

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09335

研究課題名(和文) 麻酔薬により脳内の概日時計複合体はどのように攪乱され、修正されるのか

研究課題名(英文) A study on the anesthetic disruption and fixing of the circadian oscillator complex in the brain

研究代表者

飯島 典生 (Iijima, Norio)

国際医療福祉大学・保健医療学部・教授

研究者番号：00285248

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)：全身麻酔による概日時計の攪乱からの回復に注目して、様々な時刻にPer2::dLucラットにsevoflurane麻酔をおこない、迅速にSCN切片を作成して概日リズムの進遅を検討した。どの時刻に麻酔しても概日リズムの有意な進遅は認められなかった。この結果はSCN自体に麻酔による攪乱を修正する機構が備わっていることを示している。一方でSCNとは別組織で安定した概日リズムを示す脈絡叢に関して同様の実験を行った。脈絡叢の概日リズムはsevoflurane麻酔により位相が後退し、その回復には数日を要した。以上よりSCNの概日時計は麻酔処理による攪乱からの回復において優れていることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全身麻酔は通常の睡眠のような充足感がなく、手術後に時差ぼけ・気分障害等が生じることが報告されてきた。我々は今までに本研究計画を含め、わが国で最も汎用されているsevofluraneが概日時計に影響すること示す報告を行ってきており、上記症状に関して概日時計の攪乱による可能性として説明できると考えている。全身麻酔による概日時計への影響の詳細を解明することは、概日リズム安定化による上記症状の予防へと繋がることを期待している。

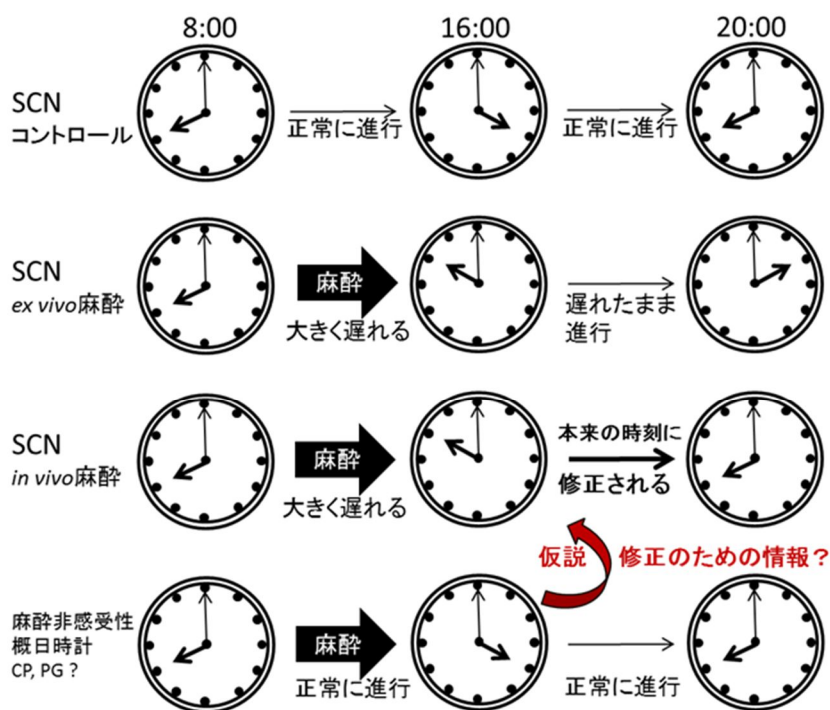
研究成果の概要(英文)：The recovery from the circadian disruption due to general anesthesia has been spotlighted in this study. The anesthetics were given to the Per2-dLuc transgenic rats at different times of the day followed by immediate sampling of the SCN in order to investigate advance and delay of the circadian rhythm. As a result, significant advance and delay were not found regardless of the time that the anesthetics were given. This result indicates that the SCN is capable of fixing the disruption caused by the anesthetics by itself. The comparative experiments were done on the choroid plexus which is responsible for circadian rhythms aside from the SCN. The circadian phases in the choroid plexus were significantly delayed due to the sevoflurane anesthesia, requiring several days to recover totally. From above, circadian clock in the SCN functions more efficiently in terms of recovery from the anesthetic disruption.

研究分野：神経科学

キーワード：概日時計 吸入麻酔 sevoflurane 視交叉上核 脈絡叢

1. 研究開始当初の背景

全身麻酔は発明されてから長年にわたって外科手術を支えてきた。現在に至るまでに、より安全に安定な麻酔に向けて研究が進められ、その成果が臨床現場に反映されてきた。しかし全身麻酔の作用メカニズムに関しては、まだ十分な理解が進んでいるとは言えない。特に遺伝子・タンパク質発現の視点からの解析は少ない。そのような状況の下、わが国で最も汎用されている吸入麻酔薬 sevoflurane による遺伝子発現変化に関する網羅解析により、脳で時計遺伝子 *Per2* 発現が低下することが報告された(Sakamoto et al. 2005)。この報告に端を発し、sevoflurane 暴露により概日リズムの中核である視交叉上核(suprachiasmatic nucleus: SCN)において、*Per2* 発現が可逆的に抑制されることが報告された (Ohe et al. 2011, Kadota et al. 2012, Anzai et al. 2014)。さらに *Per2* 発現抑制メカニズムとして転写因子 Clock が sevoflurane 暴露により *Per2* 転写調節領域への結合が低下することが報告された (Mori et al. 2015)。これらの報告は、sevoflurane が概日時計に影響すること示している。全身麻酔は通常の睡眠のような充足感がなく、手術後に時差ぼけ・気分障害等が生じることへの説明・予防へと繋がるのが期待される。し



