

令和 3 年 5 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16527

研究課題名(和文) 老化促進マウスにおける敗血症関連脳障害の機序 - 神経炎症からの検討 -

研究課題名(英文) Mechanisms of sepsis-associated brain dysfunction in the senescence-accelerated mouse

研究代表者

干野 晃嗣 (Hoshino, Koji)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：40802434

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：加齢と認知機能障害の既往は、敗血症後の認知機能障害である敗血症関連脳障害の独立した危険因子とされている。我々は、認知症併高齢マウスモデルである老化促進マウスを用いて敗血症急性期のシナプス伝達や神経炎症がどのような機序で影響を受けるかを検討した。老化促進マウスでは、海馬においてミクログリアの活性化を伴うIL-1 $\beta$ の上昇が見られ、シナプス基礎伝達が低下していることが示された。また、非老化マウスでは、シナプスの基礎伝達に変化はなかったが、長期増強が低下していた。IL-1 $\beta$ の拮抗によりこれらの変化は改善し、その機序にIL-1受容体を関したシグナルが関与していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知症併高齢者における、敗血症罹患後の認知機能障害は予後に影響を及ぼすだけでなく、患者の生活の質を著しく損なうため社会的に大きな問題となる。本研究で示したシナプス可塑性の変化は、認知機能を反映する細胞学的モデルと考えられており、IL-1受容体の拮抗により認知機能改善の可能性を示した。敗血症関連脳障害を予防する治療薬は未だ存在しないが、本研究の結果からIL-1受容体を標的とした治療薬の開発が望まれる。

研究成果の概要(英文)：Aging and pre-existing cognitive impairment are considered to be independent risk factors for sepsis-associated encephalopathy. We aimed to investigate the manner in which aging and pre-existing cognitive dysfunction modified neuroinflammation and synaptic function using senescence-accelerated mice. We demonstrated that sepsis increased IL-1 $\beta$  levels in the hippocampus concomitant with microglial activation and decreased basal synaptic transmission, especially in senescence mice. Meanwhile, sepsis did not decrease the basal synaptic transmission, but impaired the synaptic plasticity in the non-senescence mice. These changes were reversed by the administration of the IL-1 receptor antagonist, meaning that IL-1 receptor-associated mechanisms were involved with these changes of the synaptic function.

研究分野：敗血症関連脳障害

キーワード：敗血症関連脳障害 シナプス可塑性 神経炎症

## 1. 研究開始当初の背景

敗血症罹患後、長期にわたり認知機能障害を来することが知られており、敗血症関連脳障害 (sepsis-associated brain dysfunction) と呼ばれている。SABD は死亡の独立した危険因子となり、しばしばその変化は不可逆的とされている。SABD の病態生理として、活性化ミクログリアを介した神経炎症が関与しているという報告が見られるが、その詳細については不明な点が多い。

我々は、過去の研究において、敗血症モデルマウスを使用し、SABD による海馬長期可塑性 (long-term potentiation: LTP) の低下に IL-1 受容体を介したシグナル伝達とミクログリアの活性化が関与していることを明らかにしてきた。

近年、老齢と罹患前からの認知機能障害が SABD 発症の独立した危険因子であることが示されたが、健康な高齢モデルを用いて SABD との関連を検討した研究は存在するものの、それらを併せ持ったモデル動物を用いた研究はこれまで存在しない。

老化促進マウス (senescence-accelerated mouse: SAM) は、AKR/J マウス種の近親交配により確立された系統で、その亜種である SAM prone 8 (SAMP8) は早期老化と学習・記憶障害を示し、認知症合併高齢モデル動物として各種研究で用いられてきた。また、SAMR1 は正常老化を示すため、コントロール種として用いられる。すでに神経変性疾患をもつ患者では、免疫学的修飾により、過剰な認知機能低下を来することが知られており、SAM を用いて SABD の研究を行うことは有用であると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、認知症合併高齢モデルマウスを用いて、敗血症急性期の海馬シナプス可塑性やシナプス伝達がどういった機序で調節されるかを明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

6 ヶ月齢の SAMP8 と SAMR1 を使用した。敗血症は盲腸結紮穿孔 (cecal ligation and puncture: CLP) により誘導し、非敗血症群は盲腸の結紮穿孔を行わない sham 手術を施行した。

(1) SAMP8 の認知機能モデルとしての正当性の評価と敗血症モデルの評価

6 ヶ月齢の SAMP8 が同月齢の SAMR1 と比較し、認知機能障害モデルとして適切であるかを行動学試験 (trace-fear conditioning test) を用いて検討した。また、CLP 施行 24 時間後の血中エンドトキシン値を測定した。

