

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861361

研究課題名(和文) 幼若ラット脳へのセボフルランの毒性に対する間葉系幹細胞の予防・治療的効果の検討

研究課題名(英文) The neuroprotective effect of bone marrow derived mesenchymal cells for neurotoxicity of neonatal sevoflurane exposure

研究代表者

里元 麻衣子 (Satomoto, Maiko)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：10611551

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：脳の成長発達期における麻酔薬の中枢神経毒性は成長後の学習障害も含め、げっ歯類を中心に数多く研究されている。酸化ストレスが神経毒性に重要な役割を果たしていることが明らかになっているが、そのメカニズムは明らかでない。今回Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) オキシダーゼ阻害剤であるアポシニンが幼若期セボフルラン麻酔曝露によって引き起こされる、脳細胞のアポトーシスや成長後の学習障害への改善効果があることを発見した。骨髄由来間葉系幹細胞は幼若期セボフルラン麻酔曝露において、炎症反応は抑えられるも、アポトーシス抑制効果は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：Neonatal exposure to anaesthetics such as sevoflurane has been reported to result in behavioural deficits in rodents. However, while oxidative injury is thought to play an underlying pathological role, the mechanisms of neurotoxicity remain unclear. In the present study, we investigated whether the NADPH oxidase inhibitor apocynin protects against long-term memory impairment produced by neonatal sevoflurane exposure in mice. Apocynin reduces neuronal apoptosis and protects against long-term memory impairment in mice neonatally exposed to sevoflurane by reducing superoxide levels. These findings suggest that NADPH oxidase inhibitors may protect against cognitive dysfunction resulting from neonatal anaesthesia. Bone marrow derived mesenchymal cells cannot attenuate neurotoxicity induced by sevoflurane in neonatal rat.

研究分野：麻酔

キーワード：麻酔 神経毒 学習 脳 セボフルラン

1. 研究開始当初の背景

セボフルランを含む麻酔薬の投与により、発達段階の中枢神経細胞で、アポトーシスを起こすなどの毒性があることが明らかとなっているが、予防・治療法はわかっていない。一方、間葉系幹細胞の投与が、中枢神経系に対して、組織の再生を促す効果があることが示されてきており、麻酔薬の毒性に対しても治療的な効果があるのではないかと期待される。

2. 研究の目的

(1) 培養細胞系ならびに新生仔ラットを用いた実験モデルにより、骨髄由来の間葉系幹細胞が、セボフルランの持つ幼若神経細胞への毒性に対して、予防的または治療的な効果があるかどうかを検討することを目的としている。

(2) 他、新規神経毒治療効果薬の同定を行う。

3. 研究の方法

(1) In vivo および In Vitro の両方の系で骨髄由来間葉系幹細胞の神経毒保護効果を検討した。投与時期、投与量の検討を繰り返した。

(2) 新生仔マウスを用いて、3%セボフルラン 6 時間麻酔前に NADPH - oxidase 阻害薬のアポシニンを投与。麻酔後の脳組織評価及び成長後の学習障害を観察した。

4. 研究成果

(1) 間葉系幹細胞は麻酔薬により引き起こされる炎症反応は抑えたものの、神経毒治療効果は認められなかった。この結果は論文にまとめ、世に広く公表した。

(2) セボフルラン曝露により dihydroethidium fluorescence を用いた細胞内 ROS は増加し、NADPH オキシダーゼサブユニットである p22phox の上昇を認めた。一方アポシニンはそれら増加を打ち消した。幼若期セボフルラン曝露は成長後学習障害を引き起こしたが、アポシニン投与 + セボフルラン曝露群では成長後の長期記憶は保たれており、セボフルラン曝露により引き起こされた麻酔直後のアポトーシス陽性細胞の増加を抑え、ミトコンドリアからチトクローム c の放出を非麻酔群と同レベルまで抑制した。アポシニン単独投与群における副作用は認められなかった。アポシニンは幼若期セボフルラン麻酔により引き起こされる細胞内 ROS の上昇を抑制し、神経アポトーシスを減少させ、成長後の長期記憶を保持した。今回の発見により、NADPH オキシダーゼ阻害剤であるアポシニンが幼若期における麻酔薬の中枢神経毒性において、成長後の学習障害を防ぐ作用があることが明らかになった。この結果を論文にまとめ、広く世に公表した。

(以下の図 1-5 は雑誌論文 より転載している)

Fig 1

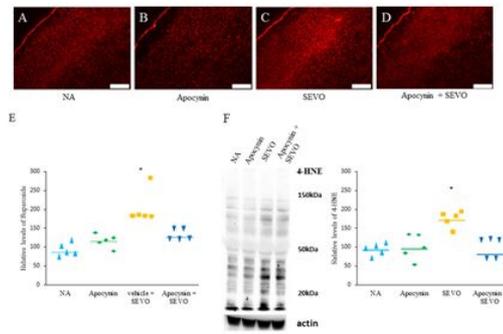


図 1. 麻酔直後の活性酸素 (ROS) の状態  
セボフルランにより上昇する活性酸素 (ROS) がアポシニンにより非麻酔群と同等まで抑えられている。

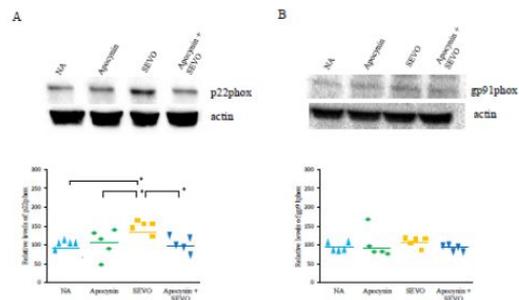


図 2. NADPH サブユニットの解析  
セボフルラン曝露により NADPH オキシダーゼサブユニットである p22phox の上昇を認めた。一方アポシニンはそれら増加を打ち消した。

