

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22944

研究課題名(和文)術後せん妄と血液脳関門の機能障害に関するバイオマーカーの研究

研究課題名(英文)Study of biomarkers on postoperative delirium and dysfunction of blood-brain barrier

研究代表者

水枝谷 一仁(Mietani, Kazuhito)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90882605

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：術後せん妄は客観的な診断及び評価方法が確立しておらず、その発症機序も不明である。本研究では食道癌根治術を受ける患者を対象とし、せん妄発症の有無を調査し、様々なバイオマーカーをpNF-Hとともに測定、比較した。血清pNF-H値が周術期急性期においてタイミングに関係なく術後せん妄のマーカーとなる可能性があることが示唆された。またPAI-1は、術後せん妄患者の1PODに急激に増加し、0PODから1PODにおけるPAI-1の上昇は術後せん妄と関連していた。このことから感度が高いPAI-1とpNF-Hを組み合わせることで、せん妄の早期診断の精度を高めることができる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回我々はせん妄発症の有無を調査し、様々なバイオマーカーを測定、比較を行い、血清pNF-H値が周術期急性期においてタイミングに関係なく術後せん妄のマーカーとなる可能性があることを証明した。またPAI-1は、術後せん妄患者の1PODに急激に増加し、0PODから1PODにおけるPAI-1の上昇は術後せん妄と関連していた。このことから感度が高いPAI-1とpNF-Hを組み合わせることで、せん妄の早期診断の精度を高めることができる可能性が示唆された。これにより主観的ではなく客観的なせん妄の診断が可能となり、病態解明及び発症後の治療法開発のための分子マーカーの検索に繋がる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：An objective diagnosis and evaluation method for postoperative delirium has not been established, and the pathogenic mechanism is unknown. In this study, we investigated the presence or absence of delirium in patients undergoing esophageal cancer surgery, and measured and compared various biomarkers together with pNF-H. It was suggested that serum pNF-H levels may be a marker of postoperative delirium in the acute perioperative phase regardless of timing. PAI-1 also increased sharply to 1 POD in postoperative delirium patients, and an increase in PAI-1 from 0 POD to 1 POD was associated with postoperative delirium. This suggests that the combination of highly sensitive PAI-1 and pNF-H may improve the accuracy of early diagnosis of delirium.

研究分野：術後せん妄

キーワード：術後せん妄 リン酸化ニューロフィラメント重鎖(pNF-H) 血液脳関門(BBB) 接着因子 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

術後中枢神経系合併症には様々なものがあるが、術後数ヶ月～年単位で遷延する合併症として術後遷延性認知機能障害 (postoperative cognitive decline: POCD) の存在が近年明らかになってきおり、その発症要因としては術後急性期のせん妄が基盤となっていることが示唆されている (N Engl J Med 2013)。特に高齢者で POCD が多いことが併せて示されており、超高齢化社会を迎えた本邦においてはその対策が急務である。加えて、せん妄はこれまで一過性の脳の機能的障害として捉えられ可逆性であると考えられてきたが、術後せん妄発症から数ヶ月の時点で脳室拡大 (= 脳萎縮) が観察されることが示され (Anesthesiology 2012)、術後せん妄は神経細胞の解剖学的ダメージを伴う不可逆性の病態を含むことが示されている。しかし、術後せん妄の発症機序は解明されておらず、予防法も未開発であるため、POCD 予防のためにも急性期の術後せん妄に着目した臨床評価と病態解明が必要である。現在せん妄の臨床診断には CAM-ICU 等の評価ツールが用いられているが、その診断は患者の臨床症状や測定者の主観に影響を受けるため、ICU でもせん妄の検出率は低いことが報告されている。さらに検出率が低い理由として、せん妄には過活動型、低活動型、混合型といった臨床症状の異なる 3 つのサブタイプが存在することも分かっている。したがって術後せん妄 (術早期認知機能障害) に対する評価指標の開発とともに、その病態・発症および重症化機序を解明することが求められている。

