

令和元年5月23日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16742

研究課題名(和文) 外傷性脳損傷に対する新規治療戦略

研究課題名(英文) The development of the novel therapy for the traumatic brain injury

研究代表者

澤田 敦史 (Sawada, Atsushi)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：10551492

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：外傷性脳損傷による後遺症である高次脳機能障害を有する患者が全身麻酔を受けた場合、術後に高次脳機能障害が増悪することが問題となっている。本研究において、吸入麻酔薬による全身麻酔を受けた外傷性脳損傷モデルマウスは、術後高次脳機能障害を発症したが、デクスメトミジンを併用して吸入麻酔薬による全身麻酔を受けた外傷性脳損傷モデルマウスには、術後高次脳機能障害は発症しなかった。本研究の結果から、外傷性脳損傷モデルマウスにおいて、吸入麻酔薬による全身麻酔の際にデクスメトミジンを併用することで、海馬に集積した骨髄由来ミクログリアの活性化を抑制し、術後高次脳機能障害の発症を予防でき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

交通事故、労災事故に起因する外傷性脳損傷は様々な後遺症を引き起こし、後遺症が重篤な場合は、患者は長期的なケアを必要とする。術前から高次脳機能障害を有する外傷性脳損傷患者が全身麻酔を受けた場合、術後に高次脳機能障害が増悪することが大きな問題となっている。本研究は術後高次脳機能障害の予防法を新たに提案するものであり、外傷性脳損傷患者の全身麻酔後の生活の質を向上させるため、社会的に果たす意義は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we investigated the effect of dexmedetomidine on isoflurane-induced cognitive dysfunction and the inflammatory activation of hippocampal bone-marrow derived microglia (BMDM) in mice subjected traumatic brain injury. Compared with Na&iuml;l;ve-Iso and Sham-Iso mice, TBI-Iso-Veh mice took significantly longer to reach the escape hole. By contrast, TBI-Iso-DEX mice found the escape hole faster on the last session. Activated hippocampal BMDM displaying bushy morphology were shown in TBI-Iso-Veh mice. On the other hand, resting ramified hippocampal BMDM were shown in TBI-Iso-DEX mice. The hippocampal BMDM were not observed in Na&iuml;l;ve-Iso and Sham-Iso mice. We demonstrated that dexmedetomidine attenuated isoflurane-induced cognitive dysfunction in mice subjected TBI. Furthermore, the neuroprotective effect of dexmedetomidine was associated with the suppression of the inflammatory activation of hippocampal BMDM.

研究分野：麻酔科学

キーワード：外傷性脳損傷 骨髄由来ミクログリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

交通事故、労災事故に起因する外傷性脳損傷は、感覚障害、運動障害、高次脳機能障害といった後遺症を引き起こす。後遺症が重篤な場合は、患者は長期的なケアを必要とする。術前から高次脳機能障害を有する外傷性脳損傷患者が全身麻酔を受けた場合、術後に高次脳機能障害が増悪することが大きな問題となっている。

### (1) 術後高次脳機能障害とミクログリア

全身麻酔後に発症する術後高次脳機能障害は、入院期間を延長するだけでなく、周術期合併症のリスクを増大する。術後高次脳機能障害の発症に、海馬に集積したミクログリアの活性化による炎症反応が関与することが報告されている (JCI insight . 2017)。

### (2) 外傷性脳損傷と骨髄由来ミクログリア

中枢神経系の免疫細胞であるミクログリアには、血液脳関門が不完全な胎生期に脳内に移行、分化した内在性ミクログリア以外に、骨髄由来細胞が血行性に脳内に移行、分化した骨髄由来ミクログリアが存在し、神経変性疾患、脱髄疾患の病態形成に関与している。また、骨髄由来ミクログリアは神経変性疾患、脱髄疾患の病態形成に関与するだけでなく、外傷性脳損傷による後遺症形成も関与することが報告されている (J Neurosci . 2015)。

