

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：15101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15666

研究課題名(和文) 時計遺伝子の不均衡と病態との関連性と介入の可能性についての検討

研究課題名(英文) Is imbalance of perioperative central and peripheral clock gene in postoperative ill patients association with prognosis?

研究代表者

船木 一美 (Funaki, Kazumi)

鳥取大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30423263

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：臨床研究と細胞実験を行った。臨床研究では、予定手術かつ術後集中治療室で48時間以上の加療を行う患者で時計遺伝子群とせん妄との関連を主要転帰とした前向き観察研究を行った。せん妄発症群と非発症群との間で末梢時計遺伝子群に有意な違いを認めなかったが、どの患者も概日リズムは崩れていた。また、重症患者では組織の低酸素状態をなりやすいため、低酸素の概日リズムへの影響を細胞実験で確認した。培養A456細胞を1時間低酸素として時計遺伝子群への影響を調査したが、有意な影響を認めなかった。ただし、中枢の時計遺伝子群の評価として用いる予定のメラトニンの測定が途中などの残りの研究課題についても検討中である。

研究成果の概要(英文)：We conducted clinical research and cell experiments. In clinical studies, prospective observational studies with predictive surgery and association of clock gene group with delirium as the main outcome were performed in patients who undergo surgery for more than 48 hours in postoperative intensive care unit. There was no significant difference in the peripheral clock gene group between the onset of delirium and the onset of non delirium, but in all patients the circadian rhythm had collapsed. Also, in severe patients, the tissue tends to be hypoxic, so we confirmed the influence of hypoxia on circadian rhythm by cell experiment. We investigated the effects of cultured A456 cells on hypoxia for 1 hour on the peripheral clock gene group, but a significant effect was observed. However, we are also investigating the remaining research subjects, such as measurement of melatonin to be used as evaluation of the central clock gene group.

研究分野：集中治療

キーワード：時計遺伝子 せん妄 重症患者

1. 研究開始当初の背景

集中治療室 (ICU) で治療を受ける重症患者のせん妄は少なくない。せん妄と長期予後悪化の関連性や、せん妄の期間と長期予後の悪化との関連も報告され、せん妄対策は重要な課題となっている。一方で、せん妄は病態の重症度の一表現型でしかないとの意見もあり、せん妄の治療が長期予後を改善するのにかについては懐疑的意見もある。

せん妄は、日内リズムの異常と関連していると考えられている。日内リズムは視床交差で調節され、松果体からメラトニンが分泌される。実際、せん妄患者ではメラトニン分泌の異常がみられる。この視床交差の調節は時計遺伝子によって行われている (中枢時計遺伝子) が、他の臓器でも同様の遺伝子群が末梢時計遺伝子として発現している。そして、時計遺伝子は、睡眠障害、循環器疾患 (血管内皮障害など)、糖尿病などに関係していることが報告されており、敗血症モデルにおいては時計遺伝子の中枢と末梢の不均衡が炎症反応を悪化させることも報告されている。このことは、時計遺伝子の中枢と末梢の不均衡がせん妄を引き起こす可能性を示すだけでなく、せん妄と長期予後の悪化の真の原因かもしれないことを示している。そして、時計遺伝子の中枢と末梢の不均衡の有無を観察することで、重症患者の病態の重症度について客観的に評価できる可能性を示している。しかし、このことを ICU での加療を必要とする患者で検討した報告はない。

最近、せん妄に対する対策が述べられたガイドライン (JPAD ガイドライン、日本集中治療医学会作成) が発表されたが、せん妄自体が未だ十分に判明していないことと、有効なせん妄対策がほとんどないことが述べられているにすぎない。したがって、せん妄に対する治療に難渋しているのが現状である。

しかし、注目すべき報告として、ICU での加療を必要とするような重症患者に対する研究ではないが、重症睡眠時無呼吸症候群患者における末梢時計遺伝子を調べた研究では、日内変動が有意に影響を受けていたものの、この変化が CPAP 療法で正常化することが報告されている。このことは、時計遺伝子の概日リズムの崩れについて適切な治療的介入を加えることで是正できる可能性を示している。

