

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：37104

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659707

研究課題名(和文)新規薬剤開発を念頭においた齧歯類BISモニタリングシステムに関する国際共同研究

研究課題名(英文)The international collaborating study of BIS monitoring system on rodents for the invention of new medicine

研究代表者

原田 秀樹 (Harada, Hideki)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：30198923

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：神経科学領域の実験動物で汎用されているラットおよび砂ネズミにおいて、頭蓋外から脳波導出し既存のBISモニタ装置に連結可能なデバイスを開発した所、吸入麻酔濃度及び脳低酸素に関して以下の知見を得た。1) 両側で同期したEEG原波形をBISモニターに入力かつBIS諸値を表示可能であった。2) BIS値は濃度増加に対してS字状に減少するパターンを示した。3) 全脳低酸素に伴いBIS値は0となり、局所脳虚血に関してもデバイスの装着部位を工夫する事で脳低酸素状態(全脳低酸素,局所脳虚血)を鋭敏に計測可能であった。一方、マウスにおいては、当初目的としていた脳波導出が困難であり、今後の課題を残した。

研究成果の概要(英文)：We have invented special Bispectral Index monitoring device, capable attached on the scalps for the species such as rat or gerbil in case of of basic animal experiments. The device can reveal the clear EEG wave and BIS related values precisely from rats and gerbil, but not from mice. The data under inhaled anesthesia obtained from these rodents completely mimicked what those reported in human. For example, BIS value went down depending on the increasing of inhaled anesthetic concentration with sigmoid curve. With the device, BIS value could shortly follow cerebral ischemia or hypoxia caused by the experimental cerebral ischemia model in rats and gerbil.

研究分野：麻酔学

キーワード：BISモニタリング 齧歯類 脳健全性

1. 研究開始当初の背景

BIS(Bispectral Index)値は脳波解析によって得られるパラメータにヒトの麻酔中の脳波データベースを元に作成した推定鎮静度であり、異なる動物でその値が何を示すのか科学的根拠はない。これまでのヒト以外でのBISモニタリング報告では、イルカの両側BISモニタリングによる睡眠パターンに関する報告など、イヌ、ネコ、ヒツジ、ウマなど既存のヒト用センサーを用いた研究に限られてきた。

我々は、これまで脳虚血障害に関する基礎研究を主にラット中大脳動脈閉塞(MCAO)モデルを用いて行い、簡便にMCAOモデルを作製する方法を考案し報告してきた。本来脳波は脳虚血の発生を鋭敏に反映する事から、ラットにおいて両側大脳半球でBIS計測可能であれば、脳虚血モニタリングとしても応用可能ではないかと考え、ラット頭部に装着し既存のBISモニター(A-2000)に直接連結可能なデバイスを試作した。

2. 研究の目的

実験動物を用いた基礎研究は、薬剤開発の初期段階において薬力学やその相互作用を検討する上で必要不可欠であり特に麻酔薬をはじめとする中枢神経作用薬については、脳波解析がその重要な必須ツールの一つとなる。

我々は、神経科学領域の実験動物で最も汎用されているラットにおいて、簡便に頭蓋外から脳波導出し既存のBISモニター装置に連結可能なデバイスを試作し、吸入麻酔濃度変化に対する追従性及び侵害刺激に対する反応について報告した所、新規麻酔薬を開発研究している複数のグループから本デバイスに関する国際連携研究の要請を受け予算を申請した。

当初、計画していた具体的な研究項目は以下の通り

- (1) 心電波形などの Far-field potential によるノイズ対策
- (2) マウス、砂ネズミ、家兎など他の実験動物に使用可能なデバイス開発
- (3) 本デバイスを用いた新規麻酔薬開発

3. 研究の方法

(1) 実験動物用 BIS デバイスの開発

我々が既に開発しているラット両側BIS測定用脳波電極デバイスを改良し、マウス、砂ネズミ、家兎に使用可能な非開頭型脳波電極デバイス開発に着手した。電極間の距離が大きくなると心電波形などの Far-field potential が大きくなり、麻酔深度が深くなった際に paradoxical に BIS 値が上昇する事がこれまでの pilot study や連携研究先の実験により判明していた事から、今回は両側脳波電極の極間距離の組み合わせ及び最大心電ベクトルを念頭において自由に電極を変更できるシステムを構築した。作製した電極デバイスを用い以下のプロトコールでその

有用性を検討した。

(2) 吸入麻酔濃度変化に対する追従性

① 雄性成熟 Wistar ラット 380±46 g
気管挿管下調節呼吸、ラット用 BIS デバイスを装着後、麻酔薬濃度を増減し、BIS, Burst Suppression Ratio(BSR), Spectral Edge Frequency(SEF) 値を測定した。

