

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：34521

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08833

研究課題名(和文)術後認知機能障害における脳内耐糖能異常の影響の解明と予防法の確立

研究課題名(英文)Elucidation of the effects of impaired glucose tolerance in the brain on postoperative cognitive dysfunction and establishment of its preventive methods

研究代表者

山本 直樹 (Yamamoto, Naoki)

姫路獨協大学・薬学部・教授

研究者番号：90393157

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：1. アジア系人種の特徴を有する2型糖尿病(DM)モデルのTSODマウスに吸入麻酔薬を使用し、その後の脳内耐糖能異常とPOCDの因果関係を解明することを目的に研究を開始した。2型DMモデルのTSODマウスにおいて、吸入麻酔薬投与前のマウスの脳内耐糖能異常を確認するためにインスリンに関係する細胞内シグナル伝達系の活性化について検討した。その結果、加齢に伴い脳全体のインスリンシグナル伝達系の一つであるPI3kinase経路が低下していることを見出した。新規物体認識試験やY字迷路試験を用いて、吸入麻酔薬投与後の認知機能低下について現在再評価を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アジア系人種の特徴を有する2型糖尿病(DM)モデルのTSOD(Tsumura Suzuki Obese Diabetes)マウスに吸入麻酔薬を投与することによって、脳全体のインスリンシグナル伝達系の一つであるPI3kinase経路が低下しており、この経路の下流にはアルツハイマー病発症に大きく関わるタウタンパクのリン酸化の調節機構がある。この結果によって、吸入麻酔薬投与後の脳内耐糖能異常とPOCDの因果関係を解明する手がかりを掴めると考える。

研究成果の概要(英文)：1. In the type 2 DM model TSOD mice, we investigated the activation of insulin-related intracellular signal transduction system in order to confirm the abnormal glucose tolerance in the mice before administration of inhalation anesthetic. As a result, it was found that the PI3 kinase pathway, which is one of the insulin signal transduction systems of the whole brain, decreases with aging. We are currently reassessing cognitive decline after inhalational anesthetic administration using a new object recognition test and a Y-maze test.

2. It was found that it regulates in astrocytes (primary culture) on the expression of neprilysin and insulin degrading enzymes, which are A β -degrading enzymes, by activating the signals of protein kinases A and C, which play important roles in the intracellular signal transduction system in the brain. It was also clarified that this regulated expression also regulates the degradation of A β by astrocytes. (Neurosci Res. 2020)

研究分野：神経化学

キーワード：糖尿病 麻酔薬 術後認知機能

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国では急速な高齢化に伴い、2型糖尿病(DM)の患者数が増加している。また、高齢者の全身麻酔による手術件数も増加しており、術後認知機能障害(POCD)の発症が社会復帰に支障を来すため問題となっている。DMはPOCDの発症リスクの一つと考えられているが、その機序は明らかにされていない。2型DMの患者の増加を考えると、POCDの発症機序の解明とその予防法の確立は急務である。

申請者はアルツハイマー病の研究において、インスリン抵抗性によりアルツハイマー病が発症することを発見した。また、アルツハイマー病とPOCDの発症機序やリスク因子は類似性があることが知られている。このことから、麻酔薬により術中の脳内のGlu代謝が低下し、術後も脳内の慢性的な耐糖能異常を来しているため、POCDが起こる可能性があるのではないかと考えた。

既に、2型DM患者では脳内耐糖能異常が誘発されているという報告や、吸入麻酔薬の処置後に高齢ラットにおいて、脳内のGlu代謝能が低下したとの報告がある。しかし、POCDと脳内耐糖能異常の因果関係は証明されていない。

2. 研究の目的

アジア系人種の特徴を有する2型DMモデルのTSOD(Tsumura Suzuki Obese Diabetes)マウスに吸入麻酔薬を使用し、その後の脳内耐糖能異常とPOCDの因果関係を解明する。また、その因果関係に基づいたPOCDの予防法を明らかにし、臨床に応用することを目指す。

3. 研究の方法

(1) 吸入麻酔薬によるPOCDと脳内耐糖能異常の因果関係の証明：1年齢の雄のTSODマウスと、対照群としてTSNO(Tsumura Suzuki Non Obesity)マウスを用いる。行動試験(*in vivo*):新規物体認識試験やY字迷路試験を用いて、吸入麻酔薬投与後の認知機能低下を評価する。

生化学的解析(*ex vivo*):1.ウエスタンブロット法:インスリン受容体基質(IRS)-1の特定部位のリン酸化は、インスリン抵抗性(耐糖異常)の指標のひとつとして考えられていることから、インスリンにより応答する蛋白(IRS-1などのシグナル伝達系蛋白のリン酸化など)の発現および活性化、また記憶に関与するシナプスに発現する蛋白の発現変化についても調べる。2.ELISA法:脳内のインスリンおよびGlu濃度への影響について調べる。免疫組織学的解析(*ex vivo*):1.-②で検討した蛋白について、脳内(特に、記憶に係る海馬)の部位別における発現変化を調べる。

