

#### D. 考察

高齢患者の術前状態として痴呆など精神障害があるとせん妄がおこりやすく、また ASA スコア (American Society of Anesthesiologist Physical Status Classification) と癌告知も術後せん妄発生を助長すると推測された。術後回復期には、せん妄発症と密接な関係を示したのは手術創感染で、術後腸閉塞もせん妄を助長するという結果が得られた。一方、敗血症では逆にせん妄を抑制する傾向がみられた。これは本症がひとたび発症すれば、全身状態急激な悪化をまねき、精神症状である術後せん妄などが起こりえないとも考えられるが、明確な理由は不明である。

また、麻酔薬としてフェンタネスト、セボフルレンは、いずれも高齢者において術後せん妄の発症を促進する傾向を持ち、逆に笑気ガスは、せん妄発生を抑える可能性が統計学的には示唆された。しかし、通常一般臨床の場においては術前の患者の状態により麻酔方法を選択したり、使用される麻酔薬が各施設により、かたよがりがあるなどのバイアスがかかっていることも考慮されるべきと考えられる。

#### E. 結論

高齢者手術患者の術前状態として痴呆などの精神障害、癌告知、ASA スコア (American Society of Anesthesiologist Physical Status Classification) の高値、術後回復期の創感染、腸閉塞、手術時麻酔薬として、フェンタネスト、セボフルレンはいずれも術後せん妄の発症を促進する傾向を持つ可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

安井章裕：消化管再建と消化管ホルモン胆道外科の要点と盲点、二村雄次 編、pp232 文光堂 2002

##### 2. 学会発表

安井章裕：高齢者逆流性食道炎に対する Collis-Belsey 手術 第 6 回名古屋 GERD 研究会 平成 15 年 3 月 29 日 名古屋

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。



厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

遺伝子、蛋白解析による高齢者術後合併症危険予測の可能性の研究

分担研究者 磯部健一 国立長寿医療研究センター老化機構 部長

研究要旨

手術に際し、術中、術後様々なストレスがかかる、生体はそれに反応し、ストレス反応あるいは防御遺伝子を発現させると考え、様々なストレス応答遺伝子の発現制御実験を行っている。手術に関してかかるストレスを分析すると、手術中、前後の拘束ストレス、感染ストレス、さらに組織にメスをいれる外傷ストレスが考えられる。我々はマウス拘束ストレスモデルで、血液凝固系の遺伝子発現が上昇することを見出した。すなわち、TF (Tissue factor) . PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor-1)が上昇し、微小血栓ができやすい状況になることがわかった。また、老化に伴い、遺伝子上昇が亢進することが老化マウスをつかって判明した。また、我々は p53 と結合する zfp148 がストレス刺激で上昇することを見出した。これらの遺伝子を調節するヒストンの老化における役割を調べた。

A. 研究目的

高齢者は手術に際し、術中、術後様々なストレスがかかる、生体はそれに反応し、ストレス反応あるいは防御遺伝子を発現させると考え、様々なストレス応答遺伝子の発現制御実験を行っている。手術に関してかかるストレスを分析すると、手術中、前後の拘束ストレス、感染ストレス、さらに組織にメスをいれる外傷ストレスが考えられる。今年各年齢マウスに拘束ストレスをかけ、血液の凝固系を調べることで、高齢者がストレスで血栓ができやすくなるか否か検討した。また、新しいストレス応答遺伝子を検索した。

B. 研究方法

1. ストレス刺激

細胞へのストレス刺激はアルキル化剤である Methyl methanesulfonate (MMS)、血清除去で行った。また、マウスに拘束ストレスを

20 時間かけ、解放後組織をとり、遺伝子発現、蛋白発現を検索した。ES 細胞に homologous recombination で zfp148 を片方欠損させた細胞 zfp148<sup>+/-</sup>を作製した。

2. 遺伝子発現、蛋白発現

組織の mRNA 発現はノザンハイブリダイゼーション、インサイツウハイブリダイゼーションで検索した。組織の蛋白発現はウエスタンブロットング、免疫染色で検索した。

(倫理面への配慮)

