

令和 3 年 5 月 9 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16480

研究課題名（和文）糖尿病モデルマウスにおける術後認知機能障害と予防策

研究課題名（英文）Postoperative cognitive dysfunction and the prevention in type 2 diabetes mellitus model mice

研究代表者

西村 杏香（東南）（Nishimura, Momoka）

神戸大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：70803857

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、糖尿病における術後認知機能障害の発生機序について明らかにすることを目標とし、2型糖尿病モデルマウスにおいて手術侵襲が術後の行動に与える影響について調べた。高脂肪食を摂食させた2型糖尿病モデルマウスを作製し、手術侵襲前後での行動評価および海馬におけるアドレナリン受容体のmRNA発現量、ノルアドレナリン濃度を測定した。結果、2型糖尿病モデルマウスにおいて、手術後には手術前に比較して、活動性が有意に低下し、海馬のノルアドレナリン濃度が有意に減少した。よって、手術侵襲は2型糖尿病モデルマウスの活動性、海馬のノルアドレナリン濃度に抑制的な影響を及ぼすことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昨今、糖尿病患者は増加し続けており、手術を受ける糖尿病患者も増加している。糖尿病は周術期における術後認知機能障害のリスク因子であり、予後不良に繋がるが、その病態機序はまだ明らかではない。本研究結果から2型糖尿病モデルマウスにおいて、手術侵襲は手術前に比較して術後の活動性を低下させ、海馬のノルアドレナリン濃度を減少させた。よって、糖尿病の病態において手術侵襲は行動と海馬のノルアドレナリン濃度に抑制的な影響を及ぼす可能性が示唆された。今後、糖尿病患者における術後せん妄など周術期の精神活動変化への研究に繋がる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The purpose of the present study was to reveal mechanism of postoperative cognitive dysfunction in diabetes mellitus. We examined the effects of surgical stress on postoperative behavioral activity in type 2 diabetes mellitus model mice fed high fat diet. Perioperative behavioral activities, hippocampal mRNA expression of adrenaline receptor and noradrenaline level were measured. In our study, type 2 diabetes mellitus model mice showed lower activity after abdominal surgery compared to before surgery. And the hippocampal noradrenaline level also decreased after surgery. These finding may indicate that surgical stress had a suppressive effect on behavioral activity and hippocampal noradrenaline in type 2 diabetes mellitus model mice.

研究分野：麻酔科学

キーワード：2型糖尿病モデルマウス 周術期合併症 ノルアドレナリン 術後認知機能障害 術後せん妄

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 Dysfunction; POCD) の頻度は術後 1 週間以内に高齢患者で 30-50%、3 ヶ月後も 10-15%にのぼり¹⁾、不良な患者予後、医療費増大、社会福祉への過重な負担に繋がっている。POCD の危険因子としては、高齢、脳・血管障害、術前認知機能低下、アルコール多飲などが挙げられてきたが²⁾、近年、糖尿病が POCD の危険因子であると報告された³⁾。世界の糖尿病患者は増加の一途をたどり、それに伴い手術を受ける糖尿病患者の数も増加している。しかし、糖尿病患者において手術侵襲がもたらす術後認知機能への影響、POCD の発生機序については未だ明らかではない。今後も手術を受ける糖尿病患者が増加し続けることが予想されることから、糖尿病患者における周術期合併症への対策は重要な課題である。

2. 研究の目的

本研究の目的は糖尿病の病態において、手術侵襲が術後認知機能に及ぼす影響、および糖尿病が POCD の原因となる病態機序を解明することである。糖尿病患者の 90%以上が 2 型糖尿病患者であることから、本研究では 2 型糖尿病モデルマウスを作製し、手術侵襲を加え、手術侵襲前後での行動評価を行い、糖尿病の病態において手術侵襲が行動に与える変化を明らかにする。また、本研究では認知機能や行動に影響を及ぼす海馬におけるノルアドレナリン系⁴⁾に着目し、分子レベルの解析を実施し、糖尿病と POCD 関連を解明する。

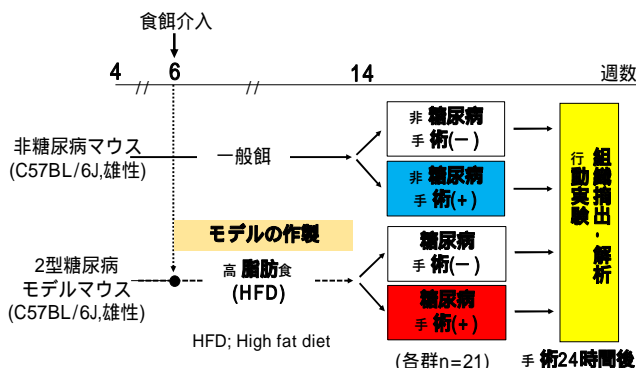
3. 研究の方法

(1) 糖尿病モデルマウスの作製

C57BL/6J マウスに高脂肪食 (High Fat Diet, HFD) を 8 週間摂食させて 2 型糖尿病モデルマウスを作製した。モデルの評価として体重測定を行い、13 週齢において、腹腔内ブドウ糖負荷試験を施行した。