(2) 吸入麻酔薬によるPOCDの予防法探索：初代培養神経細胞およびアストロサイトをを用いた検討(*in vitro*):妊娠17日齢のSDラットより初代培養神経細胞およびアストロサイトを培養する。1.-②で発現および活性化に変化があった蛋白について、初代培養神経細胞およびアストロサイトを用いて、吸入麻酔薬による変化を抑制する薬剤(アリセプト(ドネペジル)やインスリン抵抗性改善薬の前処置など)をスクリーニングする。行動試験と生化学的解析(*in vivo*と*ex vivo*):2.-①で検討した結果より得た薬剤が、吸入麻酔薬のPOCDに対して予防効果があるか、1.-①と②と同じ方法で調べる。③ 総合的評価:研究代表者の*in vitro*及び*ex vivo*研究と、研究分担者の*in vivo*研究の検討結果を総合的に評価し、各システム間の相互検討を行う。

(3)2型DM患者の吸入麻酔薬によるPOCDの予防法の検討：2.で検討した結果より、吸入麻酔薬のPOCDを予防する可能性がある薬剤のうち、臨床で応用可能なものを検討する。一方で、インスリン抵抗性改善薬を術前に内服して2型DMのコントロールが良好な患者群とコントロール不良な2型DM患者群における、POCD発症率も調査する予定である。名古屋市立大学大学院医学研究科倫理審査委員会の承認を受けた後、臨床研究を実施する。実施にあたっては、研究分担者である名古屋市立大学病院麻酔科部長の祖父江和哉氏の協力を得る。研究分担者の研究室は大学病院に隣接しており、臨床研究は倫理審査委員会の承認があれば、即座に開始できる環境である。

4. 研究成果

(1) アジア系人種の特徴を有する2型糖尿病(DM)モデルのTSOD(Tsumura Suzuki Obese Diabetes)マウスに吸入麻酔薬を使用し、その後の脳内耐糖能異常とPOCDの因果関係を解明することを目的に研究を開始した。2型DMモデルのTSODマウスにおいて、吸入麻酔薬投与前のマウスの脳内耐糖能異常を確認するためにインスリンに係る細胞内シグナル伝達系の活性化について検討した。その結果、加齢に伴い脳全体のインスリンシグナル伝達系の一つであるPI3kinase経路が低下していることを見出した。新規物体認識試験やY字迷路試験を用いて、吸入麻酔薬投与後の認知機能低下について現在再評価を行っている。

(2) 脳内の細胞内シグナル伝達系で重要な役割を果たしているprotein kinase AとCのシグナルを活性化することによって、神経膠細胞の一つであるアストロサイト(初代培養)に発現しているアミロイド蛋白(A β)の分解酵素であるネプリライシンおよびインスリン分解酵素の発

現を調節していることを見出した。また、この発現調節によってアストロサイトによる A β の分解も調節されることを明らかにした。(Neurosci Res. 2020)

(3) 脳炎がその後の認知機能に影響を与えることから、脳炎を模倣する薬剤を用いて初代培養アストロサイトの細胞内シグナル伝達系の活性化に検討を行った。特にインスリンシグナル伝達系に関わるタンパクの活性化が誘導されていること、また、その影響に Toll 様受容体が関与していることを明らかにした。現在、投稿準備中

(4) アストロサイトに麻酔薬を投与した際のタンパクの活性化や酵素の発現変化について検討を行ったが、単独投与での効果はあまり見受けられなかった。そこで、上記脳炎を模倣する薬剤を用いたアストロサイトの培養系に投与することで、インスリンシグナル伝達系に影響を与えた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamamoto Naoki, Nakazawa Mitsuki, Nunono Naho, Yoshida Nao, Obuchi Ayako, Tanida Mamoru, Suzuki Kenji, Ikeda-Matsuo Yuri, Sobue Kazuya	4. 巻 S0168-0102
2. 論文標題 Protein kinases A and C regulate amyloid- degradation by modulating protein levels of neprilysin and insulin-degrading enzyme in astrocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 30063-30068
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2020.05.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanida M, Iwasaki Y, Yamamoto N.	4. 巻 33
2. 論文標題 Central Injection of Leptin Increases Sympathetic Nerve Outflows to the Stomach and Spleen in Anesthetized Rats.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 1827-1832
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/invivo.11675	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto N, Ishikuro R, Tanida M, Suzuki K, Ikeda-Matsuo Y, Sobue K.	4. 巻 385
2. 論文標題 Insulin-signaling Pathway Regulates the Degradation of Amyloid -protein via Astrocytes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 227-236
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2018.06.018. Epub 2018 Jun 20.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山本直樹、徳門巧也、大淵絢子、谷田守、松尾由理、祖父江和哉
2. 発表標題 アストロサイト発現ネプリライシンはpoly I:Cによる発現低下によってアミロイド 蛋白の分解を抑制する
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本直樹、徳門巧也、大淵絢子、谷田守、松尾由理、祖父江和哉
2. 発表標題 アストロサイト発現ネプリライシンはpoly I:Cによって発現低下がもたらされる
3. 学会等名 第38回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamamoto N, Ishikuro R, Tanida M, Suzuki K, Sobue K.
2. 発表標題 Insulin regulates expression of neprilysin and IDE in cultured astrocytes
3. 学会等名 第61回日本神経化学学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本直樹、祖父江和哉
2. 発表標題 PKAおよびPKC経路とアストロサイトのネプリライシンとインスリン分解酵素発現検討
3. 学会等名 第37回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2018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	祖父江 和哉 (Sobue Kazuya) (90264738)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	

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