

氏名	田地 慶太郎		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博乙第 3020 号		
学位授与年月	令和 3 年 12 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Olanzapine attenuates postoperative cognitive dysfunction in adult rats (オランザピンは成体ラットでの術後認知機能障害を軽減する)		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	井上 貴昭
副査	筑波大学教授	医学博士	高橋 智
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	石井 亜紀子
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	加藤 秀之

論文の内容の要旨

田地慶太郎氏の博士論文は、ラットの術後認知機能障害モデルにおけるオランザピンの認知機能に対する効果について、行動試験、組織病理学的評価、サイトカインの評価を基に検討した研究である。その要旨は以下の通りである。

(目的) 著者は、麻酔科医としての豊富な臨床経験に基づき、就労困難や生活の質の低下の原因となる術後認知機能障害 (POCD: postoperative cognitive dysfunction) に注目してきた。POCD は中枢神経系の炎症 (neuroinflammation) が主因になると考えられている。著者は、統合失調症患者に対する認知機能改善効果があるオランザピン (OLA) が、脳内炎症を低減し、手術後の認知機能の低下を抑制するという仮説を立てた。著者は、この仮説に従い、6ヶ月齢のラットを用いた開腹手術後の認知機能障害モデルを作成し、行動試験による認知機能評価、海馬の病理組織学的評価、血清・組織サイトカイン評価に基づき、OLA による POCD の制御効果を明らかにすることを目的として本研究を行っている。

(対象と方法) 著者は、6ヶ月齢の雄性 Sprague Dawley ラットをランダムに割り付け、LPS 群 (全身麻酔下開腹操作+リポポリサッカライド (LPS) 及び生理食塩水 (NS) 腹腔内投与)、OLA 群 (全身麻酔下開腹操作+LPS 及び OLA 腹腔内投与)、CON 群 (全身麻酔のみ) の 3 群に分けて実験を行っている。LPS および OLZ の投与量は、各々行動・認知機能評価で 0.1 mg/kg、組織病理学的評価・サイトカイン評価で 1 mg/kg としている。行動・認知機能評価として、各群 (LPS 群:n=12、OLA 群:n=12、CON 群:n=12) にバーンズ迷路のトレーニングセッションを行い、その 7 日後に全身麻酔下の手術

(LPS 群、OLA 群) もしくは全身麻酔のみ (CON 群) を行い、その翌日にオープンフィールドとバーンズ迷路による認知機能評価を著者は行っている。著者は、バーンズ迷路のゴールまでに要した時間と距離の基準をそれぞれ 20 秒以内、2.2 m 以内とし、基準を満たした場合を成功とし、ゴールまでに要した時間と距離に関して成功率を比較している。次に組織病理学的評価として、著者は、各群 (LPS 群:n=5、OLA 群:n=5、CON 群:n=2) において手術から 24 時間後に抗 Iba-1 抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、海馬のミクログリア活性化状態の評価を行っている。ミクログリアは活性化されると細突起が短縮し細胞体が肥大化するため、著者は、Iba-1 により染色された面積の脳実質に占める割合を算出し、ミクログリアの活性化状態の指標としている。さらに、各群 (LPS 群:n=5、OLA 群:n=5、CON 群:n=5) において手術から 24 時間後の海馬および血中の組織内炎症性サイトカインの定量測定を行っている。

(結果) 著者は、オープンフィールド試験では LPS 群と OLA 群のラットは CON 群より有意に移動距離が短く、移動速度が遅いことを明らかにしている。LPS 群と OLA 群では、移動距離および移動速度に有意差は認めないが、バーンズ迷路におけるゴールまでの時間 (33.3% vs 52.8%, $P < 0.05$) と距離 (38.9% vs 69.4%, $P < 0.05$) での成功率は LPS 群と比較し OLA 群では有意に高く、認知機能の低下が軽度であることを著者は示している。CON 群との比較では、OLA 群はバーンズ迷路のゴールまでの時間における成功率は劣っていたが (63.9% vs 52.8%, $P < 0.05$)、ゴールまでの移動距離での成績は同等であることを著者は示している。

