

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10541

研究課題名(和文) 認知症患者に対する安全な麻酔法と周術期の増悪予防法の確立

研究課題名(英文) Establishment of safe anesthesia methods for dementia patients

研究代表者

祖父江 和哉 (SOBUE, Kazuya)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：90264738

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)：近年、アルツハイマー型認知症(AD)などの認知症患者は増加している。ADに対する麻酔は、術後に認知機能悪化の可能性がある。ADの病理像は、アミロイド(A β)の凝集による老人斑と神経原線維変化(微小管凝集、Tau異常リン酸化)である。

本研究では、培養神経細胞とマウス脳において、プロポフォール、バルビタール、ミダゾラムはA β 集積への影響が少なく、一方でケタミン、ハロペリドールは促進する可能性がわかった。また、予防として、 α ₁受容体作動薬であるSKF10047やエピガロカテキンはA β 分解を促進することがわかった。本研究により、ADに対する安全な麻酔法や予防法の開発の手がかりとなる。

研究成果の概要(英文)：Recently, patients with dementia such as Alzheimer type dementia (AD) are increasing. Anesthesia against AD has a possibility of deteriorating cognitive function after surgery. The pathological future of AD is senile plaque due to aggregation of amyloid (A β) and neurofibrillary tangle (microtubule aggregation, Tau abnormal phosphorylation).

In this study, propofol, barbitol and midazolam showed little influence on accumulation of A β in cultured neurons and mouse brain, whereas ketamine and haloperidol could be promoted. In addition, as a preventive measure, SKF 10047 which is a α ₁ receptor agonist and epigallocatechin were found to promote A β degradation. This research provides a clue to the development of safe anesthesia and preventive measures against AD.

研究分野：麻酔科学

キーワード：アルツハイマー型認知症 麻酔

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 のオリゴマー蓄積が原因であるとされる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 が凝集し、神経細胞の機能に障害をきたすという仮説である。申請者の研究室と連携研究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ている(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、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る。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(Zhen Y et al. Anesthesiology 111:741-52, 2009)。申請者らは、吸入麻酔薬では神経細胞における A β 凝集促進、プロポフォールでは A β 凝集抑制の作用を確認している(Yamamoto N et al. Anesthesiology 118: 1408-16, 2013)。しかしながら、このようなアルツハイマー型認知症患者に対する麻酔薬の影響は、機序が十分に解明されていないため、周術期における認知症増悪を予防する方法も明らかではない。

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詳細に検討する。まずは細胞レベルにおける詳細な機序を明らかにし、その結果をもとに増悪を予防する方法を検討する。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と増悪を予防する方法を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

培養神経細胞における A β 凝集への各種麻酔薬の影響

申請者らは既にプロポフォールとチオペンタールが A β 凝集を促進することを明らかにしている(Yamamoto N et al. Anesthesiology 118: 1408-16, 2013)。そこで、その機序を詳細に研究する。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。予備的実験により、プロポフォールとチオペンタールは、神経細胞様モデル細胞 PC12 細胞において、A β 凝集の核となる GM1 の発現を低下させることを確認している。つまり、保護的な効果を持つ可能性が示唆される。そこで、培養ラット神経細胞においても同様の結果であることを確認する。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う。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する。また、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する。

培養アストロサイトにおける A β 分解系への各種麻酔薬の影響

産生された A β はアストロサイトに取り込まれ、ネプリライシンやインスリン分解酵素により分解され、脳外に排出される。予備実験により、ケタミンとハロペリドールがアストロサイトにおける A β 分解を抑制することが明らかとなっている。そこで、その機序を詳細に研究する。ネプリライシンやインスリン分解酵素の発現量に対するケタミンとハロペリドールの影響を調査する。発現量はウエスタンブロット法により定量する。また、アストロサイト内の蛋白質分解機構のオートファジーやリソソームへの麻酔薬の影響を LC3 や LAMP1 などの関連分子の発現変化で定量する。予備実験によれば、ハロペリドールが 1 受容体を阻害することで、A β の分解を抑制することがわかっており、より詳細に機序を解明する予定である。

高齢ラット及びアルツハイマー病モデルマウス脳における A β 凝集及び A β 分解系への各種麻酔薬の影響

と の結果をふまえ、比較的高齢のラットに各種麻酔薬を投与し、脳における GM1 発現の変化を確認する。GM1 の発現量の測定は、抗 GM1 抗体を用いたウエスタンブロット法と組織染色により検討する。また、A β 凝集への影響を、チオフラビン S による染色により行う。