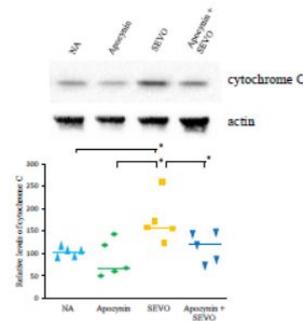


図 3. ミトコンドリア障害の解析  
セボフルラン麻酔によって上昇した。ミトコンドリアからのチトクローム C の放出をアポシニンは非麻酔群と同レベルまで抑えた。

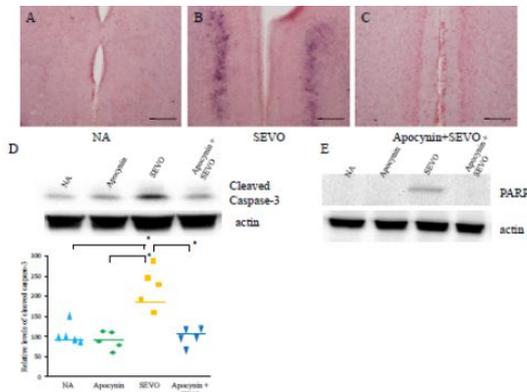


図4. 麻酔直後のアポトーシスの状態  
セボフルラン麻酔曝露群ではアポトーシスが  
増加しており、アポシニン是非麻酔群レ  
ベルまでアポトーシスを抑制した。

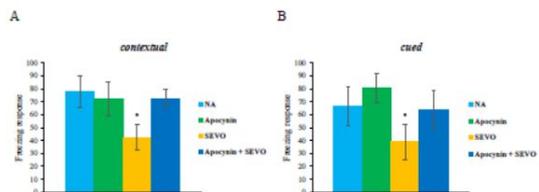


図5. 成長後の学習障害  
生後6日齢セボフルラン曝露群は、成長後学  
習障害を認めた。アポシニン+セボフルラン  
曝露群は成長後の長期記憶は保たれていた。

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 4 件)

Sun Z, Satomoto M, Adachi YU, Kinoshita H, Makita K. Inhibiting NADPH oxidase protects against long-term memory impairment induced by neonatal sevoflurane exposure in mice. 査読有 Br J Anaesth. 2016 May 4. pii: aew064. [Epub ahead of print] DOI : 10.1093/bja/aew064

Sun Z, Satomoto M, Makita K. Therapeutic effects of intravenous administration of bone marrow stromal cells on sevoflurane induced neuroapoptosis in neonatal rats. 査読有 Korean J Anesthesiol. 2015;68:397-401. DOI: 10.4097/kjae.2015.68.4.397

里元麻衣子. 麻酔と小児の神経発達. 日本臨床麻酔学会誌. 査読なし 総説 2014;34:387-391.

里元麻衣子, 内田篤次郎, 伊藤裕之, 竹

本彩, 榎田浩史 レスベラトロールのセボフルラン曝露前投与は、幼若なマウス脳へのアポトーシス誘導を阻止できない 査読有 麻酔. 2013;62.1184-7.

〔学会発表〕(計 6 件)

Sun Z, Satomoto M, Adachi YU, Cui W, Aizawa H, Ajioka I, Makita K.

Neonatal Sevoflurane Exposure

Induces Adulthood Amygdala

Dysfunction in Contextual Fear

Conditioning Test. Anesthesiology 2015

Annual Meeting 2015/10/26 San

Diego(USA)

Sun Z, Cui W, Satomoto M, Aizawa H,

Tanaka T, Makita K. Neonatal

sevoflurane exposure induces

adulthood amygdala dysfunction in

fear conditioning test Euroanesthesia

2015/6/1 Berlin ( Germany )

孫忠良, 里元麻衣子, 榎田浩史. 骨髄間葉系幹細胞が麻酔薬により幼若期中枢神経毒性治療効果の検討. 日本麻酔科学会第61回学術集会 2014/5/16 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

孫忠良, 里元麻衣子, 崔万鵬, 相澤秀紀, 田中光一, 榎田浩史. 15. 幼若期セボフルラン麻酔による成長後学習低下のメカニズムに関する検討. 第7回CBI+ONSA共催若手インスパイアシンポジウム. 2014/2/21 東京医科歯科大学(東京都文京区)

孫忠良, 里元麻衣子, 榎田浩史. Sevoflurane による幼若期マウス中枢神経アポトーシスにおける NADPH-oxidase 経路の関与. 第6回CBIR若手インスパイアシンポジウム 2014/2/2 東京医科歯科大学(東京都文京区)

里元麻衣子, 内田篤治郎, 伊藤裕之, 竹本彩, 榎田浩史. レスベラトロールのセボフルラン曝露前投与は幼若なマウス脳へのアポトーシス誘導を阻止できない. 日本臨床麻酔学会 2013/11/1-11/3 ホテル日航金沢(石川県金沢市)

〔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

<http://www.tmd.ac.jp/med/mane/research.html>

研究情報データベース：  
[http://reins.tmd.ac.jp/html/100007725\\_ja.html?k=%E9%87%8C%E5%85%83](http://reins.tmd.ac.jp/html/100007725_ja.html?k=%E9%87%8C%E5%85%83)

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

里元 麻衣子 (Satomoto Maiko)

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

研究者番号：10611551