実験で得られたSCN概日時計への麻酔の影響のまとめと、「麻酔に影響されない時計によって修正される」という我々の仮説

そのリズムに位相変化が生じる。一方、動物個体への sevoflurane 暴露 (*in vivo* 投与) では *Per2*mRNA 発現に抑制は生じても、その発現リズムに位相変化は起きない。以上から申請者は「脳内に麻酔薬の影響を受ける概日時計 SCN の他に“麻酔薬の影響を受けない概日時計”が存在して、麻酔から解除されると後者により SCN の時刻が修正されるのではないか」と仮説を立てた(下図)。これに関連して近年、マウスにおいて脈絡叢に強固な概日時計が存在することが報告され(Myung et al 2018)、我々もラット脈絡叢に安定した概日時計の存在を示した(Yamaguchi et al. 2020)。

2. 研究の目的

しかし、sevoflurane による概日リズムへの影響に関して上記の報告は矛盾をはらんでいた。SCN 培養組織に sevoflurane を暴露 (*ex vivo* 投与)することで、*Per2* 転写活性 (*Per2::dLuc* ラットにより検出)が可逆的に抑制されることに加えて

sevoflurane 暴露による概日リズムへの影響を解析することを端緒として、全身麻酔薬の作用を解明することを大きな目的としている。まずは概日リズムの攪乱・回復に関して上記の仮説の検討を行った。

3. 研究の方法

Per2::dLuc トランスジェニックラットを様々な時刻に sevoflurane 暴露(6時間)した後に、迅速に SCN 培養切片を作成して、ルシフェラーゼ発光リズムの位相を非麻酔処理ラットと比較した。また SCN に影響が期待される他組織として側脳室脈絡叢、第四脳室脈絡叢、松果体についても培養を行い、麻酔処置ラットと無処置ラット間での位相を比較した。

4. 研究成果

麻酔暴露の後に迅速に SCN 培養切片を調整しても無麻酔ラットとの間にルシフェラーゼ発光リズムの有意な位相差は認められなかった。同じ麻酔条件下で *Per2* mRNA 発現は抑制されるので、短時間で位相を変化させることなく *Per2* 転写活性が回復することを示している。この結果は当初想定した他の組織から修正情報を必要としないことを示している。また、この結果は *ex vivo* 投与により *Per2* 発現抑制とともに位相変化が起きるという結果と矛盾しているように見える (Anzai et al. 2014)。Anzai 報告では *ex vivo* 投与に際して sevoflurane を SCN 組織に間歇的に吹き付けるため、麻酔薬自体の効果の他に物理的な力も SCN 組織に与えられていることが位相変化の原因かもしれない。

側脳室脈絡叢、第四脳室脈絡叢、松果体からの組織培養は、sevoflurane 暴露時刻に依存してルシフェラーゼ発光リズムに位相変化が生じた。また麻酔後、数日間飼育してラットを回復させなければ、上記の組織からのルシフェラーゼ発光リズムは元の位相に回復しなかった。以上より SCN は麻酔による攪乱からの回復においても他の指揮期に比べて高い性能を持つことが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yamaguchi T, Hamada T, Matsuzaki T, Iijima N.	4. 巻 524
2. 論文標題 Characterization of the circadian oscillator in the choroid plexus of rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 497-501
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.01.125.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Takeshi Yamaguchi, Toshiyuki Hamada, Norio Iijima	4. 巻 eCollection
2. 論文標題 Differences in recovery processes of circadian oscillators in various tissues after sevoflurane treatment in vivo	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Rep .	6. 最初と最後の頁 eCollection
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrep.2022.101258.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山口剛史 浜田俊幸 飯島典生
2. 発表標題 吸入麻酔薬セボフルランによる脳内の概日リズムの夜間特異的な位相変化
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山口剛史 浜田俊幸 飯島典生
2. 発表標題 Effects of sevoflurane on Per2 expression were corrected with or without related tissues
3. 学会等名 第127回日本解剖学会全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山口剛史 浜田俊幸 飯島典生
2. 発表標題 Anesthetic effects on various clocks in the rat brain
3. 学会等名 第27回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山口剛史 浜田俊幸 飯島典生
2. 発表標題 Inhalation anesthetic sevoflurane induced phase-shift of circadian clocks in the brain specifically at night
3. 学会等名 第126回日本解剖学会全国学術集会 第98回日本生理学会大会 合同大会
4. 発表年 2020年

〔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
研究 分担者	浜田 俊幸 (Hamada Toshiyuki) (20360208)	国際医療福祉大学・薬学部・准教授 (32206)	
研究 分担者	山口 剛史 (Yamaguchi Takeshi) (50726510)	国際医療福祉大学・保健医療学部・助教 (32206)	

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
---------	---------