

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10533

研究課題名(和文)術後認知機能障害のメカニズムの解明と予防法の開発：ミクログリアをターゲットとして

研究課題名(英文)A study for the mechanism of postoperative cognitive dysfunction and development of prevention method

研究代表者

高澤 知規 (TAKAZAWA, TOMONORI)

群馬大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30400766

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：老化促進マウスであるSAMP8とコントロールマウスSAMPR1を用いて術後モデル動物を作成し、抗菌薬のミノサイクリンに術後認知機能障害(POCD)の予防効果があるかを調べた。POCDは麻酔よりも手術による侵襲により引き起こされること、ミノサイクリンにPOCDの予防効果があることを発見した。SAMP8ではミノサイクリンによって術後1日目のTNF- $\alpha$ 濃度の上昇が抑制された。ミノサイクリンは血液中のサイトカイン濃度を低下させPOCDの予防効果を発揮することが示唆された。ミノサイクリンが術後の認知機能に与える影響を調べるMINPOC-Jトライアルは、予定数のデータ取得がほぼ終了した。

研究成果の概要(英文)：Postoperative model animals were prepared using SAMP 8 which is a senescence promoting mouse and control mouse SAMPR 1 and examined whether antibiotic minocycline has a preventive effect on postoperative cognitive dysfunction (POCD). We discovered that POCD is caused by surgical invasion rather than anesthesia, that minocycline has a preventive effect on POCD. In SAMP 8, the minocycline suppressed the increase in TNF- $\alpha$  concentration on the first day after surgery. It was suggested that minocycline reduces the cytokine concentration in the blood and exerts the preventive effect of POCD. The MINPOC-J trial, which examines the effect of minocycline on postoperative cognitive function, nearly completed acquisition of the scheduled number of data.

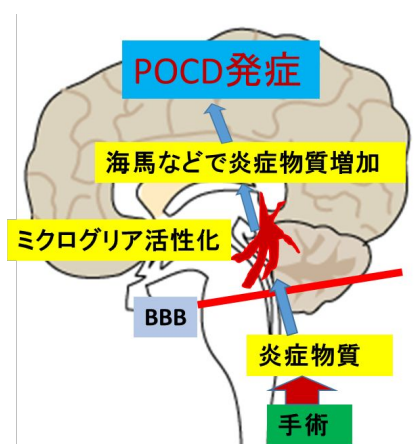
研究分野：麻酔科学

キーワード：ミクログリア サイトカイン ミノサイクリン

## 1. 研究開始当初の背景

術後認知機能障害 (postoperative cognitive dysfunction, POCD) は手術後に発症して長期間持続する認知障害であり、この病態によって術後患者の日常生活に支障を来す症例は少なくない。非心臓手術を受ける高齢患者では、その発症確率が 10% にのぼり、POCD を発症した患者は死亡率が上昇するという報告がある。これまでの研究では、POCD のリスク因子として、高齢、手術の侵襲程度、術前から存在する軽度認知障害 (mild cognitive impairment, MCI) などが挙げられている。

POCD 発症のメカニズムは十分解明されているとは言えない。これまでの研究では、海馬における炎症性サイトカイン IL-1 の発現程度と術後の認知機能の低下が関連していることが示された。また、サイトカインによって活性化されたミクログリアは、自らがサイトカインを放出して神経を障害することが明らかになった。こういった研究成果をふまえて、POCD の発症メカニズムとして以下のようなことが想定できる (下図参照)。



手術により組織の炎症が発生し、サイトカイン (IL-1、TNF、IL-6) が血液中に放出される。

脳内のサイトカイン濃度が上昇する。

サイトカインによりアセチルコリン作動性抑制性ニューロンが障害を受け、ミクログリアが活性化する。

活性化したミクログリアがサイトカインを放出し、神経を障害する結果 POCD が発症する。

テトラサイクリン系抗生剤のミノサイクリンが開腹術後モデル動物で神経の炎症を抑制し、認知機能低下が防止できたとの報告がある。また、脳梗塞発症急性期の患者にミノサイクリンを投与したところ、脳卒中重症度スケール値が有意に改善したとの報告もある。これ以外にも、中枢神経系の多くの疾患 (脊髄損傷、アルツハイマー病など) の治療にミノサイクリンの神経保護作用を応用する試みが行われている。

## 2. 研究の目的

老化促進マウスであり MCI と類似の症状を示す Senescence Accelerated Mouse-Prone 8 (SAMP8) と、正常老化を示す SAMR1 を用いて術後モデル動物を作成し、両者で術後の認知機能に違いがみられるかを調べる。それぞれのマウスで手術後の脳内にどのような変化が起きたかを比較する。

