

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：16401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16484

研究課題名(和文)術後せん妄に対する新規治療としての神経ステロイドの有効性

研究課題名(英文)The efficacy of neurosteroids as a novel treatment for postoperative delirium

研究代表者

青山 文(AOYAMA, BUN)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・講師

研究者番号：60783735

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):近年、術後せん妄が注目され、その発症は認知機能や生命予後に関連するが、現時点において特異的な治療方法はない。そこで、不安・うつ病などせん妄に類似した病態に効果のある神経ステロイド(Allopregnanolone; ALLO)が術後せん妄に有効であるかどうかを研究した。まず、研究を開始するにあたり、これまでに存在しなかった術後せん妄モデルを高年齢ラットを用いて開発した。その後、本モデルを用いて、ALLOが術後せん妄の機序として有力な脳内の炎症を抑制することと、せん妄の主症状である注意力と認知力を術後も保持することを明らかにした。これらの結果からALLOは術後せん妄に有効である可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

術後せん妄は現代医療が解決すべき重要な課題であるが、現時点で有効な治療法がないため、新規治療法の開発および候補となる薬剤の同定が急務である。本研究では、まずこれまでに存在しなかった高年齢ラット術後せん妄モデルを構築したという点が新たな試みとしてあげられる。本モデルにより、せん妄の代表的な症状である、注意力と認知力の評価が可能となった。また、現在米国において承認され、産後うつ病患者に対して使用されている神経ステロイドALLOが、術後せん妄の病態機序として有力な、脳内の炎症を抑制すること、さらに術後の注意力と認知力を保持することを示した。本研究を通じて術後せん妄の新規治療戦略を発信していく。

研究成果の概要(英文): Postoperative delirium (POD) is associated with a decline in cognitive function and poor life outcome, however there is no specific treatment currently available. In this study, we investigated whether allopregnanolone (ALLO), a neurosteroid that is used in treating conditions that are similar to POD, is effective in treating postoperative delirium. To begin the study, we established a new model of postoperative delirium in aged rats. Consequently, using this model, we found that ALLO suppressed neuroinflammation, which is one of the main mechanisms of POD, preventing the main symptoms of delirium after surgery. These results suggest that ALLO may be effective in the treatment of POD.

研究分野：術後せん妄

キーワード：術後せん妄 高年齢者 脳内神経炎症 ミクログリア 神経ステロイド Allopregnanolone

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会が進行するとともに、高齢者の手術が増加する一方で、術後せん妄(postoperative delirium: POD) に対する問題が明らかとなり、注目されている。POD の発症は、退院後の身体機能や認知機能の長期的な悪化のみならず、死亡率増加にも関連する(JAMA. 2010 ; 304 : 443-451)。せん妄の危険因子は、高齢であることが一貫して報告されているが(J Am Coll Surg. 2009 ; 209 : 261-268)、詳細な発症機序は明らかでなく、現時点において特異的な予防方法もない。POD の発症機序の解明ならびに、臨床応用を見据えた治療介入の検討が必要である。

2. 研究の目的

神経ステロイドは、神経組織内生合成されるステロイドと定義される。神経ステロイドは、1981年に提唱され、動物実験において抗不安・抗痙攣・鎮静作用を有することは1980年代

後半に既に報告されている。しかし、神経ステロイドの生理学的・薬理的役割や精神医学的疾患との関連性に関する研究は最近になって進展がみられており、神経ステロイドの変動が、不安・うつ・統合失調症などのストレスと関連する神経精神性障害の病態発現に密接に関わることや、これらの障害の改善に有効な薬物には神経ステロイドを介して作用する可能性のあるものも幾つか明らかになってきた。

また近年、PODの病態として、脳内炎症(neuroinflammation)の重要性が多く報告され支持されている。脳内炎症は、脳内で炎症性サイトカインが生理的な範囲・期間を超えて過剰に放出された状態である。剖検脳を用いた検討では、せん妄を発症した脳は、せん妄がなかった脳(年齢を調整)と比較して有意なミクログリアの活性化を示唆する病理所見が認められている。この結果は、脳内炎症がPOD発症と関連している可能性を示唆している。また、中枢神経系を標的とした抗炎症・サイトカイン治療がPODに有効であると推測される。