動物実験はマウス個体を使用した。長寿医療研究センター動物施設実験指針に従って研究を行った。

C. 研究結果

1. 拘束ストレスが血栓増強作用をもち、高齢に従い強くなる。

私たちはマウスに強い拘束をすることで、

血液凝固系の変化の研究をした。交感神経系の刺激によると思われる。マウスに20時間の拘束ストレスをかけたところ、血液の凝固系の亢進がみられ、PAI-1(plasminogen activator-1), TF (Tissue factor) の血液中、あるいは組織での発現上昇がみられ、これは遺伝子発現が上昇したことによるものであった。特に、腎臓系球体、脂肪組織に発現が強く見られた。拘束ストレスによる PAI-1 mRNA の上昇は老化により著しく上昇し、腎臓系球体の血栓が観察された。

## 2. 新しいストレス応答シグナルの発見

酸化ストレス、DNA 傷害性ストレスは p53 を活性化する。私達は p53 と結合する新しい蛋白 zfp148 の発現が MMS.血清除去で上昇することを見出した。Zfp148+/+細胞に MMS.血清除去刺激をすると、zfp148 の発現上昇と p53 リン酸化が観察された。ストレス蛋白 p53 の下流に p21/WAF1 があり、細胞の老化に関係する。以前我々は p21/WAF1 の発現がヒストンアセチル化酵素 p300 により調節されることを報告したが、今回 p300 のアセチル化を老化マウスで調べ、発現が多く臓器で保たれているが肝臓では老化により減少することを示した。

## D. 考察

高齢者は手術時にかかるストレスにどの程度耐えられるのか。今回、マウスで拘束ストレスが血液凝固系を亢進させ、血栓を起こしやすくすることを見出した。老齢マウスでより血液凝固系を亢進がみられることから、高齢者が手術等で拘束される場合血栓への対処が必要になる。様々なストレス応答蛋白のシ

グナル伝達系、遺伝子発現制御が調べられているが、p53 を中心としたストレス応答は細胞のアポトーシス、増殖停止、その間の遺伝子修復を考えた時重要になる。Zfp148 は p53 と結合し、ストレス応答に強く関与することが示唆された。

## E. 結論

1. 手術等で拘束する場合血液の凝固系亢進を介して、高齢者は血栓ができやすいことをマウスで示した。
2. Zfp148 は DNA 傷害性ストレス MMS、血清除去で発現が上昇した。Zfp148 は p53 のリン酸化を介して、p21/WAF1 の発現を上昇させる可能性が示唆された。胎児期で始原生殖細胞の増殖停止に関与することが遺伝子欠損マウス実験で判明した。
3. ヒストンアセチル化酵素 p300 はストレス関連遺伝子 p21/WAF1 の発現に関与しているが、その発現と活性は多くの臓器で老化しても保たれていた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 論文発表

1. Takeuchi A., Mishina Y., Miyaishi O., Kojima E., Hasegawa T. and Isobe K.: Heterozygosity for Zfp148 causes complete loss of fetal germ cells during mouse embryogenesis. *Nature Genetics* 33(2):172-176. 2003.
2. Maehara K, Uekawa N, Isobe K.: Effects of histone acetylation on transcriptional

regulation of manganese superoxide dismutase gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 5;295(1):187-92, 2002.

3. Koji Yamamoto, Takayoshi Shimokawa, Hong Yi, Ken-ichi Isobe, Tetsuhito Kojima et al.: Aging and obesity augment the stress-induced expression of tissue factor gene in the mouse. *BLOOD*, 100(12): 4011-4018, 2002.
4. Li Q, Xiao H, Isobe K. Histone acetyltransferase activities of cAMP-regulated enhancer-binding protein and p300 in tissues of fetal, young, and old mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* ;57(3):B93-8.2002
5. Hamajima, F. Hasegawa, T., Nakashima I., Isobe. K.: Genomic Cloning and Promoter Analysis of the GAHSP40 Gene. *J, Cellular Biochem. J Cell Biochem.* 84(2):401-7.2002

#### 学会発表

1. Ken-ichi Isobe, Akihide Takeuchi, Yuji Mishina\*, Osamu Miyaiishi  
HAPLO-INSUFFICIENCY OF SPD, A ZN-FINGER TRANSCRIPTION FACTOR, CAUSES LOSS OF PRIMORDIAL GERM CELLS AND NEURAL TUBE DEFECT IN MALE MICE Molecular genetics of aging cold spring Harbor symposium 2002. 10.2-6.
2. 磯部健一、武内章英 脳損傷モデルによる各種サイトカインと iNOS の発現 第2回日本 NO 学会 2002 年 5 月 24-25 日、東京
3. 小島英嗣、武内章英、審良静男、竹田潔、磯部健一 GADD34 の機能解析;ER ストレスによる発現上昇と蛋白合成シャットオフ