### (3) 外傷性脳損傷における脳組織損傷とミクログリア

研究代表者らは、免疫組織学的手法を用いて、外傷性脳損傷受傷7日後に脳損傷部位にミクログリアが集積することを明らかにした。

## 2. 研究の目的

上記(1)(2)(3)の知見を基に研究代表者らは、外傷性脳損傷後の術後高次脳機能障害の発症に、脳組織損傷後に海馬に集積する骨髄由来ミクログリアが関与すると想定した。さらに、全身麻酔の際に海馬に集積した骨髄由来ミクログリアの活性化を抑制することで、外傷性脳損傷後の術後高次脳機能障害の発症を予防することが可能であるという着想に至った。

研究代表者らは、外傷性脳損傷後の術後高次脳機能障害の発症機序を以下のように想定している。つまり、外傷性脳損傷により血液脳関門が破綻し海馬に骨髄由来ミクログリアが集積する。全身麻酔(吸入麻酔薬)により海馬に集積した骨髄由来ミクログリアが活性化する。海馬に集積した骨髄由来ミクログリアの活性化により炎症反応が起こり、術後高次脳機能障害を発症する。

2 アゴニストであるデクスメトミジンがミクログリアの活性化を抑制することが報告されている。研究代表者らは、吸入麻酔薬による全身麻酔の際にデクスメトミジンを併用することで、海馬に集積した骨髄由来ミクログリアの活性化を抑制し、術後高次脳機能障害の発症を予防することを本研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) GFP 陽性キメラマウスの作製

GFP 陽性トランスジェニックマウスの骨髄細胞を、ブスルファン(骨髄抑制作用)投与による前処置を行った雄性 C57BL/6 マウスに静脈内投与(骨髄移植)して、GFP 陽性キメラマウスを作製する。GFP 陽性キメラマウスを作製することで骨髄由来細胞の同定が可能となる。

### (2) 外傷性脳損傷モデルマウスの作製

骨髄移植 4 週後に、Krajewska らの方法に従い全身麻酔下に Impactor (Impact One; myNeuroLab.com) を用いて、外傷性脳損傷モデルマウスを作製する。また、開頭手術のみを行うシャムマウスも作製する。

### (3) 吸入麻酔薬またはデクスメトミジン併用吸入麻酔薬による全身麻酔

外傷性脳損傷 4 週後に吸入麻酔薬(2% イソフルラン)またはデクスメトミジン(50  $\mu$ g/kg)併用吸入麻酔薬(2% イソフルラン)による全身麻酔を 30 分間行う。

### (4) 術後高次脳機能障害の評価(行動学的解析)

全身麻酔 2 週間後に術後高次脳機能障害の評価として、Barnes Maze 試験を行う。Barnes Maze 試験は 1 日 3 回、3 日間、合計 9 回行う。

(5) デクスメトミジンによる骨髄由来ミクログリアの活性化抑制作用の評価(免疫組織学的解析)

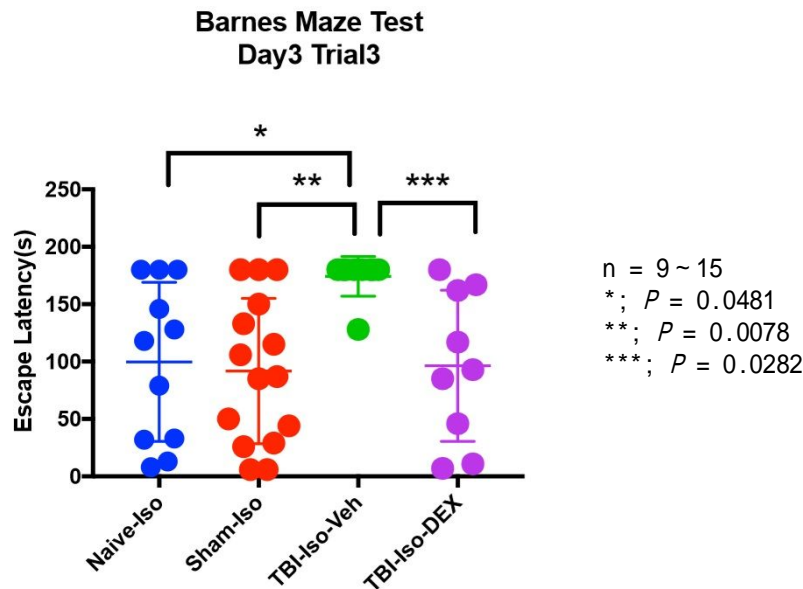
Barnes Maze 試験終了後に、モデルマウスから脳組織を採取して免疫組織学的解析を行う。海馬に集積した骨髄由来ミクログリアを観察してデクスメトミジンによる骨髄由来ミクログリアの活性化抑制作用について評価する。