(2) SAMP8 と SAMR1 における敗血症急性期の海馬 LTP とシナプス基礎伝達の電気生理学的検討

手術施行 24 時間後に海馬の急性スライスを作成し、シャーフター側枝-CA1 経路の LTP とシナプス基礎伝達を測定した。また、短期可塑性として paired-pulse ratio の測定も行った。

(3) 海馬炎症性サイトカイン測定とミクログリア活性化の検討

手術施行 24 時間後に血液、海馬を採取し ELISA 法を用いた炎症性サイトカインの測定と、Iba-1 抗体を用いた免疫組織染色を行った。

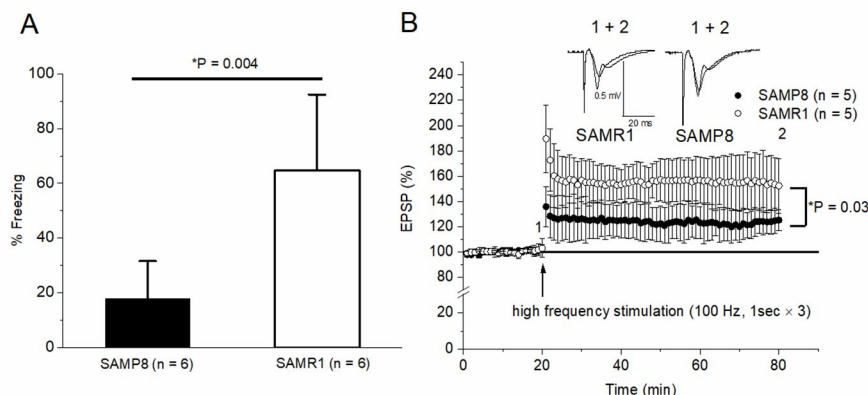
(4) IL-1ra の生体内外投与による電気生理学的変化の検討

IL-1ra を生体投与することにより、上記(3)の結果に変化を生ずるか、また生体外投与により上記(1)の結果がどう変化するかを検討を行った。