2. 研究の目的

本研究の目的は術後せん妄の発症リスクが高い食道癌手術を受ける患者を対象とし、せん妄発症の有無において過活動型だけでなく低活動型と混合型のせん妄を含むスクリーニングを行い、軸索の主要な構造タンパク質である pNF-H を経時的に測定し縦断的に比較することにより、術後せん妄の臨床診断への応用の可能性や、臨床像との対応付けを明らかにすることである。これまで術後せん妄の病態解明と早期診断バイオマーカーとして非特異的炎症性サイトカイン (TNF- α や IL-6、IL-1、IL-8) の他には、神経グリア細胞の活動指標である S100- β 、神経細胞損傷の指標である neuron-specific enolase (NSE) などの神経科学領域では一般的に用いられる指標についても検討されてきたがいずれも十分な感度・特異度を示せておらず、また、血液中での安定性についても課題が残っている。一方で、リン酸化ニューロフィラメント重鎖 (pNF-H) は神経軸索の構造蛋白質であるため解剖学的神経損傷の特異的マーカーであり、臨床的には脊髄損傷時の画像所見、臨床症状とも相関することから術後せん妄における神経ダメージの定量的重症度マーカーとしても期待できる。実際、我々の研究グループでは、術後せん妄患者の約 70% で血清 pNF-H が陽性となり、臨床症状の重症度が血清 pNF-H 値と相関することを報告 (Inoue, et al. Neurosci Lett 2017) しているだけでなく、血液脳関門における炎症細胞の中枢神経移行を規定する血管内皮接着因子のうち、P-selectin と PECAM-1 が中枢神経ダメージの発症と重症化に関連することを明らかにしてきた (Mietani, et al. PLoS ONE 2019)。これは術後せん妄の急性期において解剖学的神経損傷 (神経細胞死) が起きていることを証明した世界初の発見であるとともに、POCD を予防するための術後急性期における中枢神経保護戦略のバイオマーカーになり得る。したがって、中枢神経ダメージに特異的な pNF-H を主軸とした術後せん妄 (術後早期認知機能障害) の評価はその病態解明に繋がることが期待できる。

3. 研究の方法

倫理委員会で承認を受け [承認番号 10051]、臨床試験登録後 [UMIN000010329] に、当施設で食道癌手術を受ける患者を対象として、前向き観察研究を実施した。対象は当施設において全身麻酔下で食道癌根治術を受け、術後 ICU に滞在する予定の ASA 分類 Ⅰ～Ⅲ の患者。年齢は 20 歳以上 85 歳以下、男女は問わない。術前に明らかな認知症がある患者、Major tranquilizers を定時内服している患者は除外した。

術前 (全身麻酔導入直後) から ICU 退室日まで、末梢血を通常医療行為の採血に 2ml 追加して取得した。毎日朝ないしは必要時に、CAM-ICU 日本語版でせん妄の発症有無を評価し、夜間は ICDS-C を夜勤看護師につけてもらい、その他の臨床症状と併せてせん妄の評価を行った。得られた患者サンプル中のバイオマーカー pNF-H の濃度を外部検査機関において測定するとともに、その症例の臨床情報を記録する。pNF-H 以外に、PAI-1、MMP-9、ApoE、leptin、resistin、IL-6、NSE、P-selectin、PECAM-1 を同時計測した。

統計分析は、JMP Pro Software version 16 (SAS Institute) および SPSS Software version 22 (IBM Corp) を使用して実行した。Pearson's chi-square test を使用して、患者背景を比

較した。術後せん妄患者と非せん妄患者間の pNF-H 値、およびその他のバイオマーカー値の変化は共変量の有無に関わらず、linear mixed effect model (線形混合効果モデル) によって評価した。Logistic regression analysis を実行して、術後せん妄診断のための患者の特徴とバイオマーカーを特定した。術後せん妄患者と非せん妄患者間の PAI-1 レベルに関して ROC analysis を実行し、Area Under Curve(AUC)を求めた。

