

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18300

研究課題名(和文) デクスメトミジンによる外傷性脳損傷後の術後認知機能障害軽減効果の検討

研究課題名(英文) Dexmedetomidine ameliorates perioperative neurocognitive disorders by suppressing monocyte-derived macrophages in mice with preexisting traumatic brain injury

研究代表者

齋藤 菜摘 (Natsumi, Saito)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：20737382

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)：外傷性脳損傷モデルマウスを用い、外傷性脳損傷後、慢性期に吸入麻酔薬を暴露すると単球由来マクロファージが海馬に集積することを免疫組織学的に確認した。また、 $\alpha_2$ アゴニストであるデクスメトミジン投与により、マクロファージの集積を抑制し、吸入麻酔薬暴露による認知機能障害を抑制することを行動学的に解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外傷性脳損傷は高次脳機能障害や長期記憶障害を引き起こし、受傷者の生活の質が低下する。手術および麻酔の侵襲により術後認知機能障害が生じるが、術前から認知機能障害を伴う場合、障害が重症化することが臨床上大きな問題となっている。近年、外傷性脳損傷後の認知機能障害、および手術後の認知機能障害に海馬に集積するマクロファージが関与することが明らかになってきた。本研究では、外傷性脳損傷慢性期に、デクスメトミジンを用い、マクロファージの活性化を抑制し全身麻酔を受けた際に発症する術後認知機能障害を軽減することを検証した。さらなる研究を行うことにより術後認知機能障害の機序を解明し、予防法を確立する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Traumatic brain injury (TBI) initiates immune responses involving infiltration of monocyte-derived macrophages (MDMs) in the injured brain tissue. These MDMs play a key role in perioperative neurocognitive disorders (PND). We tested the hypothesis that pre-anesthetic treatment with dexmedetomidine (DEX) could suppress infiltration of MDMs into the hippocampus of TBI model mice, ameliorating PND. Pre-anesthetic treatment with DEX suppressed infiltration of MDMs in the hippocampus and ameliorated PND through  $\alpha_2$ -adrenergic receptors in TBI model mice. Pre-anesthetic treatment with DEX which suppresses infiltration of MDMs in the hippocampus may lead to a new treatment for PND in patients with a history of TBI.

研究分野：麻酔科学

キーワード：外傷性脳損傷 デクスメトミジン 単球由来マクロファージ

### 1. 研究開始当初の背景

外傷性脳損傷による長期にわたる高次脳機能障害や認知機能障害は、現在まで世界的に深刻な問題となっている。特に米国においては事故による外傷に加え、戦場で脳損傷を負った兵士の帰国後の後遺症のケアが大きな課題となっている。2015年頃より、外傷性脳損傷の後遺症形成はミクログリアの脳損傷部位への集積が関与しており、ミクログリアの集積に関わるケモカインの拮抗薬を投与すると外傷性脳損傷の二次的神経障害が改善すること、骨髄由来マクロファージを抑制する薬剤を投与すると術後認知機能障害が制御できることが報告された。デクスメドトミジンとミクログリアおよびマクロファージとの関係については、試験管内の研究でミクログリアの活性化を抑制し、炎症性サイトカインや腫瘍壊死因子の産生を抑制することが報告されたことをはじめ、活性化に寄与する可能性が報告されはじめたが、その機序は不明である。

### 2. 研究の目的

ミクログリアのうち特に外傷性脳損傷により集積する骨髄由来ミクログリアに着目し、外傷性脳損傷慢性期に吸入麻酔薬の投与により術後認知機能障害が重症化する機序を解明する。さらに、デクスメドトミジン併用投与により術後認知機能障害が軽減する機序を生体内で解明する。

### 3. 研究の方法

本研究は海馬に集積する骨髄由来マクロファージに焦点をあて、外傷性脳損傷慢性期の術後認知機能障害を軽減する、新規全身麻酔法を確立することを目的とする。外傷性脳損傷モデルマウスの生体標本の免疫組織学・分子学的解析を行い、術後認知機能障害が重症化する機序を解明する。またデクスメドトミジン併用投与により骨髄由来ミクログリアの再活性化を抑制し術後認知機能障害が軽減することを行動学的に証明し、免疫組織学・分子学的に機序を明らかにする。具体的には以下の通りである。

#### (1) GFP陽性キメラマウスを用いた外傷性脳損傷モデルマウスの作製

骨髄由来細胞を同定するため、GFP (Green fluorescent protein)陽性トランスジェニックマウスの骨髄細胞を、ブスルファンで骨髄抑制処理をした雄性 C57BL/6 マウスに骨髄移植し GFP陽性キメラマウスを作製する。骨髄移植4週後、全身麻酔下に外傷性脳損傷モデルマウスを作製した。

