

令和元年6月19日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07743

研究課題名(和文) 周術期のネコにおけるアミノ酸輸液を用いた新規低体温予防法の開発

研究課題名(英文) Study on attenuation of perioperative hypothermia by amino acid in cats

研究代表者

高島 諭 (Takashima, Satoshi)

岐阜大学・応用生物科学部・助教

研究者番号：70734664

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)：麻酔下の健康なネコにアミノ酸輸液すると、麻酔中の体温低下が軽減した。この際、血中インスリン濃度の上昇と骨格筋におけるAkt-mTOR経路の活性化が認められた。また、ネコ骨格筋細胞をアミノ酸で刺激すると、インスリン非依存性のシグナル伝達経路の活性化を認めた。これらのことから、全身麻酔時のネコへのアミノ酸輸液による体温低下軽減効果には、分泌促進されるインスリンとアミノ酸自身による代謝亢進が関係していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ネコは体重あたりの体表面積が大きく、放熱しやすいことから、全身麻酔時の体温維持に注意しなければならない。この研究では、アミノ酸輸液が、アミノ酸自体と分泌刺激するインスリンの両方の効果により、全身麻酔時の体温低下を軽減することを明らかにした。全身麻酔時の体温低下を軽減する目的でのアミノ酸輸液の実施は、血糖値の低下や催吐といった副作用はあるが、糖液や制吐薬の投与により対策できることから、ネコの臨床において有用な方法と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Amino acid infusion in cats attenuates the decrease in body temperature during anesthesia. By amino acid infusion, insulin secretion were increased and Akt-mTOR pathway in skeletal muscle were activated. And, in the feline skeletal muscle cells, amino acid induced insulin-independent activation of signal pathway. Therefore, in anesthetized cats, the effect of amino acid infusion attenuating the decrease in body temperature was related with enhanced metabolism by insulin and amino acids.

研究分野：獣医内科学

キーワード：アミノ酸 全身麻酔 ネコ インスリン 熱産生 骨格筋細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小動物臨床の現場において全身麻酔は、外科手術だけでなく、検査や簡易な処置にも日常的に用いられている。全身麻酔下の動物は、体温調節中枢が抑制され、さらに体の各部位における熱の産生と放散のバランスが崩れやすいことから低体温に陥りやすい。全身麻酔時の低体温は、外科手術においては出血量増加や術後感染の原因となり、外科処置を伴わない場合においても覚醒遅延の原因となることから、獣医療従事者は体温低下の防止に努めなければならない。特にネコは、体重あたりの体表面積が大きく、放熱しやすい体型であることから、全身麻酔時の低体温が顕著であることが知られている。

近年、全身麻酔時の低体温を予防する方法としてアミノ酸輸液が注目されており、その効果は、ヒト、げっ歯類、およびイヌで確認されている(図1)。全身麻酔下のラットを用いた報告や研究代表者らのイヌを用いた報告などでは、アミノ酸輸液後にインスリン分泌が刺激され、さらに骨格筋におけるタンパク質合成が促進されることを確認している。これらのことから、アミノ酸輸液された全身麻酔動物において認められる体温低下の予防効果には、アミノ酸による代謝亢進の副産物である熱産生が関係している可能性がある。