(2) 手術侵襲

セボフルラン吸入麻酔投与による全身麻酔下において、腹部切開、腸管露出による manipulation 手術を施行した。



図：研究プロトコル

(3) 行動評価の方法

研究プロトコルの図のように、非糖尿病手術なし群、非糖尿病手術あり群、糖尿病手術なし群、糖尿病手術あり群の 4 群に対して、14 週齢において、以下の 3 つの試験により、術前後での行動変化について評価した。また、手術群に対しては手術 24 時間後に試験を実施した。

試験	評価内容	方法
オープンフィールド試験 (OFT)	自発的活動性 不安様行動	正方形のフィールドの中での移動距離、速度、中心滞在時間、探索行動などを観察、測定する。
新奇物体認識試験 (NORT)	新奇性嗜好 視覚認知機能	新奇性を好む特性を利用し、馴化、獲得、テストの 3 段階の試行により視覚的認知機能の評価する。
明暗箱試験 (Light-Dark box)	不安様行動	明暗箱の中を自由に散策させ、暗箱での滞在時間の変化により不安様行動の変化をみる。

(4) mRNA の発現量測定

行動実験後、セボフルラン吸入麻酔下にて開胸、脳灌流を実施し、脳組織 (海馬) を採取した。polymerase chain reaction (real-time PCR) を用いて、各種 mRNA 発現量 (アドレナリン受容体: 1R、2R) を測定した。

(5) カテコラミン濃度の測定

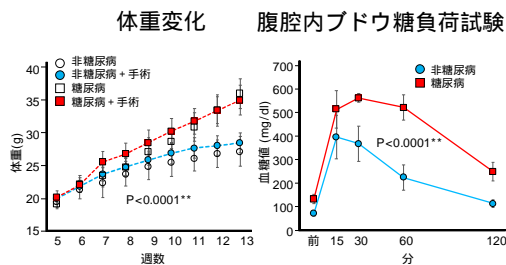
行動実験後、海馬組織を摘出し、海馬組織におけるノルアドレナリン濃度について液体クロマトグラフィーを用いて測定した。

統計解析として、体重、腹腔内ブドウ糖負荷試験に対しては Two-way repeated ANOVA を用い、行動変化および mRNA の発現量、カテコラミン濃度に対しては Mann-Whitney U test を用いて解析を行ない、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

4. 研究成果

(1) モデルマウスの評価

2 型糖尿病モデルマウスでは非糖尿病マウスに比べて、有意な体重増加を認めた。また、腹腔内ブドウ糖負荷試験では、2 型糖尿病モデルマウス群では有意な高血糖の遷延を認め、耐糖能異常を認めた。(各群 n=12)

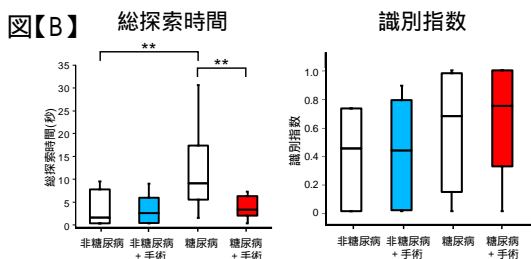
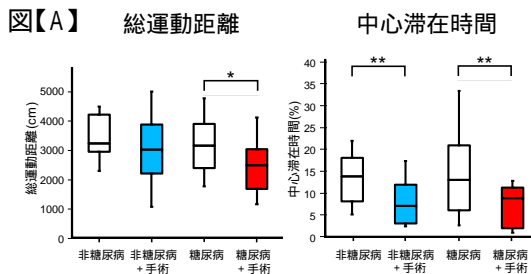


図【モデルマウスの評価】

(2) 行動評価

オープンフィールド試験 (右図.A)

総運動距離は手術侵襲により、2 型糖尿病マウスで術後に有意に減少したが、非糖尿病マウスではその変化は認めなかった。中心滞在時間は非糖尿病群、糖尿病群いずれも手術侵襲により有意に減少し、術後の不安様行動が示唆された。(各群 n=15、*: P < 0.05、**: P < 0.01)

