

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08808

研究課題名(和文) 高齢化に伴うサルコペニアを基軸とする術後認知機能障害の統合的理解

研究課題名(英文) Integrated understanding of postoperative cognitive dysfunction based on aging-related sarcopenia.

研究代表者

合谷木 徹 (Goyagi, Toru)

秋田大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30302277

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：手術後に認知機能が低下する合併症があり、術前の筋肉量低下(サルコペニア)が関連するか検討した。ラットの尾懸垂により、サルコペニアモデルを作成することを確立した。このモデルを使用して、術前の尾懸垂による筋肉量の低下は、術後の認知機能の低下を促進させた。その原因として海馬の神経栄養因子BDNFの低下と歯状回の神経新生が低下することが一因として考えられた。術前の筋肉量低下を、運動により回復させると、術後の認知機能低下が減弱した。運動によりBDNFと神経新生は増加した。この研究により、術前のサルコペニアは、術後認知機能を悪化させ、術前の運動は、その悪化を軽減させる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

術前の身体機能により、術後の認知機能に影響を与えることが判明した。筋肉量が落ちると、術後の認知機能が低下しやすくなり、術前に運動すると術後認知機能の低下を防止することができる。術後合併症を軽減するため術前の筋肉量が重要であることを示している。

研究成果の概要(英文)：The study examined whether preoperative loss of muscle mass (sarcopenia) was associated with a complication of cognitive decline after surgery. We established that tail suspension of rats creates a sarcopenia model. Using this model, we found that a decrease in muscle mass due to preoperative tail suspension promoted a decline in postoperative cognitive function. This was thought to be due in part to decreased neurotrophic factor BDNF in the hippocampus and decreased neurogenesis in the dentate gyrus. Exercise restored the preoperative decline in muscle mass and attenuated the postoperative cognitive decline. Exercise increased BDNF and neurogenesis. This study suggests that preoperative sarcopenia worsens postoperative cognitive function and that preoperative exercise may reduce this deterioration.

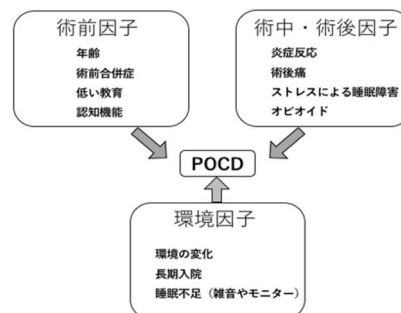
研究分野：麻酔科学

キーワード：術後認知機能障害 サルコペニア 筋肉量 BDNF 神経新生 運動療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会になり、高齢者が手術を受ける機会が増加している。高齢者では術前からのフレイルの問題もあるが、手術・麻酔を契機として術後にフレイルの発症も危惧される。その術後合併症の中でも認知機能の面から、手術・麻酔後の認知機能低下(術後認知機能障害(POCD))が知られるようになってきた。その危険因子として図のように様々な要因が挙げられているが年齢や術前の状態が影響する(麻酔 2015, 臨床麻酔学会誌 2013)。非心臓手術の POCD の頻度は、若年者では、術後 1 週間後で約 20%、3 ヶ月後にも約 6%が見られるが、60 歳以上では、術後 1 週間後に約 26%、3 ヶ月後には約 10%の患者で認知機能低下がみられる(麻酔 2015)。長期的な研究でも POCD になった場合、その後 10 年の死亡率の増加と就労率の低下がみられる(Anesthesiology 2009)。このため、高齢化社会において、高齢者が手術を受ける人口が増加し、その一定数の割合で術後認知機能の低下が生じれば、患者本人の術後の社会復帰が遅れ、また、その介護にも人手を要し、労働人口の減少などに伴う生産性の低下や医療費の増加により社会問題となる。現在、POCD の原因の 1 つに、手術・麻酔に伴う脳内の炎症反応により生じることが示唆されている。



の炎症反応により生じることが示唆されている。

高齢化の症状として、年齢とともに認知機能の低下や身体機能低下がみられ、近年では高齢化による骨格筋量の減少としてサルコペニアが万病の基になるとして問題になってきている。サルコペニアは、骨格筋量と骨格筋力の低下を来す病気の総称で、骨密度や骨粗鬆症の発症、肥満、栄養障害、糖尿病発症との関連性がいわれ、高齢者ではサルコペニアと診断される割合が増加する。サルコペニアを併発すると認知機能低下に及び、その関連性も報告されている。

