

## 【背景】

これまで麻酔薬による影響は臨床使用濃度・時間内であれば可逆的で安全であるとされてきたが、近年神経系の発達期における吸入麻酔薬の使用により脳神経系にアポトーシスが誘導され長期的に認知機能障害を引き起こす可能性が報告されるようになった。しかし、そのメカニズムは未だ不明な点が多い。一方 micro RNA はターゲットとする mRNA の分解、翻訳抑制を介し遺伝子発現を制御する。これまで我々は麻酔薬が micro RNA の発現変化を介して各臓器に影響を及ぼしていることを報告してきた。今回、幼若ラットへのセボフルラン投与が投与後の海馬における micro RNA 発現変化に及ぼす影響、および成熟後の認知機能に対する影響を評価した。

## 【方法】

生後 7 日齢の雄 SD ラット(n=9)に 1.9% (0.5 MAC)セボフルランを酸素 6L/分下で 3 時間投与した。対照群は同時間母ラットと分離した。両群ともに生後 3 週齢で母ラットより離乳した。全ての結果の統計には two-tailed, unpaired student's t-test を用い、 $p < 0.05$  を有意差ありとした。

### (検討 1)

セボフルランが呼吸循環動態に与える影響を評価するため、生後 7 日齢に 1.9%セボフルランを 3 時間投与終了時の動脈血液ガス分析を実施し、pH、 $p\text{CO}_2$ 、 $p\text{O}_2$ 、 $\text{HCO}_3^-$ 、Base Excess を評価した。

### (検討 2)

生後 8 日齢に TaqMan low-density array を用いて海馬における miRNA の発現変化の網羅解析を行った。

### (検討 3)

生後 7 週齢にオープンフィールド試験を施行し、総移動距離、中央区画滞在時間、および立ち上がり回数から新奇環境下におけるラットの多動性を評価した。続く生後 8 週齢にフイアコンディショニング試験を行い、状況試験および音試験におけるフリージング率とその経時的推移を評価し海馬依存性/非依存性学習記憶機能を解析した。

### (検討 4)

生後 8 週齢の海馬における brain-derived neurotrophic factor (BDNF) および calcium channel, voltage-dependent, alpha 2/delta subunit 2 (CACNA2D2) の定量 PCR 分析を行った。

## 【結果】

### (検討1)

Control 群と比較してセボフルラン投与群では血中二酸化炭素分圧にわずかな上昇傾向が認められたものの、全ての評価項目において有意差を認めなかった。

### (検討2)

海馬に発現する 248 中 20 の miRNA が control 群と比較して有意な発現変化を示し、*rno-miR-632* が 10.2 倍と最も大きく増加した。

### (検討3)

オープンフィールド試験において control 群と比較して中央区画滞在時間が有意差を持って減少した。またフィアコンディショニング試験の状況試験において、セボフルラン群では有意に高いフリージング率を示し、その傾向は試験終了まで持続した。

### (検討4)

(検討2)で最も大きな発現変化を示した *rno-miR-632* のターゲットである *BDNF* と *CACNA2D2* の定量分析を行った。しかしながら本研究ではどちらの発現量にも control 群と比較して有意差を認めなかった。

## 【考察】

今回の検討では幼若期のセボフルラン曝露により miRNA の発現変化および成長後の行動に異常が生じるかを検討した。(検討3)の結果より幼若期にセボフルランに曝露されたラットでは成長後に不安が増強していると考えられた。(検討2)において有意な増加を示した *rno-miR-632* はそのターゲットとして *BDNF* と *CACNA2D2* とを有している。前者は正常な神経発達に必須であり、一方プレガバリンやガバペンチンといった抗痙攣薬が *CACNA2D2* に結合することで不安回路が活性化されることを阻害するという点において、後者は不安回路形成に関与することが報告されている。従って、セボフルラン投与による *rno-miR-632* の発現増加に伴いこれらの mRNA の発現が抑制された結果、成長後に不安増強様行動が引き起こされた可能性があると考えた。以上を踏まえ、我々はこれら2つの mRNA の定量分析を行った。しかしながら今回我々はどちらの mRNA においてもその発現量に control 群と比較して有意差を認めなかった。理由として神経細胞に多く発現する mRNA へのセボフルランの影響は2週間以内に消失するとの報告があり、本検討においてもこれらの mRNA の発現変化は一時的なものに留まった可能性が考えられた。