

## 論文審査の結果の要旨

### Characterization of sevoflurane effects on *Per2* expression using ex vivo bioluminescence imaging of the suprachiasmatic nucleus in transgenic rats

視交叉上核培養切片からの生物発光イメージングを用いた  
セボフルラン麻酔が時計遺伝子 *Per2* 発現に与える影響の分子機構に関する研究

日本医科大学大学院医学研究科 外科系疼痛制御麻酔科学分野  
大学院生 松尾 いづみ  
Neuroscience Research (2016 掲載予定)

代表的吸入麻酔薬であるセボフルランが、脳において概日時計の中核となる時計遺伝子である *Per2* 発現に影響すること、また、その発現抑制は可逆的で、概日リズムの中核である視交叉上核 (SCN) 特異的であることを先行研究で報告してきた。一方、セボフルランによる *Per2* 発現抑制の機序は不明である。申請者は、セボフルランによる *Per2* 発現抑制効果の分子機構を検証するため、①SCN の領域による効果の違い、②麻酔開始時刻依存性の有無、③セボフルランの作用点である GABA 受容体関与の有無について、SCN の培養切片を用いたリアルタイム発光計測システムにより検討を行った。

*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作製し、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変化を検出することで以下の 3 つの結果を得た。1) SCN 内の領域を背内側、背外側、腹内側、腹外側の 4 か所に分割しセボフルランの影響を検討したが、領域間での差を認めなかった。2) 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比較検討したところ、それぞれ発光リズム位相の後退、前進、不変を認めた。3) 培養液に GABA<sub>A</sub> 受容体阻害薬 (bicuculline)、GABA<sub>B</sub> 受容体阻害薬 (saclofen) をそれぞれ単独で投与すると、セボフルラン投与により位相は後退したが、両方投与すると、*Per2* 発現は抑制されず、位相の変化は見られなかった。以上の結果は、セボフルランによる *Per2* 発現抑制効果は、SCN 内の全ての領域に及ぶこと、セボフルラン投与開始時刻により異なる位相の変化が引き起こされること、また、その機序に GABA 受容体が重要な役割を果たすことを示唆した。

第二次審査においては、麻酔薬の違いによる相違、年齢による相違、神経系以外の組織における時計遺伝子発現変化、GABA 受容体の役割、先行研究結果との整合性、時計遺伝子発現変化と臨床的影響との関連、臨床応用への方向性等につき幅広い質疑が行われたが、いずれも適切な応答がなされた。

本研究は、セボフルランを用いた全身麻酔による時計遺伝子 *Per2* 発現抑制の分子機構における機序解明の一助となり、麻酔薬が生物時計に与える影響に関する研究を飛躍的に発展させた。また、臨床的にも時計遺伝子の変化が関連していると考えられる気分障害、術後せん妄など麻酔後合併症を回避し安全な麻酔を行うための重要な知見へと繋がる有意義な研究であるという結論がなされた。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。