

## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(医学) 氏名 加藤 類

### 学位論文題名

幼若期の麻酔薬暴露が成長後のラット海馬機能に及ぼす障害作用

**【背景と目的】**近年、幼若期の全身麻酔薬投与が、広範な脳神経細胞死と成長後の行動異常を引き起こしたという報告が多数なされている。これらの報告によれば、NMDA 型グルタミン酸受容体拮抗作用もしくは GABA 受容体刺激作用を示す全身麻酔薬は、脳神経細胞死と行動異常を引き起こすと考えられるが、その詳細は未だ解明されていない。海馬は記憶学習の過程に重要な役割を果たしており、特に長期増強 (LTP) は記憶、学習能力の基盤となる現象と考えられている。幼若時の全身麻酔薬投与が成長後の海馬の電気生理学的機能に及ぼす影響に関する研究は少ない。そこで我々は、代表的な麻酔薬であるプロポフォール (研究 1) とセボフルラン (研究 2) を用い、成長後の海馬内神経回路に与える電気生理学的な影響を調査した。あわせて行動観察試験を行い行動学的異常との関連を調査した。

#### 研究 1

**【対象と方法】**生後 7 日齢に雄性の Wistar 系ラットに対し、以下の 4 群の処置を行った。(1)プロポフォール 50mg/kg、(2)プロポフォール 25mg/kg、(3)イントラリピッド、(4)生理食塩水(対照群)。電気生理学的研究: 生後 9-10 週齢に、海馬の電気生理学的評価を行った。ハロタン麻酔下に、記録電極を海馬 CA1 領域の錐体細胞層に、刺激電極は同側の Schaffer 側枝に挿入し、Schaffer 側枝へ刺激電位により CA1 領域に誘発された細胞外集合電位 (PSA) を記録した。LTP 誘導のため、高頻度電気刺激 (HFS) を与え、HFS 後の PSA の増強を以て LTP 形成とした。行動観察学的研究: 生後 9-10 週齢にオープンフィールド試験を施行し、全般的な運動量を評価した。

**【結果】**電気生理学的検討: HFS 後の PSA の最大値は、生理食塩水群  $217.8 \pm 29.64\%$ 、イントラリピッド群  $216.1 \pm 11.88\%$ 、プロポフォール 25mg/kg 群  $212.5 \pm 41.92\%$ 、プロポフォール 50mg/kg 群  $125.6 \pm 9.98\%$  で、プロポフォール 50mg/kg 投与群において正常な LTP 形成を認めなかった。各群の AUC を統計学的に比較した結果、50mg/kg プロポフォール群は、生理食塩水群とイントラリピッド群との間に有意差を認めた。オープンフィールド試験: 群間に有意差を認めなかった。

**【考察】**今回の実験より、幼若期プロポフォール投与が、成長後の海馬の LTP 形成を障害する事を初めて示した。今回認められた海馬 LTP 形成障害は学習障害などの行動異常と関連があると考えられる。脳神経系の分化成熟に GABA 受容体と NMDA 受容体の作用は重要であり、GABA 作動薬であるプロポフォール投与が海馬の分化成熟に異常を引き起こした可能性がある。プロポフォールの呼吸抑制作用の影響を、オープンフィールド試験を用い成長後の全般的な運動能力を調査する事により評価し、有意な異常は認めなかった。しかし幼若時の呼吸抑制が成長後の脳機能に及ぼす影響に関しては、更なる研究が必要である。

