

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08843

研究課題名（和文）老化促進モデルマウスを用いた術後高次脳機能障害ならびに認知症への麻酔・手術の影響

研究課題名（英文）Effect of anesthesia and surgery on postoperative cognitive dysfunction and dementia in senescence accelerated mouse

研究代表者

森本 裕二（Morimoto, Yuji）

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：00250457

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）：加齢・認知機能障害合併マウスにおいて、麻酔・手術が認知機能に及ぼす影響を検討した。結果は、通常マウスにおいては、手術後のみ神経炎症が増強していたのに比較して、加齢・認知機能障害合併マウスでは、麻酔暴露のみでも海馬における炎症性サイトカインの上昇を認め、神経炎症の増強を明らかにした。

しかし、行動学試験においては加齢・認知機能障害合併マウスの、術後認知機能障害について検出できなかった。理由としては、麻酔・手術を行わないコントロール群で既に認知機能が大幅に低下しており、麻酔・手術の影響を検出することができなかったためと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化が進行し、高齢患者、認知機能低下患者の手術機会は年々増加傾向にある。高齢、認知機能低下はそれぞれ術後認知機能障害発症のリスクファクターであることは明らかとなっているが、その合併患者における術後認知機能低下が非高齢、非認知機能低下患者と比較してどのような特徴があるかについては十分検討されていない。本研究は、高齢・認知機能低下合併患者における認知機能障害の原因や機序を明らかにして予防、対策につなげることを目的とした。

研究成果の概要（英文）：We examined the effects of anesthesia and surgery on cognitive function in mice with aging and cognitive dysfunction. In contrast to normal mice, in which neuroinflammation was enhanced only after surgery, mice with cognitive impairment and aging showed increased inflammatory cytokines in the hippocampus even after anesthesia exposure alone, indicating enhanced neuroinflammation. However, behavioral studies failed to detect any postoperative cognitive dysfunction in the aged and cognitively impaired mice. The reason for this is that the cognitive function of the control group without anesthesia or surgery had already declined significantly, and the effects of anesthesia and surgery could not be detected.

研究分野：麻酔・集中治療・疼痛

キーワード：術後高次機能障害 認知症 麻酔 手術 高齢

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

術後認知機能障害(Postoperative cognitive decline :POCD)は、1950年代から神経心理検査によって診断され、術後に発症する認知機能障害として提唱された概念である。POCDの罹患率は60歳以上の非心臓手術術後1週間時点で約15-25%であり、早期に診断・治療されないことで死亡率が上がることを示されている。POCDのリスクファクターとしては、高齢、術前の認知機能障害、低教育歴、脳血管疾患の既往歴、手術時間、手術内容(心血管・整形)、フレイル、術後呼吸器合併症、術後感染症などがあげられている。

POCDの機序としては以下のように考えられている。手術等により傷ついた細胞はHMGB1などのDAMPsを放出し、それが末梢に存在するPBMCsに結合することで、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6などの炎症性サイトカインの放出を促進する。炎症性サイトカインによる脳血液関門の破壊により、サイトカインやPBMCsが中枢へ移行し、ミクログリアを活性化、活性化したミクログリアから放出された炎症性サイトカインにより神経炎症が増幅し、シナプス可塑性を破綻させることでLTP異常を起こし、認知機能障害を発症する。

老化促進モデルマウス(Senescence-accelerated mouse : SAM)は、早老の特徴を示すマウス種で、AKR/Jマウス種から偶然に早期老化の特徴を持つマウスを近親交配したものである。SAMR1は、SAMの中で通常の老化を示す亜型であり、SAMP8は、成長過程は通常だが早老の特徴を示し、平均寿命はSAMR1の約40%を示すSAMPの亜型とされている。学習障害と記憶障害を呈することが特徴で、認知機能障害モデルとして利用される。SAMP8はPOCDのハイリスクと考えられるが、SAMにおけるPOCDの検討は報告がない。

### 2. 研究の目的

POCDのリスクファクターである高齢・認知機能障害を合併したSAMP8を使用して、手術侵襲・麻酔が、認知機能・神経炎症に与える影響について明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 使用動物と介入

20-24週齢のSAMR1とSAMP8を使用し、麻酔・手術を行うものをgroup S、麻酔のみ行うものをgroup A、麻酔も手術も行わないものをgroup Cとした。手術は、脛骨骨折手術モデルを採用した。これは、マウスの後肢、脛骨の骨髓内に髄内釘を挿入した後に骨切り術を施行するもので、足の骨折手術に類似した侵襲のモデルである。

