

博士論文

術後せん妄患者における中枢神経障害と血液脳関門の機能
不全に対する軸索損傷バイオマーカーpNF-H 測定の意義

水 枝 谷 一 仁

術後せん妄患者における中枢神経障害と血液脳関門の機能
不全に対する軸索損傷バイオマーカーpNF-H 測定の意義

所属：東京大学大学院医学系研究科外科学専攻生体管理医学講座麻酔学

指導教員：内田 寛治 准教授

申請者：水枝谷 一仁

共同研究者：住谷 昌彦、 緒方 徹、 下條 信威、 井上 玲央、

阿部 博昭、 河村 岳、 山田 芳嗣

目次

I. 要旨

II. 略語一覧

III. 序文

IV. 対象と方法

V. 結果

VI. 考察

VII. 結語

VIII. 謝辞

IX. 参考文献

I. 要旨

術後せん妄は死亡率上昇や遷延性高次機能障害など予後や回復に悪影響を与えるが、その発症機序は不明で診断と重症度評価は問題が多い。末梢血液で測定可能な軸索損傷のバイオマーカーであるリン酸化ニューロフィラメント重鎖（pNF-H : phosphorylated neurofilament heavy chain）と、血液脳関門（BBB : blood brain barrier）傷害マーカーを測定し、術後せん妄による中枢神経（CNS : central nervous system）障害が BBB の機能不全と関連するか検討した。全身麻酔下に手術を受けた患者のうちせん妄発症患者 41 名中 23 名が pNF-H 陽性を示した。測定項目のうち p-selectin は pNF-H 陽性（CNS 傷害の有無）に、Platelet and endothelial cell adhesion molecule-1（PECAM-1）は pNF-H 値の上昇（CNS 傷害の重症度）に関連が認められ、術後せん妄による CNS 障害と BBB の機能不全との関係性が示唆された。

II. 略語一覽

Apo-E : Apolipoprotein E

ADL : activities of daily living

ASA : American Society of Anesthesiologists

CAM-ICU : Confusion Assessment Method for the intensive care unit

CNS : central nervous system

EEG : electroencephalogram

GABA : gamma-amino-butyric acid

NSE : neuron-specific enolase

PECAM-1 : platelet and endothelial cell adhesion molecule-1

ICAM-1 : intercellular adhesion molecule-1

ICU : intensive care unit

IL : interleukin

pNF-H : phosphorylated neurofilament heavy chain

SAA : serum anticholinergic activity

TNF- α : tumor necrosis factor-alpha

VCAM-1 : vascular cell adhesion molecule-1

Ⅲ. 序文

Ⅲ-1. 術後せん妄のリスク

術後せん妄は、周術期に発生する CNS の合併症の中で最も一般的で、術後患者の早期離床や日常生活動作（ADL : activities of daily living）の回復を妨げ、予後の悪化につながる。例えば、術後せん妄は人工呼吸管理の期間の延長や集中治療室（ICU : intensive care unit）の滞在期間の延長に加え、死亡率の上昇と関連することが報告されている[1, 2]。死亡率の上昇と関連が見られた要因としては、せん妄を発症するような患者は原疾患が比較的重症であること、挿管されている期間が延長することで鎮静期間も延長し不動化に伴う合併症が増加すること、カテーテル類の自己抜去や挿管チューブの自己抜管などで治療が妨げられること、せん妄により早期離床が妨げられ ADL が下がってしまうことなどが考えられる[3, 4, 5]。またせん妄はこれらの臨床的な問題だけでなく、医療経済面にも悪影響を与えることが分かっており、せん妄を発症することで様々な医療コストが増加し、せん妄の重症度が増すことにより総医療コストが増加することが報告されている[1, 6]。さらに術後せん妄を発症した患者は、症状が回復した後も長期的な認知機能の低下が認められることが報告されているが[7]、その原因は不明である。過去には、手術後の患者に海馬と灰白質の減少及び脳室の拡大などの脳萎縮が生じているとの報告もあることから[8]、術後せん妄の発症が引き

金となり脳萎縮などの解剖学的変化が引き起こされ、認知機能への悪影響が遷延している可能性がある。現時点でせん妄には有効な治療法がないため、その予防が重要と考えられ、重症化の予防のためにはせん妄の診断（早期発見）が必要である。

III-2. せん妄の診断

周術期はせん妄の発症リスクが高く、術後では 50%以上の患者に術後せん妄が発症すると言われており、ICU での発症率は 80%以上との報告もある[6, 9]。しかしながら、実際の臨床においては大多数のせん妄が認識されずに見逃されていることが問題となっており、比較的せん妄に遭遇する機会の多い ICU 専門医師でもせん妄の検出率は低い（感度：29%）ことが報告されている[10]。このように術後せん妄の検出率が低い原因として、せん妄には 3 つのサブタイプが存在し、特徴的な臨床症状が異なることが挙げられる（表 1）。せん妄の症状は通常、意識障害、注意障害、認知障害、知覚障害に特徴付けられ、見当識障害、記憶障害、幻覚、不眠、興奮、活動や意欲の低下などを呈することとなる。過活動型せん妄は、特に興奮や幻覚などによる点滴抜去や病床からの転倒など医療従事者が療養上の問題として注意を向けやすい行為が出現し、これらの症状により医療介入が困難となるため、医療従事者が比較的早期に検出することがで