同様に遺伝子改変マウスである SP2 マウスと Tg2576 マウスを交配することにより、2 ヶ月程度で老人班を形成するアルツハイマー型認知症モデルマウスを用いて、同じ検討を行う。

周術期の増悪予防法の開発と効果の確認
～ の結果をふまえ、A β 凝集を抑制

する方法を検討する。予備実験によればハロペリドールが α_1 受容体を阻害することで、A β の分解を抑制することがわかっているため、逆に α_1 受容体作動薬 (SKF10047) が A β の分解を促進する可能性がある。このモデルマウスを用いて SKF10047 の効果を確認する。高齢ラットへの吸入麻酔薬投与モデル (認知機能悪化) とアルツハイマー型認知症モデルマウスを用いて SKF10047 の病状進行抑制効果を組織学的に確認する。また、フルボキサミン (選択的セロトニン再取り込み阻害薬) は α_1 受容体作動薬であることが知られており、同様に動物モデルで効果があることを確認する。

高齢者における術後高次脳機能低下への各種麻酔薬の影響

最終的には、臨床において術前高次脳機能低下ヒト高齢者における術後高次脳機能への各種麻酔薬の影響を明らかにし、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。また、可能であれば、フルボキサミンによる術後高次脳機能障害の抑制効果を確認したい。

4. 研究成果

培養神経細胞における A β 凝集への各種麻酔薬の影響

アルツハイマー型認知症の発症あるいは悪化の機序として、神経細胞における A β の蓄積、A β の重合、A β の重合を促進する GM1 ガングリオシド (GM1) の増加、またアストロサイトにおける A β 分解の抑制に注目して研究を進めている。

培養神経細胞や PC12 細胞を用いた研究により、プロポフォール、ミダゾラム、バルピタールは、GM1 の発現を低下させ、A β の凝集を抑制することを確認した。つまり、これらの3薬剤はアルツハイマー型認知症の病態を少なくとも悪化させないと考えられる。

培養アストロサイトにおける A β 分解系への各種麻酔薬の影響

ケタミンはアストロサイト内のネプリライシンの発現を抑制し、A β の分解を抑制した。ハロペリドールは α_1 受容体 (α_1R) アンタゴニストであり、 α_1R を介して、アストロサイトにおける GM1 の分解を抑制し、細胞内の GM1 の蓄積を促進する。また、ハロペリドールは、オートファゴゾームが蓄積を誘導し、細胞膜上の GM1 を減少させ、アストロサイト内の GM1 を増加させることが明らかとなった。この作用は、 α_1R を介して ERK 経路が活性化されることが明らかとなった。さらに、アストロサイト膜上の GM1 の減少により、アストロサイ

ト内への A β の取り込みを抑制することがわかった。このことから、ハロペリドールによるアルツハイマー型認知症の悪化の可能性が示唆される。

高齢ラット及びアルツハイマー病モデルマウス脳における A β 凝集及び A β 分解系への各種麻酔薬の影響

高齢マウスにそれぞれの麻酔薬を投与したところ、プロポフォール、ミダゾラム、バルピタールによる GM1 発現抑制、ケタミンによるネプリライシンの発現低下を確認した。

遺伝子改変マウスである SP2 マウスと Tg2576 マウスを交配する事により、2ヶ月程度で老人班を形成するアルツハイマー型認知症モデルマウスの確立を試みたが、安定した病理像を得ることができておらず、他のモデルを検討していく予定である。

周術期の増悪予防法の開発と効果の確認

ハロペリドールが α_1 受容体を阻害することで、A β の分解を抑制することが確認できた。逆に α_1 受容体作動薬 (SKF10047) が A β の分解を促進する可能性があると考えた。実際、SKF10047 は、培養アストロサイトにおける GM1 ガングリオシド発現を増強し、A β のアストロサイトへの輸送を促進することが明らかとなった。