2. 研究の目的

ICU での加療を必要とするような重症患者におけるせん妄の発症や急性腎傷害、心筋虚血、急性肺障害のような合併症や長期予後の悪化と時計遺伝子の間に関連性があることを示されたならば、適切な治療的介入によって正常化し、重症患者に対する治療法およびその評価法に大きな影響を与えることになる。

したがって、本研究の目的は、まず時計遺伝子の中枢と末梢の不均衡が術後のせん妄の発症や病態に関連性があるのかを調査す

る。また、この調査によっては時計遺伝子との関連性の有無だけに留まらず術後せん妄自体の新たな知見をもたらす可能性がある上に、有効な術後せん妄に対する介入方法も導き出す可能性もある。なぜなら、本研究によって、術後せん妄が発症しない症例や改善した症例、その改善の具体的な内容を解析することで、術後せん妄自体の解明やその対策に大きな手掛かりを与えるさまざまなデータが採取できるからである。また、術後せん妄に留まらず病態の重症度とも時計遺伝子が関連していることが証明されれば、このことについても有効な介入方法の開発に寄与する新しい観点からの評価法をもたらす可能性もある。

そこで、予定手術の術後に集中治療室での加療を必要とする患者において時計遺伝子の中枢と末梢の不均衡がせん妄を含む病態の重症度に及ぼす影響について、術前、術中、術後のいわゆる周術期において解明する。

また、重症患者の多くは、組織が虚血にさらされることが分かっており、培養細胞を用いて低酸素が末梢時計遺伝子に与える影響についても解明する。

3. 研究の方法

(1) 臨床研究

予定手術かつ術後に集中治療室で 48 時間以上の加療を必要とする患者を対象として、術前から術後に渡って、各種末梢時計遺伝子の mRNA の発現量、中枢時計遺伝子の評価とメラトニンおよび血中サイトカイン濃度などを測定した。そして、術後せん妄の発症や術後合併症などとの関連を検討した。

(2) 基礎実験

培養 A549 細胞を用いて、1 時間の低酸素 (酸素濃度 8%) が末梢時計遺伝子に与える影響を調検討した。

4. 研究成果

(1) 臨床研究

① 末梢時計遺伝子との関連性

各種の末梢時計遺伝子の mRNA の発現量と術後せん妄の発症との間に有意な関連性は確認できなかった。ただし、各種末梢時計遺伝子の mRNA 発現量について概日リズムが崩れている傾向になっていることを見出した。

② 中枢時計遺伝子との関連性

中枢時計遺伝子の評価には血中メラトニン濃度を用いたが、費用の関係から一部測定できておらず、今後も検討していく。

③ サイトカインとの関連性

血中サイトカイン濃度については、費用の関係から一部測定できておらず、今後も検討していく。

④ 時計遺伝子の中枢と末梢との不均衡の有無との関連性

中枢時計遺伝子の評価に使用する血

中メラトニン濃度の測定について、費用の関係から一部測定できておらず、今後も検討していく。

(2) 基礎実験

A549細胞への1時間の低酸素負荷では、末梢時計遺伝子のmRNAの発現量は有意な影響を受けなかった。このことは、8%程度かつ1時間程度の低酸素負荷では、末梢時計遺伝子が影響を受けない可能性が高いことを見出した。

