

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462327

研究課題名(和文) より良い全身麻酔からの覚醒を求めて-麻酔・睡眠科学からのERASへのアプローチ-

研究課題名(英文) Searching way of more gentle emergence from general anesthesia-An approach from anesthesiology and sleep to ERAS-

研究代表者

榑方 哲也 (Tetsuya, KUSHIKATA)

弘前大学・医学研究科・准教授

研究者番号：80250603

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：高齢化、手術適応の拡大に伴う症例数の増加、病態の多様化は著しいリスクの増大をもたらしている。入院日数の短縮、医療費削減などの社会的要請もますます強まっている。このような状況で麻酔科学が満たすべき要件は安全性、快適性、経済性である。本研究は睡眠科学との連携を基にグローバルな総合的な患者ケアを行う為の基礎的知見を提供し、将来の麻酔科学の更なる発展の一つの土台をなすものである。内因性の覚醒物質であるオレキシンを中心に全身麻酔薬と睡眠がいかなる関係にあるか検討した。その結果、オレキシンは中枢ノルアドレナリン活性と相関し、麻酔時間の維持、麻酔後睡眠障害、麻酔薬の鎮痛に関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recent social situation, aging society, required shortening of hospital stay, reduction of medical expense although aged patients always have potential risk for developing unpredicted complication at peri-operative period that would consume medical resources and expense. In consideration to this state of affairs, it should be expected that anesthesiology provide safety, amenity, and economic efficiency more and more. This research intended to find a basic perception for patient care based on the request mentioned above with relation to sleep science. An endogenous wake-promoting substance, orexin, plays crucial role in general anesthesia including anesthesia duration, post anesthetic sleep disturbance, and analgesia interacting with central noradrenergic neuronal activity.

研究分野：麻酔科学

キーワード：全身麻酔 睡眠 内因性覚醒物質 オレキシン ノルアドレナリン MCH 鎮痛 麻酔時間

### 1. 研究開始当初の背景

最近の麻酔機序の理論によると麻酔薬は個々のニューロンの活動を抑制する事で麻酔効果を示すよりも寧ろ脳の各領域(大脳皮質、視床下部、海馬、橋、脳幹)の機能的連携(Connectivity)を抑制する事(Disconnection)で麻酔効果を顕すと(1)。覚醒過程も機能的連携の復元が本態であるという。覚醒の様相が症例によって様々な所以である。従ってその過程で復元が十分でない(2)と精神的な混乱(譫妄)などが生じる。睡眠も機能的連携を緩やかに抑制する事が機序の一つと考えられる。従って麻酔によってDisconnectionが起こると麻酔後に、その反動で睡眠が抑制(障害)されることが予想される。睡眠の抑制は術後の経過に重大な悪影響を及ぼす。即ち、

1. 睡眠障害により免疫能が抑制される。これにより、感染症、がんの増悪の危険性が増す。
2. 睡眠障害により自律神経機能も障害される。特にレム睡眠障害は自律神経活動のアンバランスをもたらす、これによる虚血性脳血管、心疾患、気管支喘息など呼吸・循環系にまで多岐にわたる重篤な障害をもたらす。
3. 睡眠障害により高度脳機能も障害される。記憶障害、認知障害が生じSteinmetzらの報告によれば術後に認知障害を有する患者は1年以内の死亡率が高いという。

従来、術後3、4日目にこれらの合併症が起こるとされていたが近年は1、2日目の早期に見られることも有ると(3)いう。これは短時間作用性の麻酔薬の使用により回復過程が短縮された影響であろう。回復過程の短縮自体は歓迎すべきことである。しかし、その過程において上記のような合併症が以前と同じく起こるのであれば、安全性の面からは勿論、これら合併症の治療に要する医療資源のことを考えると医療経済面からも決して看過すべきではない問題である。これらのことを念頭におき、適切な中枢神経系の周術期管理の要諦は、麻酔によって生じたDisconnectionを自然なConnectivityに戻すことであろう。ただ速いだけでは不十分で、調和のとれた穏やかな回復が要求される。これにより上記の術後合併症を未然に予防でき、結果として患者の安全、医療経済にも資するところも大であろう。本研究の対象となるオレキシン(OX)、ニューロペプチドS(NPS)は内因性の有力な覚醒物質であり、申請者らはラットの麻酔時間を短縮させることを報告した。麻酔により内因性の睡眠・覚醒関連物質(OX、Melanin-Concentrating Hormone: MCH)の活性が影響されることも判明した。また、申請者らはヒトにおいてセボフルラン、プロポフォル-フェンタニル麻酔いずれからの覚醒時に血中OX濃度が有意に上昇することを報告した。このことは種を超えて内因性の睡眠・覚醒関連物質が麻酔の覚醒に関わっていることを示唆する。OX、NPSは記憶、抗不安作用を有しMK801によ

