

令和 6 年 9 月 16 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09345

研究課題名（和文）高齢ラットを用いた術後認知機能障害の分子生物学的解明とその治療法の確立

研究課題名（英文）The clarify the mechanism of postoperative cognitive dysfunction in the elderly rats

研究代表者

門井 雄司（kadoi, Yuji）

群馬大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：10292591

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：高齢ラットにおいて、amyloid proteinの発現部位の決定、発現部位におけるin vivoパッチクランプ法を用いた大脳皮質神経細胞内の神経細胞活動の変動の検討、amyloid proteinの発現に対してデクスメドトミジン投与の効果の検討、を行った。高齢ラットではCA1領域において、amyloid proteinの発現が多く観察された。CA1領域の神経細胞活動を測定すると著明な低下が認められた。デクスメドトミジンを投与すると、amyloid proteinの発現が減少出来るか同化を検討したが、発現量には影響が認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者での手術後の認知機能障害発症の原因究明と治療は早急な課題である。今回の研究において高齢ラットでは侵襲によってCA1領域においてより多くの amyloid proteinの発現を観察したことは認知機能障害の原因のいっ tant として解明できた。その認知機能障害をデクスメドトミジンにより改善可能かどうかを行ったが残念ながら改善は出来ず、今後の課題となった。

研究成果の概要（英文）：We examined where region in beta-amyloid protein was more found in the brain in elder rats. CA1 region was more often observed in elder rats, compared with that in young rats. We examined the effects of dexmedetomidine on the decrease in the amount of beta-amyloid protein in CA1 region, and failed to show that no effects of dexmedetomidine was found the decrease in the amount of beta-amyloid protein in CA1 region.

研究分野：麻酔・集中治療

キーワード：術後認知機能障害 アミロイドタンパク

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎えている日本において高齢者の手術・麻酔管理が急激に増加している。高齢者での手術後の認知機能障害の発症は術後の生活状況の質の低下や日常生活の制限、さらには患者予後悪化に導く。術後認知機能障害の発症は医療費増大にも影響を与える。高齢者での術後認知機能障害の発症の原因究明と治療は早急な課題である。

一方、高齢者の認知機能低下を引き起こす疾患としてアルツハイマー病がある。アルツハイマー病は神経変性疾患であり発症原因として脳内 amyloid protein の蓄積が報告されている。手術侵襲が誘引となり体内の免疫反応が活性化されて TNF- α 、IL-1、IL-6 などのサイトカイン炎症メディエーターを誘発して血液脳関門(BBB)を傷害することで脳内神経炎症を引き起こして神経細胞障害へと導く。この手術誘発の中枢神経炎症や麻酔薬自体の脳内 amyloid protein の蓄積が報告されつつある。炎症は全身麻酔薬に対する脳内ニューロンの感受性を高め、gamma-aminobutyric acid (GABA)受容体を活性化させてシグナル伝達依存性の行動変化が起こることが動物実験で観察されている。

2. 研究の目的

今回の研究目的は、高齢ラットでの手術侵襲刺激による脳内炎症変化、中枢神経細胞障害における細胞情報伝達系の障害、転写因子の関与の解明、治療法の確立の探求した。いままでの研究結果より、手術侵襲によってサイトカインを惹起し脳内細胞内伝達系システム系を傷害させることが解明されている。RAGE が活性化され炎症メディエーター産生・増幅され、さらなる中枢神経系の伝達障害を惹起する。これはとりわけ高齢ラットではサイトカイン発現量が多い。

小開腹モデルを高齢ラットと若年ラットの双方で作成して、(1)脳内における amyloid protein の発現部位を免疫組織染色法で解析、(2)同定された部位における in vivo パッチクランプ法を用いた大脳皮質神経細胞内の神経細胞活動の変動の検討、(3) HMGB-1 の変動、(4) amyloid protein の発現や HMGB-1 へのデクスメトミジン投与の効果の検討、を行った。