POCD の原因として、術前の身体状態の低下や認知機能の低下が見られると POCD の割合が増加し、炎症反応の低下や術後環境改善が認知機能低下を減弱させることが知られている(麻酔 2015, Anesthesiology 2015)。しかし、現在のところ術前の筋肉量の減少を伴うサルコペニア罹患患者が、手術・麻酔を受けた場合、術後認知機能にどう影響するのかその関連性は未だ説明されていない。

2. 研究の目的

術前のサルコペニア(骨格筋量が減少した状態)が見られた場合、手術後認知機能の低下が増大するかの関連性を検討し、術前のリハビリテーションによるサルコペニア防止・予防(筋肉量の増加)が POCD を軽減出来るかを解明することが本研究の目的である。また、併せて、可逆的なサルコペニアの動物モデルを構築し、サルコペニアに関する基礎研究基盤を確立する。

- (1) サルコペニアの実験系の確立
- (2) サルコペニアが POCD を誘発するのか
- (3) リハビリテーションによるサルコペニア防止が POCD を減弱するか

3. 研究の方法

- (1) サルコペニアの実験系の確立

24 週ラットを下記の 4 群に分けた。1. 尾懸垂 SD 雄性ラット(TST)、2. 通常食 SHR(n-SHR)、3. 高脂肪高炭水化物食 SHR(hf-SHR)、4. SD 雄性ラット(control)。TST は、尾を固定し、後肢を 2 週間使用せず、hf-SHR には高脂肪高炭水化物食を 12 週間与え他のラットには通常食を与えた。速筋として長趾伸(EDL)筋と遅筋としてヒラメ筋(SOL)のそれぞれの重量、坐骨神経刺激時の収縮力、及び筋繊維断面積を測定した。

- (2) サルコペニアと POCD の解明

術前 2 週間の尾懸垂による骨格筋量を減少させた 24 週齢 Sprague Dawley (SD) ラット(TS 群)と、骨格筋量を減少させたラットに手術を実施した TS+S 群、コントロール群として 24 週齢 SD ラットと尾懸垂を実施せず手術のみの control+s 群を対象とした。手術気管挿管後、呼吸状態を動脈血液ガス分析で評価し、正常範囲内となるよう調節した。30%酸素と 3%セボフルラン吸入下で 2 時間暴露させ、手術は肝左外側葉切除及び 3 分間腸間膜牽引を施行した。認知機能評価は、モーリス水迷路(MWM)と恐怖条件付け文脈学習試験(FCT)を行った。また、手術 3 週後に海馬の免疫染色と海馬内脳由来神経栄養因子(BDNF)を評価した。

- (3) リハビリテーションによるサルコペニア防止が POCD を減弱するか

術前 2 週間の尾懸垂による骨格筋量を減少させた 22 週齢 Sprague Dawley (SD) ラットを用いて 4 群、コントロール群(TS: 運動手術なし)、コントロール+手術群(TS+S)、運動群(L: locomotor)、運動+手術群(L+S)に分け、運動はトレッドミルによる運動を 5 日間継続した。気管挿管後、呼吸状態を動脈血液ガス分析で評価し、正常範囲内となるよう調節した。30%酸素と 3%セボフルラン吸入下で 2 時間暴露させ、手術は肝左外側葉切除及び 3 分間腸間膜牽引を施行した。認知機能評価は、モーリス水迷路(MWM)と恐怖条件付け文脈学習試験(FCT)を行った。また、手術 1 週後に海馬内脳由来神経栄養因子(BDNF)を評価した。

4. 研究成果

(1) サルコペニアの実験系の確立

EDL 重量、EDL 収縮力は control 群と比較して TST 群、n-SHR 群、hf-SHR 群で有意に低値であった。n-SHR 群の SOL 重量は control 群と比較して有意に低値であったが、他 2 群とは有意差がなく、SOL 収縮力には 4 群間に有意差を認めなかった。また、処置群の EDL 断面積、SOL 断面積は control 群と比較して有意に低値であった。