4. 研究成果

インフォームドコンセントを提供した合計 120 人の患者がスクリーニングされた。24 人の患者が除外され(再挿管、血液データ漏れ、術前に抗精神病薬を内服等) 術後最初の 3 日間で 96 人の患者のうち 15 人 (15.6%) で術後せん妄が発生した。年齢は術後せん妄と有意に関連していた(表 1; オッズ比 1.1135; 95%信頼区間 1.0342-1.2144; P = 0.0028)。術式も術後せん妄と関連していた(表 2; P=0.0044)。

周術期を通じて術後せん妄患者は非

表1

parameter	univariable OR	95% CI	P value
age	1.1135	1.0342-1.2144	0.0028
BMI	0.9443	0.7741-1.1397	0.5551
anesthesia time	0.9967	0.9903-1.0025	0.2717
operation time	0.9970	0.9907-1.0029	0.3320
blood loss	1.0014	0.9996-1.0032	0.1150

表2

	delirium (n=15)	non-delirium (n=71)	P value
gender (M/F)	13/2	69/12	0.8813
ASA (1/2/3)	0/8/7	14/45/22	0.1226
neoadjuvant therapy			
chemotherapy (+/-)	12/3	51/30	0.2019
radiation (+/-)	12/3	72/8	0.2582
surgical procedure (1. open 2. robot-assisted 3. mediastinoscopic)	13/1/1	33/35/13	0.0044
anesthesia type (Des/Sev/Prop)	5/9/1	30/42/9	0.8002

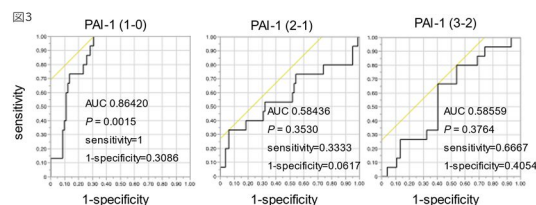
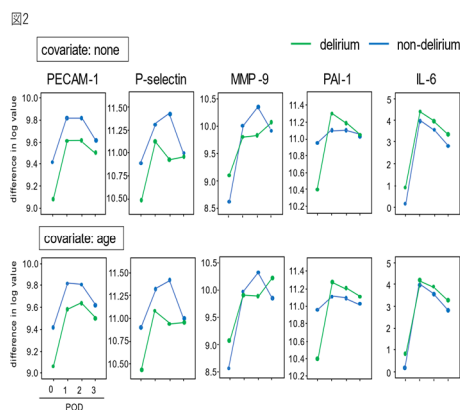
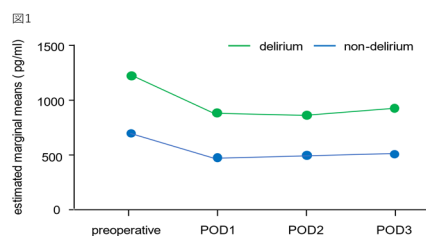
せん妄患者と比較して血清 pNF-H 値が高かった(図 1; F = 0.536, P = 0.658, partial $\eta^2=0.006$)。血清 pNF-H 値の変化は、術後 3 日間のどの期間でも術後せん妄と関連していなかった。

pNF-H 以外のバイオマーカーでは OPOD から IPOD における PAI-1 値の変化が、術後せん妄と関連が認められた。MMP-9 と P-selectin 値の変化は術後せん妄と IPOD から 2POD まで負の相関があり、2POD から 3POD まで正の相関が認められた(図 2)。

