

平成 21 年 12 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591811

研究課題名（和文） 生体日内リズムに対する各種麻酔薬の影響
松果体マイクロダイアリスによる検討研究課題名（英文） The influences of various anesthetics on the circadian
rhythm of melatonin.

研究代表者

菊地 龍明 (KIKUCHI TATSUAKI)

横浜市立大学・附属病院・准教授

研究者番号：70285138

研究成果の概要：

作用機序の異なる麻酔薬（ケタミンおよびペントバルビタール）でラットの頭部手術を行った後の松果体からのメラトニン遊離に与える影響を投与時間による差異に着目してマイクロダイアリス法を用いて調べた。ケタミン麻酔で手術を行った場合、昼間（ラットの休息期）の手術後はメラトニン上昇の位相に変化はなかったが、夜間（ラットの活動期）の手術後は位相の前方へのシフトが見られた。

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔蘇生学

キーワード：麻酔薬、メラトニン、マイクロダイアリス、日内リズム

1. 研究開始当初の背景

松果体から分泌されるメラトニンは、哺乳類においては概日時計の全身への出力系と位置づけられ、夜間に分泌が増加する日内変動を示し睡眠調節に関与するほか、内分泌・循環・体温調節など多くの生体機能リズムに影響することが知られている。一方で、麻酔薬の投与はメラトニンの日内変動に影響を及ぼす可能性があり、その変化は麻酔後の生体リズムの障害と直結すると考えられた。しかし、これまでに麻酔薬投与とラットメラトニン分泌の日内変動に関する研究は皆無で

あった。

我々は以前にラット海馬アセチルコリン分泌の日内変動に対する麻酔薬の影響に関する研究を行い、ラットの活動期に麻酔薬を投与する方がラットの休眠期に麻酔薬を投与するよりもその影響が大である事を示唆する結果を得た（2007年日本麻酔科学会学術集会にて発表）。そこで同様にメラトニン分泌の日内変動に与える影響も麻酔投与時期の違いにより異なるという仮説を立て、本研究を計画した。

2. 研究の目的

各種全身麻酔薬がラット松果体から分泌されるメラトニンの日内変動に与える影響を考察する。特に、全身麻酔薬をラットの活動期（夜間）に投与する場合と休眠期（昼間）に投与する場合とで、メラトニンの日内変動に与える影響に差が生じるか否かに焦点を置く。

3. 研究の方法

実験には 10-12 週齢の雄性 Wistar-Imamichi ラット (350-400 g) を用いる。

実験開始 1 週間前からすべての実験期間を通して、ラットは遮音実験室で 12 時間の明暗サイクル（明期：7：00-19：00、暗期：19：00-7：00）、22℃の室温環境下で飼育される。

(1) 麻酔薬の投与と手術侵襲

投与する麻酔薬と手術の時期により以下の 4 群に分ける。

①RK 群（休眠期ケタミン麻酔群）：13：00 にケタミンで麻酔下に透析膜挿入手術を行う。

②AK 群（活動期ケタミン麻酔群）：1：00 にケタミンで麻酔下に透析膜挿入手術を行う。

③RP 群（休眠期ペントバルビタール麻酔群）：13：00 にペントバルビタールで麻酔下に透析膜挿入手術を行う。

④AP 群（活動期ペントバルビタール麻酔群）：1：00 にペントバルビタールで麻酔下に透析膜挿入手術を行う。

(2) 麻酔方法

ケタミン：150mg/kg を腹腔内投与する。正向反射消失を確認後手術開始する。手術中体動があった時点で初回投与量の 25% を追加投与する。

チオペンタール：50mg/kg を腹腔内投与する。正向反射消失を確認後手術開始する。手術中体動があった時点で初回投与量の 25% を追加投与する。

手術時の照明がメラトニン日内変動に影響を及ぼすことを避けるために、夜間（1：00～）の麻酔・手術を行う際には、暗室内で麻酔を行ないラット用アイマスク装着のうえ手術室へ移動する。暗室へ戻ったらアイマスクを外す。

(3) ラット松果体への微小透析膜挿入

麻酔後、頭蓋骨を露出し側頭骨（AP：-8.3mm from bregma、V：2.0mm from brain surface を含む部分）に直径 2.3mm のドリルを用いて穴を開ける。脳定位固定装置を用いて松果体（AP：-8.3mm from bregma、L：0mm from midsagittal plane、V：2.0mm from brain surface）に透析膜付きプローブ（分子量カットオフ：20000、膜長：5mm、全長：405mm、PT-200-05T EICOM）を水平に挿入する。挿入後、体外に露出したプローブはスクリーブスとともに歯科用セメントを用いて固定する。

(4) マイクロダイアリシス実験とメラトニン分析

透析膜付きプローブ挿入後、速やかにマイクロダイアリシス実験を開始する。ラットは実験中はプラスチックケージにて無拘束下で行う。透析膜付きプローブをテフロンチューブに接続し、人工脳脊髄液をマイクロインフュージョンポンプを用いて 1.0 μ l / 分の速度で灌流する。灌流液は 30 分毎にオートインジェクターにより高速液体クロマトグラフィー + 電気化学検出法（HTEC500 EICOM）に注入され、灌流液中のメラトニンの分析を行う。

(5) 実験の終了

夜間のメラトニン最大値を 100% とする。メラトニン量が 20% 以上に上昇した時刻をメラトニン上昇時刻と定義する。3 日間連続でメラトニン上昇時刻が同時刻を記録した段階で実験終了とする。