からの回復 (ノックアウトマウスを使った解析) 第 24 回日本分子生物学会年会 2002 年 12 月 11-14 日、横浜

4. 上川奈都子. 錦見昭彦. 磯部健一. 丸山光生  
マウス胎児由来繊維芽細胞の細胞老化に伴い発現が増加する遺伝子の単離と同定 第 24 回日本分子生物学会年会 2002 年 12 月 11-14 日、横浜
5. 磯部健一. 伊藤佐知子. 丸山光生. 中島 日出夫. 羽根田正隆 アルツハイマー病におけるミクログリアの役割 (第 1 報) 第 29 回日本免疫学会年会 2002 年 12 月 4-6 日、東京
6. 錦見昭彦. 上川奈都子. 磯部健一. 丸山光生 胚中心で高発現しているシグナル伝達関連因子のスクリーニング) 第 29 回日本免疫学会年会 2002 年 12 月 4-6 日、東京
7. 上川奈都子. 錦見昭彦. 磯部健一. 丸山光生 MEF を用いた IL-1Ra の発現と細胞老化における IL-1 ファミリーの機能解析 第 29 回日本免疫学会年会 2002 年 12 月 4-6 日、東京
8. 中島 日出夫、浅井あずさ、岡田亜樹、磯部健一、ILT 受容体の遺伝子発現制御機構の解析 第 29 回日本免疫学会年会 2002 年 12 月 4-6 日、東京



研究成果の刊行に関する一覧表（関連文献も含む）

1. 深田伸二：神経周囲侵襲と予後 胆道外科の要点と盲点、二村雄次 編、pp125 文光堂 2002
2. 深田伸二：尾状葉胆管枝浸潤の診断 胆道外科の要点と盲点、二村雄次 編、pp142-144 文光堂 2002
3. 深田伸二：上手な手術の受け方 お達者ゼミナール 中日新聞 2002
4. Kobayashi Masayoshi, Matsubara Junichi, Matsushita Masahiro, Nishikimi Naomichi, Sakurai Tsunehisa, Nimura Yuji: Expression of angiogenesis and angiogenic factors in human aortic vascular disease. *Journal of Surgical Research* 106(2): 239-245, 2002年9月 Elsevier Science
5. 錦見尚道:慢性虚血再灌流障害はありえるか *Heart View* 6(6): 870-872, 2002年6月 メジカルビュー社
6. 北川雄光, 北島政樹：消化管における sentinel node と癌転移. サイトプロテクション-生体防御機構の源流を探る-(井上正康 監修), 癌と化学療法社, 東京 185-191, 2002.03
7. 北川雄光, 北島政樹：癌の遺伝子診断・治療。「専門医のための消化器外科学レビュー2002」総合医学社, 東京 37-40, 2002.03
8. Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M, Kubota T, Ando N, Ozawa S, Ohtani Y, Furukawa T, Yoshida M, Nakamura E, Matsuda J, Shimizu Y, Nakamura K, Kubo A and Kitajima M : Intra-operative lymphatic mapping and sentinel lymph node sampling in esophageal and gastric cancer. *Surg Oncol N Am* 11(2):293-304, 2002.04
9. Kitagawa Y, Fujii H, Mukai M, Kubota T, Otani Y, Kitajima M : Radio-guided sentinel node detection for gastric cancer. *British Journal of Surgery* 89(5):604-608, 2002.05
10. 北川雄光, 北島政樹：コンピュータープレゼンテーションの勧め. *臨床外科* 57(9):1205-1209, 2002.09
11. 小澤壯治, 北川雄光, 岡本信彦, 清水芳政, 北島政樹：食道 sm 癌に対する食道温存治療の可能性 (分子生物学の立場からの検討). *胃と腸*, 医学書院, 東京 37(10):1299-1303, 2002.09
12. Kitagawa Y, Kitajima M : Gastrointestinal Cancer and Sentinel Node Navigation Surgery. *Journal of Surgical Oncology* 79(3):188-193, 2002.10
13. 北川雄光, 小澤壯治, 北島政樹：食道癌の治療に関する最新のデータ. *臨床外科*, 医学書院, 東京 57(11):113-121, 2002.10
14. Masaki Kitajima, Yuko Kitagawa : Surgical treatment of esophageal cancer- the adcent of the era of indicidualization . *The New England Journal of Medicine* 347(21): 1705-1708, 2002.11
15. Kitagawa Y, Watanabe M, Hasegawa H, Yamamoto S, Fujii H, Yamamoto K, Matsuda J, Mukai M, Kubo A, Kitajima M : Sentinel node mapping for colorectal cancer with radioactive tracer. *Dis Colon Rectum* 45(11):1476-1480, 2002.11
16. 清水芳政, 北川雄光, 小澤壯治, 藤井博史, 松田純一, 向井萬起男, 久保敦司, 北島政樹：食道癌における Sentinel node navigation の可能性. *癌の臨床*, 篠原医出版新社, 東京 48(13):863-867, 2002.12

