

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15K10531

研究課題名(和文)術後認知障害におけるオランザピンの効果

研究課題名(英文)Effects of Olanzapine on postoperative cognitive dysfunction

研究代表者

福田 妙子(Fukuda, Taeko)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：40228911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：6ヶ月雄ラットに開腹手術を行い、リポポリサッカロイド(LPS)単独かLPSとオランザピンを投与して術後認知症モデルを作成し、翌日に行動観察と迷路試験を行った。オランザピン投与群は、バーンズ迷路試験において、LPS投与群より有意に好成績を示し、それは麻酔のみで手術を行わなかった対照群と同程度の成績であった。

海馬のミクログリア活性を免疫組織染色で調査したところ、オランザピンは有意に海馬のミクログリアの活動を抑制していた。一方で、血中サイトカイン測定では、LPS単独投与群との差は認められなかった。オランザピンは、サイトカイン発生の直接抑制ではなく、神経保護・修復効果を持つことが推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究目的は、現在術後回復の大きな障害となっている術後認知障害の動物モデルを作成し、向精神薬オランザピンの効果を検証することにあった。比較的若年のラットで術後認知障害モデルを作成することは困難であったが、開腹手術と腸管操作及びリポポリサッカロイド(LPS)の組み合わせによって動物モデルを作成することができた。

オランザピンの投与は術後認知障害を抑制し、懸念されていた高血糖も観察されなかった。オランザピンには、鎮痛作用や鎮静作用があるので、今後術後認知障害を予防する薬剤の一候補となる可能性が示唆される結果となった。

研究成果の概要(英文)：Six-month-old male rats were underwent laparotomy and intra-peritoneal injection of lipopolysaccharide (LPS) or LPS + olanzapine for preparing a postoperative cognitive dysfunction model. Behavior observation and a maze test were performed the next day. In the Burns maze test, the LPS + olanzapine group showed significantly better results than the LPS group, which effect was similar degree to the control group that was anesthetized but not operated. Immunohistochemical study of hippocampal microglial activity revealed that olanzapine significantly suppressed hippocampal microglial activity. On the other hand, no difference was observed in the blood cytokine measurement between the LPS and LPS + olanzapine groups. It was speculated that olanzapine has a neuroprotective / repair effect rather than a direct suppression of cytokine production.

研究分野：麻酔科

キーワード：術後認知障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

術後の認知障害の発生率は、高齢者で高いことが有名であるが実は非心臓大手術でも 60 歳未満の患者で 5% 台であることが大規模臨床研究によって報告されている。さらに近年、術後の認知能力障害は生命予後を悪化させることが明らかになってきた。また、疼痛は記憶力に大きな影響を与え、認知能力を障害することも判明している。

我々は数年にわたり術後疼痛におけるニューロステロイドの効果を研究(基盤研究 C: 課題番号 21591997)し、アロプレグナノロンというニューロステロイドが鎮痛効果を示すことを確認した。そして、既に本邦において統合失調症等の治療に使用されている向精神薬のオランザピンが、このアロプレグナノロンの脳内濃度を数倍に増加させるという報告があることに気付いた。オランザピンは 1996 年米国において、従来の向精神薬に比較して錐体外路症状などの副作用が少ない新しい向精神薬として臨床使用が開始された。その後鎮痛作用を持つことが判明し、2001 年 2 名の繊維筋痛症の患者に使用されて以来、頭痛・癌性疼痛・交通事故後の慢性疼痛などに使用され効果のあることが報告されている薬剤である。さらに、このオランザピンには統合失調症でしばしば認められる認知障害に効果があることが 1998 年ごろから臨床報告されるようになり、その後様々な動物実験で学習や記憶障害を予防する働きのあることが分かってきた。その中には、統合失調症のモデル動物だけではなく、正常ラットやうつ状態のラットにおいても記憶力を高め認知能力の障害を軽減する働きのあることが報告されている。

すなわち、オランザピンには術後の疼痛と認知障害の両方に効果がある可能性があると考えられるのである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、現在術後回復の大きな障害となっている術後認知障害のモデルを比較的若年のラットで作成し、向精神薬オランザピンの効果を検討することである。

また、効果が認められた場合は、そのメカニズムについても調査することを目的とした。

3. 研究の方法

6 ヶ月の雄ラットにバーズ迷路の訓練(各ラット 10 回)を行った。迷路は直径 120cm の円盤の端に 20 のサークル(直径 10cm)があり、そのうち 1 つだけエスケープ・ボックスというラットが身を隠せる箱に接続されているものである。この迷路の天井部分にカメラを取り付け、ビデオトラッキング・システムでラットの移動データをコンピューターに集積し、専用ソフトを使用してエスケープ・ボックスに着くまでの時間や距離などを算出した。訓練によって、目標地点にたどり着くまでの時間と距離は徐々に小さくなり、10 回目には 90% のラットが 20 秒あるいは 2.2m 以内に目的地点にたどり着くことがわかった。

