

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11080

研究課題名(和文) 神経栄養因子の発現調節による術後認知機能障害の予防と治療

研究課題名(英文) Prevention and treatment of postoperative cognitive dysfunction by regulating the expression of neurotrophic factors

研究代表者

小幡 典彦 (Obata, Norihiko)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30509443

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では2型糖尿病モデルマウスを用いて周術期の行動変化および脳内での神経栄養因子を含めた各種mRNA発現量変化について調査した。

2型糖尿病モデルマウスは高脂肪食を摂食させ作製した。行動はオープンフィールド、新奇物体認識試験、明暗箱試験を含む一連のプロトコールにより評価を行い、手術侵襲として開腹手術を施行した。行動実験後、脳組織(前頭葉皮質)を採取し、real-time PCRを用いて神経栄養因子やカテコラミン受容体などのmRNA発現量について解析した。

2型糖尿病モデルマウスでは術後に活動性の低下がみられ、脳内の神経栄養因子やカテコラミンの発現変化が影響している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会が進む我が国において、高齢者に対する手術は急速に増加しており、術後認知機能障害は日々の臨床で重大な問題となっているが、その予防法や治療法は確立していない。本研究は術後認知機能障害のメカニズムとして脳における神経栄養因子やカテコラミンの関与に着目し、その発現を部位特異的に調節することで障害の予防と治療を目指すものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated perioperative behavioral changes and various mRNA expression levels including neurotrophic factors in the brain using type 2 diabetes model mice. Type 2 diabetes model mice were prepared by feeding a high fat diet. The behavior was evaluated by a series of protocols including an open field test, a novel object recognition test, and a light-dark box test. An open abdominal surgery was performed as a surgical invasion. After the behavioral experiment, brain tissues (frontal cortex) were collected and analyzed for mRNA expression levels of neurotrophic factors and catecholamine receptors using real-time PCR. Postoperative activity decreased in type 2 diabetic model mice, suggesting that altered expression level of neurotrophic factors or catecholamines in the brain might be affecting.

研究分野：麻酔科学

キーワード：術後認知機能障害 神経栄養因子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

社会の高齢化が進む中で高齢者の手術は増加し、手術の成功だけでなく術後回復の質が大きな課題となっている。術後認知機能障害 (postoperative cognitive dysfunction; POCD) は、手術や麻酔を契機に発症する高次脳機能障害であり、患者の QOL を低下させるばかりでなく、死亡率の増加といった長期予後にも影響することが示されている¹⁾。近年、大規模な臨床研究試験において糖尿病が POCD 発生の危険因子となることが報告されたが、その病態機序は明らかにはされていない。一方で、最近では POCD の発生メカニズムとして、脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor; BDNF) などの脳内における発現変化が寄与しているとも示唆されている^{2, 3)}。

2. 研究の目的

本研究の目的は、糖尿病が POCD の原因となる病態機序を解明し、POCD の予防策を探索することである。2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus; T2DM) モデルマウスを作製し、手術侵襲を加え、手術侵襲前後に認知機能評価を行う。同時に、POCD の主な原因の一つと考えられている神経炎症について脳における分子レベルの解析を施行し、POCD のメカニズムおよび糖尿病と POCD との関連を解明する。

3. 研究の方法

(1) T2DM モデルマウス作製

T2DM モデルマウスは高脂肪食 (High Fat Diet; HFD) を摂食させ作製した。14 週齢において手術侵襲前後での行動評価を施行した。

(2) 行動評価

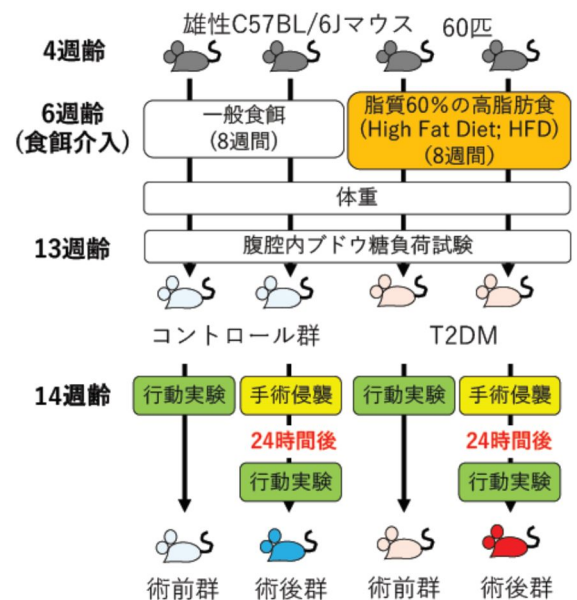
行動はオープンフィールド試験、新奇物体認識試験、明暗箱試験を含む一連のプロトコールにより評価を行った。

(3) 手術侵襲

腸管操作を伴う開腹手術を施行した。

(4) mRNA 発現量測定

行動実験後、セボフルラン吸入深麻酔下に開胸、脳灌流を施行し、脳組織 (前頭葉皮質) を採取した。polymerase chain reaction (real-time PCR) を用いて、各種 mRNA 発現量 (BDNF、RAGE、ドパミン受容体: D1R、D2R、セロトニン受容体、アドレナリン受容体: 1R、2R) について解析した。



