

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17802

研究課題名（和文）術後認知機能障害における骨格筋制御因子ミオスタチンの役割

研究課題名（英文）The role of myostatin in perioperative neuro-cognitive disorder

研究代表者

根本 晃（NEMOTO, Akira）

秋田大学・医学系研究科・講師

研究者番号：00815095

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）：ミオスタチン遺伝子ホモ型ノックアウト老齢マウスにおける周術期認知機能障害予防効果を検討した。比較群は野生型と同じ表現型を有するヘテロ型ノックアウトマウスを使用した。雌雄混合12か月齢を使用し、Morris水迷路と恐怖条件付け試験による認知機能評価を行った。神経新生評価として、行動試験後に海馬内脳由来神経栄養因子定量比較も併せ行った。ホモ型ノックアウトマウス群ではヘテロ型ノックアウトマウスと比較して水迷路、恐怖条件付け試験共に術後の認知機能改善効果を認めた。また、脳由来神経栄養因子もホモ型において有意に高値であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

手術前の骨格筋量保持が周術期認知機能障害予防の一助となることが明らかとなった。運動療法には骨格筋量増大効果及び環境改善効果を有しており、これまで運動療法や環境改善効果は認知機能改善に有効であることが知られていた。本研究では骨格筋量増大のみでも一定の周術期認知機能障害予防効果を有することを示した。手術前DEXAや体組成計などによる骨格筋量定量検査が認知機能障害リスク指標となるのみならず、術前運動療法を要する患者の選定に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We investigated the relationship between perioperative neurocognitive disorder (PND) and myostatin. This experiment compared the effect of PND prevention between myostatin knock out mice and heterozygous mice. Myostatin knock out mice into two groups (myostatin (-/-) and (+/-)) with approximately equal numbers of males and females for experiment. Cognitive function was assessed by the fear conditioning tests and morris water maze. Hippocampal neurogenesis was evaluated by checking brain-derived neurotrophic factor (BDNF) secretion. The myostatin (-/-) group showed lower swimming latency and path length in the maze test and contextual fear memory in the fear conditioning test. Postoperative the levels of hippocampal BDNF in the myostatin (-/-) group were higher than those in the another group.

研究分野：周術期認知機能障害

キーワード：周術期認知機能障害 術後認知機能障害 サルコペニア 運動療法

## 1. 研究開始当初の背景

我が国において高齢化率は顕著であり、それに伴い高齢者の手術件数が増加してきている。手術や麻酔を契機に発症する認知機能低下 (周術期認知機能障害; PND) が注目されるようになり、特に高齢者に多いと報告されている。PND は認知機能低下のみならず、長期的には死亡率増加や介護費用増加、医療費の増加につながり、その原因の解明と予防は重要な課題であった。

骨格筋量の低下はアルツハイマー型認知症につながることで知られており、認知症に陥ることと骨格筋萎縮を生じさせるミオスタチン mRNA の発現及びタンパク合成が増加している。ミオスタチンは Akt/TORRC1/p70S6K 系のシグナルを抑制することで筋芽細胞分化や筋繊維肥大を抑制する負の調節因子として機能する。また、骨格筋萎縮が PND と関連するという報告もわずかに見られる。以上のことからミオスタチンの増加が PND 発症に関与している可能性が窺われる。

脳由来神経栄養因子 (BDNF) は神経栄養因子の 1 つで神経細胞の生存維持に関与している。その受容体は特に海馬に多く存在し、学習や記憶形成にかかわっている。PND では海馬内 BDNF の減少が生じることが知られている。今回の研究では、認知機能の変化を行動試験で評価することに加え、手術後海馬内サイトカイン変化がこれまでの報告と一致すれば、より根拠のある証明となる。

## 2. 研究の目的

ミオスタチンノックアウトマウスを作製し、骨格筋増大モデルを用い、骨格筋量に対する PND の関連について検討する。

これまで様々な PND リスク因子が検討されてきたが、骨格筋量もその 1 つであることを示すことが出来れば、手術前リハビリテーションなど予防介入し得る重要な因子であると考えられ、非常に特色のある研究になると思われる。

## 3. 研究の方法

### (1) モデルマウスの作製

ミオスタチンノックアウトマウスを作製し 12 ヶ月齢まで飼育した。ホモ型ノックアウトマウス (Myostatin (-/-)) は骨格筋量が増大し、ヘテロ型ノックアウトマウス (Myostatin (+/-)) は野生型と同程度の骨格筋量となることが知られており、対照群として Myostatin (+/-) を使用した。

### (2) 骨格筋量増加は PND へ繋がるのか

Myostatin (-/-) 及び (+/-) マウス共に、予め麻酔前にコントロールとして認知機能を Morris 水迷路、Fear Conditioning Test といった行動試験を用いて評価、記憶獲得を行った。その後、3%セボフルラン自発呼吸麻酔下に開腹肝部分切除術及び腸間膜牽引術を施行した。手術後 10 日後に再度行動試験を行い、認知機能の変化を評価した。比較群としては以下の通りである。

Myostatin (-/-) 手術・麻酔 (-)

Myostatin (-/-) 手術・麻酔 (+)

Myostatin (+/-) 手術・麻酔 (-)

Myostatin (+/-) 手術・麻酔 (+)

### (3) 手術・麻酔後の海馬内 BDNF が PND と関連するか

行動試験後に上記 4 群から海馬を摘出し、BDNF の発現量について ELISA を用いて評価した。また、BDNF は神経新生の重要な指標であり、神経新生の程度を海馬歯状回における免疫染色を行うことで評価した。染色標識として DAPI、ki-67、doublecortin を使用した。即ち、歯状回内における幼若神経細胞数を集計した。

## 4. 研究成果

### (1) 水迷路

遊泳距離及び遊泳時間で視空間記憶の評価を行った。手術前に行った記憶獲得相では 4 群間で差は認めなかったが、遊泳距離・遊泳時間ともに myostatin (-/-) マウスにおいて有意に短縮し、ホモ型ノックアウトマウスで術後視空間記憶改善を認めた。

### (2) Fear Conditioning Test

Cue test では手術前後ともに群間差を認めなかった。一方、Contextual test では Myostatin (-/-) 手術・麻酔 (+) 群においてヘテロ型ノックアウトマウス群よりも長時間の竦み時間となった。Fear conditioning test でも Myostatin (-/-) マウス群において認知機能保持効果を認めた。

### (3) 海馬内 BDNF

Myostatin (-/-) 手術・麻酔 (-) 群がヘテロ型ノックアウトマウス群と比較し BDNF 高発現を示し、骨格筋量増大が手術後でも海馬内の神経新生亢進を示唆する結果となった。

### (4) 免疫染色

十分なサンプル数を得られず現在集計中である。必要十分なサンプル数での免疫染色の結果が出次第学術誌での報告をする予定である。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1．発表者名 根本 晃
2．発表標題 骨格筋制御遺伝子ミオスタチンをノックアウトした老齢マウスでは周術期認知機能障害が軽減する．
3．学会等名 日本麻酔科学会第70回学術集会
4．発表年 2023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
---------	---------