#### (2) 分子生物学的評価

全身炎症と神経炎症の評価として、術後6時間での血漿と海馬それぞれで、炎症性サイトカインであるIL6を、ELISA法を用いて測定した。

### (3) 行動学試験

行動学試験として、電気刺激による恐怖記憶を保持できているか確認する fear conditioning test を行った。スケジュールは、電気刺激による training を手術 30 分前に行い、記憶の確認として術後 3 日目に、電気刺激を行ったのと同じ環境で、無刺激で観察を行う context test を行った。マウスは通常状態では探索行動を行うが、電気刺激の記憶が残っていると freezing する。4 分の観察時間に対する freezing 時間を計測ソフトで計測し、%freezing として測定して評価した。行動学試験に関しては、脛骨手術による運動機能低下の影響を取り除くため、手術侵襲に代わって、手術侵襲により上昇するとされる HMGB1 を腹腔内投与して行動学試験も合わせて行った。

### (4) 統計

2 群比較は t 検定を用い、3 群比較は One way ANOVA で有意であった場合に、Turkey-Kramer の HSD 検定を行った。表記は、平均 ± SD とし、 $P < 0.05$  を有意差ありとした。

## 4. 研究成果

### (1) 海馬と血漿における IL-6 の測定

血漿は SAMR1 では group S で IL6 が有意に増加した (group C vs group A vs group S:  $1.02 \pm 2.49$  vs  $7.55 \pm 17.89$  vs  $133.13 \pm 35.27$ , 各群 n=6: 図 1 a)。SAMP8 でも同様に group S で IL6 が有意に増加した (group C vs group A vs group S:  $2.93 \pm 6.28$  vs  $7.78 \pm 15.48$  vs  $90.92 \pm 24.68$ , 各群 n=6: 図 1a)。海馬においては、SAMR1 で、group S のみで海馬の IL-6 の有意な上昇を認め、(group C vs group A vs group S:  $155.89 \pm 19.30$  vs  $160.97 \pm 15.63$  vs  $346.86 \pm 44.83$ , 各群 n=6: 図 1b) SAMP8 では group A と group S で海馬の IL-6 の上昇を認めた (group C vs group A vs group S:  $92.43 \pm 20.78$  vs  $266.96 \pm 31.05$  vs  $195.27 \pm 30.51$ , 各群 n=6: 図 1b)。

図 1 a

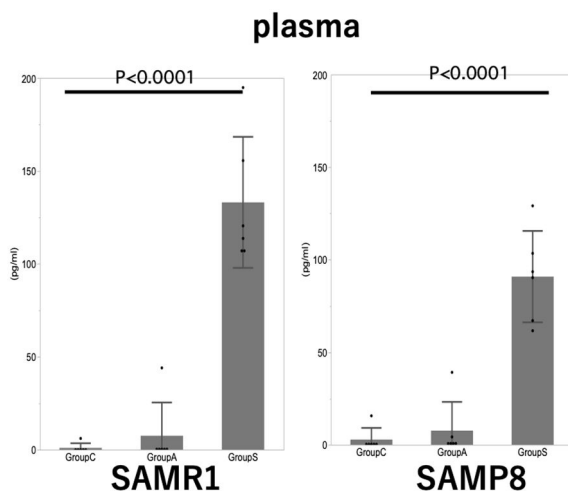
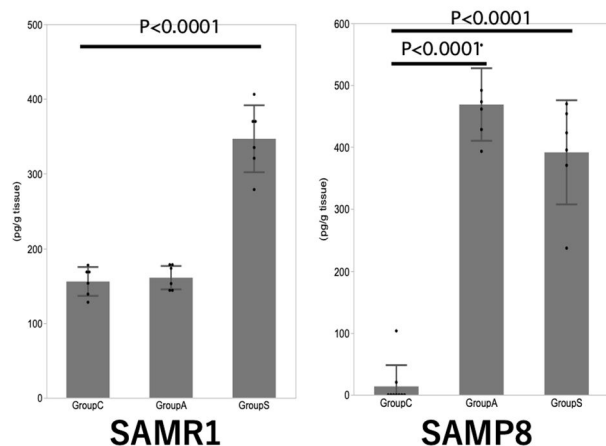


