

平成 23 年 6 月 26 日現在

研究種目：	若手研究(B)
研究期間：	2009～2010
課題番号：	21791337
研究課題名(和文)	大動脈術後の脳障害関連遺伝子スクリーニング
研究課題名(英文)	Gene expression profiles associated with neurocognitive decline after aortic surgery under deep hypothermic circulatory arrest.
研究代表者	
	三重野 繁敏 (Mieno Shigetoshi)
	大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号：	10411373

## 研究成果の概要(和文)：

本研究では、直腸温 18 度の循環停止下に行った大動脈手術後に発生する一時的脳合併症の発生率とそれに関連する遺伝子発現変化を脳高次機能テストとマイクロアレイ法を用いて行った。術後脳高次機能障害の発生率は 60%であった。術前後の血液サンプルを用いたマイクロアレイによる解析では、高次機能障害の有無によって区別された 2 群間比較において、炎症反応、免疫反応に関連する遺伝子の発現変化に差異を認め、これらが術後脳高次機能障害に関連していることが示唆された。

## 研究成果の概要(英文)：

This study was examined incidence of temporary neurocognitive decline (NCD) and change in gene expression associated with NCD after aortic surgery utilizing deep hypothermic circulatory arrest. Neurocognitive decline (NCD) occurred at 60% after the aortic surgery. The change in gene expression between pre-and post-operative blood sample was compared by microarray analysis. Change in the gene expression involved in inflammatory and immune responses was associated with NCD after aortic surgery utilizing deep hypothermic circulatory arrest.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：心臓大血管外科

## 1. 究開始当初の背景

脳障害の種類は可逆、不可逆によって2つのタイプに分かれる。冠動脈バイパス手術後の脳障害のガイドラインでは、術中の塞栓症、低灌流などによって起こる明らかな局所所見を伴う障害をタイプ1と分類している。発生頻度は1-5%である。一方、明らかな局所所見は伴わないが、せん妄など知力及び記憶などの脳機能低下を認めるものをタイプ2脳障害と分類し、発生頻度は、40-65%である。これまで大動脈手術の際、タイプ1の脳障害を低減するために尽力し、順行性大動脈送血、逆行性脳灌流、循環停止下の大動脈開放吻合などの工夫を行ってきた。しかし、タイプ2脳障害いわゆる一時的な高次脳機能障害についてはほとんど調査されていないのが現状である。

## 2. 研究の目的

胸部大動脈瘤に対して直腸温18度循環停止下で行った大動脈手術後に発生する一時的脳高次機能障害の発生率とそれに関連する遺伝子発現変化を脳高次機能テストとマイクロアレイ法を用いて行った。

## 3. 研究の方法

### (1) 対象

承諾が得られた連続10例の胸部大動脈瘤の患者を対象とした。胸骨正中切開で直腸温18度で末梢側吻合は循環停止で行った。頸部分枝を再建する場合は、選択的脳灌流を行った。頸部分枝を再建しない場合は単純脳循環停止とした。

### (2) 脳高次機能テスト

術前後に脳高次機能テストとして、知的機能、注意力、記憶力、遂行機能を評価し

た。合計で10項目の評価試験を行った。評価はスコア化し、術前と比べて20%以上の減点を2つ以上認めた場合を脳高次機能障害と定めた。

### (3) マイクロアレイ解析

術前後で末梢血を採取し、mRNAを抽出した。抽出、精製したRNAからcDNAを合成し、マイクロアレイgene chipにハイブリダイゼーションを行った。Gene chipには、30000以上の遺伝子情報が搭載されている。合計20サンプルに対して、遺伝子の発現を評価した。

術前をコントロール(Cont群)とし、術後脳障害あり(NCD群)と脳障害なし(WNCD群)の3群に分け、クラスター分類を行った。3群間のシグナルの挙動によって、クラスター解析を行った。

クラスター解析の結果に基づいて、Cont群と比較して、NCD群あるいはWNCD群で有意な遺伝子の発現変化を評価した。さらに、Gene ontology解析、Pathway解析を施行し、遺伝子発現変化の意義を総合的に把握するようにした。

## 4. 研究成果

### (1) 患者背景

胸部大動脈瘤 8例、大動脈解離 2例であった。男性 8例、女性 2例であった。平均年齢は69.6歳であった。全弓部大動脈人工血管置換術 4例、大動脈弁置換術+上行大動脈人工血管置換術 3例、大動脈弁置換術+全弓部大動脈人工血管置換術 2例、上行大動脈人工血管置換術 1例であった。

