

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592311

研究課題名(和文)アルツハイマー型認知症患者に対する麻酔薬の影響—安全な麻酔法の確立をめざして—

研究課題名(英文) Safety anesthesia management for Alzheimer's disease

## 研究代表者

祖父江 和哉 (Sobue, Kazuya)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90264738

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー型認知症(AD)患者に対する麻酔薬の使用は、病理を悪化させる可能性がある。本研究の目的は、ADの病理に対する麻酔薬の影響を明らかにし、安全な麻酔法を確立することである。ADの発症機序として、GM1ガングリオシドがアミロイド(A $\beta$ )の重合を促進することがわかっている。プロポフォール、チオペンタール、ミダゾラムは、GM1の発現を抑制することが明らかとなり、安全に使用できる可能性が高い。ケタミンは、A $\beta$ を分解する酵素であるネプリライシンの活性を低下させ、A $\beta$ 蓄積を促進する可能性がある。以上の結果は、AD患者に対する安全な麻酔法の確立に有用である。

研究成果の概要(英文)：The use of anesthetics for the Alzheimer's type dementia (AD) patients, there is a possibility that exacerbate the pathology. The purpose of this study was to clarify the effects of anesthetic drugs on the pathology of AD, it is to establish a secure anesthesia methods. As the pathogenesis of AD, it has been found that GM1 ganglioside is to promote the polymerization of amyloid (A $\beta$ ). Propofol, thiopental, midazolam will become apparent to suppress the expression of GM1, it is likely to be used safely. Ketamine reduces the activity of neprilysin are enzymes that degrade A $\beta$ , may promote A $\beta$  accumulation. As a result of the above it is useful in the establishment of safe anesthesia for AD patients.

研究分野：麻酔科学

キーワード：認知症 アルツハイマー 麻酔薬

## 1. 研究開始当初の背景

近年、アルツハイマー型認知症に代表される認知症の患者は年々増加しており、社会的な対応が求められている。アルツハイマー型認知症は、認知障害を主体とする進行性の疾患である。病理学的には大脳皮質における老人斑を認め、その成分はアミロイドベータ (A $\beta$ ) である。A $\beta$  の蓄積が原因であるかどうかは明確ではないが、現在のところアミロイドカスケード仮説が疾患発症機序として支持されている。神経細胞膜に存在するアミロイド前駆体蛋白質から A $\beta$  が生成され、何らかの異常により分解できなくなった A $\beta$

が凝集し、神経細胞の機能に障害をきたすという仮説である。申請者の研究室と共同研究者の山本直樹氏の研究により、糖脂質のひとつである GM1 ガングリオシド (GM1) と結合した A $\beta$  が核 (あるいは種) となつて次々と A $\beta$  が凝集していくことが明らかとなっていた (Yamamoto N et al. J Biol Chem 282: 2646-55, 2007, Yamamoto N et al. Biochim Biophys Acta 1778: 2717-26, 2008)。

一方、手術後の高次脳機能障害が 60 歳以上の非心臓手術後患者において 41.4% (Monk TG et al. Anesthesiology 108:18-30, 2008) と高率に発症することが報告され、入院期間の延長や予後にも大きく影響することが明らかとなつてきていた。しかしながら、認知障害などの高次脳機能障害を持つ患者に対する麻酔薬の影響は、十分には解明されていないのが現状であった。近年、培養細胞レベルではあるが、吸入麻酔薬が A $\beta$  凝集を促進するとの報告がなされていた (Zhen Y et al. Anesthesiology 111:741-52, 2009)。アルツハイマー型認知症患者に対する麻酔薬の投与は、手術後の脳機能にどのように影響するかは明確ではなかった。

## 2. 研究の目的

様々な麻酔薬の GM1 発現や A $\beta$  凝集に与える影響を明らかにし、まずは細胞レベルにおける安全な麻酔薬を選択する。さらに、臨床において各種麻酔薬の使用による術後高次脳機能低下を評価し、アルツハイマー型認知症患者に対する安全な麻酔方法を確立することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 培養神経細胞における GM1 (=核) 発現への各種麻酔薬の影響

