科大学・医学部・病院長  
研究者番号：90182112

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

根本 千秋 (NEMOTO CHIAKI)  
福島県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号：30443865

箱崎 貴大 (HAKOZAKI TAKAHIRO)  
福島県立医科大学・医学部・大学院生  
研究者番号：60595429

青木健一 (AOKI KEN-ICHI)  
福島県立医科大学・医学部・大学院研究生

平間孝弘 (HIRAMA TAKAHIRO)  
福島県立医科大学・医学部・大学院研究生

菅野 良子 (KANNO RYOKO)  
福島県立医科大学・医学部・主任医療技師