臨床で日常的に使用可能であるデクスメトミジンはコリン作動性の抗炎症性経路を賦活化させたり NF- κ B を介した抗炎症効果を有するなど脳内における複数の経路を通じて脳機能維持に関与していることが近年照明されつつある。そのため後半の2年間の研究ではデクスメトミジンの抗炎症効果が脳内アミロイド蛋白の減少につながるかどうかの基礎的研究を実施した。

3. 研究の方法

高齢及び若年ラットでの手術侵襲によって惹起される

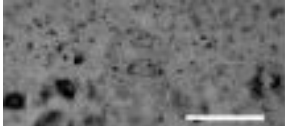
Immunohistochemistry 法を用いた amyloid protein の脳内発現部位の決定
高齢ラットとしては24週ラット、若年ラットは7-8週ラットを使用。Rat 脳を取り出し、クライオスタット(Leica CM1900)を使用して10 μ mの脳スライスを作成する。作成した脳スライスにABC法を用いたImmunohistochemistry法で測定する。具体的には、組織片中の内因性のperoxidaseをブロックするために0.3% H₂O₂を30分間投与。Phosphate buffer solutionで洗浄後、3%のnormal goat serumで抗原を固定。1000倍に希釈した1次抗体であるamyloid protein抗体で24時間攪拌。PBSでその脳スライスを洗浄した後、Avidin-Biotinを投与し発色させ1時間後にHematoxilinでCounter染色した。

脳内 amyloid protein の定量と炎症性メディエータの発現変化を高齡ラットと若年ラットを用いて比較検討を実施。比較は小開腹手術 2 時間後と手術 14 日後に実施。デクスメトミジン投与して Immunohistochemistry 法を用いた amyloid protein の脳内発現部位の変化・変動も検討。

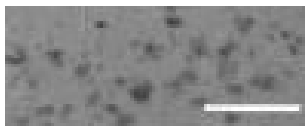
4. 研究成果

高齡ラットを用いて脳内において amyloid protein (神経軸索障害の指標)の集積がデクスメトミジンにより減弱することを Immunohistochemistry 法を用いて現在検討している段階である。下記はデクスメトミジンが高齡ラットにおいて CA1 領域に発現した amyloid protein を減弱させる可能性があることを見出した写真である。

Control 群 CA-1 領域



デクスメトミジン投与群 CA-1 領域



次に、in vivo パッチクランプ法を用いた大脳皮質神経細胞内の神経細胞活動の変動の検討においては、高齡ラットにおいてより多くのアミロイドタンパクが発現した CA1 領域を測定してみると、約 10%の神経細胞の活動低下が観察された、若年ラットにおいては侵襲を加えても CA1 領域にはより多くの amyloid protein は発現しなかった。さらには、CA1 領域の神経細胞の活動低下も観察されなかった。最後に、CA1 領域においてより多く発現したアミロイドタンパクをデクスメトミジン投与によって減弱が出来るかどうかを検討したが、残念ながら効果は認められず今後の課題として残った。また、CA1 領域の神経細胞の活動低下の改善にもつながらなかった。

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 1件）

1. 著者名 Okumura M, Kadoi Y, Otsuka N	4. 巻 38
2. 論文標題 Laryngeal mask (i-geIR) partially broken by biting caused by electrical stimulation during electroconvulsive therapy.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J ECT	6. 最初と最後の頁 146-147
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 kadoi Y, Ota J, Saito S, Sameshima T.	4. 巻 37
2. 論文標題 Laryngeal mask use was effective for protecting against further cervical spine cord injury in patients with cervical spondylosis during electroconvulsive therapy: two case reports.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J ECT	6. 最初と最後の頁 e27-e29.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/YCT.0000000000000757.	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 -

1. 著者名 柳澤晃広 飯田章博、河内 力、岡本知紀、門井雄司	4. 巻 69
2. 論文標題 術中のレミフェンタニルの血管外漏れが原因で術直後に呼吸抑制と意識障害をきたした症例	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 麻酔	6. 最初と最後の頁 393-396
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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
---------------------------	-----------------------	----

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