神経細胞膜における GM1 発現の増加は、A $\beta$  凝集を促進する。すでに予備的実験により、プロポフォールとチオペンタールは神経細胞様モデル細胞 PC12 細胞において、A $\beta$  凝集の核となる GM1 の発現を低下させることを確認している。つまり、保護的な効果を持つ可能性が示唆される。そこで、培養ラット神経細胞においても同様の結果であることを確認する。その他、ハロペリドール、ケタミン、セボフルランを用いて同様の検討を行う。

### (2) 培養神経細胞における A $\beta$ 凝集への各種麻酔薬の影響

予備的実験により、プロポフォールとチオペンタールは *in vitro* における A $\beta$  凝集を抑制することが確認できている。つまり、アルツハイマー型認知症においてみられる A $\beta$  凝集を少なくとも変化させないか抑制する可能性がある。そこで、培養ラット神経細胞を用いて同様に A $\beta$  凝集を抑制することを確認する。その他、ハロペリドール、ケタミン、セボフルランを用いて同様の検討を行う。

### (3) 高齢ラット脳における GM1 発現と A $\beta$ 凝集への各種麻酔薬の影響

(1) と (2) の結果をふまえ、高齢ラットに各種麻酔薬を投与し、GM1 発現と A $\beta$  凝集の変化を確認する。

### (4) アルツハイマー病モデルマウスにおける記憶・学習への各種麻酔薬の影響

(3) に加えて、各種麻酔薬投与前後における記憶検査を行い、認知機能への影響を検討する。

### (5) 高齢者 (ヒト) における術後高次脳機能低下への各種麻酔薬の影響

臨床において各種麻酔薬の使用による術後高次脳機能低下を評価し、最終的にはアルツハイマー型認知症患者に対する安全な麻酔方法を確立する。

#### 4. 研究成果

##### (1) 培養神経細胞における GM1 (=核) 発現への各種麻酔薬の影響

プロポフォール、チオペンタール、ミダゾラムは神経細胞様モデル細胞 PC12 細胞において、A 凝集の核となる GM1 の発現を低下させた (Fig. 1)。つまり、保護的な効果を持つ可能性が示唆された。また、培養ラット神経細胞においても同様の結果であることを確認した。

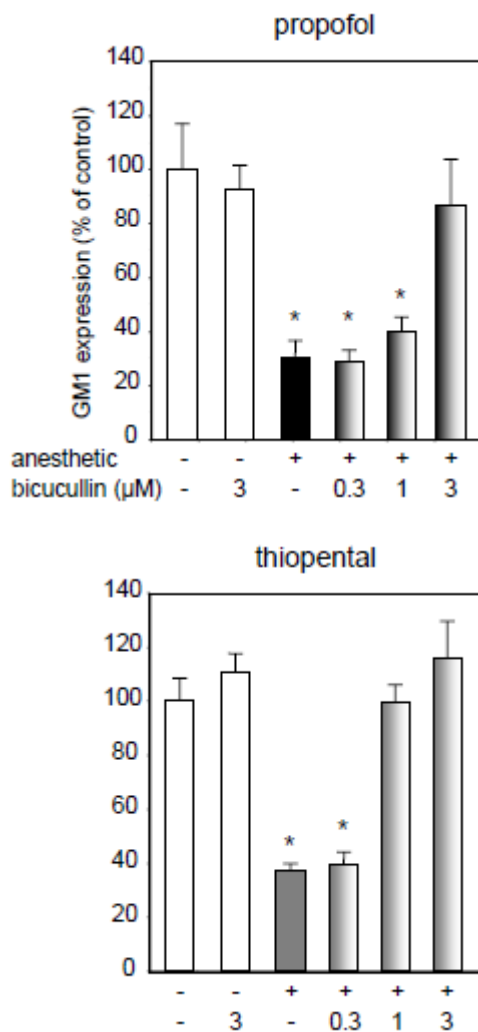


Fig.1 PC12 細胞におけるプロポフォールとチオペンタールの GM1 発現への影響

プロポフォールとチオペンタールにより GM1 の発現量は減少する。GABAA 受容体阻害薬の同時投与により、その効果は拮抗された。両薬剤は GABAA 受容体を介して GM1 の発現を抑制することが明らかとなった。

