

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2008

課題番号：18591684

研究課題名 (和文) 新しい睡眠調節理論の全身麻酔機序解明への応用

研究課題名 (英文) The relationship between sleep and anesthesia as a clue to elucidate the mechanism of general anesthesia

研究代表者

吉田 仁 (YOSHIDA HITOSHI)

弘前大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00374843

研究成果の概要：全身麻酔機序の解明の一助として、睡眠との関連について検討した。全身麻酔中に大脳皮質内の睡眠活性物質が変化することが確認された。大脳皮質内の睡眠関連物質の片側上昇は睡眠中の脳波に左右違った変化をもたらす。全身麻酔中にも睡眠同様脳波左右差を起すかについては継続中である。また期間中、大脳皮質内片側のみに睡眠関連物質が増加していた可能性のある患者で全身麻酔中に脳波モニターである BIS モニターの左右差を確認した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	400,000	0	400,000
2007 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	900,000	4,300,000

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：脳・神経、全身麻酔、睡眠、脳波、内因性睡眠物質

## 1. 研究開始当初の背景

全身麻酔の意識状態の評価に全身麻酔薬による脳波の変化を定量化した Bispectral index (BIS) モニターが広く使用され始めていた。BIS モニターの使用は、医療安全および医療経済に貢献することが期待されていた。

BIS が重要視する脳波変化に高振幅徐波化があり、その詳細は不明な点が多かった。

自然睡眠は全身麻酔同様に高振幅徐波化を伴って意識を消失させる。代表的な全身麻酔薬のプロポフォールによる全身麻酔が断眠後の深い睡眠と同等の効果があることが報告さ

れていた。全身麻酔によって賦活されていると考えられていた睡眠調節の経路は、視床下部・中脳・橋を中心としたもので、睡眠を調節する液性因子である睡眠関連物質(GABA、カテコラミン、アセチルコリン、セロトニン、オレキシン、サイトカイン、神経成長因子等)の相互作用で、最終的な結果として大脳皮質を興奮または抑制すると考えられていた。

当時、睡眠学者のKruegerは、睡眠は必ずしも睡眠中枢であると予想されている視床下部から起こるものではないという新しい仮説を立てていた。これは、まず脳内の小さな神経グループが睡眠状態になり、さらに周囲の他の神経グループに影響することによって、最終的に脳全体の睡眠を作り出すという仮説であった。当時証明されていたことを睡眠関連物質であるTNF を例に概説する。脳室内または視床下部の視索前野にTNF を投与すると、ノンレム睡眠時間が増加し、かつノンレム睡眠中の脳波の高振幅徐波化が増強される。一方、左右対称の位置から導出した脳波を比較する実験系で一側の脳波電極直下の大脳皮質表面にTNF を投与すると、非投与側と比較して投与側ではノンレム睡眠時間は影響を受けないが脳波の高振幅がより増強される。この振幅の変化はノンレム睡眠中だけに見られるものである。また、TNF の拮抗物質であるsoluble TNF receptor 1 (TNFSR)を一側だけに前処置した後断眠させると、断眠後のノンレム睡眠中の脳波の振幅増加が抑えられる。このことから、大脳皮質TNF

レセプターはノンレム睡眠中の脳波の振幅増強に関係していると考えられた。TNF は大脳皮質内の局所の小さな神経グループを睡眠状態し、ある程度数の神経グループが睡眠状態になると脳波の活動の変化として捉えられるようになると予想された。

脳波の高振幅徐波化を定量化した BIS モニターの臨床麻酔における重要性和その問題に

対し、全身麻酔薬の脳波の振幅への影響を解明することが必要であり、上記の新しい睡眠調節の仮説にヒントがあると考えていた。申請者らは、全身麻酔薬の脳波の変化が視床下部・中脳・橋だけではなく大脳皮質内での睡眠関連物質の変化に関与していると予想している。Krueger らの新しい仮説の裏づけは当時発表されたばかりであり、睡眠科学の進歩と平行して本研究を行うことで、将来の全身麻酔の機序解明にもつながることを期待していた。

## 2. 研究の目的

全身麻酔の意識状態の変化の機序の解明には、睡眠と関連付けることを手がかりとしてきた。当初は睡眠中枢と考えられている視床下部との関連が注目されてきたが、睡眠科学の進歩により睡眠を起こす際の大脳皮質の積極的な役割が示唆されることから、全身麻酔での大脳皮質自体の活動を知ることは機序解明の一助となると考えられた。睡眠科学の研究成果、例えば、多くの睡眠関連物質の相互作用や申請代表者らの考案した睡眠中の脳波の左右差を観察する方法など、を全身麻酔の研究に応用することは、全身麻酔と睡眠関連物質との関連を明らかにする手がかりとなることを期待した。

