

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462397

研究課題名(和文) 全身麻酔後認知機能障害の防止策の探究

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(研究院)・教授

研究者番号：50156048

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000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。全身麻酔薬自体による神経細胞傷害やアポトーシスの誘導が機序として考えられている。本研究では、吸入麻酔薬であるセボフルランによる認知機能障害の予防策を、老齢ラットを用いて検討することを目的とした。ラットの認知機能評価のためモリス型水迷路試験を施行したが、老齢ラットは身体能力低下が著しく評価できなかった。次に八方向迷路試験を施行したが、セボフルラン吸入前の基礎的データ収集に長期間を要したうえに、セボフルラン吸入による認知機能の変化が検出できなかったため、デクスメトミジンやキセノンといった薬物の認知機能障害軽減作用も検討す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 used Morris water maze test to evaluate cognitive function, the function of aged rats could not be evaluated because their physical functions were severely impaired. Then, eight-arm radial maze test was used to evaluate cognitive function. However, it took months to train aged rats to determine baseline cognitive functions. Furthermore, the cognitive function was not altered by sevoflurane anesthesia though several combinations of sevoflurane concentration and duration were tested. Therefore, the protective properties of dexmedetomidine, xenon, or lithium against cognitive function were not investigated in this experimental period.

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 アポトーシス

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(デクスメトミジン)の併用、リチウムの前投与などがある。

2. 研究の目的

老齢ラットにおいてモリス型水迷路装置による高次脳機能(空間学習・記憶機能)試験、組織学的検査(生存・死亡細胞の判別)、および細胞のアポトーシスとその蛋白発現の定量的評価によって、吸入麻酔薬吸入後に発現する認知機能障害の病態を詳細に解明するとともに、若齢ラットの結果と比較することによって、加齢の影響を検討する。次に、老齢ラット一過性局所脳虚血モデルを用い、吸入麻酔薬暴露後の認知機能障害に及ぼす脳血管障害の影響を空間認識試験と組織学的検査によって評価する。更に、吸入麻酔薬投与後に誘発される認知機能障害の各モデルにおいて、麻酔薬暴露前のキセノン吸入、デクスメトミジンやリチウム投与の効果を比較検討し、吸入麻酔薬暴露後の認知機能障害に対する最も有効な防止策を探るのが本研究の最大の目的である。

3. 研究の方法

【平成25年度】老齢ラットにおける吸入麻酔薬暴露後の認知機能障害：予防法の探究

対象は雄性老齢(20-26週, 800~900g) Sprague-Dawley (SD)ラット30匹。本実験開始前にモリス型水迷路装置による空間学習・記憶機能訓練を1日2回、7日間行う。モリス型水迷路による空間学習・記憶機能評価では、避難場所として水面下に透明な台を置き、水で満たした円形プールを用い、避難場所にたどり着くまでの時間と遊泳距離を測定する。老齢ラットをセボフルラン(Sev)麻酔の有無、およびキセノン(Xen)・デクスメトミジン(Dex)・リチウム(Lit)前処置によって、以下の5群に分ける。対照シャム群(n=6): 無麻酔(Sev吸入なし)、Sev麻酔群(n=6): 2%Sev + 33%O₂ + N₂ の2時間吸入、Xen・Sev麻酔群(n=6): 70% Xen 2時間吸入させ24時間後に2%Sev + 33%O₂ + N₂ の2時間吸入、Dex・Sev麻酔群(n=6): Dex 10 μ g/kg 腹腔内投与直後、2%Sev + 33%O₂ + N₂ の2時間吸入、Lit・Sev麻酔群(n=6): Lit 6 mEq/kg 腹腔内投与24時間後に2%Sev + 33%O₂ + N₂ の2時間吸入。Sev暴露後、モリス型水迷路装置による空間認識・記憶機能の評価を1日1回、7日間行う。Sev暴露7日後に、ペントバルビタール麻酔下で4%パラホルムアルデヒド液にて脳を灌流固定する。ラットを4℃で8時間保存した後、脳を摘出し4%パラホルムアルデヒド液にて保存する。脳をパラフィン包埋し、6- μ m 脳冠状切片の標本作製する。ヘマトキシリン-エオシン染色を行い、光学顕微鏡的に海馬、大脳皮質、および尾状核被殻の生存および死亡細胞数を調べ、脳障害の程度を比較する。脳冠状切片を抗Caspase-3抗体、Bcl-2抗体、および抗Bax抗体で免疫染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察し、海馬、大脳皮質、および尾状核被殻での各蛋白発現を定量的に評価する。