#### 4. 研究成果

##### (1) 術後高次脳機能障害の評価（行動学的解析）

侵襲を一切与えないナイーブマウス，開頭術のみを行うシャムマウス，外傷性脳損傷モデルマウスに吸入麻酔薬（2% イソフルラン）による全身麻酔を30分間行った各群（Naive-Iso群，Sham-Iso群，TBI-Iso-Veh群）および外傷性脳損傷モデルマウスにデクスメトミジン併用吸入麻酔薬（2% イソフルラン）による全身麻酔を30分間行ったTBI-Iso-DEX群に対してBarnes maze試験を1日3回，3日間，合計9回行った．その結果，9回目の施行においてTBI-Iso-Veh群は他の3群と比較して探索時間が有意に延長して，術後高次脳機能障害を発症していることが明らかになった．また，TBI-Iso-DEX群は9回目の施行において，Naive-Iso群，Sham-Iso群と比較して探索時間の延長を認めず，術後高次脳機能障害を発症していないことが明らかになった．

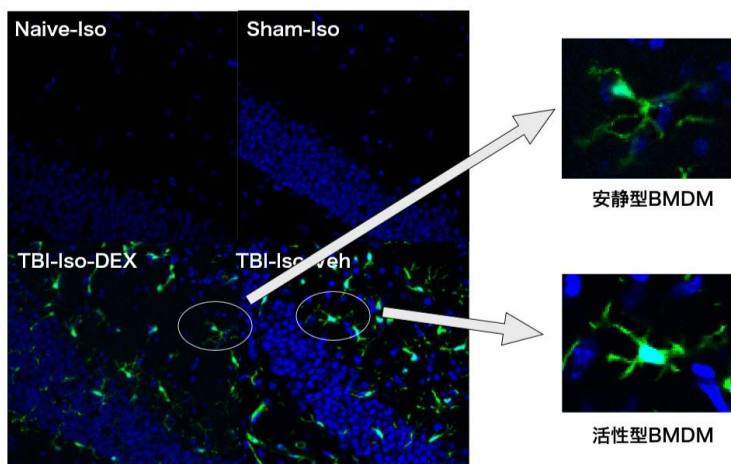
図1. Barnes maze 試験



##### (2) デクスメトミジンによる骨髄由来ミクログリアの活性化抑制作用の評価（免疫組織学的解析）

TBI-Iso-Veh群においては，細胞体が肥大し樹状突起が短縮した活性型骨髄由来ミクログリアが海馬に観察された．TBI-Iso-DEX群においては，細胞体が小さく樹状突起を伸ばした安静型骨髄由来ミクログリアが海馬に観察された．Naive-Iso群，Sham-Iso群においては，海馬に骨髄由来ミクログリアは観察されなかった．

図2. 海馬の骨髄由来ミクログリア



上記(4)(5)の結果より，外傷性脳損傷モデルマウスにおいて，吸入麻酔薬による全身麻酔の際にデクスメトミジンを併用することで，海馬に集積した骨髄由来ミクログリアの活性化を抑制し，術後高次脳機能障害の発症を予防できる可能性が示唆された．

## 5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 2件)

Natsumi Kii, Atsushi Sawada, Michiaki Yamakage. Dexmedetomidine attenuates isoflurane-induced cognitive dysfunction in mice subjected traumatic brain injury. Euroanesthesia 2019. The European Anaesthesiology Congress. Vienna, Austria. 1-3, June, 2019.

木井菜摘, 澤田敦史, 山蔭道明. デクスメドミジンによる外傷性脳損傷慢性期の術後認知機能障害抑制効果の検討. 日本麻酔科学会北海道・東北支部第8回学術集会(旭川) 2018.8.31

〔図書〕(計 0件)

〔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 なし

## 6．研究組織

(1) 研究分担者 なし

(2) 研究協力者 なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。