

令和 3 年 4 月 29 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H04319

研究課題名(和文)術後譫妄・認知機能低下および敗血症性譫妄の発症機序解明と予防法の開発

研究課題名(英文) Investigation of mechanism of pathogenesis of postoperative and sepsis-associated delirium and cognitive dysfunction and development of the prophylaxis.

研究代表者

廣田 和美 (HIROTA, KAZUYOSHI)

弘前大学・医学研究科・教授

研究者番号：20238413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：・高齢敗血症ラットは有意な物体認知能低下を示した。加齢とLPS投与とともに海馬、大脳皮質LCN2濃度を上昇させた。Fe²⁺/Fe³⁺値は、高齢敗血症ラットの皮質と海馬で上昇した。認知機能低下は鉄キレート剤(DFX)前投与によって性正常化した。また、大脳皮質及び海馬のFe²⁺/Fe³⁺値の増加はDFXで抑制された。

・頭頸部・食道癌根治術患者の血中炎症性マーカーは侵襲により有意に増加したが、譫妄群(22名)と非譫妄群(51名)で有意差はなかった。脳波 波パワー密度と相対的 波は、時間経過とともに減少した。譫妄群では麻酔導入直後から非譫妄群に比べ、 波パワー密度、相対的 波が有意に低値だった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

基礎研究では、高齢敗血症ラットでの認知機能低下に鉄代謝が関与していることが分かり、鉄キレート剤で改善したことから、新たな創薬に結び付く可能性がある。臨床研究では、脳波の 波に麻酔導入直後から、術後譫妄が生じた患者では生じなかった患者より有意に 波パワー密度、相対的 波が低く、脳波により術後譫妄を予測でき、早めに介入することで譫妄を抑制できる可能性がある。また、譫妄患者も非譫妄患者も、全身炎症の程度は同様であり、炎症だけでは譫妄は生じないことが分かった。

研究成果の概要(英文)：Animal study: Lipopolysaccharide (LPS)-treated aged rats displayed a decreased object discrimination index, elevation of lipocalin-2 (LCN2) levels and ferrous ion levels in the hippocampus and the cortex. Pretreatment with the iron chelator deferoxamine (DFO) prevented the reduction in the object discrimination index of LPS-treated aged rats. The elevation in hippocampal and cortical LCN2 levels caused by LPS was not influenced by DFO pretreatment. The LPS-induced ferrous ion level elevation was blocked by DFO pretreatment.

Clinical Study: Plasma inflammatory markers significantly increased during radical cancer surgery in patients with esophageal or oral floor cancer. However, there was significant differences in plasma inflammatory biomarkers between patients with or without postoperative delirium (POD). Both density and ratio of 波 power were significantly higher in non-POD patients than POD patients.

研究分野：麻酔科学

キーワード：譫妄 認知機能 手術侵襲 敗血症 高齢者

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本は高齢化社会を迎え、認知症患者の急増という問題と同時に、高齢者の術後譫妄(POD)は大きな問題である。また、集中治療部(ICU)での譫妄も、高齢者の入室増加に伴い増えている。譫妄は治療の妨げになる他、ICU 滞在期間を延長させる。そして、これら譫妄は認知症へと移行することもあり、積極的な治療が必要である。POD は、環境因子、アルコール多飲、使用薬剤、貧血なども危険因子として挙げられるが、手術侵襲も大きな要因となっている。また、ICU での譫妄は、全身性炎症反応症候群(SIRS)患者や敗血症患者で生じやすい。これらから考えられるのは、加齢に伴う神経変化に強い炎症が加わると POD や ICU 譫妄が生じやすくなるということである。しかしすべての高齢者が譫妄状態になるわけではない。よって、炎症と譫妄の関係を探ることで、どのような患者で譫妄が起こりやすいのかが分かれば、事前に介入できるため予後改善にも影響すると思われる。また、動物実験から機序を解明することで、それに基づく予防法や治療法の開発も可能となる可能性が高い。

2. 研究の目的

高齢者に好発する POD および敗血症性せん妄に伴う認知機能障害について、加齢と神経炎症が関与すると想定し、基礎研究では、高齢敗血症モデル動物および高齢術後モデル動物を用いて認知機能低下の原因となる因子と予防的治療法の探索を行う。また、臨床研究では、術後に全身炎症を生じる咽頭癌、口腔底癌、食道癌根治術後患者を対象として、POD 発症患者と POD 非発症患者で2群に分け、血中炎症性バイオマーカー、脳波解析データを比較することで、早期 POD 予測法の開発を行う。