【平成26年度以降】

若齢ラットにおける吸入麻酔薬暴露後の認知機

能障害：予防法の探究

対象は雄性若齢(8-9 週,300~400g) SD ラット30 匹。前年度と同様に、本実験開始前にモリス型水迷路装置による空間学習・記憶機能訓練を行う。若齢ラットをSev 麻酔の有無、およびXen・Dex・Lit 前処置によって、前年度と同様に5 群に分ける。Sev 暴露後、モリス型水迷路による空間認識・記憶機能の評価を行う。Sev 暴露7日後に、脳の灌流固定・脳冠状切片の標本作製・染色後、大脳皮質および尾状核被殻の生存および死亡細胞数を調べ、脳障害の程度を比較する。脳冠状切片の免疫染色後、海馬、大脳皮質および尾状核被殻での各蛋白発現を定量的に評価する。老齢ラットの結果と比較することによって、吸入麻酔暴露後の認知機能障害における加齢の影響を評価する。

虚血性脳障害を有する老齢ラットにおける吸入麻酔薬暴露後の認知機能障害：予防法の探究

前年度と同様に、対象は雄性老齢SD ラット30 匹で、7 日間の空間学習・記憶機能訓練を行う。中大脳動脈閉塞による脳虚血の作製：ペントバルビタール麻酔下で総頸動脈、内頸動脈、外頸動脈を露出し、その枝を処理する。外頸動脈に分岐後2 mmの部位を切離し、4.0 ナイロンを内頸動脈へ約22 mm進める。レーザー血流計にて脳皮質血流量を測定し、血流量が低下したところでナイロンを固定し、2 時間虚血を維持する。虚血2時間後、内頸動脈のナイロンを引き抜き再灌流させ、麻酔より覚醒させる。脳虚血後、7 日間の空間学習・記憶機能訓練を行う。老齢ラットをSev 麻酔の有無、およびXen・Dex・Lit 前処置によって、前年度と同様に5 群に分ける。Sev 暴露後、モリス型水迷路による空間認識・記憶機能の評価を1 日1 回、7 日間行う。Sev 暴露7日後に、脳の灌流固定・脳冠状切片の標本作製・染色後、大脳皮質および尾状核被殻の生存および死亡細胞数を調べ、脳障害の程度を比較する。脳冠状切片の免疫染色後、海馬、大脳

皮質および尾状核被殻での各蛋白発現を定量的に評価する。平成25 年度の結果と比較することによって、吸入麻酔暴露後の認知機能障害における虚血性脳障害の影響を評価する。

4．研究成果

老齢ラットは身体能力の衰えからモリス型水迷路試験を遂行できないことがわかり、八方向迷路試験に変更した。平成 27 年度は若年ラット 群 群各 6 匹、老齢ラット 群 群各 6 匹に対して八方向迷路試験を実施した。しかし老齢ラットではSev 暴露前のトレーニングに 8 週間と長時間をを要した上に、若齢、老齢ラットともにSev 吸入による有意な認知機能の低下は認められなかった。Sev の吸入濃度や時間を変更することで結果が変わることも期待されるが、結局研究期間内には意義のあるデータを収集することができなかった。

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 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：
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

西川俊昭 (NISHIKAWA, Toshiaki)
秋田大学・医学(系)研究科(研究院)・
教授
研究者番号：50156048

(2)研究分担者

木村哲 (KIMURA, Tetsu)
秋田大学・医学(系)研究科(研究院)・
講師
研究者番号：00312702

合谷木徹 (GOYAGI, Toru)
秋田大学・医学部・講師
研究者番号：30302277

堀口剛 (HORIGUCHI, Takashi)
秋田大学・医学部・准教授
研究者番号：70221570

(3)連携研究者

()

研究者番号：