また、エピガロカテキンはアストロサイトからのネプリライシン分泌を促進し、細胞外に存在する A β の分解を促進することがわかった (下図)。

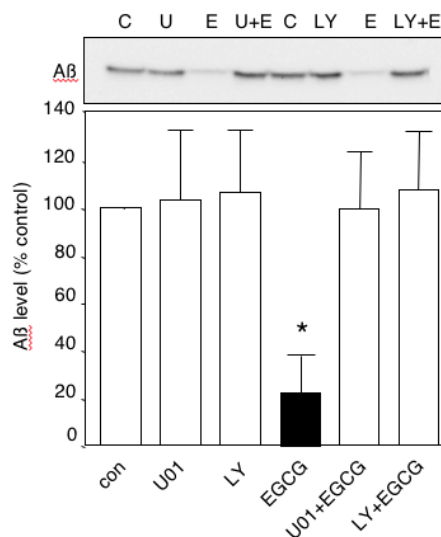


図 エピガロカテキンによる A β 分解促進作用

エピガロカテキンにより、アストロサイト細胞外へのネプリライシンの分泌が増加する。その結果、細胞外のアミロイドのレベルが低下する。

今後、高齢ラットへの吸入麻酔薬投与モデル (認知機能悪化) とアルツハイマー型

認知症モデルマウスを用いて、SKF10047 とエピガロカテキンの病状進行抑制効果を組織学的に確認する予定である。

高齢者における術後高次脳機能低下への各種麻酔薬の影響

今後、臨床において術前高次脳機能低下ヒト高齢者における術後高次脳機能への各種麻酔薬の影響を明らかにし、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。また、SKF10047 とエピガロカテキンの予防効果を確認していく予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

Kasahara R, Yamamoto N, Suzuki K, Sobue K.
The 1 receptor regulates accumulation of GM1 ganglioside-enriched autophagosomes in astrocytes. *Neuroscience*. 2017; 340: 176-187
doi:10.1016/j.neuroscience.2016.10.058.

Tamura T, Aoyama M, Ukai S, Kakita H, Sobue K, Asai K.
Neuroprotective erythropoietin attenuates microglial activation, including morphological changes, phagocytosis, and cytokine production. *Brain Res*. 2017; 1662: 65-74
doi: 10.1016/j.brainres.2017.02.023.

Yamamoto N, Shibata M, Ishikuro R, Tanida M, Taniguchi Y, Ikeda-Matsuo Y, Sobue K.
Epigallocatechin gallate induces extracellular degradation of amyloid β -protein by increasing neprilysin secretion from astrocytes through activation of ERK and PI3K pathways. *Neuroscience*. 2017; 362: 70-7
doi:10.1016/j.neuroscience.2017.08.030

Yamamoto N, Fujii Y, Kasahara R, Tanida M, Ohora K, Ono Y, Suzuki K, Sobue K.
Simvastatin and atorvastatin facilitates amyloid β -protein degradation in extracellular spaces by increasing neprilysin secretion from astrocytes through activation of MAPK/Erk1/2 pathways. *Glia*. 2016; 64: 952-62
doi:10.1002/glia.22974.

[学会発表](計7件)

山本 直樹、谷田 守、石黒 凌、祖父江 和哉。

インスリンによるアストロサイトのネプリライシンとインスリン分解酵素の発現調節の検討。

第36回日本認知症学会学術集会 2018年

山本 直樹、谷田 守、石黒 凌、祖父江 和哉。

培養アストロサイト発現ネプリライシンとインスリン分解酵素のインスリンによる発現調節の検討。

日本薬学会第138回年会 2017年

田村 哲也、藤掛 数馬、太田 晴子、平手博之、杉浦 健之、祖父江 和哉。

エリスロポエチンによるミクログリア活性抑制と脳保護効果。

日本麻酔科学会第63回学術集会 2016年

山本 直樹、有馬 一、祖父江 和哉。

ラゾダムによる AB 重合体形成の抑制検討。

日本薬学会第135年会 2015年

太田 晴子、祖父江 和哉。

脳内を移動する新生ニューロンの速度調節機構と神経再生療法への応用の可能性。

第19回日本神経麻酔集中治療学会 2015年

田村 哲也、太田 晴子、祖父江 和哉。

エリスロポエチンによるミクログリア細胞傷害性抑制効果。

第19回日本神経麻酔集中治療学会 2015年

藤掛 数馬、澤本 和延、祖父江 和哉。

新生ニューロン移動における Fyn の機能の解明 “新しい脳障害治療法の開発に向けて”。

日本麻酔科学会第62回学術集会 2015年

6. 研究組織

(1)研究代表者

祖父江 和哉 (SOBUE, Kazuya)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：90264738

(2)研究分担者

浅井 清文 (ASAI, Kiyofumi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：70212462

杉浦 健之 (SUGIURA, Takeshi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：20295611

(3)連携研究者

石井 文康 (ISHII, Fumiyasu)
日本福祉大学・健康科学部・教授
研究者番号：90515610

山本 直樹 (YAMAMOTO, Naoki)
北陸大学・薬学部・講師
研究者番号：90393157