

博士（医学）伊東義忠

学位論文題名

軽度および中等度低体温のラット脳機能、
脳循環に及ぼす影響

学位論文内容の要旨

脳保護の目的に低体温療法は古くから行われている。1943年の報告では、重症頭部外傷患者に対して、24°Cの低体温療法により脳機能が回復したとしている。1950年には、心臓手術時の低体温による脳代謝の低下が脳保護効果を示すと報告された。さらに1987年Bustoらが、ラット四動脈閉塞モデルで2~4°Cの軽度の体温低下により、海馬CA1錐体細胞層の遅発性細胞死が抑制されることを報告した。現在、臨床面では人工心肺や循環停止を必要とする心臓大血管手術のみならず、脳外傷、脳塞栓、脳梗塞、心停止蘇生後などに低体温療法が試みられているが、脳保護メカニズムは未だ解明されていない。一方、低体温は、脳血流、脳波、体性誘発電位に影響することが知られている。また、全身麻酔中の記憶は時に問題となる。術中覚醒は心臓、産科手術以外では0.2%程度と報告されているが、心臓手術においては1.1~1.5%と報告されている。麻酔方法による影響が考えられているが、低体温麻酔を併用しているのにもかかわらず覚醒していることは、興味深いことである。1973年にBlissらによって、海馬における長期増強現象（LTP、long-term potentiation）が報告されて以来、この現象は記憶・学習の生理的基盤と考えられている。LTPは海馬スライス標本による研究が数多く行われているが、より生理的なin vivoにおいても測定が可能である。本研究は、脳保護作用として最近注目されている軽度低体温（32°C）及び、人工心肺中などで用いることの多い中等度低体温（28°C）が脳機能、脳循環に与える影響を、ハロタン麻酔下ラットで、海馬における誘発電位、LTP、脳波（EEG）、脳血流（CBF）を指標として検討した。さらに、動脈圧と心拍数から体循環の変化を、また、動脈血ガス分析と呼気終末二酸化炭素分圧（ETCO₂）から呼吸代謝の変化も併せて検討した。

ハロタン麻酔下ラットを定脳位固定装置に固定後、誘発電位およびLTP測定用に記録電極を海馬CA1錐体細胞層、刺激電極は同側のSchaffer側枝に挿入した。脳波および脳血流測定は大脳皮質に接するように、ビスおよびレーザードブラー血流プローブを固定した。体温を脳、食道、直腸で測定しながら頸部以下をアイススラッシュ入りのビニールパックで体表を覆い冷却し、目標体温を90分間維持した。その後ヒーティングパッドで加温し約30分で37°Cに復温した。復温後、30分間各諸量を測定して実験を終了した。LTPの測定では、目標体温で安定した時点での高頻度テタヌス刺激を与え、その後60分間その体温を維持した。

本研究結果では、冷却により一時血圧の上昇と心拍数の増加が認められ、その後低下ないし減少した。ハロタンは末梢皮膚血管収縮に影響を与えないとしているので、冷却刺激による交感神経刺激により血圧の上昇と心拍数の上昇が起き、その後は心臓・腎交感神経の抑制により低下したと考えられる。一方、脳血流は血圧の上昇および心拍数の増加に伴い増加したが、その後徐々に減少した。脳の自己調節に対する低体温の影響については、

麻酔深度との関連性は少ないとされている。したがって、脳血流低下の大きな要因は動脈圧の低下によるものと推測される。さらに、脳血流は体温が1°C低下する毎に6.7%減少すると報告されている。それによると32°Cでは33.5%、28°Cでは60.3%減少することになる。今回の結果では、32°Cで27.1%、28°Cで51.0%と軽度の減少であったがその原因としては、冷却刺激により一時、脳血流が増加した影響と血圧が保たれていたためと考えられる。また、低体温時にも $Paco_2$ 1mmHgあたり脳血流量が約4%変化するという常温時の反応があると報告されているが、今回28°Cにおける $Paco_2$ は34.6mmHgと低下が軽度であったため、脳血流の減少が少なかった可能性も考えられる。動脈血ガス分析では、28°Cで Pao_2 が49.5%増加した。これは、体温低下による代謝抑制により酸素消費量が低下したことが示唆される。また低体温は、二酸化炭素の溶解度やヘモグロビン結合性を増加させることによって、血液中の二酸化炭素分圧を低下させるため、ETCO₂は $Paco_2$ より通常4.6±2.5mmHg低い値を示すとされている。様々な要因によりこの差は変化するが、体温低下によるETCO₂と $Paco_2$ の差を測定した報告によると、温度補正をしない場合には、体温が1°C低下するとETCO₂は $Paco_2$ よりも約3.6%低い値を示すとしている。本研究においても1°Cで3.1%とほぼ同様な結果が得られた。

