

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09331

研究課題名(和文) 腸内細菌叢の安定化を主軸とした、周術期神経炎症関連疾患の予防戦略

研究課題名(英文) Prevention strategies for perioperative neuroinflammation related diseases with a focus on stabilization of intestinal microbiota

研究代表者

山蔭 道明 (Yamakage, Michiaki)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：70285005

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：手術麻酔介入後に麻酔下で盲腸内容物を回収したメタゲノム解析においては、群間に有意な変化を探索することができなかった。介入のタイムラインなどを再検討する必要があることが示唆された。盲腸内容物の構成変化は、急性に変化するものでない一方で、手術モデル群におけるせん妄行動変化は確認できた。ELISA法における検討を加えたものの、群による大きな差はこちらも見られなかった。追加実験を行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義
ヒトにおけるせん妄予防の実証研究、特に術後のせん妄の解決手段として、腸内細菌叢の改善を狙った戦略を立てる上でのヒントが得られたものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In a metagenomic analysis of cecal contents collected under anesthesia after surgical intervention, we were unable to explore significant changes between the groups. It was suggested that the timeline of intervention and other factors need to be re-examined. While the composition of the cecal contents was not acutely altered, we did find changes in delirium behavior in the surgical group, with no significant differences between groups. Additional experiments are planned.

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

研究分野：神経麻酔学

キーワード：神経麻酔 せん妄 腸内細菌叢 行動変化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

術後の急性せん妄は、高齢者や免疫不全患者に発症しやすいとされており、その発症率はおよそ 20%になるにも関わらず、コントロールできていないのが現状である。医療者側の人的負担や不必要な薬剤使用による経済的損失、患者家族への精神的負担が大きい、など問題となることが多く解決すべき合併症である。近年では、急性せん妄や不安行動の発生機序は解明されつつあり、麻酔や手術ストレスが、TNF- α やインターロイキンなど炎症性サイトカインの誘導性を高め、血液脳関門を超えて炎症を波及することによって、脳内におけるミクログリアの過活性を促すことが、中枢神経系へ直接的に異常をもたらす

腸内細菌叢は生体内免疫の相当部分を担い、腸と脳との間で液性因子を通じて互いに連動していることや、これらの腸脳相関を安定化させる栄養素があるということも実証されつつある。

しかしながら、周術期ストレスが腸管に与える影響、腸内細菌叢にどのような変化をもたらすのかを具体的に示しているものはない。また、周術期ストレスが腸内細菌叢を介して、どのような機序で脳内に影響を及ぼすのかに関しては解明されていない。

2. 研究の目的

脳腸相関の機序を明らかにし、腸管免疫機構のコントロールを主軸とした脳内炎症の予防戦略を確立することが本研究における、最大の目的である。また、本研究によって得られた知見は、腸管免疫機構も含めた生体内における炎症コントロール機序を明らかにするだけでなく、急性せん妄や不安行動を予測するためのバイオマーカーを確立して、かつ、網羅的解析手法を用いた新規創薬につながる可能性を探索することも目的の一端である。

3. 研究の方法

【初年度】

(1) せん妄が出現しやすいとされている高齢者を想定して週齢が 52 週以上のマウスを使用する。通常群(麻酔や手術のストレスを与えていないもの)、吸入麻酔曝露群(セボフルラン曝露群)、手術モデル群(セボフルラン曝露下で開腹手術を受けたもの)の 3 群に分類する。介入後に麻酔下で盲腸内容物を回収して次世代シーケンサーによるメタゲノム解析を施行し、腸内細菌叢の変動を解析する。同時に、各群マウスの心臓より採血を行い、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 血漿濃度を ELISA 法で確認する。

(2) 別のマウスグループを用いて、各群マウスをセボフルラン麻酔下に断頭し、海馬・扁桃体を単離し、RNeasy plus micro キットを用いて全 RNA を抽出する。

(3) 免疫蛍光染色を行い、海馬・扁桃体におけるミクログリア活性の局在を観察記録する。

【次年度】

初年度の結果を受けて、3 群の行動学的解析を行うことを計画している。具体的には急性せん妄や不安行動を解析するために、オープンフィールド試験とバーンズメイズ試験を行う。また同様の 3 群のマウスに対して、炎症抑制性サイトカインである IL-10 の投与や、腸内細菌叢安定のためのプロバイオティクスを食餌に混ぜて事前投与することで、抗炎症効果による行動学的改善を認めるかを検討する。

【次々年度】

ヒトにおいても、マウスと同様の結果を得られるのかを、全身麻酔下で手術を受ける患者を対象に検討する。全身麻酔を予定された 65 歳以上の高齢者を選び、採血を行って候補遺伝子の発現量を測定しておき、急性せん妄や精神不安行動の評価を NEECHAM スケール・QIDS-J を用いて、術前と術後に測定することにより臨床的解析を加える

4. 研究成果

各群における、介入後に麻酔下で盲腸内容物を回収したメタゲノム解析においては、群間に有意な変化を探索することができなかった。介入のタイムラインなどを再検討する必要があることが示唆された。盲腸内容物の構成変化は、急性に変化するものでない一方で、手術モデル群におけるせん妄行動変化は確認できた。

ELISA 法における検討を加えたものの、群による大きな差はこちらも見られなかった。追加実験を行う予定であったが、コロナ禍による動物出荷の遅延などの影響もあり、検討を重ねることができなかった。

またヒトにおける実証研究を始める予定であったが、こちらもコロナ流行による手術制限や

病棟立ち入り制限の影響を受け、十分に行うことができなかった。今後の課題として早急に実施していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	立花 俊祐 (TACHIBANA Shunsuke) (30737309)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	
研究分担者	西原 教晃 (NISHIHARA Noriaki) (70836436)	札幌医科大学・医学部・研究員 (20101)	

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