通常ラットと比較して、TST、n-SHR、hf-SHR の 3 群は速筋の筋肉量とその収縮力を同程度に低下させ、この 3 群はいずれもサルコペニアの表現系を有すると考えられる。尾懸垂モデルはサルコペニアモデルを作成させることが判明した。

p<0.05 vs control	EDL重量 (g)	SOL重量 (g)	EDL収縮力 (mN)	SOL収縮力 (mN)	EDL断面積 (μm ²)	SOL断面積 (μm ²)
TST群	0.28 ± 0.03*	0.73 ± 0.07	24.1 ± 4.3*	30.6 ± 4.5	1042(841-1311)*	1315(1089-1734)*
n-SHR群	0.20 ± 0.01*	0.49 ± 0.08*	22.6 ± 4.1*	31.0 ± 2.0	877(688-1158)*	1262(1113-1615)*
hf-SHR群	0.17 ± 0.03*	0.66 ± 0.18	13.9 ± 1.7*	28.7 ± 1.9	906(694-1033)*	1278(1121-1461)*
control群	0.34 ± 0.04	0.99 ± 0.29	34.4 ± 8.7	37.7 ± 7.3	2044(1365-2538)	1584(1307-2001)

Table 1. Skeletal muscle mass weight and muscle to body weight.

	control	TS	SHR
body weight (g)	658 ± 30	575 ± 22 *	431 ± 10 *
EDL muscle (g)	0.33 ± 0.01	0.28 ± 0.01 *	0.19 ± 0.01 *
EDL/BW (g/kg)	0.51 ± 0.03	0.49 ± 0.03	0.44 ± 0.02
SOL muscle (g)	0.98 ± 0.11	0.72 ± 0.03 *	0.61 ± 0.06 *
SOL/BW (g/kg)	1.53 ± 0.19	1.28 ± 0.08	1.41 ± 0.15

EDL muscle, extensor digitorum longus muscle; SOL muscle, soleus muscle; SHR, spontaneously hypertensive rat; TS, tail suspension; BW, body weight. *P < 0.05 vs. control group, values = mean ± SEM (n = 7 per group).

Fig1. (a) Contraction of the extensor digitorum longus (EDL) muscle. (b) Contraction of the soleus (SOL) muscle. (c) Whole body tension (WBT). The twitch contraction force of EDL muscle in the TS and SHR groups were weaker than that of the control group. Similarly, those of the SOL muscle in the TS and SHR groups indicated significant reduction compared to the control group. The WBT in the TS and SHR groups significantly reduced compared with the control group.

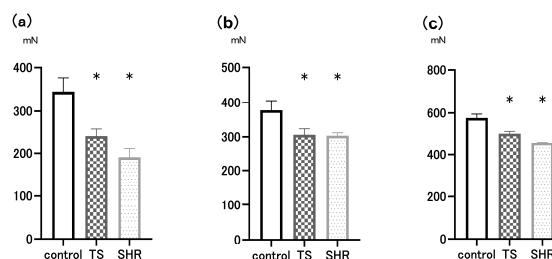


Fig2. (a) Representative histological digital images stained by hematoxylin and eosin (HE) of extensor digitorum longus (EDL) muscle, (b) Comparison of EDL muscle fiber size, (c) Representative histological digital images stained by HE of soleus (SOL) muscle, (d) Comparison of EDL muscle fiber size. The reference bar in histological images is equal to 50 μm. The CSA of EDL and SOL muscles in both TS and SHR groups were significantly smaller than that in the control group.