本研究では、低体温によるEEGにおける周波数解析には変化を認められなかった。33.5°Cの軽度低体温ではEEGにほとんど変化が認められず、22~25°C以下で変化が起これるとしている。よって、本研究は28°Cまでの低下であったため変化しなかったと考えられた。

海馬誘発電位測定において、潜時は冷却により延長し、復温により冷却前の基準値に回復した。集合電位は、冷却前の基準値と比較して有意に増強し、冷却による温度依存性があることが確認された。しかし、37°C復温時には、冷却前の基準値と比較すると、32°C群では $181.9\pm9.7\%$ 、28°C群では $146.8\pm12.9\%$ と有意に増強を認めた。本研究において集合電位をシナプス伝達効率の指標とすると、循環動態の変化、特に脳血流の低下によっても伝達効率は上昇した。このことは、CBFが50~130%の範囲で変化しても、シナプス伝達に対する影響は少ないと考えられた。また、本研究ではpHや $Paco_2$ の変化は少なく、これらによる影響も少なかったと推察される。また、脳虚血による興奮性神経伝達物質の放出は低体温により抑制されると報告されている。しかし、体温低下がシナプス伝達物質放出に何らかの変化を及ぼしていると考えられるが、メカニズムは不明である。

32°Cでの高頻度テタヌス刺激により、集合電位は対照群に比べ有意に増強し、60分間持続した。また、復温後も対照群より有意に高い値を示した。この結果は、32°Cの低体温においてもLTPが生じたことを示すものである。しかし、28°Cでは、変化は認められなかった。28°Cの低体温により、テスト刺激による集合電位は37°C時の最大刺激反応と同程度まで増強したため、テタヌス刺激による更なる増強反応は起きなかつた可能性が考えられる。急性ストレスに曝されると、海馬におけるLTPの抑制が起ることが知られている。一方、非麻酔下ラットで、4°Cの冷環境負荷によってLTPは抑制されないとされている。異なる結果の理由は、本研究はハロタン麻酔のもとで施行され、急速冷却であり、寒冷刺激方法や体温低下の程度が異なるためによるのかもしれない。

以上のことから、軽度体温を低下させることにより、海馬CA1野でのシナプス伝達効率が上昇し、かつ可塑性が維持されていることが示唆された。すなわち、記憶・学習の生理学的基盤とされる海馬長期増強現象が軽度低体温時に起きたという本研究の結果は、32°Cの軽度低体温では記憶を抑制しないことが示唆された。よって、低体温麻酔併用して全身麻酔を行う場合においても十分な麻醉深度を得る必要があると考えられた。さらに、この海馬長期増強現象を含めた脳機能測定を用いることにより、様々な条件下での麻醉薬の役割をさらに解明することが期待される。

学位論文審査の要旨

主査 教授 劍物 修
副査 教授 本間 研一
副査 教授 吉岡 充弘

学位論文題名

軽度および中等度低体温のラット脳機能、 脳循環に及ぼす影響

本研究は、脳保護作用として最近注目されている軽度低体温（32℃）及び、人工心肺中などで用いることの多い中等度低体温（28℃）が脳機能、脳循環に与える影響を、ハロタン麻酔下のラットで、海馬における誘発電位、長期増強現象、脳波および脳血流を指標として検討した。さらに、動脈圧と心拍数から体循環の変化を、また、動脈血ガス分析と呼気終末二酸化炭素分圧（ETCO₂）から呼吸代謝の変化も併せて検討した。