3. 研究の方法

1) 基礎研究

(1)敗血症モデルラットの認知機能評価および脳内リポカリン-2 (LCN2)、Tumor Necrosis Factor- α (TNF α)、鉄イオンの濃度測定

敗血症毒素である Lipopolysaccharide (LPS) 1 mg/kg i.p)投与によって、高齢敗血症モデルラット及び若齢敗血症モデルラットを作製し、LPS 投与 48 時間後に各敗血症モデルラットと無処置のコントロールラットの認知機能を新規物体認知試験によって評価した。その後、脳をサンプリングし、LCN2、TNF α 、鉄イオン濃度を ELISA 及び比色法によって測定した。

(2)敗血症性認知機能異常に対する鉄キレート剤予防効果の検討

LPS 投与高齢個体の敗血症性認知機能異常と鉄イオン代謝異常に対して鉄キレート剤 Deferoxamine (DFX, 100 mg/kg i.p.)の前投与が予防効果を示すか検証した。

(3)高齢術後モデルマウスの空間認知機能評価およびプロテオミクス解析

高齢マウスに対してイソフルラン麻酔下で 10 分間の開腹手術と 2 時間の全身麻酔維持を行い、術後 48 時間の行動様式や空間認知機能を評価した。その後、海馬タンパク質を抽出し、SWATH-MS 法によるプロテオミクス解析と Ingenuity Pathway Analysis (IPA)によるパスウェイ解析を行った。また、電気生理学的に海馬 CA1 領域の Long-term potentiation (LTP)を測定した。

2) 臨床研究

(1) 高侵襲手術後患者での術後譫妄、血中炎症マーカー濃度と脳波の関係

対象は、ICU に入室する咽頭癌、口腔底癌、食道癌根治術後患者とし、術中から BIS モニターを用いて脳波パワー密度解析を行なった。麻酔法は、プロポフォール、レミフェンタニル、ロクロニウムによる全静脈麻酔法を用いた。また、動脈圧ラインから麻酔導入直後、9 時間後、21 時間後に動脈血採血を行い、血中 CRP、プロカルシトニン(PCT)、プレセプシン (PSP)、LCN2 等の炎症性マーカー、白血球のリンパ球と好中球の比も測定した。POD の評価は、Intensive Care Delirium Screening Checklist (ICDSC)を用いて、CDSC>4 点で、POD と判断した。

4. 研究成果

1) 基礎研究

(1) 敗血症モデルラットの認知機能評価および脳内 LCN)、TNF α 、鉄イオンの濃度測定

新規物体認知試験の結果、高齢敗血症モデルラットは高齢コントロールラットと比較して有意に低い物体認知能を示した(図 1)。

若齢敗血症モデルラットは物体認知能の低下を示さなかった。脳内 LCN2 濃度を測定した結果、加齢と LPS 投与がそれぞれ LCN2 濃度を上昇させる要因となることを確認した。認知機能に関与する海馬及び大脳皮質の TNF α 濃度に有意な変化は認められなかった。2 価及び 3 価の鉄イオン存在比を解析した結果、高齢敗血症モデルラットにおいて皮質と海馬の 2 価鉄イオン存在比の上昇を認めた。