17. 北川雄光, 北島政樹: Editorial—固形癌における Sentinel node navigation 研究の現況と実用化に向けた諸問題. 癌の臨床, 篠原医出版新社, 東京 48(13):839-843, 2002.12
18. 小澤壯治, 北川雄光, 岡本信彦, 清水芳政, 北島政樹: 食道外科領域における術後感染症(術後感染症対策の最近の進歩と問題点). 日本外科学会雑誌 103(12):865-868, 2002.12
19. 才川義朗, 熊井浩一郎, 大谷吉秀, 吉田昌, 古川俊治, 北川雄光, 久保田哲朗, 北島政樹: 消化管癌に対する腹腔鏡下手術の現況(適応, 方法, 合併症, 予後). 日本内科学会雑誌 92(1):53-57, 2003.01
20. 小澤壯治, 北川雄光, 上田政和, 北島政樹: 食道癌における targeting 療法. GI. Research, 先端医学社, 東京 11(1):35-40, 2003.02
21. Takeuchi A., Mishina Y., Miyaishi O., Kojima E., Hasegawa T. and Isobe K.: Heterozygosity for Zfp148 causes complete loss of fetal germ cells during mouse embryogenesis. Nature Genetics 33(2):172-176. 2003.
22. Maehara K, Uekawa N, Isobe K.: Effects of histone acetylation on transcriptional regulation of manganese superoxide dismutase gene. Biochem Biophys Res Commun. 5;295(1):187-92, 2002.
23. Koji Yamamoto, Takayoshi Shimokawa, Hong Yi, Ken-ichi Isobe, Tetsuhito Kojima et al.: Aging and obesity augment the stress-induced expression of tissue factor gene in the mouse. BLOOD, 100(12): 4011-4018, 2002.
24. Li Q, Xiao H, Isobe K. Histone acetyltransferase activities of cAMP-regulated enhancer-binding protein and p300 in tissues of fetal, young, and old mice. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. ;57(3):B93-8.2002
25. Hamajima, F. Hasegawa, T., Nakashima I., Isobe. K.: Genomic Cloning and Promoter Analysis of the GAHSP40 Gene. J, Cellular Biochem. J Cell Biochem. 84(2):401-7.2002
26. 瀬川郁夫, PCPS を必要とした劇症型心筋炎—慢性期にリンパ球浸潤を認めた 1 例、劇症型心筋炎の臨床(和泉徹 編集)、医学書院、東京、112-116、2002
27. 松井宏樹、瀬川郁夫: 心室頻拍と左室内血栓および右室異形成を合併した心筋症—拡張型心筋症か不整脈源性右室心筋症か、心臓、12、963-967、2002
28. 章 天喬、瀬川郁夫、セカンドハーモニック・イメージングによる超音波心筋組織 診断法を用いた 2 型糖尿病患者の心筋障害の検討、岩手医誌、54、225-232、2002
29. 上嶋健治、瀬川郁夫、専門病院から働きかける医療連携の試み=病から診へのアプローチ、日本医事新報、4066、69-72、2002
30. 瀬川郁夫、禁煙は 2 次予防に有効か? Current Therapy、20、83-85、2002
31. 真弓俊彦: 急性膵炎診断治療の Evidence based Medicine. 胆と膵: 23(10):801-805, 2002
32. Toshihiko Mayumi, Hideki Ura, Shinjyu Arata, et al.: Evidence-based clinical practice guidelines for acute pancreatitis: proposals. Journal of HBP Surgery 9:413-422, 2002.
33. 安井章裕: 消化管再建と消化管ホルモン 胆道外科の要点と盲点、二村雄次 編、pp232 文光堂 2002



20020195

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、  
P.45-P46の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。