**【結論】**プロポフォールの幼若期の投与が成長後の海馬の LTP 形成障害を引き起こす事が示唆された。

#### 研究 2

**【対象と方法】**対照:研究1と同様。生後 7 日齢に以下の 4 群の処置を2時間行った。(1)1%セボフルラン+酸素 99%、(2)2%セボフルラン+酸素 98%、(3)8%二酸化炭素+92%酸素、(4)100%酸素(対照群)。動脈血液ガス分析:セボフルランによる呼吸抑制を、動脈血液ガス分析により評価した。電気生理学的検討:研究1と同様。モリス水迷路試験:生後 10-11 週齢行動観察学的に学習機能を評価するため、Hidden platform test と Probe trial を施行した。Hidden platform test は 1 回 90 秒間のテストとし、platform への到達時間を測定した。テストは連続 2 回施行し平均値を記録し、これを 1 セッションとした。1 日 2 セッション、連続 4 日間(計 8 セッション)施行した。Probe trial は、platform を取り除いたプールに、ラットを 60 秒間泳がせ、その間 Platform を留置していた 4 半円領域に滞在した割合を百分率で記録した。水泳速度:ラットの運動能力を平均水泳速度(cm/s)で評価した。オープンフィールド試験:研究 1 と同様。

**【結果】**動脈血液ガス分析:2%セボフルランと二酸化炭素群で、有意なアシドーシスと高二酸化炭素血症を認めた。電気生理学的検討:HFS 後の PSA の最大値はそれぞれ、酸素群  $214.1 \pm 29.82\%$ 、二酸化炭素群  $218.6 \pm 25.39\%$ 、1%セボフルラン群  $170.7 \pm 20.08\%$ 、2%セボフルラン群  $130.9 \pm 10.47\%$ であった。1%セボフルラン群、2%セボフルラン群においては十分な LTP 形成を認めなかった。各群の AUC を統計学的に検討した結果、2%セボフルラン群は、対照群と二酸化炭素群と間に有意差を認めた。モリス水迷路試験:Hidden Platform test において複数のセッションで、2%セボフルラン群と他の3群との間に有意差を認めた。また全セッションにおける到達時間の合計値はそれぞれ、酸素群  $214.5 \pm 19.79$  秒、二酸化炭素群  $214.6 \pm 14.40$  秒、1%セボフルラン群  $253.6 \pm 15.06$  秒、2%セボフルラン群  $323.2 \pm 18.71$  秒で、2%セボフルラン群は他の 3 群と比較し有意差を持ってプラットフォーム到達時間の延長を認めた。Probe Trial、水泳速度の結果、各群の間に有意差を認めなかった。オープンフィールド試験:有意差を認めなかった。

**【考察】**幼若時の 2%のセボフルラン暴露は、統計学的有意差を持って成長後の海馬 LTP の形成障害とモリス水迷路試験における学習効率の低下を同時に引き起こした。この結果により幼若時のセボフルラン麻酔によって引き起こされた成長後の海馬 LTP 形成障害と学習能力の障害と強く結びつく事が示唆された。セボフルランは GABA 受容体ならびに NMDA 受容体の両方に作用するとされており、前述のとおり幼若期の GABA 受容体と NMDA 受容体刺激は神経系の成熟に重要であり、幼若期のセボフルラン暴露が成長後の海馬内神経の成熟に異常をきたした可能性が考えられる。本実験において、二酸化炭素群を用い、セボフルランによる呼吸抑制の影響を評価したが、成長後の海馬 LTP の形成や学習能力に障害を認めず、2%セボフルラン群で観察された成長後の LTP 形成や学習能力の障害に、呼吸抑制は影響しない事が示唆された。水泳速度及びオープンフィールド試験の結果、モリス水迷路試験の結果はラットの運動能力に影響されていないことが確認された。

**【結論】**幼若期のセボフルラン暴露は、成長後の海馬シナプス可塑性ならびに学習能低下を引き起こし、その間に明確な関連があることが示された。またセボフルラン曝露による呼吸抑制の影響は否定された。

**【結語】**本研究から、幼若期におけるプロポフォールとセボフルラン投与により、それぞれ成長後の海馬シナプス可塑性に異常が生じることが示された。また、海馬シナプス可塑性の異常は、学習能の低下と密接に関連する可能性が示唆された。幼若期麻酔薬による神経毒性の一端に、成長後の海馬機能の低下が存在する可能性が示唆された。