呼気濃度測定下に、空気-セボフルラン(1~4%), イソフルラン(1~3%); 各麻酔濃度で10~15分間

② セボフルラン(3%) 麻酔に亜酸化窒素を付加した際の経時的変化

③ 侵害刺激(下肢; 10mA, 3秒間の電気ショック)に対する追従性

セボフルラン(3及び4%), イソフルラン(1.7及び2.5%) 麻酔下に電気刺激を加え、BIS 値と動脈圧を同時に測定

*統計手法; Paired t-test, Two-way Repeated measure ANOVA

(3) 脳低酸素に対する反応

雄性成熟 Wistar ラット 330 g ±26

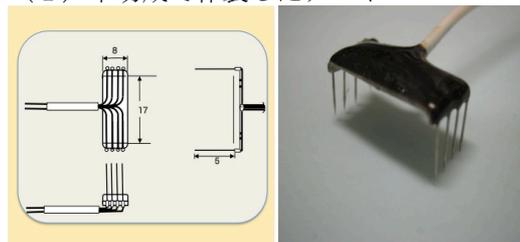
気管挿管下調節呼吸, 70%酸素-3%セボフルラン麻酔を施行。観血的動脈圧及び虚血作成側にレーザー血流計を用いた脳血流モニタリングを併用し、ラット用 BIS デバイスを装着し(Bregma より 2mm 頭側に①番ピンを固定)、両側の BIS 値を測定した。

① 吸入酸素を 100% 窒素に 240 秒間置換

② 一過性(60 分間) 右中大脳動脈閉塞モデル(シリコンコーティングナイロン糸挿入)を作製し、1.5%, 2%, 2.5%, 3%セボフルラン濃度における BIS 値と閉塞前の状態(コントロール)を測定した。

4. 研究成果

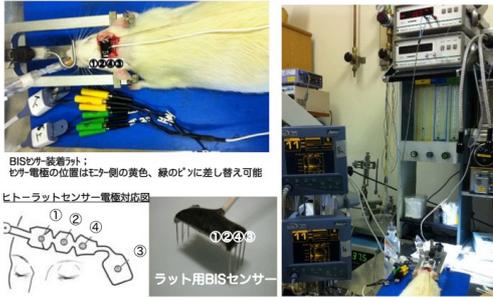
(1) 本助成で作製したデバイス



デバイス本体は熱可塑性ポリエステルである PET (ポリエチレンテレフタレート) を用い、両翼に 5mm 長のステンレス製針電極(直径 0.5mm) 4本を持つ。臨床に使用されている BIS モニターに直接接続可能で電極位置及び組み合わせも任意に変更可能。

当初の目的であった砂ネズミやマウスに対するデバイス作製に関しては、砂ネズミに関しては測定可能であったが、マウスについては far field potential に対するノイズ対策が実行不可能でその結果、他施設との共同研究についても断念せざるを得なかった。

ラット用デバイスの装着および接続



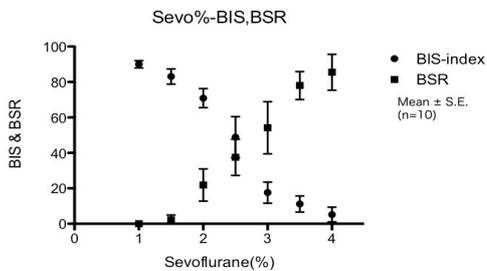
左；デバイス電極は任意の組み合わせで BIS モニター側のコネクタに接続可能
 右；デバイス装着下データ取得時の全景

(2) 吸入麻酔濃度に対する追従性及び侵害刺激に対する反応
 ①モニタリング例



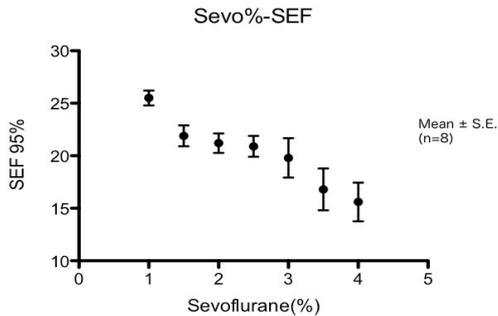
EEG 原波形および BIS 関連諸値は両側でほぼ同様の値を示し、麻酔薬深度の増減に追従したトレンド (BIS, BSR) を示す