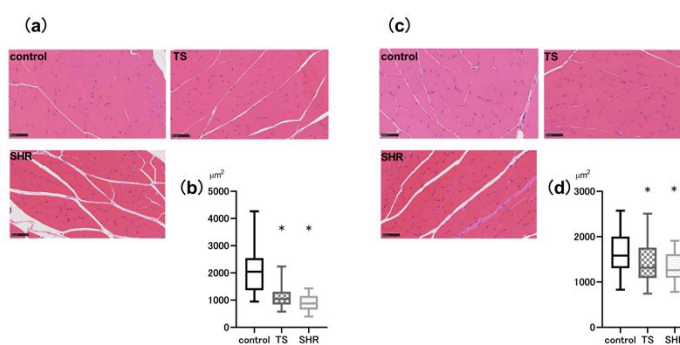
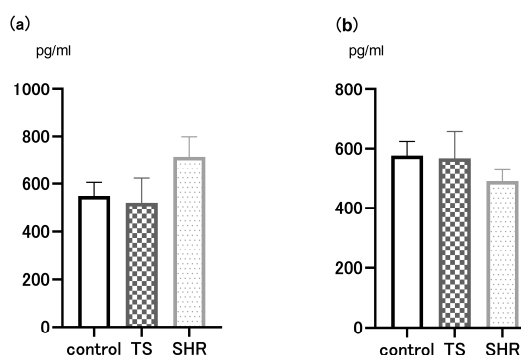


Fig3. (a) Concentration of MuRF-1 in extensor digitorum longus (EDL) muscle, (b) Concentration of MuRF-1 in soleus (SOL) muscle. Quantitative analysis was conducted by enzyme-linked immunosorbent assay. In both EDL and SOL muscles, there were no significant differences among three groups.



(2) サルコペニアと POCD の解明

動脈血液ガス分析は両群で有意差なく、正常範囲内であった。MWM の遊泳距離、遊泳時間において、TS+S 群は有意に延長したが、遊泳速度に両群間で有意差はなか

った。FCT に関して、cue テストで TS+S 群は有意に低下した。海馬歯状回での、神経新生と海馬内 BDNF は TS + S 群で有意に低値であった。

この研究より、術前の骨格筋量減少が POCD のリスク因子となることが示唆された。

Fig1. (A) Comparison of swimming path length, (B) Comparison of swimming latency, (C) Comparison of swimming speed, (D) Percentage time in the probe trial.

Swimming latency in the TS + S group was significantly longer than that in the control + S group on postoperative Day 3 and that in the TS group on Day 4. The TS + S group showed significantly longer path lengths on Day 3 compared with the control + S group. The swimming speed was similar among all groups. There was no statistically significant difference in the percentage quadrant area among the groups.

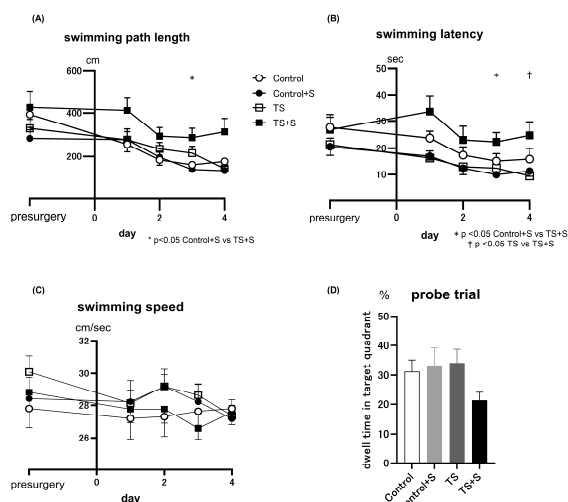


Fig2. Fear conditioning test, where the contextual test did not show a significant difference between the groups while the cue test indicated a lower freezing time ratio in the TS + S group.

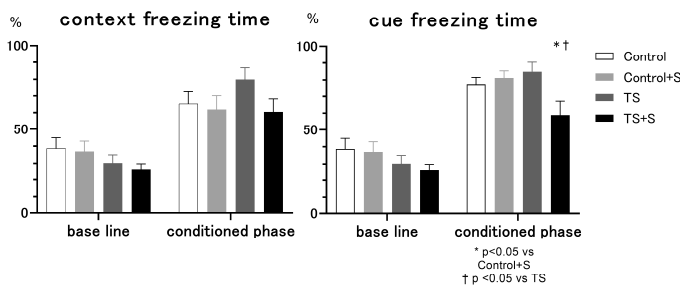


Fig3. (A) Photomicrographs of DAPI and ki-67 and (B) their analysis. The number of double-positive cells was similar in all the groups. (C) Photomicrographs of DAPI, ki-67, and DCX and (D) their analysis. The least number of triple-positive cells was in the TS+S group.