本研究では、高齢開腹手術モデルラットを用いて、PODの発症に神経ステロイド(Allopregnanolone; ALLO)を用いた治療介入が、周術期予防戦略として有効であるかどうかを検討することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 高齢ラット開腹手術モデルを応用した術後せん妄モデルの開発

対象動物は、当初予定していたマウスから、過去の研究で対象としてきた高齢ラット(19-24ヶ月齢のSD系雄性ラット)に変更し、これまで存在しなかった高齢ラット術後せん妄モデルの開発に着手した。開腹手術は、イソフルラン麻酔下に、腹部1cmの正中切開をおき、小腸を約5cm腹腔から引き出し、3分間指で伸長させる。術後痛に対して閉腹時に0.2%ロピバカインの浸潤麻酔を行う。手術(麻酔)時間は15分間とし、対照群では麻酔・術後鎮痛のみを行った。その後、せん妄の主症状である注意力と認知力の評価を、音刺激と機械刺激を組み合わせたラットの行動凍結時間(すくみ様行動時間)で評価し、有意差を認めるかどうかを検討した。そして、本術後せん妄モデルに対してALLO投与が有効であるかどうかを検討した。

(2) 神経ステロイド(ALLO)のPOD治療効果の検討

高齢ラット開腹手術後にALLOを腹腔内投与し、術後脳内炎症の評価を、炎症性サイトカインTNF、IL-1を標的として、ELISA法を用いた蛋白定量を実施した。以前の研究結果から、特に海馬での炎症性サイトカインの上昇を確認しており(Anesthesiology. 2015;123:7-9.)、評価部位として海馬を選択した。

各群は 対照群 対照群+ALLO 開腹手術群 開腹手術+ALLO群とした(n=10)。

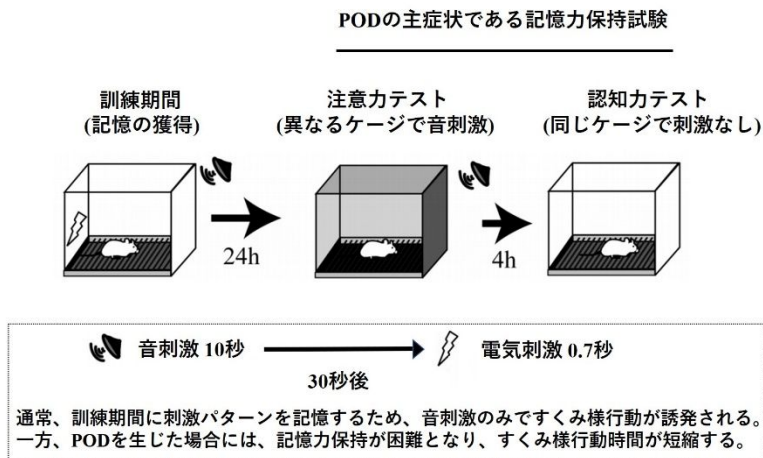
さらに、TNFおよびIL-1のmRNAの発現量を測定するためにRT-qPCR法を実施した。これまでに高齢ラット開腹手術後の脳内神経炎症をRT-qPCR法で実施した報告はなく、まず開腹手術後の炎症性サイトカインmRNAの発現量を経時的に検討した。測定タイミングは、それぞれ術後1時間、6時間、12時間、24時間、48時間後とした(各群n=6)。この結果をもとに、脳内神経炎症評価をRT-qPCR法においても実施した。

4. 研究成果

(1) 高齢ラット開腹手術モデルを応用した術後せん妄モデルの開発

音刺激と機械刺激を組み合わせたラットのすくみ様行動時間は(図1)、開腹手術群と対照群で有意差を認めた。本研究結果は、Kawano et al. J Anesth. 2018;32(4):506-517.として採択された。