なお、ミダゾラムの結果は示していないが、同様の結果であった。

##### (2) 培養神経細胞における A 凝集への各種麻酔薬の影響

プロポフォール、チオペンタール、ミダゾラムは *in vitro* における A 凝集を抑制することを確認した (Fig.2)。つまり、アルツハイマー型認知症においてみられる A 凝集を少なくとも変化させないか抑制する可能性が示唆された。また、培養ラット神経細胞を用いて同様に A 凝集を抑制することを確認した。一方、ケタミンは A 分解酵素ネプリライシンの活性を抑制することが明らかとなり、アルツハイマー型認知症患者への使用の危険性が示唆された (Fig. 3)。ハロペリドールは分解系をアストロサイト内で抑制することが明らかとなった。

以上の結果より、アルツハイマー型認知症患者の病理を悪化させない麻酔薬は、プロポフォール、チオペンタール、ミダゾラムであり、悪化させる可能性が示唆されたのはケタミンとハロペリドールである。

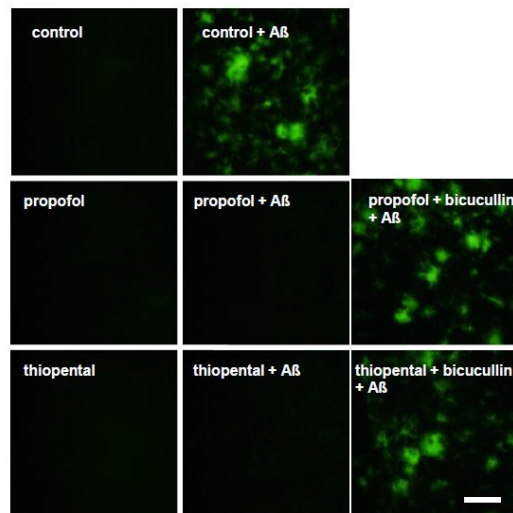


Fig. 2 培養神経細胞におけるアミロイドの凝集

培養神経細胞にアミロイド を投与し、その凝集をチオフラビン S で検討した。コントロールではアミロイド の凝集を確認した。プロポフォールとチオペンタールの投与により、アミロイド の凝集は抑制され、GABAA 受容体阻害薬ピキュキュリンによりその効果は拮抗された。