る精神症状を軽減させため術後の睡眠障害、認知障害を軽減しうるし、ケタミンの精神症状を軽減できる可能性がある。ケタミンは安全域が広く、強力な鎮痛作用を有するため癌性疼痛、創痛の治療に有用であるが特有の精神症状が難点である。本研究によりケタミンのように有用であるが難点もある薬剤が、更に患者の利益に沿うように適用できる方法が示唆されることも期待される。

OX、NPSともに脳内ノルアドレナリン(NA)神経活動を通じ生理作用を発現している。麻酔下に於けるこれらの関係を解明し活用することは、患者の内なる力を引き出すこと、即ち患者自身のポテンシャルを活用による周術期中枢神経機能の速やかで穏やかな回復を実現できよう。本研究は麻酔・睡眠科学からのERASへの試みを視野に入れた、グローバルで総合的患者ケアを行う為の基礎的知見を提供する研究である。

### 2. 研究の目的

高齢化、手術適応の拡大に伴う症例数の増加、病態の多様化は著しいリスクの増大をもたらしている。入院日数の短縮、医療費削減などの社会的要請もますます強まっている。このような状況で麻酔科学が満たすべき要件は安全性、快適性、経済性であろう。この相反する要素を調和させることが麻酔科学の研究に求められている。この為、周術期管理を適切に行うことで患者様の予後の改善に寄与する(ERAS)という考えが提唱されている。本研究は睡眠科学との連携を基にERASを視野に入れ、グローバルな総合的な患者ケアを行う為の基礎的知見を提供し、将来の麻酔科学の更なる発展の一つの土台をなすものである。

### 3. 研究の方法

各種全身麻酔薬の麻酔時間、麻酔後睡眠障害、鎮痛に対する内因性睡眠・覚醒関連物質ニューロペプチドS(NPS)、オレキシン(OX)の干渉効果を検証するため、申請者らはOX作動性神経が欠落する特性を有するOX遺伝子改変(Tg)ラットと野生型ラットを用いてin vivo、in vitro両面に渡り検討した。In vivoでは麻酔時間に与える影響、麻酔前・中・後の長期間(麻酔後5日間)の睡眠効果を各種麻酔薬とNPS、OXの相互作用を検討した。脳内ノルアドレナリン作動性神経との関連も検討する。OXは覚醒効果と共に鎮痛作用も有するが、OX作動性神経欠落が麻酔薬の鎮痛作用をも減弱しないか否か、上記のTgラット等を用いて検討した。In vitroでは各種全身麻酔薬が、上記の物質動態に如何なる影響をもたらすか、ラット脳の麻酔睡眠機序に関連する部位(大脳皮質、視床下部、海馬、橋)で検討する。これ等の研究で内因性睡眠・覚醒関連物質、NA、麻酔薬の相互作用を検証した。

#### 4. 研究成果

##### 麻酔時間の面からの検討

ケタミン (100mg/kg: 全身麻酔量) を腹腔内投与、正向反射を指標として麻酔時間を測定した。オレキシン作動性神経活性の低下した遺伝子改変ラット (TG ラット) と野生型 (WT ラット) の麻酔時間の差異も検討した。麻酔時間と NA 含量は相関関係が見られた。中枢 NA 神経活性、ケタミン麻酔時間は TG ラットで短縮傾向であった。麻酔時間に関して内因性覚醒物質であるではケタミン麻酔時間が延長すると予想されたが、実際の麻酔時間は WT ラットに比較して短縮した。この一見矛盾する結果の一因として、脳内ノルアドレナリン (NA) の含量が TG ラットで減少していることが考えられた。何故なら以前の我々の報告 (Kushikata T, et al) ではケタミンの麻酔時間は選択的に中枢のノルアドレナリン作動性神経を破壊したラットで短縮し、ケタミン麻酔時間と中枢 NA 神経活性が正の相関をしていたからである。今回の結果はこの報告と矛盾はなかった。実際、 $\alpha$ 2 アドレナリン受容体作動薬であるヨヒンピンを投与し NA 活性を亢進させるとケタミンの麻酔時間は WT ラット、TG ラット両者とも同一ラットの対照値に比べ有意に延長した。この結果は様々な異なる遺伝系においても中枢 NA 神経活性がケタミン麻酔時間に影響しうることを示唆しており、即ちケタミン麻酔時間における中枢 NA 神経活性の関与の普遍性をも示唆すると考えられる。