図1. 術後せん妄様行動による脳内炎症評価



本モデルに ALLO を投与すると、 注意力(図 2)・認知力(図 3)ともに有意に保持された。

図2. 術後せん妄モデルによるALLOの脳内炎症評価 (注意力)

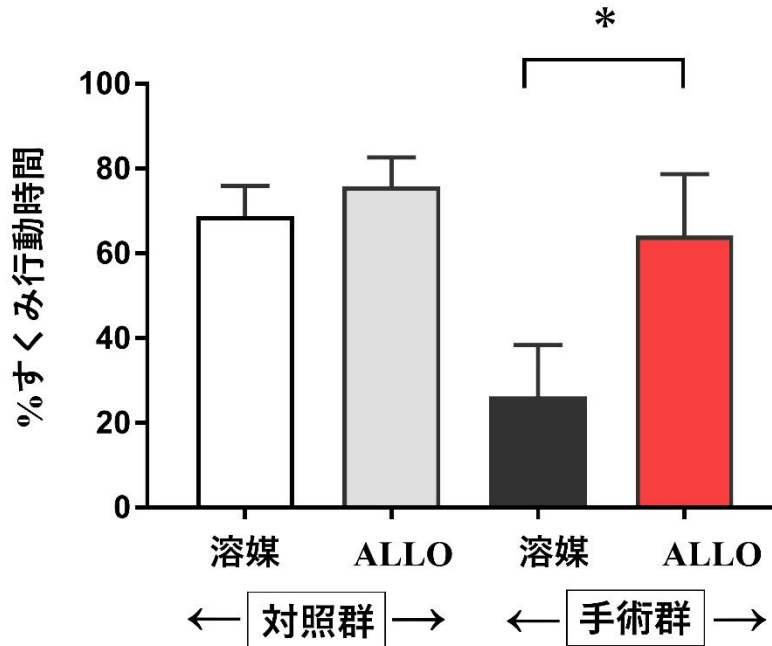
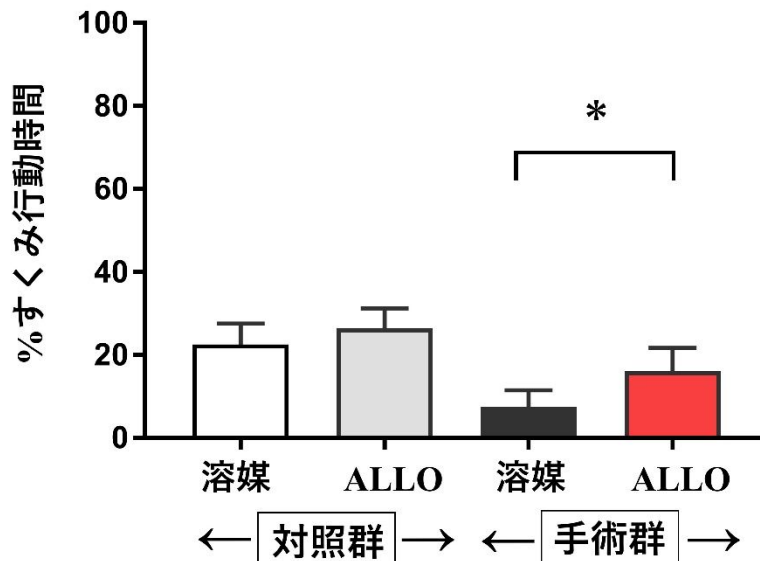