なお、ミダゾラムの結果は示していないが、同様の結果であった。

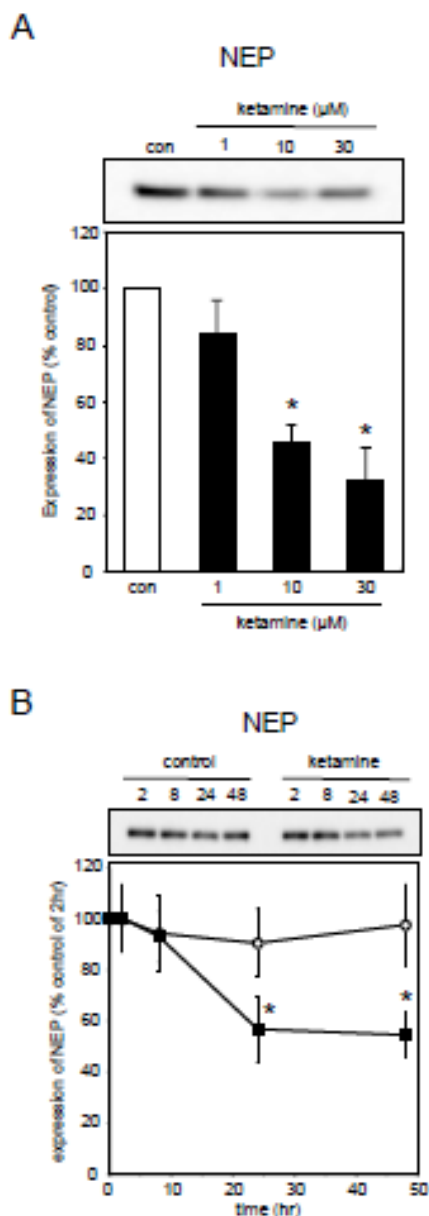


Fig.3 培養アストロサイトにおけるケタミンのネプリライシンへの影響

ネプリライシンはアストロサイトに発現し、アミロイドの分解を行う酵素である。ケタミンはネプリライシンの発現を抑制することが明らかとなった。この結果からは、ケタミンがアミロイドの分解を抑制する可能性が示唆される。

(3) 高齢ラット脳におけるGM1発現とA凝集への各種麻酔薬の影響

ラットにプロポフォールあるいはチオペンタールを投与すると、脳内のGM1発現が抑制されることが確認できた。

(4) アルツハイマー病モデルマウスにおける記憶・学習への各種麻酔薬の影響

検討を行ったが、確定的な結果を得ることができていない。さらなる検討を要する。

(5) 高齢者(ヒト)における術後高次脳機能低下への各種麻酔薬の影響

検討に至らなかった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6件)

Yamamoto N, Arima H, Sugiura T, Hirate H, Kusama N, Suzuki K, Sobue K: Midazolam inhibits the formation of amyloid fibrils and GM1 ganglioside-rich microdomains in presynaptic membranes through the gamma-aminobutyric acid A receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 457: 547-53.

doi: 10.1016/j.bbrc.2015.01.022

査読あり

Yamamoto N, Tanida M, Kasahara R, Sobue K, Suzuki K: Leptin inhibits amyloid -protein fibrillogenesis by decreasing GM1 gangliosides on the neuronal cell surface through PI3K/Akt/mTOR pathway. *J Neurochem* 2014; 131: 323-32.

doi: 10.1016/j.bbrc.2014.01.168

査読あり

祖父江和哉, 野手英明, 徐 民恵: 麻酔薬の高次脳機能への影響 基礎研究から見えるもの. *麻酔* 2014; 63: 1196-201.

DOI なし 査読なし

Yamamoto N, Arima H, Naruse K, Kasahara R, Taniura H, Hirate H, Sugiura T, Suzuki K, Sobue K: Ketamine reduces amyloid -protein degradation by suppressing neprilysin expression in primary cultured astrocytes. *Neurosci Lett* 2013; 545: 54-8.

doi: 10.1016/j.neulet.2013.04.016

査読あり

Yamamoto N, Arima H, Sugiura T, Hirate H, Taniura H, Suzuki K, Sobue K: Propofol and thiopental suppress

amyloid fibril formation and GM1 ganglioside expression through the -aminobutyric acid A receptor. Anesthesiology 2013; 118: 1408-16.  
doi: 10.1097/ALN.0b013e31828afc16  
査読あり

Yamamoto N, Matsubara T, Sobue K, Tanida M, Kasahara R, Naruse K, Taniura H, Sato T, Suzuki K: Brain insulin resistance accelerates A fibrillogenesis by inducing GM1 ganglioside clustering in the presynaptic membranes. J Neurochem 2012; 121: 619-28.  
doi: 10.1111/j.1471-4159.2012.07668.x  
査読あり

〔学会発表〕(計 1件)

祖父江和哉、山本直樹、太田晴子、前田純依、森島徹朗、伊藤恭史：ケタミンは分解抑制によりベータアミロイド蓄積を促進する。日本麻酔科学会第59回学術集会 2012年6月7日-9日 神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

祖父江 和哉 (SOBUE, Kazuya)  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：90264738

(2) 研究分担者

杉浦 健之 (SUGIURA, Takeshi)  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師  
研究者番号：20295611

浅井 清文 (ASAI, Kiyofumi)  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：70212462

(3) 連携研究者

なし