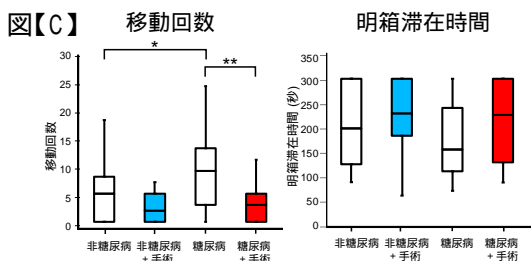


新奇物体認識試験 (右図.B)

総探索時間において、糖尿病群は非糖尿病群と比較して、有意に増加したが、手術侵襲によりその活動は有意に減少した。記憶を評価するテスト試行において、識別指数では有意な差を認めず、この試験からは認知機能障害は認めなかった。(各群 n=15、**: P < 0.01)

明暗箱試験 (右図.C)

糖尿病群は非糖尿病群よりも有意に移動回数が増加したが、手術侵襲により、その活動は術後に有意に減少した。明箱滞在時間に有意な差は認めなかった。(各群 n=15、*: P < 0.05、**: P < 0.01)

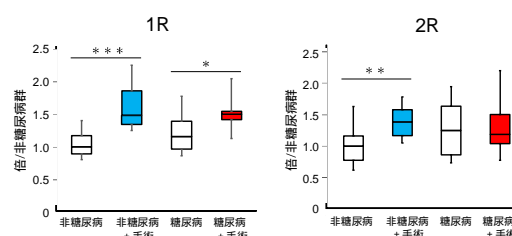


(3) 海馬における mRNA の発現量

1R は非糖尿病群、糖尿病群いずれにおいても手術侵襲後に有意に発現量が増加した。

2R は非糖尿病群において、手術侵襲後に有意に増加したが、その傾向は糖尿病群では認めなかった。

(各群 n=10、*: P < 0.05、**: P < 0.01、***: P < 0.001)

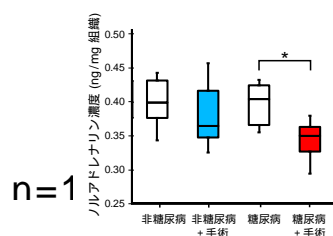


図【海馬における mRNA 発現量】

(4) 海馬のノルアドレナリン濃度

手術侵襲により、糖尿病マウスでは術後に海馬のノルアドレナリン濃度が有意に低下していたが、その変化は非糖尿病マウスでは認めなかった。

(各群 n=6、*: P < 0.05)



図【海馬のノルアドレナリン濃度】

本研究の結果、2 型糖尿病モデルマウスにおいて吸入麻酔による全身麻酔下、腹部切開手術侵襲は術前に比較して術後の活動性を抑制するとともに、海馬におけるノルアドレナリン濃度減少をもたらした。また、ノルアドレナリンの受容体である 1R、2R の mRNA 発現量に関しては、非糖尿病群でみられた術後における発現量の増加が糖尿病群では同様に認められなかった。よって、これらの知見から、2 型糖尿病モデルマウスに対する手術侵襲が術後の活動性と海馬のノルアドレナリン濃度に抑制的な影響をもたらす可能性が示唆された。

- 1) Crosby G, Culley DJ. Surgery and Anesthesia: Healing The Body But Harming The Brain? *Anesth Analog.* 2011; 112: 999-1001.
- 2) Rundshagen I. Postoperative cognitive dysfunction. *Dtsch Arztebl Int* 2014; 111: 119-25.
- 3) Insa F, Winterer G, Pischon T. Diabetes is associated with risk of postoperative cognitive dysfunction: A meta-analysis. *Diabetes Metab Res Rev.* 2017: e2884.
- 4) Sara SJ. Noradrenergic modulation of selective attention: its role in memory retrieval. *Ann N Y Acad Sci.* 1985;444:178-93.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Momoka Nishimura, Yuki Nomura, Moritoki Egi, Norihiko Obata, Makoto Tsunoda, Satoshi Mizobuchi	4. 巻 21
2. 論文標題 Suppression of behavioral activity and hippocampal noradrenaline caused by surgical stress in type 2 diabetes model mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Neuroscience	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12868-020-0556-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 東南杏香、野村有紀、江木盛時、小幡典彦、溝渕知司
2. 発表標題 2型糖尿病マウスにおける術後低活動性と周術期脳内モノアミン受容体発現量の変化
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Momoka Nishimura, Yuki Nomura, Moritoki Egi, Norihiko Obata, Makoto Tsunoda, Satoshi Mizobuchi
2. 発表標題 Postoperative Hypoactivities and Decrease of Hippocampal Catecholamine in Type 2 Diabetes Model Mice
3. 学会等名 American Society of Anesthesiologist 2019（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
研究協力者	野村 有紀 (Nomura Yuki)		

6. 研究組織（つづき）

	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	木村 美穂 (Kimura Miho)		
研究協力者	角田 誠 (Tsunoda Makoto)		

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