きる。しかし低活動型せん妄は、主となる症状が活動量・行動速度の低下や無気力・無関心、傾眠傾向などで、医療従事者の立場からは診療行為の提供やその継続を妨害するような行為は認められないため見逃されている可能性がある。また、せん妄として過活動型せん妄の症状の認識が定型化されてしまっており、異なる症状に特徴付けられる低活動型せん妄の認識が低い。その結果、重症疾患で生命に危機が及びそうな全身状態の悪い患者が数多く存在する ICU においては、約 75% がせん妄と認識されずに見逃されているという報告もある[11]。

表 1. せん妄の分類

分類	症状	発生率
過活動型	興奮、過活動が主体。運動量の増加と活動性の制御喪失が見られる。診療行為の提供や継続が困難となるため発見されやすい。	1.4%
低活動型	混乱と鎮静が中核症状。動作緩慢、不活発、無気力・無関心、傾眠傾向など症状に乏しいため見逃されやすい。	67.6%
混合型	過活動型と低活動型の症状が混在する。症状は日毎に変化したり、日内変動することがある。	31.1%

Robinson TN, et al. Arch Surg 2011; 146: 295-300 [72] より改変して引用

III-3. せん妄の治療

現在せん妄に対する薬物療法は限られている。ICU などせん妄に直面することの多い医療現場では、定型抗精神病薬であるハロペリドールが使用されることが多いが、その安全性と有効性は明確には証明されていない。また、12 誘導心電図で QTc 間隔が延長している患者や、QTc 間隔の延長をきたす可能性のある薬剤を投与中の患者では、致死性の不整脈（Torsades de pointes）出現のリスクがあるため、せん妄に対する抗精神病薬の使用は推奨されていない。現在最も新しいガイドラインである Pain, Agitation/Sedation, Delirium, Immobility, and Sleep Disruption (PADIS) ガイドライン 2018 では、せん妄に対する薬剤使用はデータが不十分なため推奨されていない[12]。その他せん妄に対する薬物療法としては非定型抗精神病薬とコリンエステラーゼ阻害薬の使用報告があるが、こちらも明確なせん妄の予防効果は示せなかった[13]。つまるところ、せん妄はその病態生理の解明が不十分であるため、その機序に応じた有効な薬物療法が現在まで確立されていないことになる。したがって、せん妄の治療は現在のところ非常に限られており、エビデンスレベルの高い治療介入は、背景にある原疾患の治療と誘発因子の排除に加え、早期の診断と早期の離床[14, 15]ぐらいである。

III-4. せん妄評価のために検討されたバイオマーカー

これまでせん妄の臨床的な問題点を挙げてきたが、現時点ではせん妄の早期診断のために有用で客観的な検査方法が確立していないため、上述のように検出感度が低い。このため、せん妄の客観的な評価を行うことができず、そのメカニズムは不明なままである。これまでにせん妄のメカニズムに関する仮説として、Trzepaczらがせん妄に関するシステマティックレビューで一般的な神経伝達物質に触れており、せん妄の成因となる神経伝達物質はドパミン、アセチルコリン、セロトニン、ノルアドレナリン、γアミノ酪酸 (GABA : gamma-amino-butyric acid) などで、これらの神経伝達物質の過剰産生や欠乏が原因でせん妄が引き起こされるという仮説を提唱した[16]。一方、炎症性サイトカインであるインターロイキン (IL : interleukin) -1、IL-6、IL-8、インターフェロン、腫瘍壊死因子 (TNF- α : tumor necrosis factor-alpha) 等が局所的に CNS に直接作用し、もしくは全身性の炎症反応が間接的に CNS に作用することでせん妄が引き起こされるといった仮説も提唱されている[17, 18]。しかしながら、せん妄に関しては適切な動物モデルが不在のため、明確な研究成果は得られておらず、それぞれが複合的に作用しているとの報告もあり[19]、いずれの仮説が有力であるか未だに結論は出ていない。ヒトを対象とした臨床研究では、せん妄患者に対して様々なバイオマーカーが検討されている。せん妄は外科的侵襲や創傷感染、敗血症といった全身の

炎症反応が亢進した状態で発症リスクが高いといった既報より[17, 20]、救急病棟に入院した高齢患者の炎症性サイトカインを測定したところ、せん妄を発症している患者の方が有意に IL-6 と IL-8 が高値であった[17]。しかし、別の報告では、せん妄とこれらの炎症性サイトカインとの間には直接的な関連は見られず、炎症性サイトカインの血中濃度の上昇とせん妄の重症度には明確な関連が見られなかったとされている[21, 22, 23]。つまり急性の病態で炎症反応が亢進した状態ではせん妄発症のリスクが高いと考えられているものの、せん妄発症の原因を炎症反応の亢進（炎症性サイトカインの血中濃度の上昇）だけで説明することはできないと考えられる。神経伝達機能に注目した研究では、せん妄は神経伝達物質であるアセチルコリンが欠乏しているという仮説に基づいて、血清中の抗コリン活動性（SAA : serum anticholinergic activity）を調査した報告がある。SAA は抗コリン活性を測定するために開発されたバイオマーカーだが、せん妄の発症だけでなく脳波とも関連が示されず、せん妄に関する有用性は否定的であった[24, 25]。また、血清中または脳脊髄液中の神経タンパク質を測定した研究では、CNS での脂質の運搬や組織の修復といった役割を持つ Apo-E（Apolipoprotein E）は、Alzheimer 病との関連が示されているが、変異型遺伝子である Apo-E4 allele を持つ患者のせん妄発症率が高かったという報告がある[26]。しかしこの報告では、この遺伝子を有する患者の発症の危険性が示されて

