

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：22101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10952

研究課題名(和文) 加齢が術後認知機能に与える経時的変化の解明とその予防についての研究

研究課題名(英文) Postoperative cognitive dysfunction in mice: the effects of luteolin treatment in aged mice

研究代表者

田口 典子 (Taguchi, Noriko)

茨城県立医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：90569774

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：高齢と若齢マウスにそれぞれ開腹手術を施行し、手術侵襲が術後の記憶障害に与える影響について、手術後4週間観察した。また、術前から抗炎症作用を有するフラボノイドであるルテオリンを腹腔内投与することで術後脳機能障害が軽減されるかを調べた。ルテオリンは術後の体重減少の抑制など、全身状態を改善したが、術後認知機能障害に対する機能的評価では明らかな予防効果を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

術後認知機能障害を発症すると、以降の社会的予後の悪化、死亡率上昇を招く。その対策は社会的にも重要な意味を持つ。今回の研究では高齢マウスにて、術後早期の障害は確認できたが、その後回復傾向を認め長期的な障害は確認できなかった。また、早期の障害に対するルテオリンの予防的効果は試験の性質上確認できなかったが、その可能性を得ることが出来た。今後、長期的な障害へ移行する要因、予防因子について検討したい。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted to evaluate the effects of surgery on postoperative learning and memory function in young (12 weeks) and aged (72 weeks) mice. In addition, preoperative prophylactic treatment of Luteolin for the surgery-induced decrease of postoperative learning and memory dysfunction were determined. Postoperative learning and memory function deteriorated in aged mice at POD7. Four weeks after operation, learning and memory function did not deteriorate in both groups. Preoperative Luteolin administration reduced the surgery induced weight loss in both age groups, the effects on learning and memory function were not detected in both groups.

研究分野：周術期管理学

キーワード：術後認知機能障害

## 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会となり、高齢者が手術、麻酔を受ける頻度は増加している。高齢者では加齢に伴う身体的な合併症（高血圧、糖尿病、動脈硬化など）に加え、認知症などを含めた神経系の合併率も高い。術後 3 か月の術後認知機能障害（post-operative cognitive dysfunction：以下 POCD）の発生率は 60 才以上で 10-60 %程度と言われ、周術期の脳循環の減少、全身の炎症反応が神経系へ与える影響がこの一因ではないかと考えられている。しかし、臨床では周術期の多くの因子がその発生と経過に関与しているのでその軽減方法、予防方法に関して十分な説明はなされていない。POCD は、術後の社会的予後の悪化、死亡率上昇に関係する因子であり、その対策は介護、医療、福祉にかかる経済的、人的負担を軽減するためにも、今まで以上に重要な意味を持つと考えられる。

高齢者は術後一過性に譫妄状態になる可能性が高いことも指摘されている。譫妄状態も、それに引き続く POCD とともに、手術による全身の炎症反応、加齢などが関与すると言われているが、可逆的であるとされており、この二つの病態の関連も十分には把握できていない。POCD は、譫妄よりも緩徐に発生し、長期継続する事からも、これら二種類の術後脳神経系に引き起こされる変化を、経時的に解明することは、今後この方面の研究の基礎となる重要な課題である。

動物実験では、加齢に伴い術後の神経炎症が増加する理由として、加齢に伴い、脳内のマイクログリアが“プライミング”という状態に傾いており、若年者が反応しないレベルの全身の炎症反応でも、過度に海馬で続発性の神経炎症を引き起こすと考えられている。海馬での神経炎症は引き続き、海馬の神経障害、グリオシス、委縮、アミロイド沈着などを引き、アルツハイマーと似た組織像を呈するようになると考えられている。また、アルツハイマー病マウスモデルでは、実験的な手術操作において、術後脳機能低下、同様の組織学的変化を起こしやすいことも報告されている。一部の变性疾患と同様に、術後脳障害も神経炎症がその一因であり、部分的に類似の病態であるとの考え方もある。