本研究結果では、冷却により一時血圧の上昇と心拍数の増加が認められ、その後低下ないし減少した。一方、脳血流は血圧の上昇および心拍数の増加に伴い増加したが、その後徐々に減少した。28℃で Pao₂ が 49.5% 増加した。これは、体温低下に伴い代謝抑制により酸素消費量が低下したことを示唆する。ETCO₂ は Paco₂ より通常 4.6±2.5mmHg 低い値を示すとされている。様々な要因によりこの差は変化するが、体温低下による ETCO₂ と Paco₂ の差を測定した報告によると、温度補正をしない場合には、体温が 1℃ 低下すると ETCO₂ は Paco₂ よりも約 3.6% 低い値を示すとしている。本研究においても 1℃ で 3.1% とほぼ同様な結果が得られた。

低体温による脳波における周波数解析には変化が認められなかった。22~25℃以下で変化が起こるとされているため本研究の温度では変化しなかったと考えられた。

海馬誘発電位測定において、潜時は冷却により延長し、復温により冷却前の基準値に回復した。集合電位は、冷却前の基準値と比較して有意に増強し、冷却による温度依存性があることが確認された。しかし、37℃復温時には、冷却前の基準値と比較すると、32℃群では 131.9±9.7%、28℃群では 146.8±12.9% と有意に増強を認めた。本研究において集合電位をシナプス伝達効率の指標とすると、循環動態の変化、特に脳血流の低下によっても伝達効率は上昇した。これにより、脳血流が 50~130% の範囲で変化しても、シナプス伝達に対する影響は少ないものと考えられた。また、本研究では pH や Paco₂ の変化は少なく、これらによる影響も少なかったと推察される。脳虚血による興奮性神経伝達物質の放出は低体温により抑制されると報告されている。しかし、体温低下がシナプス伝達物質放出に何らかの変化を及ぼしているとは考えられるが、そのメカニズムは不明である。

32℃での高頻度テタヌス刺激により、集合電位は対照群に比べ有意に増強し、60 分間持続した。また、復温後も対照群より有意に高い値を示した。この結果は、32℃の低体温においても長期増強が生じたことを示すものである。しかし、28℃では、変化は認められなかった。28℃の低体温により、テスト刺激による集合電位は 37℃時の最大刺激反応と同程度まで増強したため、テタヌス刺激による更なる増強反応は起きなかった可能性を考えら

れる。

以上のことから、軽度体温低下により、呼吸および循環の影響を受けずに海馬 CA1 野でのシナプス伝達効率が上昇し、かつ可塑性が維持されていることが示唆された。すなわち、記憶・学習の生理学的基盤とされる海馬長期増強現象が軽度低体温時に起こったという本研究の結果は、32℃の軽度低体温では記憶を抑制しないことが示唆された。したがって、低体温麻酔を併用して全身麻酔を行う場合においても十分な麻醉深度を得る必要があると考えられた。

さらに、この海馬長期増強現象を含めた脳機能測定を用いることにより、様々な条件下での麻醉薬の役割をさらに解明することが期待される。

学位申請者の学位論文公開発表は、平成 11 年 7 月 22 日午前 10 時より医学部臨床大講堂において行われた。その後副査の本間研一教授から、脳血流量低下の原因、温度による二酸化炭素分圧の差の有無、脳波に対する麻醉薬の影響、海馬長期増強限界温度についての質問があった。次いで副査の吉岡充弘教授から、今回明らかとされなかった 28℃での海馬長期増強の可能性、海馬 CA1 野を選択した理由、シナプス伝達効率上昇のメカニズム、手術中の記憶が残らない覚醒状態の有無についての質問があった。さらに会場の侵襲制御医学講座柴野岳樹院生から冷却、復温による脳の組織学的变化の検討、覚醒レベルを測定できるモニターの有無、手術中の記憶が残らない覚醒状態の是非についての質問があった。最後に主査の鶴物修教授から、吸入麻醉薬による差の有無、海馬長期増強に対するプロポフォールの影響についての質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は参考文献等を引用し、また臨床的経験などから推測される結果を豊富な知識に基づいて明解に解答した。

審査員一同は、これらの軽度および中等度低体温のラット脳機能、脳循環に及ぼす影響に関する研究成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。