#### (2) 外傷性脳損傷慢性期における術後認知機能障害の発症および軽減の機序解明

頭部外傷受傷28日後に、2%イソフルラン単独投与または2%イソフルランにデクスメドトミジン併用投与による全身麻酔を30分間施行した。

全身麻酔施行14日後より、1日3回3日間バーンズメイズ試験を行い、空間学習機能を評価した。

行動学的解析を行ったモデルマウスより脳を採取し、免疫組織学的に海馬に集積する骨髄由来マクロファージの発現量を解析した。さらに採取した脳の海馬を用いて分子学的解析を行い、単球由来マクロファージの走化因子、および術後認知機能障害の発症に関わる分子を同定した。さらに、免疫組織学的解析によりデクスメドトミジンの作用部位である  $\alpha_2$  受容体が骨髄由来マクロファージに発現していることを確認し、海馬に発現する炎症性サイトカインを分子学的に解析した。

### 4. 研究成果

行動学的解析により、全身麻酔のみ投与したコントロール群と比較し外傷性脳損傷後全身麻酔を投与された群で認知機能低下が認められた(外傷性脳損傷群 vs. コントロール群: 逃避潜時: 177 (11) sec vs. 100 (66) sec,  $P < 0.001$ ; 探索距離: 666 (376) cm vs. 234 (155) cm,  $P < 0.001$ ; エラー回数: 9.0 (5.3) errors vs. 3.3 (2.2) errors,  $P = 0.017$ )。一方、デクスメドトミジンを全身麻酔時併用投与した(TBI-DEX)群はコントロール群と有意差がなく、認知機能が維持された。

免疫組織学的解析では、外傷性脳損傷群は海馬の単球由来マクロファージの発現が優位に増加し(2.6 (1.1)% vs. 0.5 (0.3)%,  $P = 0.003$ )、TBI-DEX群はコントロール群と比較し発現量に有意差がなかった。また、単球由来マクロファージの走化因子である MCP-1 の発現量は外傷性脳損傷群で優位に多かった ( $P = 0.007$ )。

分子学的解析では、炎症性サイトカインである IL1 の発現量が外傷性脳損傷群では優位に多かった ( $P = 0.035$ )。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

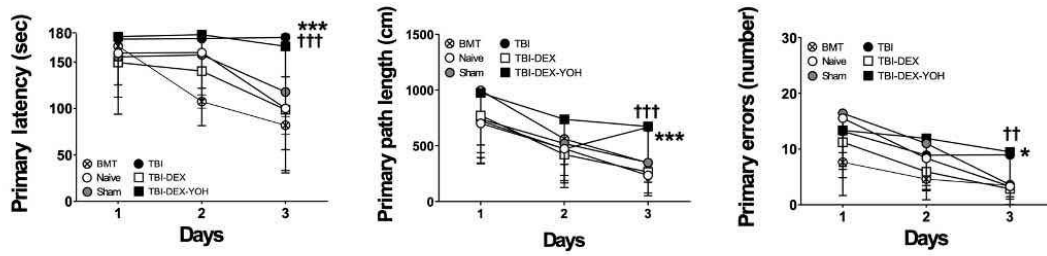


図1 バーンズ迷路試験

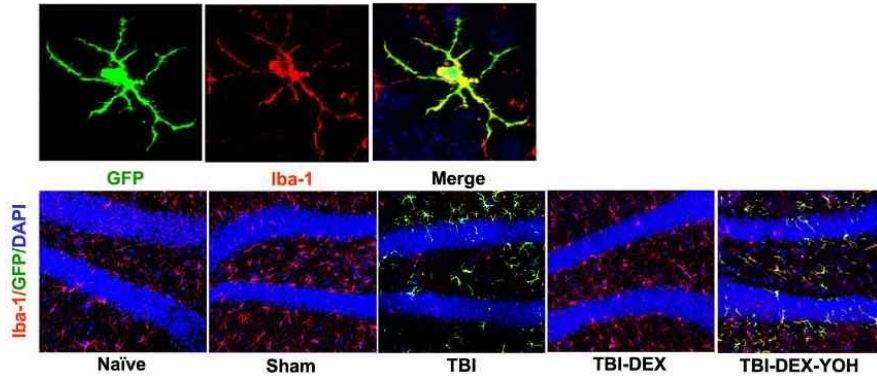


図2 免疫組織学的解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Natsumi Kii
2. 発表標題 Dexmedetomidine ameliorates isoflurane-induced cognitive dysfunction in mice subjected to traumatic brain trauma by attenuating microglial activation
3. 学会等名 european society of anesthesiologist (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Natsumi Kii
2. 発表標題 Dexmedetomidine ameliorates isoflurane-induced cognitive deficit in mice subjected to chronic traumatic brain injury by attenuation of reactivation of monocyte-derived macrophages
3. 学会等名 european society of anesthesiologist (国際学会)
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
---------	---------