近年、フラボノイドの一種であるルテオリンが神経組織内の抗炎症作用、神経保護作用を有する事で注目されている。ルテオリンとはブロッコリー、セロリ等の野菜に含まれており、糖尿病による記憶力低下、頭部外傷後の脳浮腫、神経細胞のアポトーシスの抑制、またアルツハイマーの発生を抑制する事などが報告されている。またアミロイドによる神経細胞障害を抑制する。その作用機序については抗酸化作用を有し、サイトカイン発現の抑制、nuclear factor kappa B の抑制、マイクログリアの活性化抑制などが認められている。また、ルテオリンは血液脳関門を通過しやすく、末梢投与でも脳内に取り込まれ、外傷後、パーキンソン、などでその脳機能保護効果を有すると報告されているが、術後の高次脳機能低下、形態学的変化に着目した研究は見当たらなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では若齢と高齢マウスを用いて、手術侵襲が海馬に与える影響を術後 4 週まで観察、明らかにする。海馬の機能評価として、短期記憶の評価を行う。また、手術前からルテオリンを投与し、炎症反応を抑制することにより、術後の記憶障害が軽減するかを検討し、ルテオリンの予防効果を明らかにする。

## 3. 研究の方法

第一段階：実験 A 開腹術により引き起こされる脳の機能的変化を週齢別、経時的に観察した。若齢（週齢 12 週）と高齢（週齢 72 週）のオスの C57BL/6J マウスを 1 週間馴化した後、コントロール群、手術群の 2 群に分けた。麻酔は 2-2.5%セボフルラン吸入による全身麻酔下で開腹術を施行した。手術は腹部正中を 1.5cm 切開し小腸を腹腔外に出した後、滅菌した綿棒で腸管を擦った。その後腹壁を縫合閉創し、自動縫合器で 2 針皮膚を縫合した。鎮痛は閉創時に 0.1%ロピバカインを 1 滴滴下した。術後 6 日目にオープンフィールド検査を施行後、行動評価のフィールドに馴化させ、術後 7 日目に初回、術後 28 日目に第 2 回新奇物質探索試験を施行した。オープンフィールド検査は 20Lux に設定した 50cm 四方の観察箱に 5 分間自由行動をさせ、はじめの移動距離、不安行動の評価を行なった。その後 2 回に分け計 20 分間観察環境に馴化させた。手術 7 日後には、新奇物質探索試験として獲得試行 10 分その 60 分後に保持試行 10 分で 2 つの物質の探索時間を lime light 4 (ACTIMETRICS 社) を用い新規物体を探索する時間の割合を測定、記録した。

次段階：実験 B ルテオリンの予防効果を検討した。

上記と同週齢のマウスをルテオリン群（以後 L 群）とコントロール群（以後 V 群）に分け、同様の手術、評価を施行し、比較した。

ルテオリンの投与方法は、腹部手術 2 日前から、術後 14 日まで 30mg/kg のルテオリンを 1 回/日腹腔内投与した。V 群はルテオリンの溶解液（1%DMSO 含有生理食塩水）を同量腹腔内投与した。

## 4. 研究成果

### 実験 A

#### (1) 術後体重の変化

若齢、高齢マウスの両群ともに手術群では術後 7 日目には体重減少を認めたが、28 日後には回復した。(図 1)

(2) 行動学的評価

オープンフィールドテスト：手術6日後に施行した。高齢マウスでは術後に活動量の低下を認めた。(図2)

新奇物質探索試験：手術後7日目と28日目に施行した。

高齢マウスでは手術7日後に記憶力の低下を認めたが、28日後には改善していた。若齢マウスでは記憶力の低下を認めなかった。(図3)