組織学的評価において、著者は、海馬の各領域で Iba-1 により染色された領域は CON 群と比較し LPS 群 ($11.6 \pm 5.2\%$ vs $31.5 \pm 6.0\%$, $P < 0.05$) と OLA 群 ($11.6 \pm 5.2\%$ vs $22.1 \pm 6.6\%$, $P < 0.05$) で有意に広範囲であったが、OLA 群では染色された領域が LPS 群に比較して有意に小さい ($31.5 \pm 6.0\%$ vs $22.1 \pm 6.6\%$, $P < 0.05$) ことを示している。

血清・組織サイトカイン評価において、著者は、血中のインターロイキン-1 β (IL-1 β) が、CON 群と比較して LPS 群 (48.9 ± 2.9 pg/ml vs 142.0 ± 28.4 pg/ml, $P < 0.05$) 及び OLA 群 (48.9 ± 2.9 pg/ml vs 140.8 ± 26.0 pg/ml, $P < 0.05$) 共に有意な上昇を認めるが、LPS 群と OLA 群では有意差を認めないことを明らかにしている。

(考察) 著者は、ラットの POCD モデルを用いて OLA の効果を検討し、以下の三点について明らかにしている。第一に、手術と LPS 投与によりバーンズ迷路での空間認知機能は悪化するが、それは OLA 投与により改善すること、第二に、手術と LPS の投与により海馬の活性型ミクログリアの割合が上昇するが、それは OLA 投与により抑制されること、第三に、手術と LPS 投与により血中 IL-1 β は上昇するが、OLA 投与は血中 IL-1 β に影響を与えないことである。

著者は、実験期間の短縮とバーンズ迷路の使用によりラットへの負荷を軽減し、大手術と LPS の投与により、月齢 6 ヶ月ラットの安定した POCD モデルを構築している。バーンズ迷路の評価では、術前のトレーニング後の基準値より短時間あるいは短距離であった場合を成功としたが、CON 群において、エスケープボックス到達までに要する時間内の成功率は他の 2 群と比較し高いことを著者は示している。この点について、著者は LPS 群と OLA 群のラットの移動速度は腹部手術の影響により CON 群よりも遅いためと考察している。従って著者は、認知機能を正確に評価するためにはエスケープボックス到達までに要した時間よりも距離を用いることが適していると結論づけている。さらに著者は、エスケープボックス到達までに要した距離における成功率は OLA 群と CON 群では同等

であることを示している。OLA 群は同様の手術を行った LPS 群よりもエスケープボックス到達までの距離が短いことから、著者は OLA の POCD に対する有効性を証明している。

一方、海馬のミクログリア活性化と血中 IL-1 β のレベルには比例関係を認めなかったことから、著者は、OLA の POCD に対する効果は血中サイトカインの抑制によるものではないと推測している。OLA は、海馬のプレグネロンとアロプレグナロンを増加させることが知られており、これらのニューロステロイドは学習と記憶を賦活化させ、認知機能障害を軽減することが報告されている。また、急性ストレスは海馬において IL-1 β の上昇を伴わずにミクログリアを活性化させることも報告されている。

以上のことより、OLA が POCD を抑制する機序として、OLA が有する鎮痛作用や抗不安作用により、二次性の神経組織損傷が保護され、さらに神経修復が促進されることによると著者は考察している。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究は、慢性期の認知機能障害を高率に合併することが報告されている周術期亜急性期合併症としての術後認知機能障害 (POCD) に着目し、ラット POCD モデルを確立するとともに、オランザピンの POCD に対する制御効果を定量的に証明した基礎研究である。ヒト POCD を高度に再現したラットモデルを作製し、認知機能障害評価法の確立、免疫染色を用いた病理学的評価、サイトカイン測定による血清学的評価により、POCD の病態を明らかにすると同時に、オランザピンの POCD に対する薬理学的効果を示した画期的な研究と考えられる。未だ病態生理が明らかにされていない POCD に対する治療介入の示唆に富み、translational research としても今後の発展が大いに期待される。

令和 3 年 10 月 6 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、学力の確認を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。