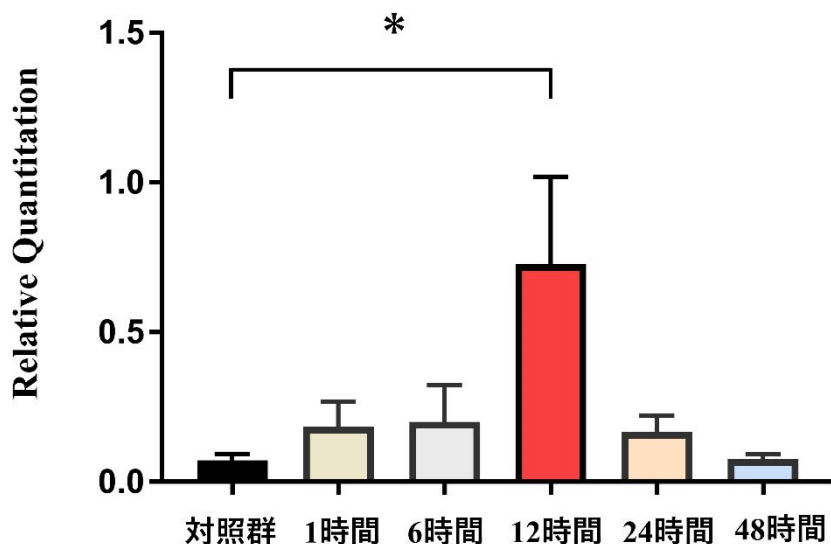
図3. 術後せん妄モデルによるALLOの脳内炎症評価 (認知力)



(2) 神経ステロイド(ALLO)のPOD治療効果の検討

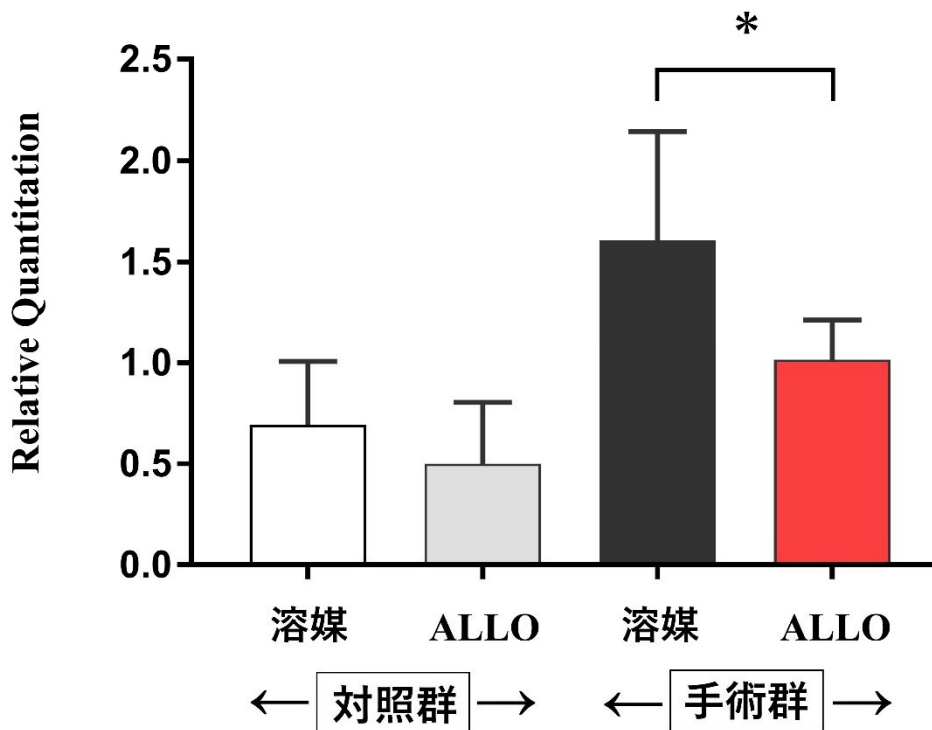
PODの主要な病態機序とされる術後脳内炎症を、経時的にRT-qPCR法で評価した結果、脳内神経炎症(IL-1 と TNF)は術後12時間という早期にピークに達することが判明した(図4)。本結果は、2021年2月12日に行われた第48回日本集中治療医学会学術集会にて発表し、優秀演題選考セクションに選出された。(術後脳内神経炎症反応の経時変化 -高齢ラット開腹手術モデルでの検討. 青山文、Locatelli Fabricio、岩田英樹、田所司、谷川和也、中越菜月、重松万里恵、勝又祥文、立岩浩規、河野崇)

図4. 開腹手術後の経時的脳内炎症の推移 (IL-1 β)