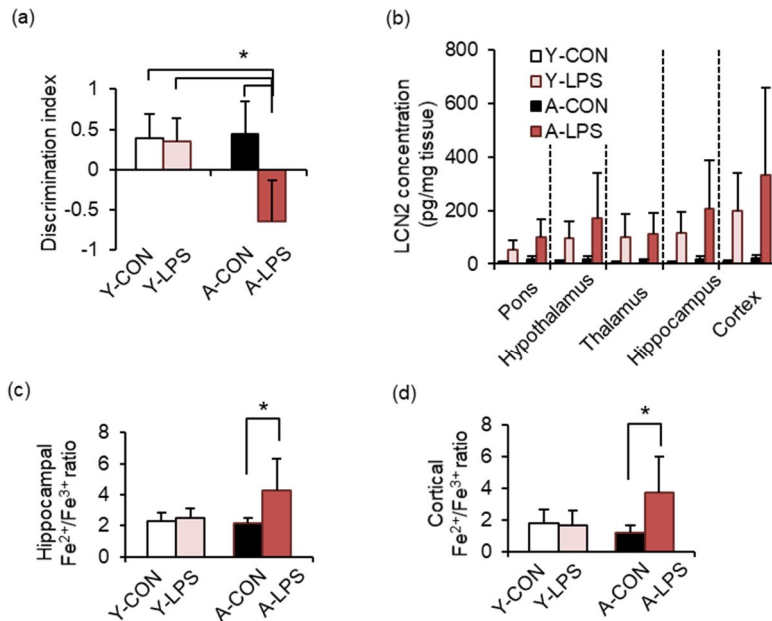


図1. 高齢敗血症モデルラットにおける物体認知能低下とLCN2濃度上昇、鉄イオン比の異常 *P < 0.05.

(2) 敗血症性認知機能異常に対する鉄キレート剤予防効果の検討
 DFX 前投与によって高齢敗血症モデルラットの物体認知能はコントロールラットと同レベルに維持された(図 2)。

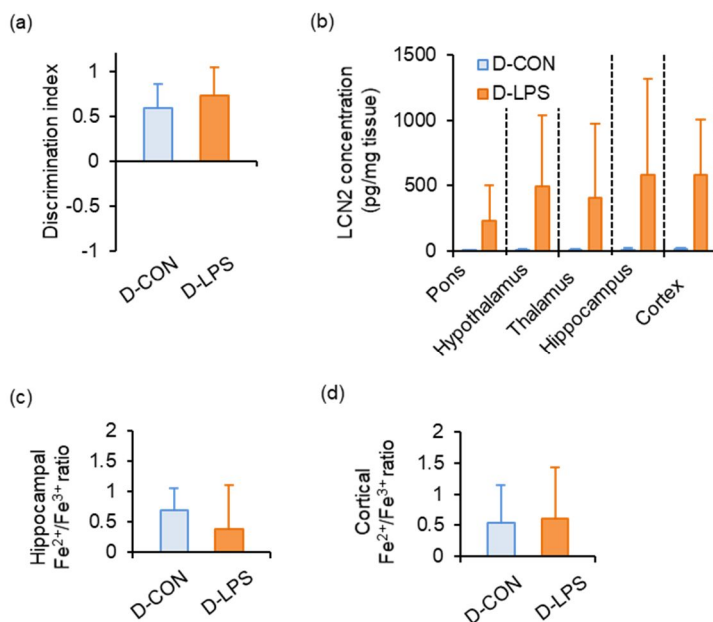


図2. Deferoxamine前投与は高齢敗血症モデルラットの物体認知能低下と鉄イオン比異常を抑制する

脳内 LCN2 濃度は DFX 前投与の影響を受けず、LPS 投与によって上昇した。TNF α の濃度変化は認められなかった。

これらの結果から、高齢敗血症モデルラットの認知機能障害に鉄代謝異常が関与していることが示唆された。また、敗血症性の認知機能障害に対して鉄キレート剤処置が予防的に有効である可能性が示された(論文投稿準備中)。

本研究では LPS 投与 48 時間後に TNF α で表される神経炎症は収束している一方で、LCN2 濃度は高値を保っており、DFX 前投与を行った高齢敗血症モデルラットでもその結果は変わらなかった。LCN2 は神経炎症及び神経保護のほか、鉄輸送にも関与しており、認知機能異常における LCN2 と鉄代謝、神経保護作用の関係についてはさらに研究を進める必要がある。

(3) 高齢術後モデルマウスの空間認知機能評価およびプロテオミクス解析
 高齢術後マウスは術後 24~36 時間において飼育ケージ内での行動量の低下、過眠傾向を示した(図 3)。