## 3. 研究の方法

(1) 雄性SD系ラットに電極およびカニューレ留置をペントバルビタール麻酔下に行った。脳波電極を左右対称の位置に1本ずつスクリューでとめた。左右脳波電極の直下の硬膜と大脳皮質の間にガイドカニューレ先端が位置するよう固定した。恒温チャンバー内で電極をケーブルにつなぎ持続的に脳波を記録した。ラット1匹に対して脳波2誘導を記録した。周波数解析はリアルタイムで行い、

脳波と同時に記録された。睡眠関連物質として確立されているTNF (150ng)を使用した。TNF は暗期開始時に投与した。自然睡眠、全身麻酔中の脳波の左右差と睡眠関連物質との関係を検証した。

(2) 睡眠関連物質のノルアドレナリンと全身麻酔薬との関連について検討した。一部の全身麻酔薬は脳内のノルアドレナリンを上昇させることが知られている。ラットに亜酸化窒素を吸入させると大脳皮質、視床下部でのノルアドレナリンが濃度依存性に増加することが分かっている。この変化は大脳皮質のスライス標本でも見られる。さらに、細胞外カルシウムを除去した場合にも、亜酸化窒素は、程度は少ないがノルアドレナリンを有意に上昇させる。亜酸化窒素のノルアドレナリン上昇作用の機序の一つに、細胞内ストアからのカルシウムの放出を促し store-operated  $Ca^{2+}$  entry 生じる可能性が示唆される。これを考察する根拠の一つとして、同じスライス標本での実験系における  $10^{-3}M$  methacholine を使用した。Methacholine は細胞内イノシトール 3 燐酸による細胞内ストアからのカルシウムの放出を促進し上記のカルシウム流入を促す作用がある。

(3) 雄性 SD 系ラットをケタミン 100mg/kg を腹腔内投与した。断頭後に脳を取り出し、BIO-RAD 社製の Bio-Plex サスペンションアレイシステムによりそれぞれの部位のサイトカイン量を定量した。測定部位は、橋・視床下部・海馬・大脳皮質。測定ポイントは、ケタミン投与後 1 時間および 6 時間。またコントロールとして無麻酔下に断頭・試料採取・測定を行った。

#### 4 . 研究成果

(1) 今回、以前のタイムコースと違い暗期開始時を選んだ。しかし、TNF による脳波変化が確認できていない。この原因について現在も検討中である。

(2)  $10^{-3}M$  Methacholine により、亜酸化窒素同様に大脳皮質のスライス標本からのノルアドレナリンの上昇が確認された。ノルアドレナリン量 (mean $\pm$ SD , pg/tube) : 投与前 36.8 $\pm$ 10.6、投与後 127.3 $\pm$ 36.1 (p<0.001)

(3) 橋および視床下部に含まれる IL1 $\beta$  量が、コントロールに比べてケタミン投与 1 時間後および 6 時間後に多い可能性が示唆された。また、その他のサイトカイン(IL1 $\alpha$ 、IL2、IL4、IL6、IL10、GM-CSF、IFN- $\gamma$ 、TNF $\alpha$ ) 量への明確な影響は不明だった。

(4) その他

睡眠時の脳波の活動と大脳皮質の睡眠関連物質は、覚醒時の活動に依存する。覚醒時に片方の手を刺激し続けると、続いての睡眠時に、反対側の対応する部位から導出された脳波の活動が増加する。また、ラットのヒゲを片側だけ刺激し続けると、反対側の対応する大脳皮質の睡眠関連物質が増加する。臨床において、睡眠関連物質である炎症性サイトカインが局所で上昇する場合として、脳梗塞が予測される。我々は、片側脳梗塞患者の麻酔中、脳波モニターである BIS が健常側に対して梗塞側で低下することを発見した。脳波波形は左右対称に見えるが、周波数解析による徐波成分の増加が確認された。このことは、本研究で仮定している麻酔中の脳波変化が臨床でも起こりうる可能性を示唆している。

#### 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)

榑方哲也、吉田 仁、廣田和美(他3名、2番目) 麻酔と睡眠-第1部:睡眠に関する最近の知見-、麻酔、査読有、56巻、2007年、1047 - 1052

榑方哲也、吉田 仁、廣田和美(他3名、2番目) 麻酔と睡眠-第2部:麻酔と睡眠の関連について-、麻酔、査読有、56巻、2007年、1148 - 1154

[学会発表](計1件)

吉田 仁、榑方哲也、廣田和美(他3名、1番目) Preoperative cerebral infarction causes bispectral index asymmetry、International Anesthesia Research Society 2009 Annual Meeting、2009年3月16日、アメリカ合衆国サンディエゴ

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

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:

種類:

番号:

出願年月日:

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

吉田 仁(YOSHIDA HITOSHI)

弘前大学・医学部附属病院・助教

研究者番号:00374843

(2)研究分担者

榑方 哲也(KUSHIKATA TETSUYA)

弘前大学・医学部附属病院・講師

研究者番号:80250603

廣田 和美(HIROTA KAZUYOSHI)

弘前大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号:20238413

工藤 美穂子(KUDO MIHOKO)

弘前大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号:30003411

(3)連携研究者

( )

研究者番号: