

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791722

研究課題名(和文)アルツハイマー型認知症患者に対する麻酔薬の安全性の確立

研究課題名(英文)Establishment of safety anesthesia for Alzheimer's disease

研究代表者

太田 晴子(Ota, Haruko)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90534751

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー型認知症を代表とする高齢者の認知症は、わが国でも年々増加している。アルツハイマーの発症機序として、アミロイド(A β)の重合やTau蛋白質の異常リン酸化が知られている。A β 産生増加、A β の構造を変化させるGM1ガングリオシドの増加、A β 分解系の抑制などが指摘されている。

このような患者に麻酔を行うことも増えている。当該研究により、プロポフォールとバルビタールはGM1の発現を抑制することにより、神経細胞内のA β 重合を抑制し、細胞死を抑制することが明らかとなった。また、ケタミンとドロペリドールはA β を分解するネプリライシンの発現を抑制し、A β の蓄積を促進することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The dementia, e.g. Alzheimer' disease, in the elderly people is increasing in our country every year. As a pathogenic mechanism of Alzheimer' disease, polymerization of beta amyloid (Ab) and Hyper-phosphorylation of Tau protein are known. The increase in Ab production, the increase in GM1ganglioside which changes structure of Ab, control of Ab degradation system are pointed out as mechanisms of Ab accumulation. Anesthesia for such a patient is also increasing. This study demonstrated that propofol and a barbital decrease Ab polymerization in neurons by controlling revelation of GM1, and to control cell death. Moreover, ketamine and droperidol decreased the activity of neprilysin which decomposes Ab, and it became clear to promote accumulation of Ab.

研究分野：外科系臨床医学

科研費の分科・細目：麻酔科学

キーワード：アルツハイマー型認知症 麻酔薬 高次脳機能

1. 研究開始当初の背景

近年、アルツハイマー型認知症に代表される認知症の患者は年々増加しており、社会的な対応が求められている。アルツハイマー型認知症は、認知障害を主体とする進行性の疾患である。病理学的には大脳皮質における老人斑を認め、その成分はアミロイドベータ (A β) である。A β の蓄積が原因であるかどうかは明確ではないが、現在のところアミロイドカスケード仮説が疾患発症機序として支持されている。神経細胞膜に存在するアミロイド前駆体蛋白質から A β が生成され、何らかの異常により分解できなくなった A β

が重合し、神経細胞の機能に障害をきたすという仮説である。申請者の研究室と研究協力者の山本直樹氏の研究により、糖脂質のひとつである GM1 ガングリオシド (GM1) と結合した A β が核 (あるいは種) となって次々と A β が凝集していくことが明らかとなった (Yamamoto N et al. J Biol Chem 282: 2646-55, 2007, Yamamoto N et al. Biochim Biophys Acta 1778: 2717-26, 2008)。

一方、手術後の高次脳機能障害が 60 歳以上の非心臓手術後患者において 41.4% (Monk TG et al. Anesthesiology 108:18-30, 2008) と高率に発症することが報告され、入院期間の延長や予後にも大きく影響することが明らかとなってきている。しかしながら、認知障害などの高次脳機能障害を持つ患者に対する麻酔薬の影響は、十分には解明されていないのが現状であった。近年、培養細胞レベルではあるが、吸入麻酔薬が A β 凝集を促進するとの報告がなされているが (Zhen Y et al. Anesthesiology 111:741-52, 2009) 静脈麻酔薬については明確ではない。このように、アルツハイマー型認知症患者に対する麻酔薬の投与は、手術後の脳機能にどのように影響するかは明確ではなかった。

2. 研究の目的

本研究計画は様々な麻酔薬の GM1 発現や A β 凝集に与える影響を明らかにし、まずは細胞レベルにおける安全な麻酔薬を選択する。さらに、臨床において各種麻酔薬の使用による術後高次脳機能低下を評価し、アルツハイマー型認知症患者に対する安全な麻酔方法を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 培養神経細胞における GM1 発現への各種麻酔薬の影響

神経細胞膜における GM1 発現増加は A β 凝集を促進し、病態の進行に關与する可能性がある。GM1 の発現量は、抗 GM1 抗体を用いたウエスタンブロット法により定量した。神経細胞様モデル細胞 PC12 細胞を用いて、プロポフォルとチオペンタールを投与し、A β 凝集の核となる GM1 の発現量を確認した。同様に、培養ラット神経細胞においても同様の実験を行った。その他、ハロペリドール、ケタミン、セボフルランを用いて同様の検討を行った。なお、GABAA 受容体阻害薬等を用いて、麻酔薬の直接的効果であることを適宜確認した。

(2) *In vitro* における A β 凝集への各種麻酔薬の影響

試験管内において A β に GM1 を添加することにより A β 凝集が促進する *in vitro* モデルを用いた。A β の検出は、チオフラビン S を試験管内に混合し、A β 凝集によるチオフラビン S の蛍光強度の増強により行った。プロポフォル、チオペンタール、ハロペリドール、ケタミン等の各種麻酔薬の存在下に A β 凝集への影響を検討した。

(3) 培養神経細胞における A β 凝集への各種麻酔薬の影響

培養ラット神経細胞における A β 凝集に対する各種麻酔薬の影響を検討した。プロポフォル、チオペンタール、ハロペリドール、ケタミン等の存在下に培養し、A β 凝集を検討した。A β 凝集の検出は、チオフラビン S による染色により行った。

技術的にはすでに確立できており (Yamamoto

(4) A β 分解系への麻酔薬の影響

A β 分解酵素の活性低下も、アルツハイマー型認知症に重要であることが最近明らかとなっている。そこで、分解酵素であるネプリライシンとインスリン分解酵素の発現量をそれぞれの抗体を用いてウエスタンブロット法により定量した。プロポフォル、チオペンタール、ハロペリドール、ケタミン等の存在下にラットアストロサイトを培養し、測定した。

4. 研究成果

(1) 培養神経細胞における GM1 発現への各種麻酔薬の影響

GM1 の発現量は、抗 GM1 抗体を用いたウエスタンブロット法により定量した。神経細胞様モデル細胞 PC12 細胞および培養ラット神経細胞において、プロポフォル、チ

オペンタール、ミダゾラムを培養液に添加したところ、A 凝集の核となるGM1の発現量の抑制を確認することができた。これは、GABAA 受容体阻害薬等を用いて、麻酔薬の直接的効果であることを確認した。同様に、ハロペリドール、ケタミン、セボフルランを用いて同様の検討を行ったが、影響はなかった。

神経細胞膜におけるGM1発現増加はA凝集を促進し、病態の進行に関与する可能性がある。つまり、保護的な効果を持つ可能性が示唆される。また、GABAA 受容体阻害薬によりこれらの作用は遮断されたため、麻酔薬の直接的効果であると判断した。

吸入麻酔薬については、投与量の安定したシステムの構築が難しく、安定した結果を得ることが困難であった。今後の検討課題である。

(2) *In vitro* におけるA凝集への各種麻酔薬の影響

使用したのは *in vitro* モデルではあるが、プロポフォール、チオペンタール、ミダゾラムはA凝集を抑制した。機序は明確ではないが、実験した条件下では、プロポフォール、チオペンタール、ミダゾラムは、直接あるいは間接的にA凝集を抑制することから、アルツハイマー型認知症患者への使用は少なくとも病態を悪化させない、あるいは保護的な効果を持つ可能性がある。

吸入麻酔薬については、投与量の安定したシステムの構築が難しく、安定した結果を得ることが困難であった。今後の検討課題である。

(3) 培養神経細胞におけるA凝集への各種麻酔薬の影響

培養ラット神経細胞におけるA凝集に対する麻酔薬の影響を検討した。プロポフォール、チオペンタール、ミダゾラムはA凝集を抑制した。機序は明確ではないが、実験した条件下では、プロポフォール、チオペンタール、ミダゾラムは、直接あるいは間接的にA凝集を抑制することから、アルツハイマー型認知症患者への使用は少なくとも病態を悪化させない、あるいは保護的な効果を持つ可能性がある。

吸入麻酔薬については、投与量の安定したシステムの構築が難しく、安定した結果を得ることが困難であった。今後の検討課題である。

(4) A分解系への麻酔薬の影響

ケタミンとハロペリドールは、分解酵素であるネプリライシンの発現量を抑制することが明らかとなった。このことから、ケタミンとハロペリドールは、Aの分解を抑制する

ことにより、A蓄積を促進する可能性が明らかとなった。

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3件)

Ota H, Hikita T, Nishioka T, Matsumoto M, Ito J, Asai N, Enomoto A, Takahashi M, Kaibuchi K, Sobue K, Sawamoto K: Proteomic analysis of Girdin-interacting proteins in migrating new neurons in the postnatal mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 442(1-2): 16-21. 査読有

doi: 10.1016.

Hikita T, Ohno A, Sawada M, Ota H, Sawamoto K:

Rac1-mediated indentation of resting neurons promotes the chain migration of new neurons in the rostral migratory stream of post-natal mouse brain. *J Neurochem* 2014; 128(6): 790-7. 査読有

doi: 10.1111.

Wang Y, Kaneko N, Asai N, Enomoto A, Isotani-Sakakibara M, Kato T, Asai M, Murakumo Y, Ota H, Hikita T, Namba T, Kuroda K, Kaibuchi K, Ming GL, Song H, Sawamoto K, Takahashi M: Girdin is an intrinsic regulator of neuroblast chain migration in the rostral migratory stream of the postnatal brain. *J Neurosci* 2011; 31(22): 8109-22.

doi: 10.1523.

[学会発表](計4件)

太田晴子、加古英介、藤掛数馬、杉浦健之、村松愛、高ひとみ、小嶋大樹、藤田義人、澤本和延、祖父江和哉：低分子量Gタンパク質 Rho およびその制御因子による生後マウス脳のニューロン移動制御。第40回日本集中治療医学会学術集会(松本)2013年2月28日発表

太田晴子、匹田貴夫、浅井直也、榎本篤、貝淵弘三、高橋雅英、祖父江和哉、澤本和延：Rho 制御タンパク質 Gmip による生後マウス脳内を移動する新生ニューロンの速度調節。第35回日本神経科学大会(名古屋)2012年9月21日発表

祖父江和哉、山本直樹、太田晴子、前田純依、伊藤恭史、森島徹朗：ケタミンは

分解抑制によりアミロイドペータ蓄積を促進する - アルツハイマー型認知症患者に対する安全な麻酔薬の選択 - . 日本麻酔科学会第 59 回学術集会 (神戸) 2012 年 6 月 7 日発表

太田晴子、匹田貴夫、貝淵弘三、高橋雅英、祖父江和哉、澤本和延：プロテオミクスと in vivo RNAi 法を用いた生後マウス脳における新生ニューロン移動に關与する新規分子の探索 - 神経再生療法の確立にむけて - . 日本麻酔科学会第 58 回学術集会 (神戸) 2011 年 5 月 20 日発表

6 . 研究組織

(1)研究代表者

太田晴子 (OTA, Haruko)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：9 0 5 3 4 7 5 1