訓練の 1 週間後、イソフルラン麻酔下にラットの手術を行った。具体的には、体重・体温・血糖値の測定後に、ラットの胸骨から 1cm 下で縦に 3cm の切開を加え、腸管を引き出して 5 分間ガーゼに包んで指で揉んだ後腹腔内に戻し、閉創前にリポポリサッカロイド(LPS)と生理食塩水か LPS とオランザピンを投与した。手術を行わず麻酔のみかける対照群も設けた。

手術の翌日に行動観察とバーズ迷路テストを行った。迷路テストの回数は 3 回とし、20 秒あるいは 2.2m 以内にエスケープ・ボックスに到達した場合を成功とした。行動観察は、60cm 四方のフィールドに 1 匹ずつ放し、5 分間自由に行動させ、歩行速度・距離・後ろ足立位回数や毛繕い行動の有無を観察した。

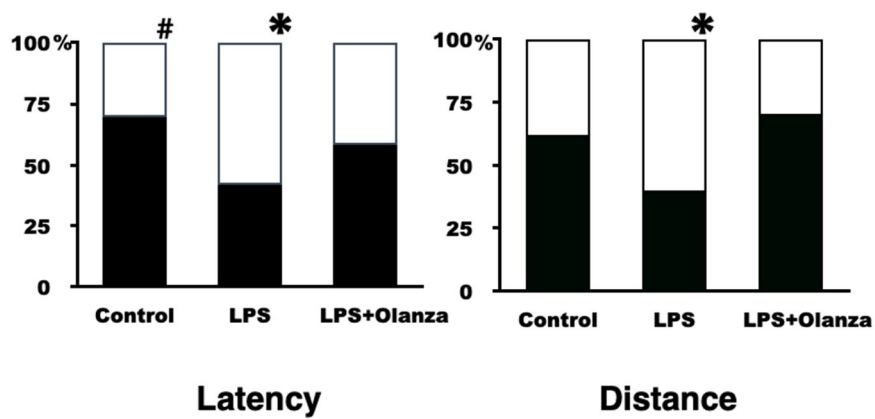
オランザピンの効果発現メカニズムを探索する目的で、海馬のマイクログリアの活動性には Iba-1 抗体を用いた免疫組織学的検査、血中及び海馬のサイトカイン濃度測定には専用キットを用いた酵素結合免疫吸着測定法(ELISA: Enzyme-linked immuno-sorbent assay)を使用した。

具体的には、上記の手術あるいは麻酔を行った翌日、ラットをイソフルランとベンとバルビタールで麻酔し、開胸して左心室から 4% パラホルムアルデヒドを流して脳を灌流固定し、厚さ 40 μm の切片を作成した。染色は一次抗体として Iba-1 抗体(1:10,000)を 4 度で 15 時間反応させた後、DAB を色素として通常の手順で免疫組織化学染色を行った。各切片を、Keyence 社のカメラで写真に撮り専用ソフトで染色された面積の割合を計算した。

