

令和 3 年 6 月 25 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17231

研究課題名(和文) 加齢と全身麻酔が体内時計に与える影響；遺伝子改変マウスを用いた時間生物学的解析

研究課題名(英文) Effects of Aging and General Anesthesia on the Biological Clock

研究代表者

佐古 沙織 (Sako, Saori)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：50759933

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：全身麻酔後にせん妄や睡眠覚醒障害などを発症する患者がいるが、我々はこれが海外旅行時の時差ボケと同じような「体内時計」の障害に原因があるのではないかと考えた。そこで本研究では、全身麻酔が「体内時計」に与える影響について、遺伝子改変マウスを用いて検討することを目的として開始した。本研究期間において我々は、遺伝子改変マウスを時間生物学的実験を行う上で最適な飼育環境を整え、マウスの視交叉上核から時計遺伝子の1つであるperiod2の発現を観測することに成功した。今後は、この手法を用いて全身麻酔後に時計遺伝子がどのような影響を受けるか研究を続ける方針である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの疾病には発症や悪化をきたしやすい時間帯があることから、医療の分野では時間医学の概念が提唱され、疾患の予防や治療に生かそうとする試みが始まっている。我々は全身麻酔後にせん妄や睡眠覚醒障害などを発症するのは、体内時計の障害に原因があるのではないかと考え、遺伝子改変マウスを用いてこのことについて検討を開始した。本研究はまだ途中経過の段階ではあるが、体内時計中枢の視交叉上核において時計遺伝子の発現を観察することができたため、今後はこの手法を用いて全身麻酔と体内時計との関係について検討を続ける予定である。

研究成果の概要(英文)：Some patients develop delirium or sleep-wake disturbance after general anesthesia, and we thought that this might be caused by a disorder of the "body clock" similar to jet lag during overseas travel. Therefore, we started this study to investigate the effect of general anesthesia on the "biological clock" using genetically modified mice. During this research period, we prepared genetically modified mice in an optimal environment for conducting temporal biological experiments, and succeeded in observing the expression of period2, one of the clock genes, in the suprachiasmatic nucleus of the mice. In the future, we will continue to use this technique to study how clock genes are affected after general anesthesia.

研究分野：歯科麻酔学

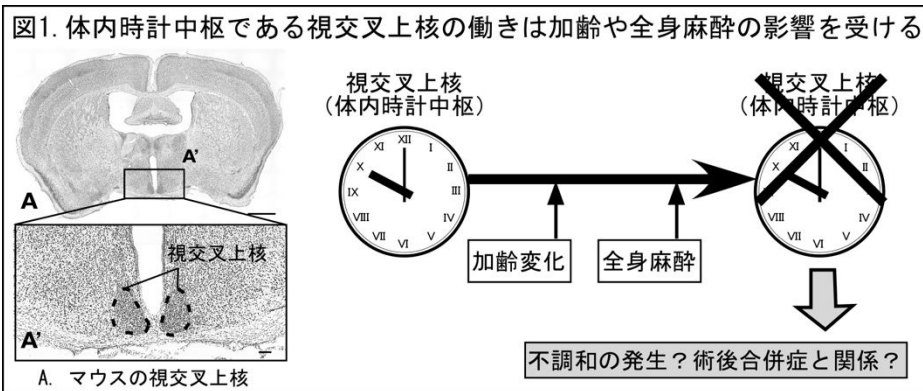
キーワード：術後せん妄 体内時計 加齢 吸入麻酔薬 遺伝子改変マウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

睡眠や覚醒など様々な生理機能には約 24 時間のリズムがあり、生物が普遍的に備える「体内時計」によって制御されている。「体内時計」は律動的に発現する時計遺伝子が、調和のとれた生体機能を生み出す一連のシステムを指している。一方、多くの疾病には発症や悪化をきたしやすい時間帯があることから、医療の分野では時間生物学的な知見を取り入れた時間医学の概念が提唱され、疾患の予防や治療に生かそうとする試みが始まっている。このような背景の中、全身麻酔薬が「体内時計」に与える影響が動物実験により検討され、メカニズムの詳細は不明だが、全身麻酔薬が「体内時計」の中核である視交叉上核の時計遺伝子発現に影響を及ぼすことが挙げられている。一方、高齢社会の進展とともにエイジング（加齢）に関する研究も盛んに行われ、視交叉上核の働きは加齢とともに減弱するという結果も発表されている。全身麻酔後に発症するせん妄や睡眠覚醒障害などは特に高齢患者に多く認められ、病棟管理において難渋する術後合併症の 1 つである。この症状には、術後に突然発症し、症状の強さに日内変動を認め、1 週間前後継続した後次第に落ち着く、といった特徴が挙げられる。これは、まるで海外旅行時の時差ボケと同じように「体内時計」の障害を疑わせる所見である。