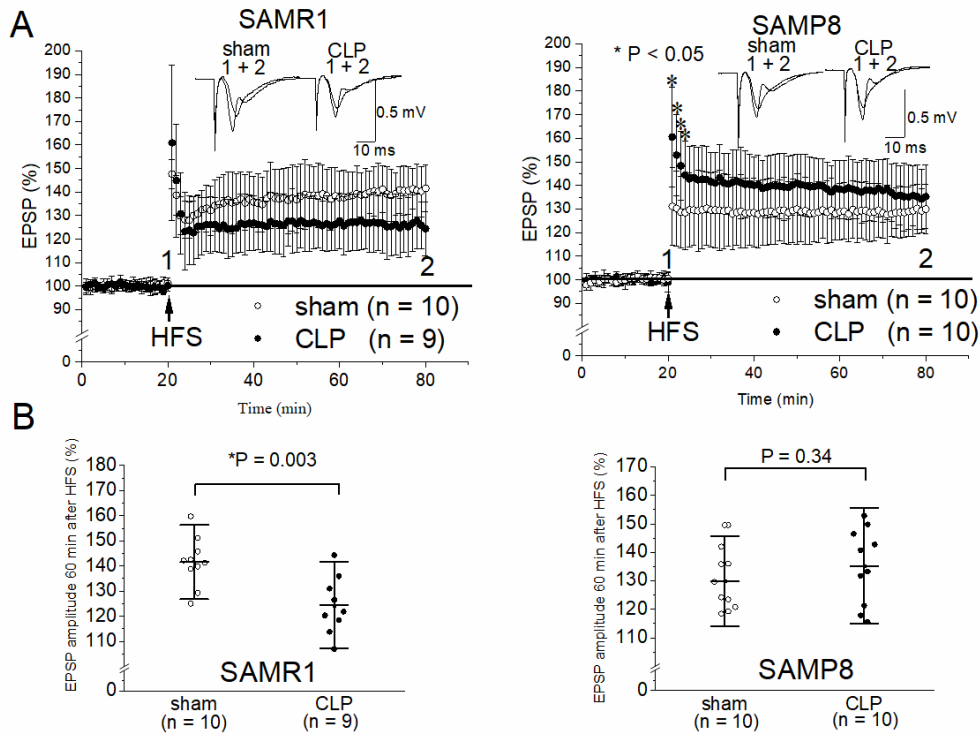
## 4. 研究成果

(1) SAMP8 の認知機能低下モデルとしての妥当性

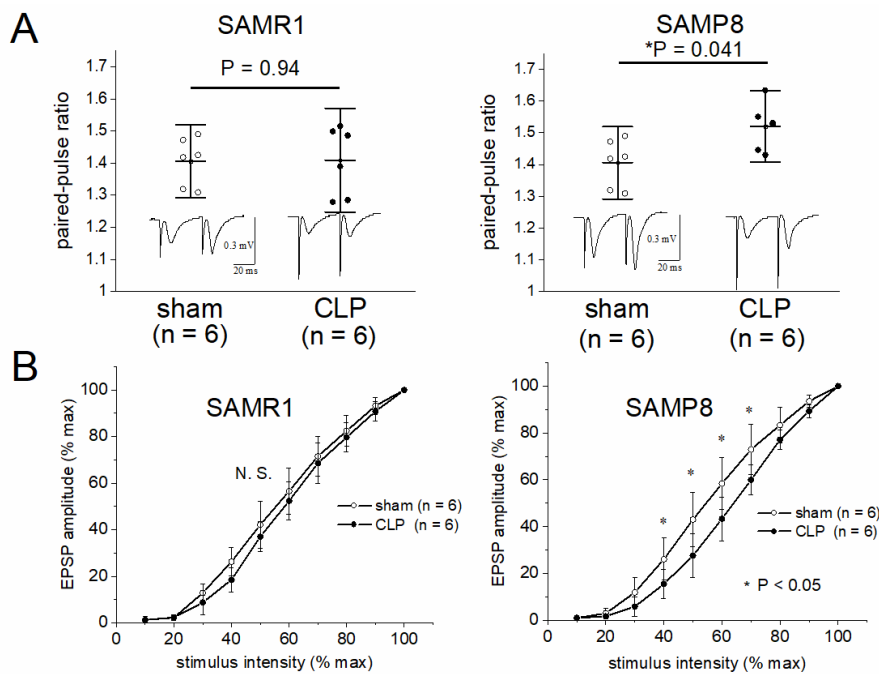
6 ヶ月齢の SAMP8 は同月齢の SAMR1 と比較して trace-fear conditioning test における freezing time の低下 (下図 A) と海馬 LTP の低下 (下図 B) を示し、認知機能障害モデルとしての妥当性が証明された。



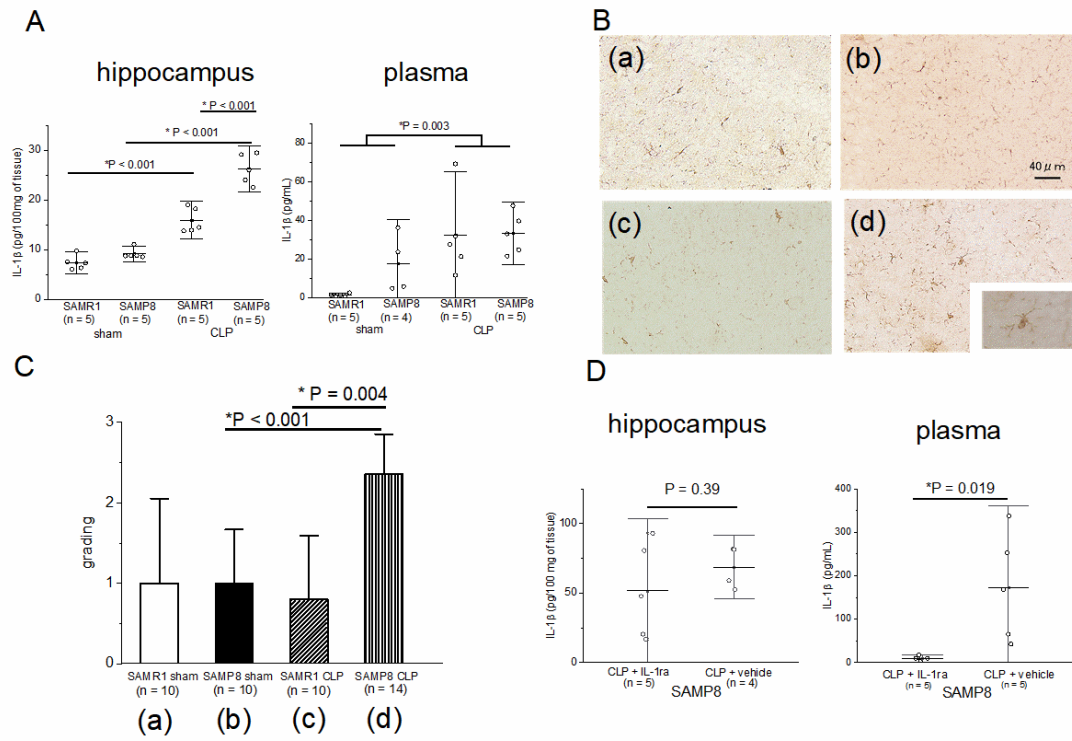
(2) CLP による SAMR1 における海馬 LTP の低下と SAMP8 におけるシナプス基礎伝達の低下  
 CLP により SAMR1 は海馬 LTP が低下するが、SAMP8 では LTP に変化はないことが示された (下図)。