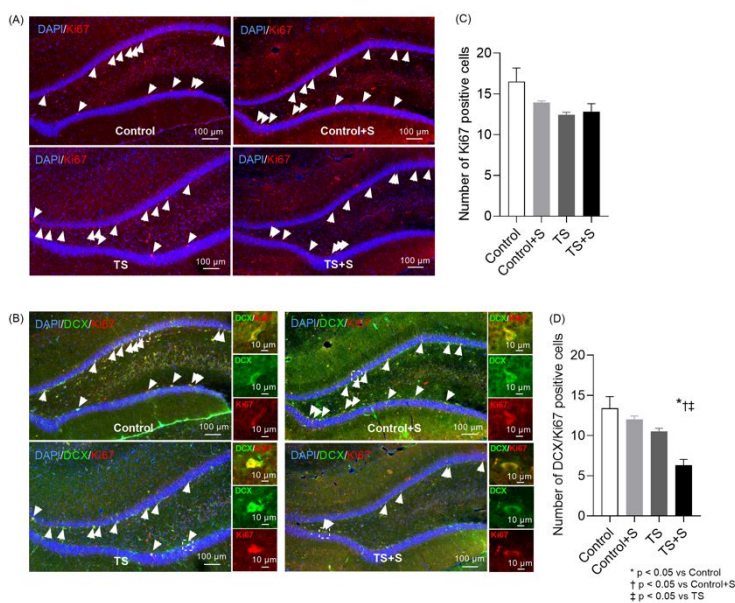
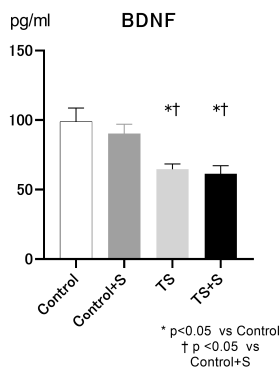


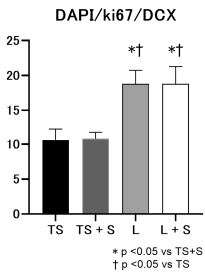
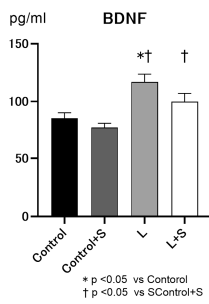
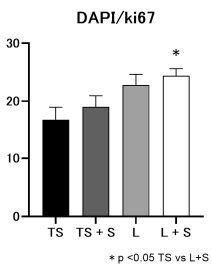
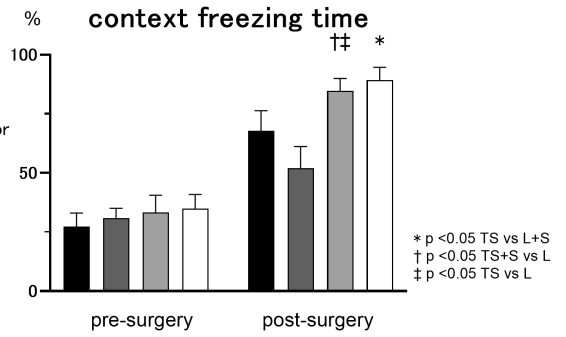
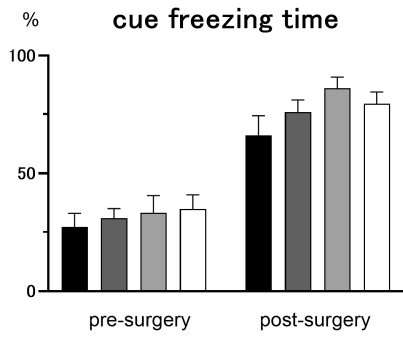
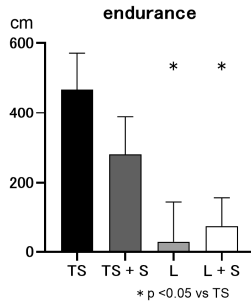
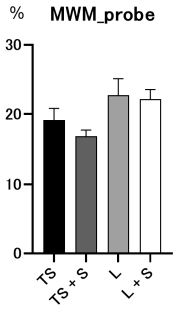
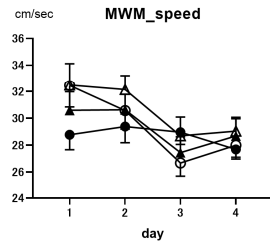
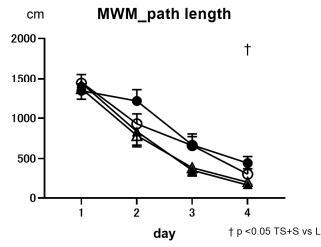
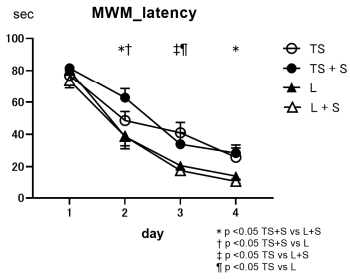
Fig4. Postoperative BDNF expression in the hippocampus was lower in the TS and TS + S groups on postoperative Day 14.