図 1 b

## hippocampus

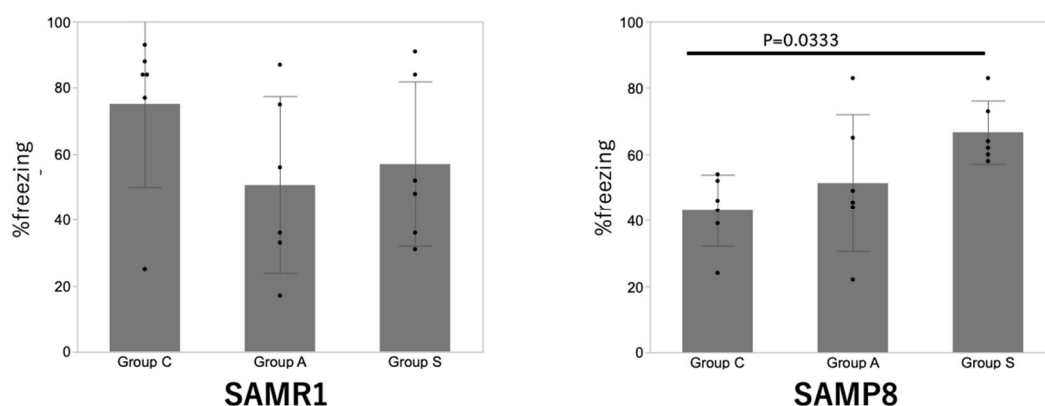


### (2)行動学 脛骨骨折モデル

SAMP8 の group C は SAMR1 の group C に比較して有意に%freezing が低下しており ( $17.8 \pm 13.7\%$  vs.  $64.7 \pm 27.7\%$ , 各群  $n = 6$ ,  $P = 0.004$ )、SAMP8 の認知機能が低下していることが示唆された。

それぞれの種での比較では、SAMR1 において、group C と比較して group A、group S での%freezing は、有意差はなかったものの低下傾向を認めた。(group C vs group A vs group S:  $75.17 \pm 25.14$  vs  $50.67 \pm 26.84$  vs  $57 \pm 24.93$ , 各群  $n = 6$ , :図 2)

しかし、SAMP8 においては、group C と比較して group A、group S で%freezing の低下は認めなかった (group C vs group A vs group S:  $43.0 \pm 10.84$  vs  $51.33 \pm 20.73$  vs  $66.67 \pm 9.54$ , 各群  $n = 6$ : 図 2)。

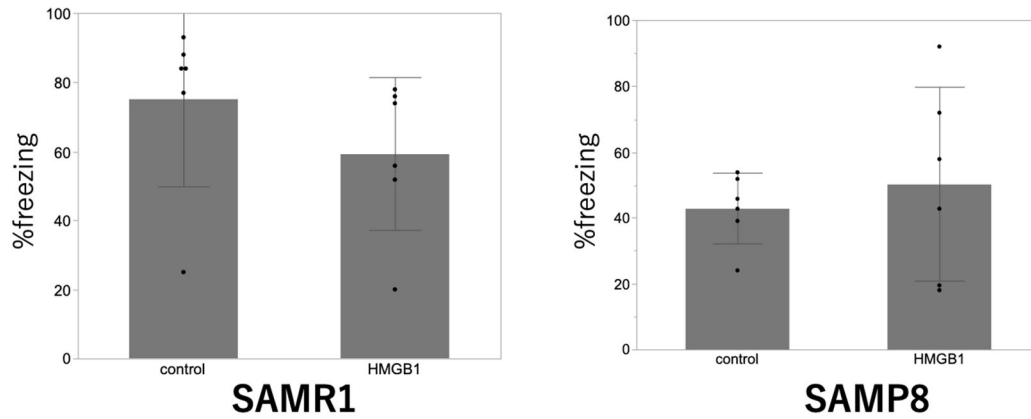


### (3)行動学 HMGB1 モデル

SAMR1 においては、HMGB1 投与群において%freezing は低下傾向にあった。(control vs HMGB1:  $75.17 \pm 25.13$  vs  $59.33 \pm 22.15$ , 各群  $n = 6$ ,  $p = 0.2739$ : 図 3) 一方、SAMP8 においては、control 群と HMGB1 群で%freezing に差は認めなかった。(control vs HMGB1:  $43.00 \pm 10.84$  vs  $50.33$

±29.48, 各群 n = 6, p=0.5800:図3)

図3



#### (4)まとめ

SAMP8において、麻酔・手術侵襲による神経炎症が惹起されやすいことが示唆されたが、認知機能の低下を行動学で示すことはできなかった。

原因として、SAMP8 のもともとの認知機能の低下が高度であることが可能性として考えられ、SAMP8 は侵襲による認知機能低下を行動学で証明するモデルとしては、適切ではない可能性があると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuka Uchinami, Yosuke Uchida, Wang Wei, Koji Hoshino, Hitoshi Saito, Yuji Morimoto
2. 発表標題 Anesthesia Exposure as Well as Surgery Induces Neuroinflammation in Senescence-accelerated Prone Mouse 8
3. 学会等名 American Society of Anesthesiologists annual meeting (国際学会)
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
研究分担者	斉藤 仁志  (Saito Hitoshi)  (10455694)	北海道大学・大学病院・講師    (10101)	

	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	打浪 有可  (Uchinami Yuka)		
研究協力者	内田 洋介  (Uchida Yosuke)		

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