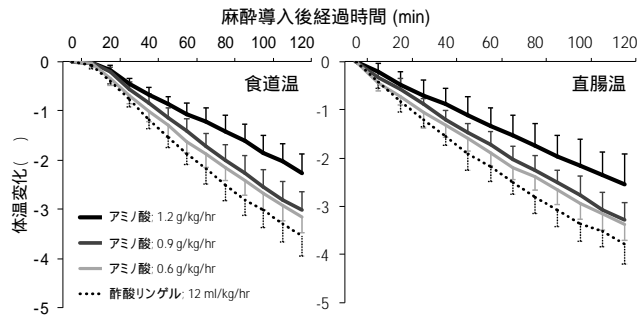


図1. イヌにおける総合アミノ酸製剤による中枢温の変化(文献)。アミノ酸輸液により麻酔導入後の体温低下が軽減する。

2. 研究の目的

これまでの研究から、全身麻酔時のネコにおいてもアミノ酸輸液が体温低下の予防に効果を示すと予想した。しかしながら、全身麻酔時のネコにおけるアミノ酸への反応性は明確ではなく、有効な輸液プロトコールも不明であった。また、ネコが主なエネルギー源をアミノ酸とする栄養学的な特性を持つことから、アミノ酸輸液を実施することによって起こる生理的な反応や副作用が他の動物と異なる可能性も懸念された。ネコへのアミノ酸輸液による熱産生には、これまでの他の動物の研究から、骨格筋における代謝亢進が関係すると予想した。そこで、本研究では、全身麻酔時のネコにおけるアミノ酸輸液の体温低下軽減効果を証明し、さらに骨格筋における熱産生メカニズムを解明することを目的に、臨床的に安全なアミノ酸輸液法の確立を目指した。

3. 研究の方法

(1) **アミノ酸輸液条件の最適化**: 正常なネコに総合アミノ酸輸液製剤を様々な条件(用量、時間)で輸液し、全身麻酔時の体温変化に与える影響を比較した。麻酔導入薬としてプロポフォール、麻酔維持薬としてイソフルランを用いた。麻酔導入後、継時的に中枢温(食道温および直腸温)、血圧、および心拍数を測定した。また、静脈血を採取し、血漿インスリンおよびグルコース濃度を測定した。また、アミノ酸輸液による副作用の発現についても確認した。得られた結果から、全身麻酔時のネコの低体温軽減に効果的なアミノ酸輸液のプロトコールを作成した。

(2) **アミノ酸輸液による熱産生メカニズムの解明**: ネコへのアミノ酸輸液による熱産生がどのようなメカニズムにより成立するのかを明らかにするために、骨格筋における熱産生にアミノ酸が与える影響を評価した。熱産生メカニズムとして、アミノ酸自身やアミノ酸に分泌刺激されるインスリンによって促進されるタンパク質合成を介した代謝亢進、およびアミノ酸によって合成促進される脱共役タンパク質(UPC)などの熱産生関連分子の関与を予想した。アミノ酸輸液を適用された全身麻酔中のネコから継時的に骨格筋(大腿四頭筋)を採取した。また、培養ネコ骨格筋細胞にアミノ酸を添加した後に細胞タンパク質を抽出した。それらについて、インスリン受容体下流のシグナル伝達分子である Akt, mTOR, 4E-BP1, p70^{s6k}, および GSK-3 リン酸化抗体を用いてウエスタンブロッティングを実施し、アミノ酸存在下の骨格筋におけるインスリン受容体シグナル伝達分子のリン酸化の程度を評価した。

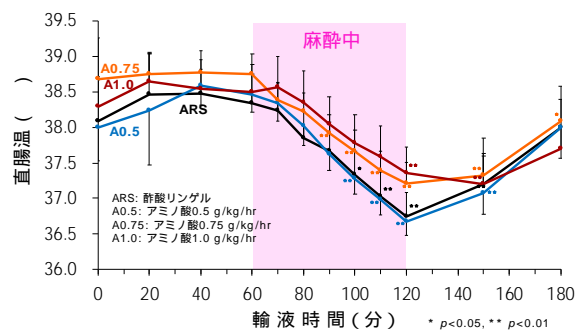


図2. ネコにおける総合アミノ酸製剤による体温の変化。アミノ酸輸液により麻酔導入後の体温低下が軽減する。

4. 研究成果

(1) **アミノ酸輸液条件の最適化**: 過去のイヌにおける報告を参考に、麻酔導入1時間前から麻酔終了時まで様々な用量で総

合アミノ酸製剤を輸液し、アミノ酸として 1 g/kg/hour の用量で全身麻酔時の体温低下を軽減できることを確認した(図 2)。また、アミノ酸輸液について、麻酔導入前 1 時間、麻酔中のみ、麻酔導入 1 時間前から麻酔終了までの 3 パターンの輸液プロトコルを試したところ、麻酔導入 1 時間前から麻酔終了時にかけて継続してアミノ酸輸液することで、最も高い体温低下軽減効果を得ることができた。アミノ酸輸液により用量依存性のインスリン分泌が認められたことから、ネコにおいても体温低下の軽減にインスリンが関与していると考えられた。ネコでも他の動物と同様に、全身麻酔時の体温低下をアミノ酸輸液の実施で軽減できたが、完全に予防することはできなかった。また、個体によっては、アミノ酸輸液の開始直後に嘔吐を呈する場合や麻酔中に軽度の低血糖を示す場合があった。これらは、臨床応用に向けた課題と思われたが、加温マットなどの他の体温低下防止法や、制吐薬および糖液の併用により克服できると考えられた。