図【研究プロトコール】

4. 研究成果

(1) 糖尿病モデル評価

体重は T2DM 群で有意に増加した。ブドウ糖負荷試験で高血糖の遷延を認め、肥満型の糖尿病モデルであることを確認した。

(2) 行動評価

a. オープンフィールド試験

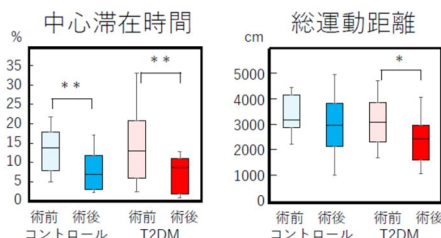
中心滞在時間は両群とも術後に有意に減少した。総運動距離は T2DM 群で術後に有意に減少した。

b. 新奇物体認識試験

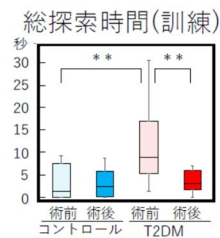
新奇物体認識試験での総探索時間が有意に減少した。

c. 明暗箱試験

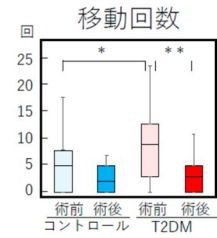
明暗箱試験における移動回数が有意に減少した。



図【オープンフィールド試験】



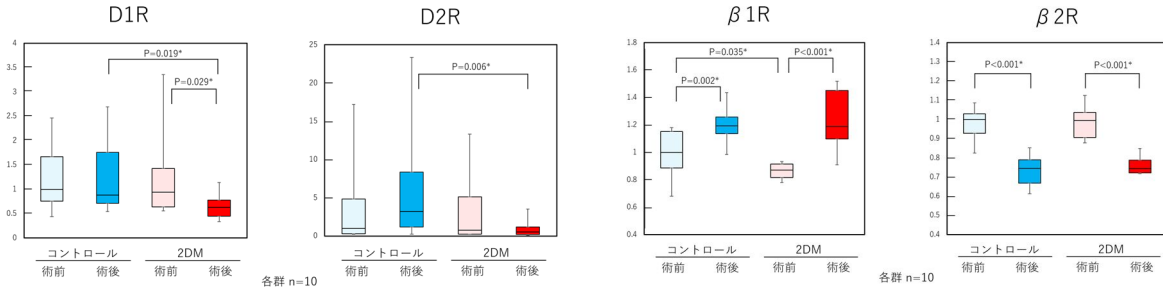
図【新奇物体認識試験】



図【明暗箱試験】

(3) 前頭葉における mRNA 発現量

前頭葉皮質における術前後のBDNF発現量は対照群と2型糖尿病群の間で有意差はなかったが、いずれの群も術後に有意に低下した。RAGEの発現量は術後に対照群は2型糖尿病群に比較して低値を示した。D1R、D2Rの発現量は術後に2型糖尿病群は対照群と比較して有意に低値であった。セロトニン受容体は対照群、2型糖尿病群共に、術後に有意な増加を認めた。1Rは、術後に対照群および2型糖尿病群のいずれの群でも有意な増加を認めた。さらに、2Rは、術後に対照群および2型糖尿病群のいずれの群も有意に低下した。



図【D1R、D2RのmRNA発現量】

図【1R、2RのmRNA発現量】

以上より、T2DMモデルマウスでは術後に活動性の低下がみられ、脳内の神経栄養因子やカテコラミンの発現変化が影響している可能性が示唆された。

<引用文献>

- 1) Steinmetz J, Christensen KB, Lund T, Lohse N, Rasmussen LS; ISPOCD Group. Long-term consequences of postoperative cognitive dysfunction. *Anesthesiology*. 2009;110:548-55
- 2) Tian XS, Tong YW, Li ZQ, Li LX, Zhang T, Ren TY, Zhou T, Wang HC, Zhan R, Sun Y, Yan Z, Wang QD, Fan DS, Kong FJ, Guo XY, Xiao WZ, Chui DH. Surgical stress induces brain-derived neurotrophic factor reduction and postoperative cognitive dysfunction via glucocorticoid receptor phosphorylation in aged mice. *CNS Neurosci Ther*. 2015;21:398-409.
- 3) Zhang F, Zhu ZQ, Liu DX, Zhang C, Gong QH, Zhu YH. Emulsified isoflurane anesthesia decreases brain-derived neurotrophic factor expression and induces cognitive dysfunction in adult rats. *Exp Ther Med*. 2014;8:471-477.

5. 主な発表論文等

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

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Nishimura Momoka, Nomura Yuki, Egi Moritoki, Obata Norihiko, Tsunoda Makoto, Mizobuchi Satoshi | 4. 巻 21 |
| 2. 論文標題 Suppression of behavioral activity and hippocampal noradrenaline caused by surgical stress in type 2 diabetes model mice | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 BMC Neuroscience | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12868-020-0556-y | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 東南杏香、野村有紀、江木盛時、小幡典彦、溝渕知司 |
| 2. 発表標題 2型糖尿病モデルマウスにおける術後低活動性および周術期脳内mRNA発現の変化 |
| 3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Momoka Nishimura, Yuki Nomural, Moritoki Egi, Norihiko obata, Makoto, Tsunoda, Satoshi Mizobuchi |
| 2. 発表標題 Postoperative Hypoactivities and Decrease of Hippocampal Catecholamine in Type 2 Diabetes Model Mice |
| 3. 学会等名 American Society of Anesthesiologists Annual Meeting 2019（国際学会） |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

神戸大学大学院医学研究科外科系講座麻酔科学ホームページ
<http://www.med.kobe-u.ac.jp/anes/>

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 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|