Kushikata T, Yoshida H, Kudo M, Kudo T, Kudo T, Hirota K. Role of coerulean noradrenergic neurones in general anaesthesia in rats. *Br J Anaesth.* 107:924-9, 2011, doi: 10.1093/bja/aer303.

##### 麻酔後睡眠障害の面からの検討

麻酔後の睡眠変化を内因性睡眠関連物質との関連において検討した。野生種の SD ラット (体重 300-350g) に対し、ケタミン (100mg/kg) またはプロポフォール (80mg/kg) を腹腔内投与し、麻酔前後の睡眠の変化を検討した。その結果、ケタミン群では麻酔後に睡眠が減少し、プロポフォール群では睡眠が増加した。また、ケタミン群では翌日以降睡眠が反跳的に増加した。これらの睡眠の変化は麻酔薬による OX (覚醒誘導物質) と Melanin-Concentrating Hormone (睡眠誘導物質) の脳内の変化と一致していた。オレキシン作動性神経の機能低下が麻酔後の睡眠障害に如何なる影響を及ぼすか検討した。麻酔後の睡眠変化を内因性睡眠関連物質との関連において検討した。オレキシン (OX) が欠落する特性を持つ OX 遺伝子改変 (TG) ラット (体重 300-450g) に対し、ケタミン (100mg/kg) を腹腔内投与し、麻酔前後の睡眠の変化を検討した。ケタミ

ンの麻酔時間は野生種に比較して短縮傾向にあった。ケタミン麻酔覚醒後は野生種と同様に行動上、また脳波所見上ともに覚醒状態が暫く続いた。通常ラットの1時間当たりの睡眠・覚醒の割合は明期では覚醒が35%、ノンレム睡眠が50%、レム睡眠が15%とされ、一方暗期では覚醒が55%、ノンレム睡眠が35%、レム睡眠が10%とされる。何れにしてもヒトと異なり1時間当たり覚醒もしくは睡眠が100%になるということは通常は見られない。ところがケタミン麻酔から覚醒後は上記のように覚醒状態が継続した。野生型ではケタミン麻酔覚醒後から再び脳波上ノンレム睡眠が観られるまでの時間 (ノンレム潜時) は  $174.5 \pm 26.4$  分、ケタミン麻酔覚醒後から再び脳波上レム睡眠が観られるまでの時間 (レム潜時) は  $243.4 \pm 110.0$  分であった。即ち通常の睡眠が再現するまで3時間近く覚醒状態が続いた。これは生理的状态では見られない現象である。また、プロポフォール麻酔覚醒後でも観察されなかった。OX 遺伝子改変 (TG) ラットではノンレム潜時は  $272.5 \pm 23.7$  分 ( $P < 0.0001$ )、レム潜時は  $388.7 \pm 70.7$  分 ( $P < 0.05$ ) と野生種に比較して更に延長した。この結果はケタミン麻酔が通常の睡眠を変調させ、オレキシンの欠落は更にこの変化を助長することを示唆している。オレキシンは内因性覚醒物質であるから TG ラットでは WT ラットと比較して早期にケタミン麻酔覚醒後の入眠が生じると予想されたが、結果は TG ラットで入眠潜時の有意な延長が観られた。この矛盾の解明には今後の研究が必要である。