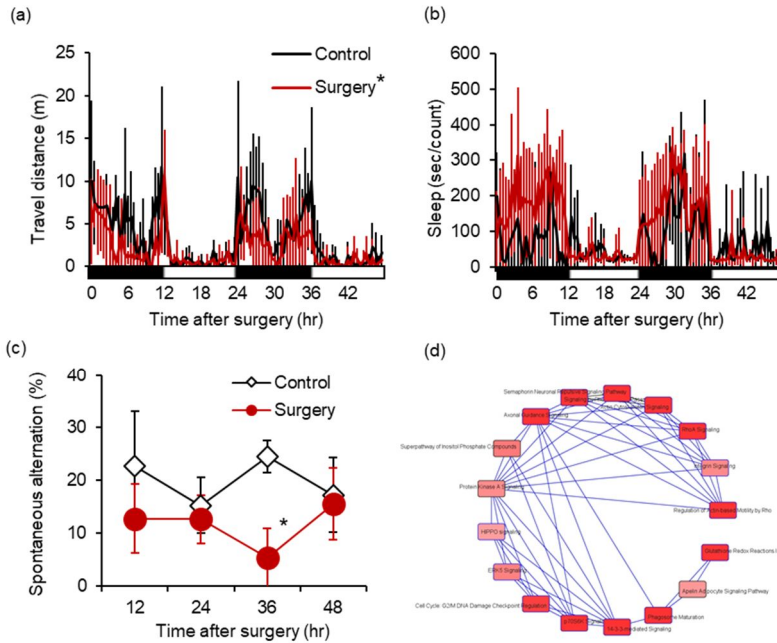


図3. 高齢術後モデルマウスは行動量低下と過睡眠傾向、空間認知能低下を示す。細胞内シグナル伝達やミトコンドリア機能に関わる経路が関与する。* $P < 0.05$ 。

術後 36 時間目では Y-maze test において自発的交替運動の低下を示しており、空間認知能が障害されていた。海馬サンプルからプロテオミクス解析・IPA パスウェイ解析を行った結果、細胞内シグナル伝達やミトコンドリア機能に関わるタンパク質がエンリッチされ、術後の空間認知能低下にシグナル伝達やミトコンドリア機能の異常に関わる可能性が示唆された。さらに、IPA 上流解析を行うと神経変性疾患関連タンパク質群が候補に挙がり、術後せん妄の発症に神経変性疾患関連タンパク質が関与することが示唆された。

一方、海馬 CA1 の LTP を計測した結果は高齢術後マウスと高齢健常マウスの間に差が無く、LTP で表される CA1 の機能的細胞間連絡については有意な変化が認められなかった。今後、他の海馬領域や皮質領域においても電気生理学的変化を調べ、術後せん妄による認知機能の異常に関わる機能的細胞間連絡の異常を明らかにする必要がある。

2) 臨床研究

対象となった 73 名の患者の内、22 名が POD を示し(POD(+群)、51 名は POD とはならなかった(POD(-群)。

血中炎症性マーカーは、POD 群と非 POD 群で比較して、どの時点においても有意差はなかった(図 4)。

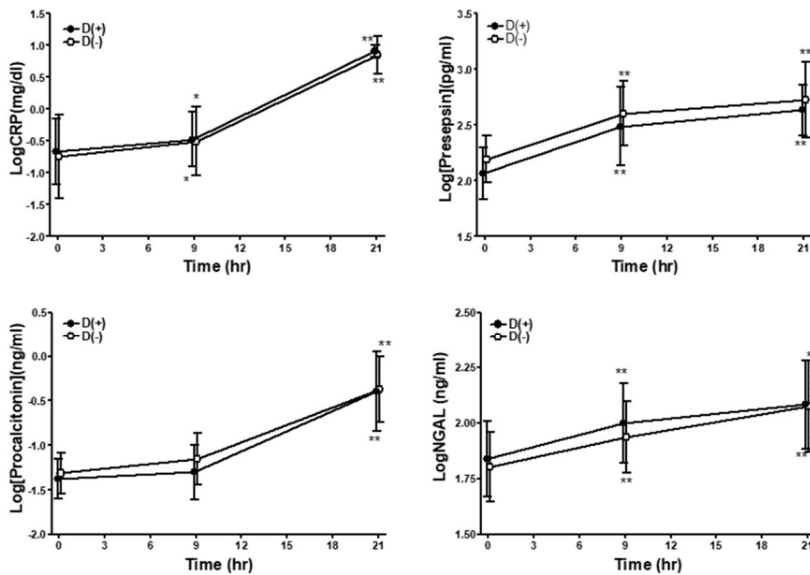


図4. 血中炎症性バイオマーカーの推移
平均±標準偏差、D(+): POD有、D(-): POD無、*: $p < 0.05$ vs Time 0、**: $p < 0.01$ vs Time 0

脳波(BIS ニター)から得られた 波パワー密度並びに相対的 波は、時間の経過とともに減少し

た。更に POD(+)群では麻酔導入直後から有意に POD(-)群に比べ、波パワー密度並びに相対的波が、有意に低値だった(図 5)