我々は加齢によって視交叉上核の機能が減弱している状態に、全身麻酔薬が作用することで、体内時計機構に顕著な不調和が発生し術後せん妄などの合併症として現れているのではないかと仮説をたて、麻酔薬と加齢・時計遺伝子の関係を検討することにした（図 1）。



2. 研究の目的

本研究では、「体内時計」に影響を及ぼす因子として、全身麻酔（麻酔薬の種類と麻酔時間の違い）を外的因子とし、患者の加齢変化を内的因子として挙げ、全身麻酔後に発症する合併症との関係を、時間医学に基づいて検討し、より良い周術期管理につながる基礎的な知見を提供することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、時計遺伝子の 1 つ *Period2* にホタルの発光酵素をつけ、時計遺伝子の発現に応じて細胞が光るよう遺伝子改変されたマウス (PER2::LUC ノックインマウス) を用い、全身麻酔と加齢変化が「体内時計」に及ぼす影響を検討する。

(1)10 週齢 (=Young 群) の雄性マウス (PER2::LUC ノックインマウス) と 70 週齢 (=Old 群) の雄性マウスを用い、室温 23 ± 1 の静穏な施設において、自由給水・自由摂食、12 時間ごとの明暗サイクル条件下で飼育し、輪廻し活動を 2

Old群		VS	Young群
検討項目		検討方法	
麻酔薬	麻酔時間		
セボフルラン (n=32)	long (n=16)	発光リズム (n=8)	輪廻リズム (n=8)
	short (n=16)	発光リズム (n=8)	輪廻リズム (n=8)
デスフルラン (n=32)	long (n=16)	発光リズム (n=8)	輪廻リズム (n=8)
	short (n=16)	発光リズム (n=8)	輪廻リズム (n=8)
コントロール (n=16)	(n=16)	発光リズム (n=8)	輪廻リズム (n=8)

図2. 群分けの内訳

週間にわたり計測する(図2)。

(2)暗期開始時(マウスの活動期)に、short; 2時間、long; 10時間の全身麻酔を、セボフルラン群とデスフルラン群に分けて行う。

(3)全身麻酔後に摘出した視交叉上核を、細胞培養液に入れ、1週間にわたり発光リズムを計測する。

(4)コントロール群では、全身麻酔の行程を除き同様の実験を行う。

(5)得られたデータより、Old群とYoung群を比較し、「体内時計」に影響を及ぼす外的因子; 全身麻酔薬の種類と麻酔時間、内的因子; 加齢変化について検討する。

4. 研究成果

本研究は、まだ途中経過の段階であり、開示するに値する実験のデータは得られていない。しかし、今後も本研究課題は継続して行われる予定であり、今回は実験環境を整備し、機器のセットアップの大半が終了したことが大きな成果と捉えている。

(1)時間生物学的実験を遂行するための環境整備

研究施設の整備

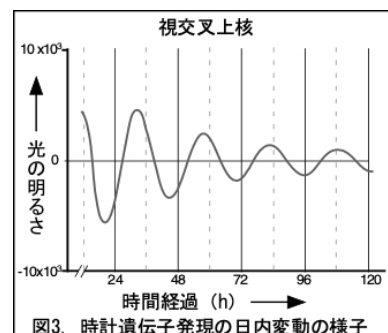
マウスが活動期の暗期に光暴露されると、それだけで体内時計は狂い、いわゆる時差ボケの状態となる。この時差ボケマウスを用いて本研究を遂行しても全く意味をなさない。このような状況を回避するため、当研究室が単独で使用できる動物飼育・実験室を確保し、明期と暗期を12時間周期で自動的に切り替え厳密に管理を行なえるよう環境を整えた。

研究設備

さらに、コフィンと呼ばれるマウスのケージを収納する大型の暗箱を自作して設置した。これにより、この箱に付属するライトのオンオフ時間を調整することで、中で飼育されているマウスは、外界の時間に関係なく体内時間を調整することが可能となった。つまり、この箱がない場合、夜間の実験は夜間に行わなければならないが、実験者にとって大変な負担となっていたが、マウスの昼夜を実際の外環境と逆転させて維持させておくことで、実験者は昼間に実験が遂行できるようになった。これは、われわれ実験者の体内時計を乱さないためにも大変重要なことである。

(2)PER2::LUC ノックインマウスを用いた時計遺伝子の発現の観測

インキュベーターの中に完全遮光のBOXを設置し、さらにその中にある高感度カメラで目的のサンプルから時計遺伝子の発現を観察することに成功した。得られたデータ(図3)は先行研究と矛盾しないことが確認された。今後、本研究において予定されている本実験を行う準備が整ったと考えられる。



(3)マウスの輪回し活動の記録

マウスの輪回し自体の導入は終了したが、計測機器の不具合により測定ができていない状態である。今後は別の計測機器を導入するなどして、当初の目的でもあったマウスの行動レベルでの生体リズムの変化が計測できるよう計画している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------