##### 鎮痛の面からの検討

体重 500-600 (中年)g、300-350 (青年)g のオレキシン (OX) が欠落する特性を持つ OX 遺伝子改変 (TG) ラット及び、同腹の雄性野生種 (WT) ラットを対象とし、ケタミン (15mg/kg: 鎮痛量) を腹腔内投与、Hotplate test を施行した。両者で潜時の比較を投与後の area under curve 及び maximum possible effect: (post-pre/cut off time-pre)  $\times$  100 を定量、両者の反応差異を検討した。これらの個体は上記の実験終了後に、ラットを所定の方法に基づき断頭、摘出した脳から麻酔・鎮痛に関連した部位、即ち、大脳皮質、視床下部、海馬、脳幹を分別、OX、Melanin-Concentrating Hormone (MCH)、ノルアドレナリン (NA) 含量を ELISA で定量した。その結果、TG ラットは WT ラットに比べ、ケタミンの鎮痛作用が減弱した。OX は鎮痛作用を有するため、合理的である。OX 含量と鎮痛度との相関も認められた。

#### 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 8 件)

Jinushi K, Kushikata T, Kudo T, Calo G, Guerrini R, Hirota K. Central noradrenergic activity affects analgesic effect of Neuropeptide S. Journal of anesthesia. 査読有、2018、32、48-53、DOI: 10.1007/s00540-017-2427-y

Takekawa D, Kushikata T, Kitayama M, Hirota K. Anesthetic management of a patient with narcolepsy by combination of total intravenous and regional anesthesia: a case report. JA clinical reports. 査読有、2017、3、37、DOI: 10.1186/s40981-017-0107-4

Nikaido Y, Furukawa T, Shimoyama S, Yamada J, Migita K, Koga K, Kushikata T, Hirota K, Kanematsu T, Hirata M, Ueno S. Propofol Anesthesia Is Reduced in Phospholipase C-Related Inactive Protein Type-1 Knockout Mice. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 査読有、2017、361、367-74、DOI: 10.1124/jpet.116.239145  
Kushikata T, Sawada M, Niwa H, Kudo T, Kudo M, Tonosaki M, Hirota K.

Ketamine and propofol have opposite effects on postanesthetic sleep architecture in rats: relevance to the endogenous sleep-wakefulness substances orexin and melanin-concentrating hormone. Journal of anesthesia. 査読有、2016、30、437-43、DOI: 10.1007/s00540-016-2161-x

Murakami M, Ohba T, Kushikata T, Niwa H, Kurose A, Imaizumi T, Watanabe H, Yanagisawa, T, Nakaji S, Ono K, Hirota K. Involvement of the

orexin system in sympathetic nerve regulation. Biochemical and biophysical research communications. 査読有、2015、460、1076-81、DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.03.157

Shintaku T, Ohba T, Niwa H, Kushikata T, Hirota K, Ono K, Matsuzaki Y, Imaizumi T, Kuwasako K, Sawamura D, Murakami M. Effects of propofol on electrocardiogram measures in mice. Journal of pharmacological sciences. 査読有、2014、126、351-8、DOI: 10.1254/jphs.14181FP

Oishi M, Kushikata T, Niwa H, Yakoshi C, Ogasawara C, Calo G, Guerrini R, Hirota K. Endogenous neuropeptide S tone influences sleep-wake rhythm in rats. Neuroscience letters. 査読有 2014、581、94-7、DOI: 10.1016/j.neulet.2014.08.031

Murakami M, Niwa H, Kushikata T, Watanabe H, Hirota K, Ono K, et al. Inhalation anesthesia is preferable for recording rat cardiac function using an electrocardiogram. Biological & pharmaceutical bulletin. 査読有、2014、37、834-9、DOI:N/A

〔学会発表〕(計 14 件)

Hirota K, Takekawa D, Kushikata T, Kudo M" Orexinergic tone affects survival in sepsis in rats. BJA Research Forum Winter Meeting 2017 (レスター市、英国)平成 29 年 11 月 24 日 (2017)

外崎充、櫛方哲也、丹羽英智、斎藤淳一、竹川大貴、廣田和美 オレキシン遺伝子改変ラットのケタミン麻酔時間短縮は脳内ノルアドレナリン活性低下が一因である日本麻酔科学会第

64 回学術集会 (神戸)平成 29 年 6 月 9 日 (2017)

櫛方哲也 国際研究の架け橋 日本麻酔科学会第 64 回学術集会 (神戸)平成 29 年 6 月 9 日 (2017)

櫛方哲也 周術期の睡眠が術後のアウトカムと関係するか? 第 6 回奈良麻酔科シンポジウム (大阪)平成 28 年 7 月 29 日 (2016)