### (2) 脳高次機能テスト

脳障害ありと判定された患者は6例であ

った。5例が男性であった。全弓部大動脈人工血管置換術 4例、大動脈弁置換術+上行大動脈人工血管置換術 2例であった。

脳高次機能テスト10項目のうち、4項目、3項目、2項目で低下を認めた者がそれぞれ2人ずつであった。注意力と遂行機能の低下が顕著であった。

脳障害を認めなかった患者を4例認めた。3例が男性、1例が女性であった。行った術式は、大動脈弁置換術+上行大動脈人工血管置換術 2例、大動脈弁置換術+全弓部大動脈人工血管置換術 1例、上行大動脈人工血管置換術 1例であった。

### (3) マイクロアレイ解析

クラスター分類によって、3郡間の遺伝子シグナルの挙動によって、最終的に7グループに分類することができた。

Cont群と比較して、術後に有意な発現増加を示した遺伝子を4265個認めた。

そのうち、WNCD群と比較してNCD群で2倍以上のシグナル強度を示した遺伝子を40個認めた。反対にNCD群に比べて、WNCD群で2倍以上のシグナル強度を示したものを2個認めた。

Cont群と比較して、術後に有意な発現減少を示した遺伝子を4523個認めた。そのうちWNCD群に比してNCD群で1/2以下のシグナル強度を示した遺伝子を119個認めた。一方、NCD群と比較して、WNCD群で1/2以下のシグナル強度を示した遺伝子を1個認めた。

Gene ontology解析を行った結果、リンパ球の活性化、増殖などを含む炎症反応、免疫反応に関連する遺伝子の発現が変化していた。NCD群ではWNCD群に比べて、CD8b molecule (Genbank Accession No. NM\_172102)、

lectin, galactoside-binding, soluble, 12 (Genbank Accession No. NM\_03310)、alpha-lactalbumin (Genbank Accession No. NM\_030981)の発現が1/2倍以下であった。生物学的プロセスにおけるこれら遺伝子の意義は、リンパ球の活性化、アポトーシスの誘導であった。

Pathway解析の結果では、Cont群と比べてNCD群とWNCD群合わせて、70個のシグナル伝達経路で遺伝子発現増加を認めていた。その中で、Chemokine signaling pathway中の52個の遺伝子が、T cell receptor signaling pathway中の33個の遺伝子が、leukocyte transendothelial migration中の33個の遺伝子が、Apoptosis中の26個の遺伝子がシグナル強度の増加を示した。これらのシグナル経路は、いずれも、P値が0.0001以下であった。一方で、Cont群と比べてNCD群とWNCD群合わせて、11個のシグナル伝達経路で遺伝子のシグナル強度の低下を認めた。Primary immunodeficiency中の11個の遺伝子が、Cell adhesion molecules中の28個の遺伝子がシグナル低下を示した。いずれも、P値が0.001以下であった。

### (4) 総括

大動脈手術における高次脳機能障害は60%に認められ、特に、注意力と遂行機能の低下が顕著であった。

深低体温循環停止下に行う大動脈手術後に生じる一時的脳高次機能障害の発生に、リンパ球の活性化や増殖を含む炎症反応、免疫反応の変化が関連している可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 4 件）

(1) Mieno S., Ozawa H., Daimon M., Woo E., Sasaki T., Katsumata T.

Minimizing cerebral embolism in resection of distal aortic arch aneurysm through a left thoracotomy. Ann Thorac Surg. 2011; 91: 472-477

(2) Mieno S., Ozawa H., Tanigawa J, Kurisu Y, Katsumata T. A surgical case of excision of infected aneurysm arising from anterior interosseal artery following infectious endocarditis. J Vasc Surg. 2011; 53: 1104-1106

(3) Mieno S., Ozawa H, Katsumata T. Ascending aortic injury caused by a fractured sternal wire 28 years after surgical intervention of pectus excavatum. J Thorac Cardiovasc Surg. 2010; 140(1):e18-20.

(4) 三重野繁敏, 小澤英樹、大門雅広、佐々木智康、禹英喜、勝間田敬弘. Kommerell 憩室に対する外科治療経験. 日本心臓血管学会雑誌 2011 ;

〔学会発表〕（計 1 件）

(1) 大門 雅広、三重野 繁敏ら Shaggy Aorta を伴う胸部下行. 胸腹部大動脈瘤に対する外科治療成績. 第 38 回日本血管外科学会学術総会 2010 年 5 月 20 日 さいたま市

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

三重野 繁敏 (Mieno Shigetoshi)  
大阪医科大学・医学部・助教  
研究者番号：10411373