(3) リハビリテーションによるサルコペニア防止が POCD を減弱するか

MWM の遊泳距離、遊泳時間において、手術有りなしでも運動(L,L+S)群は有意に短縮した。遊泳速度に群間に有意差はなかった。FCT では、運動(L,L+S)群で有意に時間が延長した。海馬内 BDNF と神経新生は運動(L,L+S)群で有意に高値であった。

この研究より、筋萎縮があっても術前の運動により POCD が改善されることが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Nemoto A, Goyagi T, Nemoto W, Nakagawasai O, Tan-No K, Niiyama Y	4. 巻 134
2. 論文標題 Low skeletal muscle mass is associated with perioperative neurocognitive disorder due to decreased neurogenesis in rats.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anesthesia and Analgesia	6. 最初と最後の頁 194-203
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s42826-020-00083-9	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 Nemoto Akira, Goyagi Toru	4. 巻 37
2. 論文標題 Tail suspension is useful as a sarcopenia model in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Laboratory Animal Research	6. 最初と最後の頁 1 - 7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s42826-020-00083-9	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10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 根本晃、合谷木徹、新山幸俊
2. 発表標題 骨格筋衰退ラットで術後認知機能障害に対する術前運動療法の効果
3. 学会等名 第25回日本神経麻酔集中治療学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 根本晃、合谷木徹、新山幸俊
2. 発表標題 術前骨格筋量の減少は海馬内神経新生抑制を伴い術後認知機能障害を引き起こす
3. 学会等名 日本麻酔科学会第68回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 合谷木 徹
2. 発表標題 "より良い周術期管理への試行：脳機能、運動、精神、リハビリテーション 運動は認知機能を改善するか"
3. 学会等名 日本麻酔科学会第68回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nemoto A, Sunaga S, Goyagi T, Niiyama Y
2. 発表標題 Preoperative exercise ameliorates postoperative cognitive dysfunction in rats with muscle atrophy.
3. 学会等名 Euroanaesthesia 2021 Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 根本晃、合谷木徹
2. 発表標題 骨格筋量の減少は神経新生を抑え術後認知機能障害を引き起こす
3. 学会等名 第24回日本神経麻酔集中治療学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 根本晃、合谷木徹
2. 発表標題 骨格筋量の減少は術後認知機能障害を誘発させる
3. 学会等名 日本麻酔科学会第67回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nemoto A., Goyagi T.
2. 発表標題 Low skeletal muscle mass induces postoperative cognitive dysfunction in middle-aged rats
3. 学会等名 Euroanesthesia2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 根本晃、合谷木徹
2. 発表標題 ラット下肢筋力低下に及ぼす要因
3. 学会等名 第23回日本神経麻酔集中治療学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 合谷木徹
2. 発表標題 周術期における身体活動量増加のためのストラテジー
3. 学会等名 日本臨床麻酔学会第39回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 合谷木徹
2. 発表標題 運動は認知機能を改善するか
3. 学会等名 第2回神経麻酔セミナー
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
研究協力者	根本 晃 (NEMOTO Akira)		
研究協力者	宮原 麻美 (MIYAHARA Asami)		

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
---------	---------