外崎充、櫛方哲也、丹羽英智、斎藤淳一、三木いづみ、廣田和美 内因性覚醒物質オレキシン欠損ラットではケタミンの麻酔時間が短縮した - オレキシン遺伝子改変ラット (OX/ATA3 TG rat) を用いた研究 - 第 11 回青森神経科学談話会(弘前)平成 28 年 7 月 2 日 (2016)

外崎充、櫛方哲也、丹羽英智、斎藤淳一、工藤隆司、廣田和美 ケタミンの麻酔・鎮痛機序におけるオレキシン作動性神経の関与は異なる。 - オレキシン遺伝子改変ラット (OX/ATA3 TG rat) を用いた研究 - 日本麻酔科学会第 63 回学術集会 (福岡)平成 28 年 5 月 27 日 (2016)

外崎充、櫛方哲也、西村雅之、遠瀬龍二、北山眞任、廣田和美 ケタミンは高齢ラットの麻酔後の睡眠を阻害する 日本麻酔科学会北海道・東北支部第 5 回学術集会 (弘前)平成 27 年 9 月 12 日 (2015)

地主継、櫛方哲也、大石将文、葛西俊範、廣田和美 ニューロペプチド S の鎮痛作用における NA 作動性下行性疼痛抑制系の関与 第 10 回青森神経科学談話会 (弘前)平成 27 年 6 月 27 日 (2015)

櫛方哲也 麻酔と自然睡眠 日本麻酔科学会第 62 回学術集会 (神戸)平成 27 年 05 月 28 日 (2015 年)

Kushikata T., Miki I., Tonosaki M., Niwa H., Saito J., Hirota K., Ketamine disturbs post anesthesia sleep in aged rat -relevance to brain Orexin contents? [MAC 2015] (ボン市 ドイツ共和国)平成 27 年 06 月 16 日 (2015)

Kushikata T., Hirota K., Niwa H., Saito J. Role of Brain noradrenergic neurons in Mechanism of Anaesthesia -A proposal focused on its relevance to endogenous sleep related substances-[MAA 9] (東京)平成 26 年 07 月 22 日 (2014)

地主継、葛西俊範、大石将文、工藤隆司、櫛方哲也、廣田和美 ニューロペプチド S の鎮痛作用は下行性抑制系が関与する 日本麻酔科学会第 61 回学術集会 (横浜)平成 26 年 5 月 15 日 (2014)

外崎 充、櫛方哲也、佐々木剛範、丹羽英智、廣田和美、工藤隆司 オレキシン作動性神経はケタミンの鎮痛作用に関与する - Transgenic Rat(OX/ATA3TG rat)を用いた研究 - 日本麻酔科学会第 61 回学術集会 (横浜)平成 26 年 5 月 15 日 (2014)

大石将文、櫛方哲也、丹羽英智、矢越ちひろ、小笠原ちひろ、廣田和美 内因性神経ペプチド Neuropeptide S は睡眠リズム形成に関与する - ラットにおけるアンタゴニストを用いた研究 - 日本麻酔科学会第 61 回学術集会 (横浜)平成 26 年 5 月 15 日 (2014)

〔図書〕(計 7 件)

櫛方哲也、総合医学社、麻酔科学レビュー 2017、総合医学社、2017、63

櫛方哲也、総合医学社、麻酔科学レビュー 2016、総合医学社、2016、68

櫛方哲也、総合医学社、麻酔科学レビュー 2015、総合医学社、2015、84

櫛方哲也 他、全静脈麻酔 PRK の実際、  
克誠堂、2015、145

Tetsuya Kushikata et al 、  
Neuroanesthesia and cerebrospinal  
protection、Springer、2015、653

櫛方哲也 他、神経麻酔 Q&A、総合医  
学社、2014、68

櫛方哲也、総合医学社、麻酔科学レヴ  
ュー2014、2014、86

研究者番号：

(4)研究協力者 ( )

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

櫛方哲也 (KUSHIKATA Tetsuya)  
弘前大学・大学院医学研究科麻酔科学講座・  
准教授  
研究者番号：80250603

### (2)研究分担者

廣田和美 (HIROTA Kazuyoshi)  
弘前大学・大学院医学研究科麻酔科学講座・  
教授  
研究者番号：20238413

丹羽英智 (NIWA Hidetomo)  
弘前大学・医学部附属病院麻酔科・講師  
研究者番号：20374845

### (3)連携研究者

( )