術後せん妄患者と非せん妄患者間で比較すると、PAI-1 (共変量なし, F = 11.632, P < 0.0001, $\eta^2=0.122$; 共変量年齢, F = 11.666, P < 0.0001, $\eta^2=0.123$) と MMP9 (共変量なし, F = 4.389, P = 0.005, $\eta^2=0.075$; 共変量年齢, F = 3.448, P = 0.018, $\eta^2=0.061$) で、共変量として年齢に相互作用が認められた(表 3)。OPOD から IPOD における PAI-1 値の上昇は、ROC 解析を行ったところ、AUC 0.86 (感度 100%、特異度 69%) となり、術後せん妄と強く関連していた(図 3)。

表3

	covariate					
	none			age		
	F-value	P value	partial η^2	F-value	P value	partial η^2
PAI-1	11.632	<0.001	0.122	11.666	<0.001	0.123
MMP-9	4.389	0.005	0.075	3.448	0.018	0.061
PECAM-1	0.538	0.656	0.006	0.570	0.635	0.007
P-selectin	2.972	0.032	0.034	2.485	0.061	0.029
IL-6	0.480	0.697	0.009	0.514	0.673	0.010



これらの結果を踏まえて考察を加えると、血清 pNF-H 値が、術後せん妄患者で OPOD から 3POD まで持続して高いレベルにとどまっていたこ

とは、術前および術後2日目の神経損傷マーカー-neurofilament light (NfL) のベースラインの上昇が、大手術を受ける高齢者におけるせん妄と関連していたことから (Tamara G Fong, et al. *Ann Neurol* 2020; 88: 984-99) pNF-H が周術期急性期においてはタイミングに関係なく術後せん妄のマーカーとなる可能性があることを示唆している。また我々が以前に報告した pNF-H陽性率は化学療法サイクルの累積数に比例して増加する(1サイクル5.0%; 3サイクル31.6%; 7サイクル55.0%) ことから (Akina Natori, et al. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 1348-52) 術前化学療法により CNS がダメージを受け、術前から pNF-H が上昇し術後せん妄を引き起こしやすい状態となっていた可能性がある。

一方、微小血管血栓症および線維素溶解のマーカーである PAI-1 は、術後せん妄患者の 1POD に急激に増加し、OPOD から 1POD における PAI-1 の上昇は術後せん妄と強く関連していたことは、臓器不全から 72 時間以内に採取された血漿 PAI-1 のベースライン濃度は、一貫して ICU 関連のせん妄と関連しており、PAI-1 濃度が高いほど、せん妄/昏睡のない日数が少ないことが報告されていること (Christopher G Hughes, et al. *Crit Care Med* 2016; 44: e809-17) 血漿 PAI-1 濃度は、軽度認知障害のある患者と AD の初期段階で上昇し (Jaeho Oh, et al. *Exp Gerontol* 2014; 60: 87-91) アミロイド沈着部位または患者の脳に炎症反応を伴う部位の近くで PAI-1 発現の増加が観察されていることなどから (P L McGeer, et al. *Brain Res Brain Res Rev* 1995; 21: 195-218) PAI-1 が神経変性プロセスの急性および慢性の両方の過程で CNS 系の炎症および神経損傷に関与していることを示唆している。

これらの結果を統合すると、比較的感度が高い PAI-1 と pNF-H を組み合わせることで、せん妄の早期診断の精度を高めることができる可能性が示唆された。

今後の研究課題としては、腫瘍細胞は PAI-1 を産生するという報告もあるため (Marcello De Cicco, et al. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2004; 50: 187-96) 周術期の非腫瘍由来の血清 PAI-1 値を覆い隠している可能性があることと、pNF-H の血清変化が進行中の神経変性を反映していない可能性を排除することができないため、PAI-1 と、tau などの中枢神経系の損傷の程度を直接反映するマーカーとの相関関係をさらに調査する必要がある。

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 水枝谷一仁、住谷昌彦、井上玲央、緒方徹、下條信威、内田寛治
2. 発表標題 食道癌術後患者における術後せん妄と軸索損傷バイオマーカー（pNF-H）との関連
3. 学会等名 日本麻酔科学会第68回学術集会
4. 発表年 2021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
---------	---------