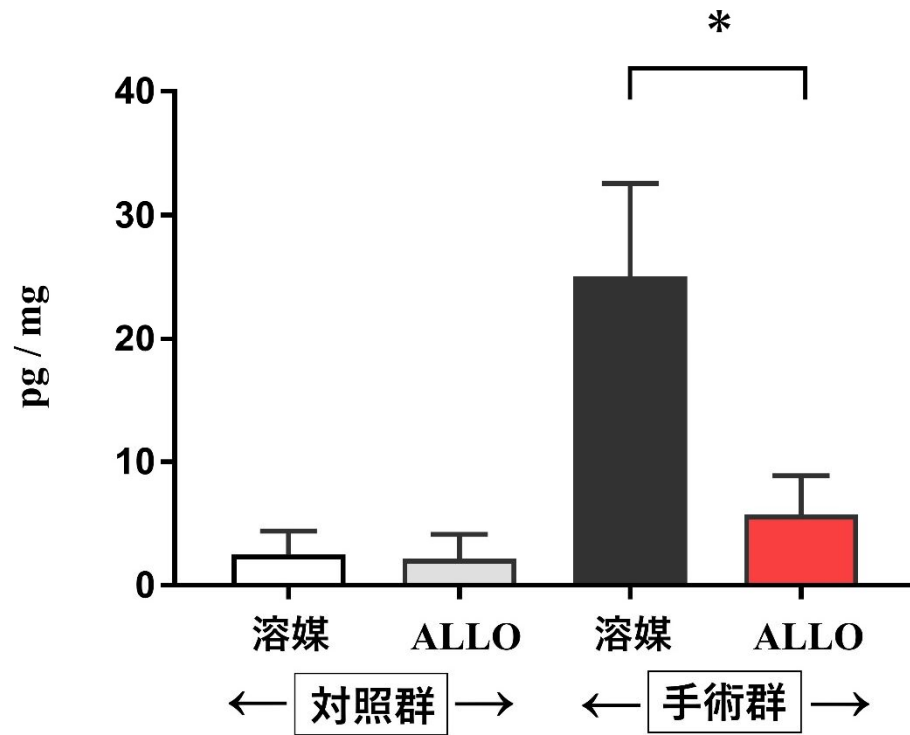
本結果をもとに、開腹手術後にALLOを腹腔内投与すると、術後12時間の脳内神経炎症(IL-1 β)は有意に抑制された(図5)。

図5. ALLOによる開腹手術12時間後の抗脳内炎症効果 (IL-1 β)



同様に、ELISA法においても、開腹手術48時間後に脳内炎症性サイトカイン(IL-1 β)を測定すると、ALLO投与群で優位に脳内炎症は抑制された(図6)。

図6. ALLOによる開腹手術48時間後の抗脳内炎症効果 (IL-1 β)



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 Aoyama Bun, Kawano Takashi, Iwata Hideki, Nishigaki Atsushi, Yamanaka Daiki, Tateiwa Hiroki, Shigematsu-Locatelli Marie, Eguchi Satoru, Locatelli Fabricio M., Yokoyama Masataka	4. 巻 139
2. 論文標題 Role of neurosteroid allopregnanolone on age-related differences in exercise-induced hypoalgesia in rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 77～83
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jphs.2018.11.009	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 青山 文
2. 発表標題 麻酔科医による術後せん妄対策
3. 学会等名 日本麻酔科学会第66回学術集会：シンポジウム 「チーム医療で取り組む術後せん妄対策」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青山 文
2. 発表標題 Sweets seminar 術後せん妄対策 - 麻酔科医の視点から -
3. 学会等名 高知大学せん妄プロジェクト2017-中間報告会-
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青山 文, Locatelli Fabricio, 岩田 英樹, 田所 司, 谷川 和也, 中越 菜月, 重松 万里恵, 勝又 祥文, 立岩 浩規, 河野 崇
2. 発表標題 術後脳内神経炎症反応の経時的変化 -高齢ラット開腹手術モデルでの検討-
3. 学会等名 第48回日本集中治療医学会学術集会 優秀演題選考セッション
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----

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