(2) アミノ酸輸液による熱産生メカニズムの解明(図 3): 総合アミノ酸製剤を輸液されたネコ

の骨格筋では、Akt-mTOR 経路が活性化していた。培養ネコ骨格筋細胞をインスリンで刺激すると、細胞内シグナル伝達分子である Akt や mTOR のリン酸化亢進を認め、Akt-mTOR 経路が活性化していた。また、総合アミノ酸製剤で刺激すると、Akt のリン酸化は認められなかったが、mTOR、4EBP1 および P70^{S6K} のリン酸化を認めた。これらのことは、骨格筋がアミノ酸によりインスリン非介在性にシグナル伝達経路を活性化させることを示唆していた。アミノ酸輸液による全身麻酔時の体温低下軽減効果は、分泌刺激されるインスリンとアミノ酸自身の両方に促進されるタンパク質合成による代謝亢進の結果である熱産生により成立していると考えられた。アミノ酸が UPC などの熱産生関連分子の発現を直接刺激する可能性も考えられるが、この点については今後検討すべき課題である。

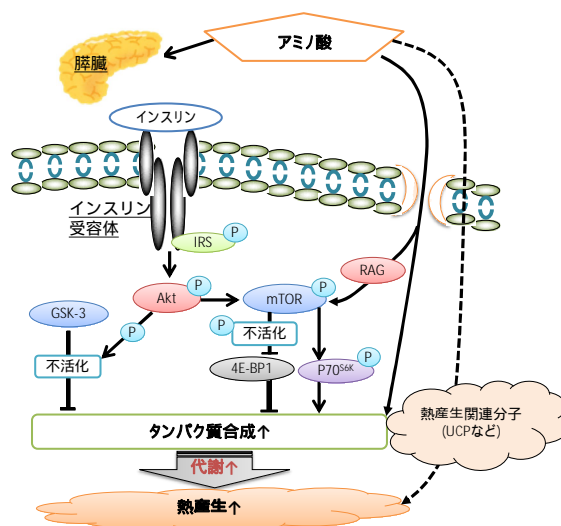


図 3. 予想される総合アミノ酸輸液による熱産生機構
アミノ酸がインスリン介在性および非介在性に熱産生を促進

以上の結果から、ネコにおける全身麻酔時の体温低下の軽減には、麻酔導入 1 時間前から麻酔終了までの 1 g/kg/hour 用量でのアミノ酸輸液が有効であり、この効果の発現にはインスリンとアミノ酸自身を介したタンパク質合成促進が関係していることが明らかとなった。

<引用文献>

Selliden E, Branstrom R, Brundin T. *Br J Anaesth.* 1996, 76: 227-234.
 Tsujinaka T, Sakaue M, Iijima S, et al. *Nutrition* 1996, 12: 36-39.
 Clark-Price SC, Dossin O, Ngwenyama TR, et al. *Vet Anaesth Analg* 2015,42: 299-303.
 Takashima S, Shibata S, Yamada K, et al. *Vet Anaesth Analg* 2016, 43: 379-387.
 Yamaoka I, Doi M, Nakayama M, et al. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006, 290: E882-888.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

下岡由佳、高島諭、菅井里子、傍島由布子、太田宣亨、西飯直仁、北川均、柴田早苗、全身麻酔中のネコにおけるアミノ酸輸液による体温低下の軽減、第 159 回日本獣医学会(2016 年、日本大学)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://www1.gifu-u.ac.jp/~naikahp/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：柴田 早苗

ローマ字氏名：(SHIBATA, Sanae)

所属研究機関名：岐阜大学

部局名：応用生物科学部

職名：准教授

研究者番号 (8 桁): 20588917

(2) 研究分担者

研究分担者氏名：西飯 直仁

ローマ字氏名：(NISHII, Naohito)

所属研究機関名：岐阜大学

部局名：応用生物科学部

職名：准教授

研究者番号 (8 桁): 20508478

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。