一方、SAMP8 では CLP によりシナプスの基礎伝達が低下することが、入力 出力曲線や paired-pulse ratio の上昇から示唆された (下図)。

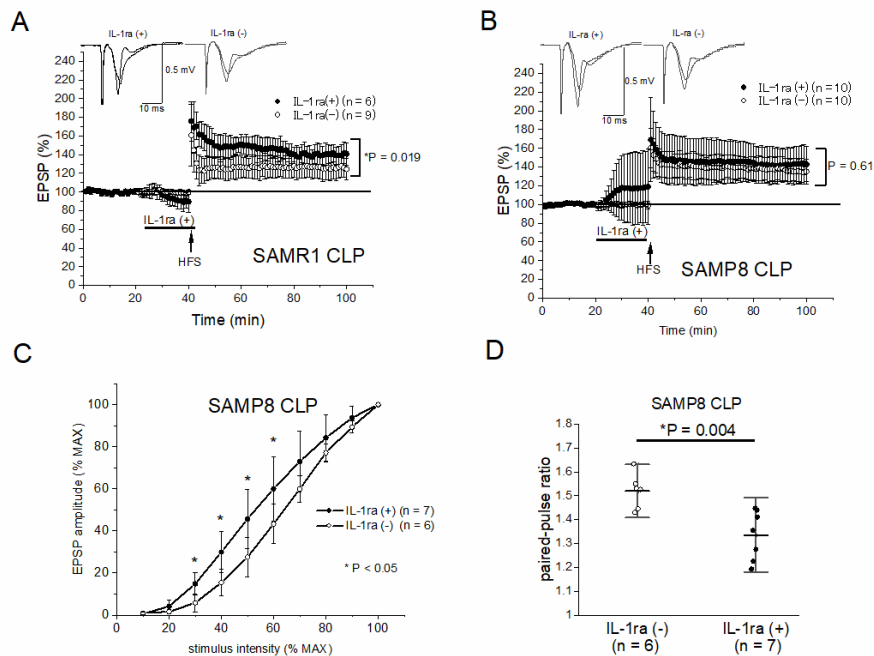


(3) CLP による SAMP8 の海馬ミクログリア活性化と海馬 IL-1 $\beta$ の上昇  
 CLP により、SAMP8 での海馬 IL-1 $\beta$ の有意な上昇とミクログリアの活性化が示された (下図 A-C)。



#### (4) IL-1ra の生体内投与による電気生理学的応答と神経炎症の変化

IL-1ra を生体投与した後に、海馬と血中の IL-1 $\beta$  を測定したところ、血中の IL-1 $\beta$  は検出不能なまで抑制されたが、海馬内の IL-1 $\beta$  は上昇したままであり、中枢由来の IL-1 $\beta$  が主であることが示唆された (上図 D)。また、IL-1ra を海馬スライスに灌流投与しながら電気生理学的検討を行うと、上記(2)で見られた変化は抑止され、IL-1 受容体を介したシグナル伝達がその変化の要因であることが示唆された (下図)。



以上の結果より、認知症合併高齢者において敗血症急性期では、海馬ミクログリアの活性化を伴う神経炎症とシナプス基礎伝達の低下が見られ、それらは IL-1 受容体を介したシグナル伝達によるものであることが示された。今後、敗血症関連脳障害を予防するための薬剤として、IL-1 受容体を標的とする必要があると考えられた。

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 Hoshino Koji, Uchinami Yuka, Uchida Yosuke, Saito Hitoshi, Morimoto Yuji	4. 巻 13
2. 論文標題 Interleukin-1 Modulates Synaptic Transmission and Synaptic Plasticity During the Acute Phase of Sepsis in the Senescence-Accelerated Mouse Hippocampus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Aging Neuroscience	6. 最初と最後の頁 637703
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnagi.2021.637703	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 0件）

1. 発表者名 干野晃嗣、打浪有可、内田洋介、斉藤仁志、森本裕二
2. 発表標題 老化促進マウスを用いた敗血症急性期の海馬神経炎症とミクログリア活性化の検討
3. 学会等名 第24回日本神経麻酔集中治療医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 干野晃嗣、内田洋介、斉藤仁志、打浪有可
2. 発表標題 老化促進マウスにおける敗血症急性期の海馬シナプス応答の変化は非老化マウスとは異なる
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

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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