

【緒言】

吸入麻酔薬であるセボフルランによる全身麻酔は外科手術において頻用されているが、その作用機序は未だに解明されていない。我々の研究グループは先行研究において、概日リズムの制御中枢である視交叉上核（Suprachiasmatic nucleus: SCN）における時計遺伝子 *Per2* 発現への影響を指標に以下のセボフルランの作用を報告してきた。①セボフルランを投与されたマウス個体の SCN において、*Per2* 発現が可逆的に抑制される。②セボフルランは SCN 培養切片に直接作用し *Per2* 発現リズムの位相を変化させるが、腎臓などの末梢臓器では *Per2* 発現リズムの位相変化を誘起しない。上記の結果より、セボフルランによる *Per2* 発現抑制が可逆的かつ視交叉上核特異的であることを示しており、このセボフルランの効果は神経特異的な機構に作用することが示唆された。

今回、セボフルランによる視交叉上核の *Per2* 発現抑制効果の分子機構のさらなる検証をするために、以下の3つの観点から実験を行った。①視交叉上核を構成する神経細胞の分布は均一ではなく領域により異なる神経ペプチドを含む神経細胞が配置されるため、領域間のセボフルラン効果の違いを検証した。②セボフルラン投与時刻による効果の違いを検証した③セボフルランは、その作用点として GABA 受容体が提唱されているため、GABA_A, B 受容体の阻害がセボフルランの *Per2* 発現抑制効果に与える影響を検証した。

【方法】

mouse Per2 プロモーター制御下でルシフェラーゼを発現するトランスジェニックラットの SCN を含む脳スライス標本を作成し、高感度冷却 CCD カメラ付き顕微鏡システムによって発光の概日リズムをリアルタイムかつ定量的に7日間連続測定した。培養の過程で培養チャンバーへ2.2%セボフルランまたはコントロールとしての空気をそれぞれ灌流投与し、*Per2* 発現を反映する発光の概日リズムの位相の変化を検出することで、以下の3つの実験を行った。

〈実験1〉SCN 内の領域によるセボフルラン効果の違いの検証:SCN の撮影画像を背内側、背外側、腹内側、腹外側の4か所に分割し、それぞれセボフルラン下での発光の概日リズムの差を検証した。

〈実験2〉セボフルラン投与時刻による効果の違いの検証:SCN 培養切片へ06:00~14:00、14:00~22:00、22:00~06:00の異なる時間帯にセボフルランを投与し、各時間帯での発光の概日リズムの位相変化を検証した。

〈実験3〉GABA_A, B 受容体阻害薬存在下でのセボフルラン効果の検証:SCN 切片の培養液に GABA_A 受容体阻害薬 (bicuculline) のみ投与、GABA_B 受容体阻害薬 (saclofen) のみ

投与、また GABA_A受容体阻害薬と GABA_B受容体阻害薬両方を投与し、それぞれの培養条件でのセボフルランによる発光リズムへの影響を検証した。

【結果】

〈実験 1〉 SCN 内の 4 つの領域全てにおいて *Per2* の発現が抑制され、発光の概日リズムの位相が後退した。セボフルランの影響は各領域間での差は見られなかった。

〈実験 2〉 セボフルランの投与時刻が 06:00 ~ 14:00 では発光が抑制され発光リズムの位相の後退が認められ、投与時刻 14:00 ~ 22:00 でも発光が抑制されたが位相の前進が認められた。投与時刻 22:00 ~ 06:00 ではセボフルランによる抑制は見られず、位相の変化はなかった。

〈実験 3〉 GABA_A受容体阻害薬と GABA_B受容体阻害薬をそれぞれ単独で投与した場合、セボフルラン投与により位相は後退したが、GABA_A受容体阻害薬と GABA_B受容体阻害薬両方を投与すると、*Per2* 発現は抑制されず、位相の変化は見られなかった。

【考察】

本研究により、セボフルランによる *Per2* 発現抑制効果は、様々な神経細胞が局在する視交叉上核において領域による違いがないことから、セボフルランの効果は SCN 内の全ての領域に及ぶことが示唆された。

また、以前我々はセボフルランは *Per2* 転写にかかわる CLOCK のプロモーターへの結合活性を低下させるという報告をした。CLOCK による転写活性が様々な位相で阻害されることにより、*Per2* 遺伝子産物量が影響を受け、セボフルラン解除後、それに応じた位相からリズムが再開することにより、セボフルラン投与時刻により異なる位相の変化が引き起こされると推察される。

GABA 受容体阻害剤を用いた実験により、GABA 受容体がセボフルランの効果発現において重要な役割を果たしていることが考えられる。GABA 受容体と CLOCK の間には複雑なシグナル伝達経路が想定され、今後もさらなる検討が必要である。

本研究により麻酔の標的分子が解明できれば、麻酔後に生じる気分障害や睡眠覚醒障害などを解消し、より合併症の少ない安全な麻酔への重要な知見として大きく貢献できると思われる。