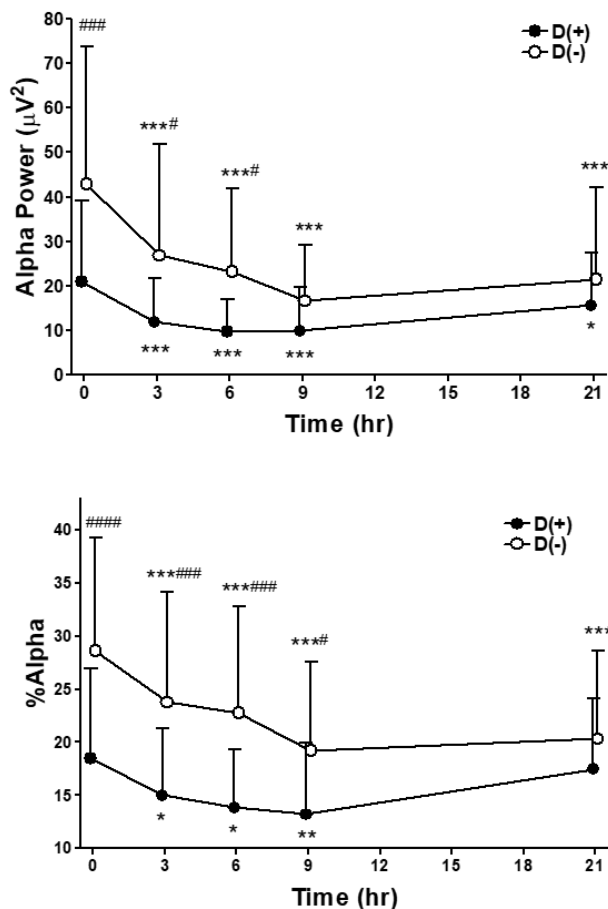


図5. 脳波 α パワー密度並びに相対的 α 波の推移

平均 \pm 標準偏差, D(+): POD有, D(-): POD無, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ vs time 0, #: $p < 0.05$, ###: $p < 0.001$, ####: $p < 0.00001$ vs D(+)