また、上記の条件を満たさない場合でも、7 日間連続測定終了した時点で実験終了とする。

(6) 自発運動量の測定

ラットの自発運動量はケージ上に設置した赤外線自発運動量測定装置により測定され、30 分毎に定量化する。

(7) データの解析

メラトニン上昇時刻と麻酔薬・麻酔時刻との関係：

・麻酔試行当日（D1）と測定最終日とでメラトニン上昇時刻に有意差が認められるか検討する。

・各群間でメラトニン上昇時刻に優位な差が認められるかどうかを検討する。

行動量の解析：行動量の解析は cosiner analysis（コサイナー法）で行う。

・麻酔試行当日 (D1) と測定最終日とで acrophase のシフトが認められるかどうかを検討する。

・各群間で acrophase に関して優位差が認められるかどうかを検討する。

4. 研究成果

①本研究手法により、ラット松果体からのメラトニン分泌量を 30 毎に数日間連続で測定することができた。従来の知見通り、昼間は遊離量が少なく、夜間に急激に上昇し明け方に基礎値に復することが確認された。

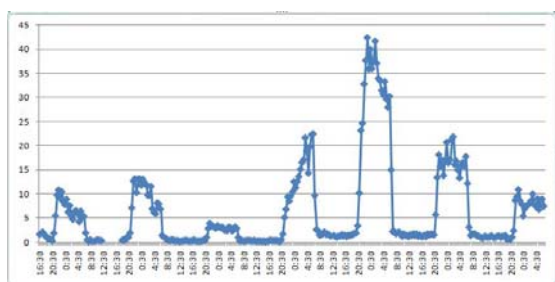


図1. RK 群ラットのメラトニン分泌量の推移。7日間連続測定の結果。毎日21時過ぎに分泌量の上昇が見られた。

②メラトニン分泌上昇時刻の解析。

前述したとおり、各日における夜間のメラトニン最大値を100%とし、メラトニン量が20%以上に上昇した時刻をメラトニン上昇時刻と定義した。

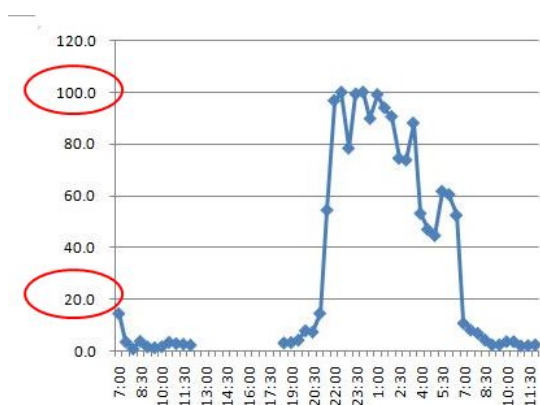


図2. 一日のメラトニン分泌量の推移。夜間のメラトニン最大値を100%としている。

麻酔開始日のメラトニン上昇時刻と実験終了日のメラトニン上昇時刻の解析をした。ケタミン麻酔を行なった場合、休眠期(昼間)に麻酔を行なった群ではメラトニン上昇時刻に差は認められなかったが、活動期(夜間)に麻酔をした群では平均30分メラトニン上

昇時刻が前方に変移することが分かった。以上より、ケタミン麻酔においては休眠期に麻酔をするよりも活動期に麻酔をする方がメラトニン分泌の日内リズムに対する影響が大きいことが示唆された。ペントバルビタールに関してはデータ不足のため実験を継続している。

我々の過去の研究において、ラット海馬アセチルコリン日内変動に対しては、休眠期のイソフルラン麻酔は影響が少ないが、活動期の麻酔は日内変動を大きく障害する結果となり、麻酔と睡眠の類似性が示唆された。今回の結果もラットの休眠期にあたる昼間のケタミン投与はメラトニン分泌時刻に影響がなく、これと矛盾しないものとなった。

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2件)

① Kikuchi T, Kamiya Y, Ohtsuka T, Miki T, Goto T, Randomized prospective study comparing the laryngeal tube suction II with the ProSeal laryngeal mask airway in anesthetized and paralyzed patients. *Anesthesiology*. 2008;109(1):54-60 査読あり

② Kamiya Y, Kikuchi T, Inagawa G, Miyazaki H, Miura M, Morita S, Goto T, Lidocaine Concentration in Cerebrospinal Fluid after Epidural Administration: A Comparison between Epidural and Combined Spinal-Epidural Anesthesia. *Anesthesiology*. 2009 ;110(5):1127-32 査読あり

[学会発表] (計1件)

Kamiya Y, Kikuchi T, Inagawa G, Miyazaki H, Goto T. Lidocaine concentration in cerebrospinal fluid after epidural administration: A comparison between epidural and combined spinal-epidural anesthesia. *Euroanesthesia* 2009, June 8, 2009, Milano, Italy

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊地 龍明 (KIKUCHI TATSUAKI)
横浜市立大学・附属病院・准教授
研究者番号: 70285138

(2) 研究分担者

伊奈川 岳 (INAGAWA GAKU)

横浜市立大学・医学研究科・客員准教授
研究者番号：60336584

(3) 連携研究者
なし

(4) 研究協力者
水原 敬洋 (MIHARA TAKAHIRO)
横浜市立大学・医学研究科・大学院生