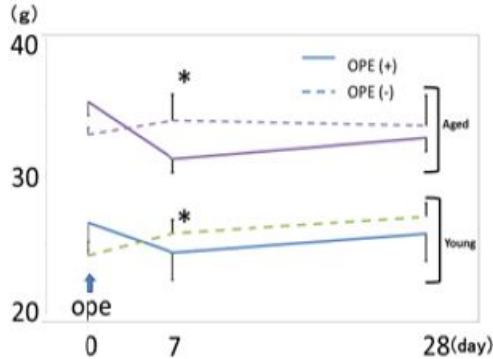


図1 体重の変化

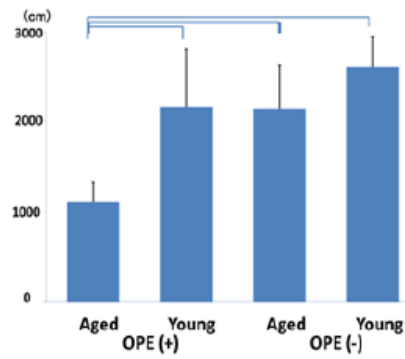


図2 オープンフィールドテスト移動距離

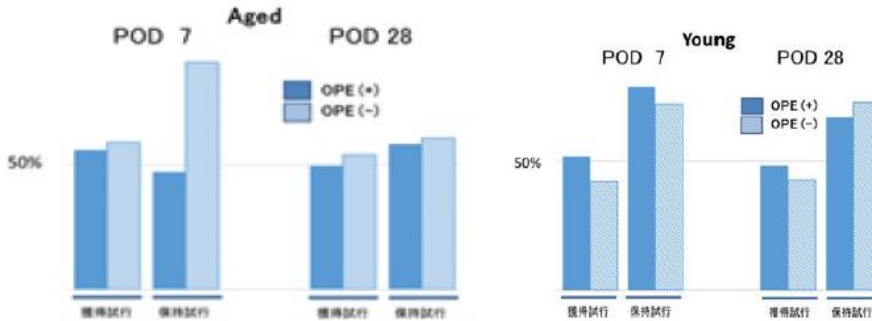


図3 新規物質探索試験

実験 B

(1) 術後体重の変化

両群ともに術後体重減少を認めたが、L群と比較してV群での体重減少が大きかった。(図4)

(2) 行動学的評価

オープンフィールド：術後6日目に施行した

L群、V群で活動量に差を認めなかった。週令による差も認めなかった。

実験Aと比較して全体的に活動量の低下を認めた。(図5)

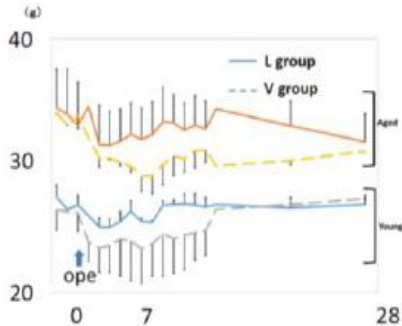


図4 体重の変化

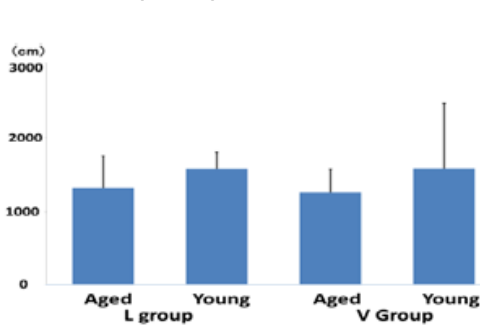


図5 オープンフィールドテスト移動距離

新奇物質探索試験：術後7日目と28日目に施行した

高齢マウス、若齢マウスともにV群では手術後7日目の新規物質探索試験時、獲得試行にて探索行動が合計10秒以下であり、評価の対象から除外した。手術28日後には明らかな記憶障害は認めなかった。(図6) 実験終了時全身の検索では両群ともに腸管の癒着を認めた。

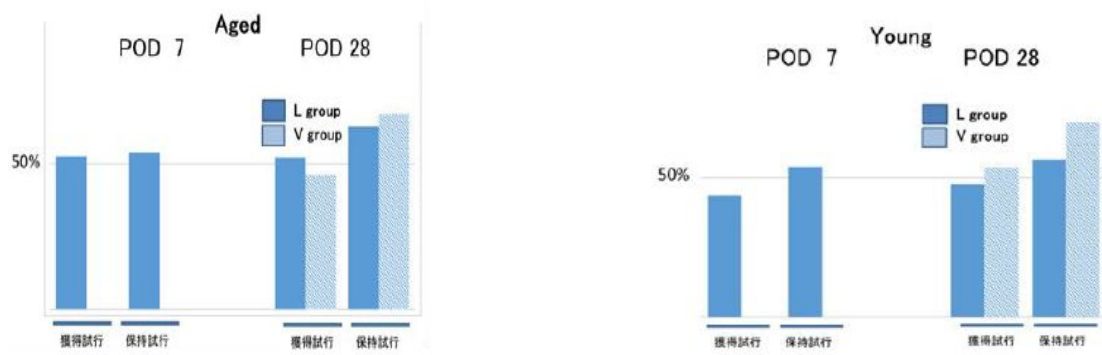


図6 新規物質探索試験

以上の結果から、今回の手術侵襲は高齢マウスにおいて術後に学習、記憶障害を引き起こすが、時間の経過で改善することが明らかになった。また、術前からのルテオリンの投与は手術による体重減少の軽減など、全身状態の改善に寄与する可能性を認めたが、術後の学習、記憶障害への影響は明らかにならなかった。今回は手術による腸管の操作と連日の腹腔内注射による腸管癒着などが全身状態に与えた影響も否定できなかった。今後はルテオリンの投与経路を変更してさらなる検討が必要である。

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	中山 慎  (Nakayama Shin)  (60596443)	筑波大学・医学医療系・講師    (12102)	