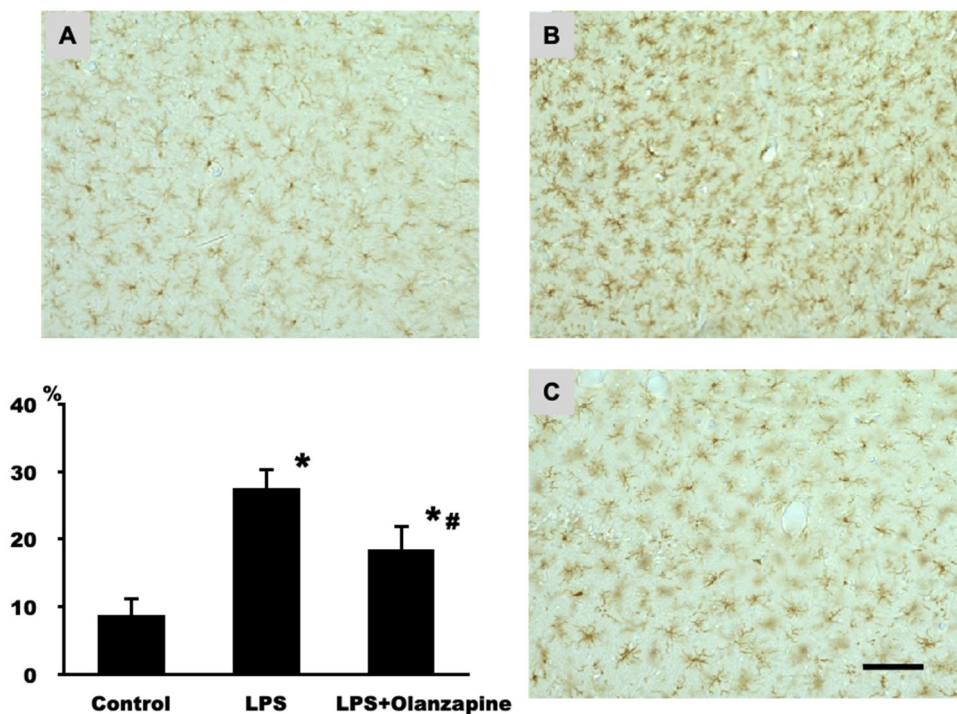
また、ELISA は、上記の方法で手術あるいは麻酔を行い、心臓採血と海馬の摘出を行った。サイトカイン濃度は、ラット用 IL-1 と TNF- 専用キット(R&D system)を用いて行った。

4. 研究成果

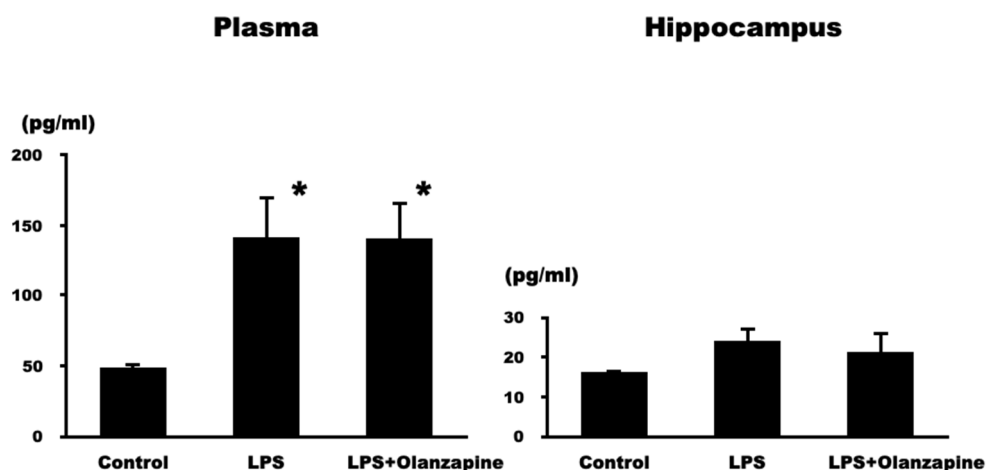
オランザピン投与群は、バーズ迷路試験においてLPS投与群と比べて有意に好成績を示し、対照群と同程度の成績であった。下図は、各群12匹のラットが夫々3回の迷路試験を受け、訓練期間の最後に到達した20秒以内、2.2m以内という基準を満たしたかどうかの割合を示したものである。LPS群は他群に比較して不良な成績であったことがわかる。一方オランザピン群は距離において対照群と差がなかった。



LPS群とオランザピン群で対照群より有意にIba-1の染色面積が広い割合となっていたことから、これらの群で海馬のミクログリアの活動性が上昇していることが示唆された。また、オランザピン群はLPS群より有意に染色面積の割合が低くなっていたので、オランザピンがミクログリアの活動性を抑制していることが推定された。下図は、海馬のCA-2と呼ばれる部分の結果であるが、CA-1、CA-3、DG部分も同様の結果であった。



サイトカイン濃度は、LPS 群とオランザピン群で対照群より IL-1 の血中濃度が上昇していたが、オランザピン群と LPS 群の間に有意差はなかった。また、海馬の IL-1 に有意差は無かった。TNF- α については、血中及び海馬の濃度共に低値を示し、各群間に有意差は認められなかった。下図は IL-1 の結果を示す。



[結論]

比較的若年のラットで術後認知障害モデルを作成し、オランザピン投与の効果を検討した。オランザピンはバーンズ迷路において認知障害を抑制し、海馬のミクログリア活性も有意に低下させていた。しかし、血中サイトカイン濃度に影響は与えていなかった。オランザピンの術後認知障害に対する効果は、直接サイトカインを抑制するというより、中枢神経の修復促進あるいは二次的障害からの保護ではないかと推測された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----