脳波(BIS モニター)から得られた波パワー密度並びに相対的波との相関はパワー密度で CRP、PCT、PSP で有意、相対的波とは CRP、PSP で有意であったが、POD 群だけで見るとパワー密度では PSP と LCN2 で相関はあったが全患者で見えた場合とは異なった。相対的波ではどのマーカーとも相関はなかった。炎症の指標となる好中球リンパ球比(NLR)は、非 POD 群で 2.06 に対し POD 群は 3.02 と有意に譫妄群で高値だった上に、術前の NLR と導入後の相対的波との間に有意な相関があった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hirota K	4. 巻 34
2. 論文標題 Preoperative management and postoperative delirium: The possibility of neurorehabilitation using virtual reality.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Anesth.	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takekawa Daiki, Kudo Takashi, Saito Junichi, Nikaido Yoshikazu, Sawada Kaori, Takanashi Shingo, Hirota Kazuyoshi	4. 巻 293
2. 論文標題 Lower fractional exhaled nitric oxide levels are associated with depressive symptom in males: A population-based cross-sectional study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Psychiatry Research	6. 最初と最後の頁 113453 ~ 113453
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.psychres.2020.113453	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nishijima Haruo, Mori Fumiaki, Arai Akira, Zhu Gang, Wakabayashi Koichi, Okada Motohiro, Ueno Shinya, Ichinohe Noritaka, Suzuki Chieko, Kon Tomoya, Tomiyama Masahiko	4. 巻 143
2. 論文標題 GABA storage and release in the medial globus pallidus in L-DOPA-induced dyskinesia priming	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurobiology of Disease	6. 最初と最後の頁 104979 ~ 104979
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbd.2020.104979	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Fukutoku Tatsuhiro, Kumagai Gentaro, Fujita Taku, Sasaki Ayako, Wada Kanichiro, Liu Xizhe, Tanaka Toshihiro, Kudo Hitoshi, Asari Toru, Nikaido Yoshikazu, Ueno Shinya, Ishibashi Yasuyuki	4. 巻 37
2. 論文標題 Sex-Related Differences in Anxiety and Functional Recovery after Spinal Cord Injury in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurotrauma	6. 最初と最後の頁 2235 ~ 2243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/neu.2019.6929	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yabuki Yasushi, Liu Jiaqi, Kawahata Ichiro, Izumi Hisanao, Shinoda Yasuharu, Koga Kohei, Ueno Shinya, Shioda Norifumi, Fukunaga Kohji	4. 巻 21
2. 論文標題 Anti-Epileptic Effects of FABP3 Ligand MF1 through the Benzodiazepine Recognition Site of the GABAA Receptor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5525 ~ 5525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21155525	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murakami Manabu, Toyama Yuichi, Yonekura Manabu, Ohba Takayoshi, Matsuzaki Yasushi, Sawamura Daisuke, Murakami Agnieszka M., Nishi Miyuki, Itagaki Shirou, Tomita Hirofumi, Takeshima Hiroshi	4. 巻 15
2. 論文標題 Decreased cardiac pacemaking and attenuated α -adrenergic response in TRIC-A knockout mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0244254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0244254	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Niisawa T, Naruta N, Murakami AM, Yonekura M, Hirota K, Itagaki S, Murakami M.	4. 巻 71
2. 論文標題 Molecular cloning of medaka orexin and orexin receptor and decreased spontaneous movement in response to an orexin inhibitor.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hirosaki Med J	6. 最初と最後の頁 55-64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito Junichi, Hashiba Eiji, Mikami Akio, Kudo Tomoyuki, Niwa Hidetomo, Hirota Kazuyoshi	4. 巻 31
2. 論文標題 Pilot Study of Changes in Presepsin Concentrations Compared With Changes in Procalcitonin and C-Reactive Protein Concentrations After Cardiovascular Surgery	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia	6. 最初と最後の頁 1262 ~ 1267
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.jvca.2017.02.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Toyama T, Yonekura M, Arakawa Y, Higuchi S, Tomita H, Murakami AM, Itagaki S, Murakami M.	4. 巻 70
2. 論文標題 Establishment of cardiac action potential recording using a membrane potential indicator in the mouse sinoatrial node.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hirosaki Med J	6. 最初と最後の頁 163-171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 廣田和美	4. 巻 69
2. 論文標題 術後せん妄・認知機能障害の予防と対策 最近のガイドラインから	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 麻酔	6. 最初と最後の頁 496-502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Nikaïdo Y, Tatara Y, Kushikata T, Hirota K.
2. 発表標題 Involvement of neurodegenerative and neuroinflammatory processes in the pathogenesis of postoperative delirium in elderly mice.
3. 学会等名 Hirosaki Medical Science Forum (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirotaka Kinoshita, Tetsuya Kushikata, Daiki Takekawa, Kazuyoshi Hirota
2. 発表標題 Investigation of the effect of perioperative inflammation on electroencephalogram
3. 学会等名 The 6th Congress of Asian Society for Neuroanesthesia and Critical Care (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nikaido Y, Furukawa T, Shimoyama S, Ogata Y, Kushikata T, Hirota K, Hirata H, Kanematsu T, Ueno S.
2. 発表標題 Phospholipase C-related inactive protein type-1 deficiency alters propofol-induced EEG activity.
3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣田和美
2. 発表標題 高齢化社会における術後譫妄・認知機能障害予防戦略～早期覚醒と周術期の患者管理・評価の重要性～
3. 学会等名 第40回日本臨床麻酔学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣田和美
2. 発表標題 高齢化社会における安全な周術期管理 -術後せん妄対策
3. 学会等名 第31回日本臨床モニター学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 二階堂義和、多田羅洋太、櫛方哲也、廣田和美.
2. 発表標題 術後認知機能障害・術後せん妄の発症機序解明と治療標的の探索
3. 学会等名 21世紀を明るく科学する会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	上野 伸哉 (UENO Shinya) (00312158)	弘前大学・医学研究科・教授 (11101)	
研究分担者	榎方 哲也 (KUSHIKATA Tetsuya) (80250603)	弘前大学・医学研究科・准教授 (11101)	
研究分担者	二階堂 義和 (NIKAIDO Yoshikazu) (50613478)	弘前大学・医学研究科・助教 (11101)	
研究分担者	橋場 英二 (HASHIBA Eiji) (10374844)	弘前大学・医学部附属病院・准教授 (11101)	
研究分担者	村上 学 (MURAKAMI Manabu) (80302090)	弘前大学・医学研究科・教授 (11101)	
研究分担者	斎藤 淳一 (SAITO Junichi) (90647413)	弘前大学・医学部附属病院・助教 (11101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------