術後にミクログリアがいつ、どこで、どのように活性化されるのかを調べる。その影響によりニューロン機能にどのような変化がみられるかを明らかにする。

膝関節全置換術を受ける患者 400 名を対象とした MINOPOC-J トライアル (臨床研究責任医師: 高澤 知規、UMINID: 000014620) を行い、ミノサイクリンが術後の認知機能に与える影響を調査する。

## 3. 研究の方法

老化促進マウスである Senescence Accelerated Mouse-Prone 8 (SAMP8) と

コントロールマウス SAMPR1 を用い、開腹肝臓切除術後モデルを作成した。モデル動物を、手術のみ実施した群、ミノサイクリン投与群、生食群投与群、麻酔のみ実施した群の 4 群に分け、手術を行わなかった観察群を合わせた 5 群で、行動実験とサイトカイン濃度測定の結果を比較した。

行動実験としては、Y 迷路試験を行い、マウスの自発的交替行動を観察して、自発行動量と空間作業記憶を評価した。また、ELISA 法により血液中の TNF の濃度を測定した。

手術侵襲によって抹消組織でサイトカインが放出されると、数時間後には脳内のミクログリアに変化が生じることが予想される。そこで、ミクログリアに選択的に発現する *Iba1* をプロモーターとして EGFP を発現させた *Iba1*-EGFP マウス（連携研究者の高鶴氏が保有）を用いた術後モデル動物を作成し、大脳皮質のミクログリアの形態を手術の前後で比較した。

その他、ミノサイクリンによる POCD の予防効果を調べるため、膝関節置換術を受ける患者を対象として、二重盲検ランダム化比較試験(MINPOC-J トライアル)を継続中である。

#### 4 . 研究成果

Y 迷路試験の結果、SAMP8 の手術群は、観察群と比較して自発的交替率が低下したが ( $P < 0.05$ , Two way repeated measures ANOVA post hoc Tukey test)、ミノサイクリン群では低下しなかった。SAMR1 では、手術群と観察群の自発的交替率に差はなかった。

SAMP8 において、手術後 1 日目に TNF の濃度が上昇したが、ミノサイクリン投与群は有意に低かった。一方、SAMR1 では TNF の濃度上昇が小さく、ミノサ

イクリンの効果は認められなかった。

*Iba1*-GFP マウスでは手術後に、ミクログリアの突起のうち伸縮した突起の割合が増加した ( $P < 0.05$ , t-test)。

これらの結果により、高齢が POCD の危険因子となることが裏付けられた。さらに、ミノサイクリンは術後のサイトカイン上昇を抑制することで POCD に対して予防効果を発揮することが示唆された。ミノサイクリンにはミクログリアの抑制効果が報告されていることから、POCD によって活性化したミクログリアをミノサイクリンが抑制した可能性がある。

MINPOC-J トライアルは、予定数のデータ取得がほぼ終了した。

#### 5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

1. 堀内辰男, 高澤知規, 齋藤繁. 術後高次脳機能障害(POCD)-主に非心臓手術後 POCD のメカニズムと対処法-. 臨床麻酔 39:11-17, 2015. 査読あり

2. 高澤知規, 高岸憲二, 池田佳生, 堀内辰男. 抗生剤ミノサイクリンの神経保護作用を応用した高齢患者の手術後認知機能障害予防法の開発. 大和証券ヘルス財団研究業績集 39:23-25, 2016. 査読なし

[学会発表](計 1 件)

堀内辰男, 高澤知規, 高鶴祐介, 齋藤繁. ミノサイクリンは術後認知機能障害を予防できるか

第 21 回日本神経麻酔集中治療学会、下関 2017 年 6 月 30 日

〔図書〕(計1件)

Horiuchi T, Takazawa T, Saito S. Present clinical status of postoperative cognitive dysfunction following non-cardiac surgery, Anesthesia and Neurotoxicity, Chapter 7, pp 95-103, Springer, Springer Japan, Tokyo, 2017.  
DOI: 10.1007/978-4-431-55624-4\_6

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高澤 知規 (TAKAZAWA, Tomonori)  
群馬大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：30400766

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

三輪 秀樹 (MIWA, Hideki)  
群馬大学・医学系研究科・助教  
研究者番号：80468488

林 邦彦 (HAYASHI, Kunihiko)  
群馬大学・保健学研究科・教授  
研究者番号：80282408

高鶴 祐介 (TAKATSURU, Yusuke)  
群馬大学・医学系研究科・助教  
研究者番号：30446265

(4) 研究協力者

なし