②セボフルラン濃度に対する BIS 値, BSR 値



セボフルラン濃度上昇につれて, BIS の低下, BSR の上昇を示す。

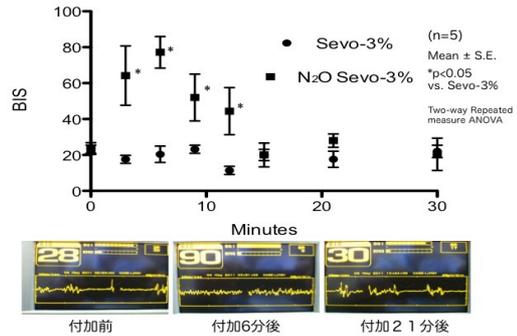
③セボフルラン濃度に対する SEF 値



セボフルラン濃度上昇につれて, SEF の低下を示す。

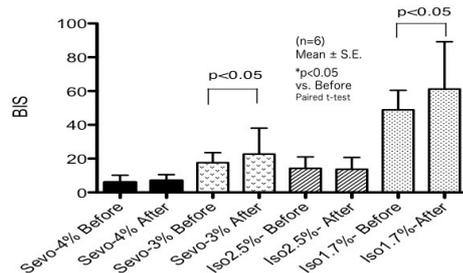
④亜酸化窒素付加+セボフルラン麻酔下の

経時的変化



亜酸化窒素付加により一過性の速化を示す後に抑制に転じる。

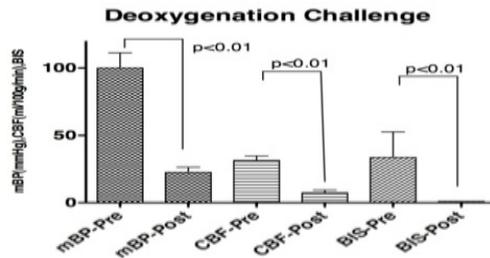
⑤侵害刺激に対する BIS 値変動
 Sevo / Iso noxious stimulation



深麻酔においては動脈圧変化を示すのみで, 吸入麻酔濃度が浅くなると動脈圧変化に加えて BIS 値の有意な上昇が認められる。

(3) ラット両側 BIS 測定による脳健全性モニタリングの可能性-脳低酸素に対する反応について-

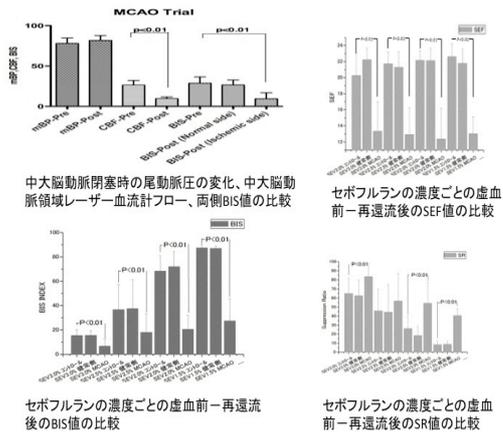
①低酸素負荷モデル



100%酸素置換後 240 秒以内に BIS 値は両側で 0, 平均血圧の低下, 経頭蓋レーザー血流計による脳血流測定値の低下が認められた。その後速やかに 100%酸素置換を行ったところ, 負荷試験前の値にそれぞれ回復した。

②中大脳動脈閉塞モデル





BIS 値は閉塞後数分より虚血側で低下した。また再灌流後は虚血側で上昇する検体も認められたが健常側レベルまで回復はしなかった。Spectral Edge Frequency (以下 SEF) は閉塞後 5 分程度から虚血側で低下した。また再灌流後は上昇しなかった。Suppression Ratio (以下 SR) は閉塞後数分より虚血側で低下した。また再灌流後は虚血側で上昇する検体も認められたが健常側レベルまで回復しなかった。経頭蓋レーザー血流計による脳血流は速やかに前値に回復した。BIS 値, SEF 値, SR 値いずれも健常側では変化なかった。

(4) 研究結果のまとめ

- ①吸入麻酔濃度変化に対する追従性
 - 1) 今回開発したデバイスは、両側で同期した EEG 原波形を BIS モニターに入力かつ BIS 諸値を表示可能であった。
 - 2) BIS 値は濃度増加に対して S 字状に減少するパターンを示した。
 - 3) BSR 値は濃度増加に対して S 字状に上昇するパターンを示した。
 - 4) SEF 値は濃度増加に対して、徐々に減少するパターンを示した。
 - 5) 亜酸化窒素付加に対する反応は、速波化を示した後に徐波化する 2 相性のパターンを示した。
- ②侵害刺激に対する追従性
 - 1) 深麻酔においては動脈圧変化を示すのみで、吸入麻酔濃度が浅くなると動脈圧変化に加えて BIS 値の有意な上昇が認められた。
- ③脳低酸素に対する反応
 - 1) ラット両側 BIS 測定は全脳低酸素を簡便に捉える事ができた。
 - 2) デバイスの装着部位を工夫する事で、局所脳虚血を検出できた。
 - 3) 中大脳動脈閉塞時、SEF の低下、BIS 値の低下、SR の増加を認めた。
 - 4) 脳低酸素状態(全脳低酸素, 局所脳虚血)

に対する健常性モニタリングとして有用だった。

今回の研究においては、基礎研究において最も汎用されているマウスに関する BIS モニタリングシステムの開発を断念したため、当初計画していた共同研究まで至らなかった。これまでに産業財産権に関して取得を進めている (産業財産権申請; 種別: 特許願 件名: 実験動物用脳波電極 特願 2010-174737; 久留米大学) が、今後さらなる改良, 開発を進め、発表して行く予定である。

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 0 件)
- [学会発表] (計 0 件)
- [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:
 出願年月日:
 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
 原田秀樹 (Harada, Hideki)
 久留米大学・医学部・准教授
 研究者番号: 30198923