<引用文献>

- ① Ely EW, Shintani A, Truman B, Speroff T, Gordon SM, Harrell FE Jr, Inouye SK, Bernard GR, Dittus RS. Delirium as a predictor of mortality in mechanically ventilated patients in the intensive care unit. *JAMA* 2004;291:1753-62
- ② Pisani MA, Kong SY, Kasl SV, Murphy TE, Araujo KL, Van Ness PH. Days of delirium are associated with 1-year mortality in an older intensive care unit population. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;180:1092-97
- ③ Yoshitaka S, Egi M, Morimatsu H, Kanazawa T, Toda Y, Morita K. Perioperative plasma melatonin concentration in postoperative critically ill patients: its association with delirium. *J Crit Care* 2013;28:236-42
- ④ Mazzoccoli G, Paziienza V, Vinciguerra M. Clock genes and clock-controlled genes in the regulation of metabolic rhythms. *Chronobiol Int* 2012;29:227-51
- ⑤ Oyama Y, Iwasaka H, Koga H, Shingu C, Matsumoto S, Noguchi T. Uncoupling of peripheral and master clock gene rhythms by reversed feeding leads to an exacerbated inflammatory response after polymicrobial sepsis in mice. *Shock* 2014;41:214-21
- ⑥ Burioka N, Koyanagi S, Fukuoka Y, Okazaki F, Fujioka T, Kusunose N, Endo M, Suyama H, Chikumi H, Ohdo S, Shimizu E. Influence of intermittent hypoxia on the signal transduction pathways to inflammatory response and circadian clock regulation. *Life Sci* 2009;85:372-8.

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 0件)

[学会発表] (計 8件)

- ① 仲宗根 正人、湊 弘之、倉敷 達之、船木 一美、南 ゆかり、稲垣 喜三 多科連携により良好な臨床経過に至った細菌性髄膜炎の一例 第45回日本集中治療医学会学術集会(千葉市) 2018/2/21~23
- ② 仲宗根 正人、船木 一美、山本 章裕、湊 弘之、持田 晋輔、南 ゆかり、稲垣 喜三 急性期の経皮的心肺補助装置から体外式左心補助装置への切り替えが奏功した劇症型心筋炎の一例 日本集中治療医学会第2回中国四国支部学術集会(岡山市) 2018/1/27
- ③ 仲宗根 正人、船木 一美、青木 亜紀、大槻 明広、稲垣 喜三 高度気管狭窄を呈した縦隔原発悪性リンパ腫の一症例 日本小児麻酔学会第23回大会(福岡市) 2017/10/7~8
- ④ 船木 一美、湊 弘之、森山 直樹、倉敷 達之、稲垣 喜三 植込み型LVAD装着術の術後に麻痺性イレウスとなり、感染症を合併した一例 日本心臓血管麻酔学会第22回学術大会(下野市) 2017/9/16~18
- ⑤ 湊 弘之、船木 一美、森山 直樹、倉敷 達之、稲垣 喜三 経カテーテル大動脈弁置換術(TAVR)後の心停止で冠動脈閉塞が判明した1例 日本心臓血管麻酔学会第22回学術大会(下野市) 2017/9/16~18
- ⑥ 湊 弘之、門永 萌、菅澤 萌、森山 直樹、船木 一美、稲垣 喜三 経カテーテル大動脈弁置換術(TAVR)施行中に急性僧帽弁逆流を生じ循環動態の破綻をきたした1例 日本麻酔科学会中国・四国支部第54回学術集会(徳島市) 2017/9/2
- ⑦ 船木 一美、倉敷 達之、湊 弘之、北川 良憲、持田 晋輔、南 ゆかり、稲垣 喜三 肺機能の低下した皮膚筋炎患者の難治性気胸に対する手術をVV-ECMOの補助下に行った一例 第44回日本集中治療医学会学術集会(札幌市) 2017/3/9~11
- ⑧ 山本 章裕、船木 一美、持田 晋輔、仲宗根 正人、森山 直樹、南 ゆかり、稲垣 喜三 早期に細菌性腹膜炎による敗血症を拾い上げることができた術後胃体部癌の一例 日本集中治療医学会第1回中国四国支部学術集会(高松市) 2017/2/18

[図書] (計 1件)

- ① 船木 一美 他、総合医学社、2018、344

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

船木 一美 (FUNAKI, Kazumi)

鳥取大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30423263