いるだけで、せん妄の早期診断に対する検討などはなされていない。その他、せん妄の診断と重症度評価ができる可能性のある神経タンパク質としては、S100 β タンパクと神経特異エノラーゼ（NSE：neuron-specific enolase）がある。S100 β はカルシウム結合能を持つ神経特異発現因子で、アストロサイト活性化の指標となると言われているが、髄液中と比較して血清中では不安定で、神経損傷後6時間でピークレベルに達し、24時間後にはベースラインに戻るとされている[27]。血清バイオマーカーとしての正確性の判定には髄液中の値も必要となるため簡便とは言えず、解剖学的傷害を受けていないBBBの機能異常でも血清値が上昇してしまい、神経損傷を直接反映しているとは言えないため、S100 β のせん妄診断に対するバイオマーカーとしては懐疑的な報告が多い[28]。一方、NSEはこれまで神経細胞にのみ存在する解糖酵素で神経細胞の損傷を反映するとされてきたが、近年脳内で炎症が起こると神経細胞ではなくアストロサイトとミクログリアで産生されることが分かってきた[29, 30]。血清中ではS100 β より安定しているが、半減期はS100 β とほぼ同様で、脊髄損傷後6時間でピークレベルに達し24時間でベースラインに戻るとされている[27]。NSEとせん妄の発症には関連が見られなかったとの報告が複数存在し[31, 32, 33]、頭部外傷や脳虚血によるCNS細胞傷害などの研究における臨床的有用性と比較すると、せん妄診断におけるNSEのバイオマーカーとしての臨床的有用性は低いと考えられている。

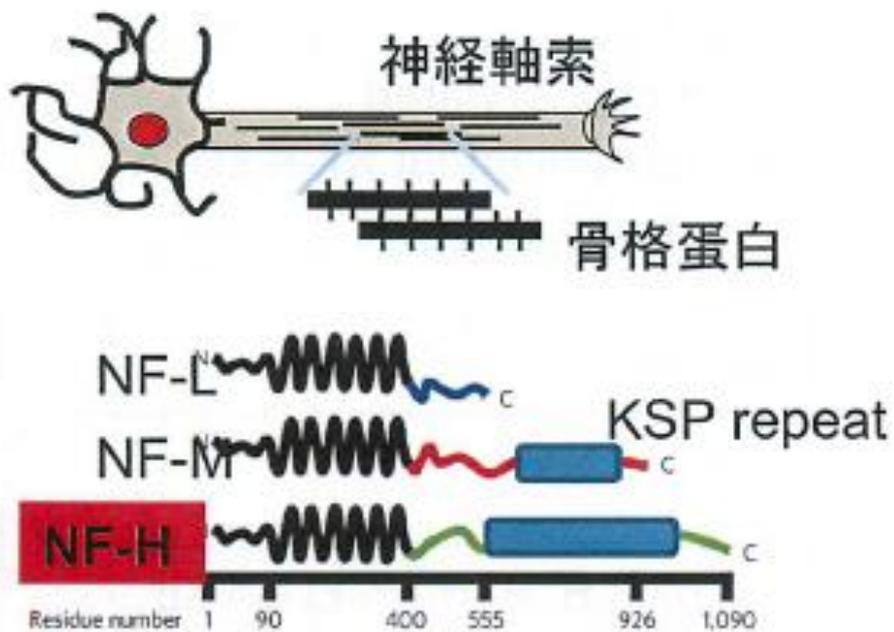
このようにせん妄に関して様々なバイオマーカーが研究されているが、現時点では実際の臨床に適用できるような明確な成果は得られていない。したがってせん妄の診断と重症度評価を客観的かつ定量的に行い、病態生理を解明するためには、これら以外の新しいバイオマーカーを検討する必要がある。

III-5. リン酸化ニューロフィラメント重鎖の中枢神経障害の評価

上述のようにせん妄の診断と重症度評価に適したバイオマーカーは現在のところ確立されていない。その中で我々が注目しているバイオマーカーにリン酸化ニューロフィラメント重鎖 (pNF-H : phosphorylated neurofilament heavy chain) がある。pNF-H はニューロンの主要な細胞骨格構成成分で、短い N 末端と長い C 末端を持つ。この C 末端までの距離の違いで NF-L(low)、NF-M(medium)、NF-H(heavy / high)といった分子量の異なる 3 つのサブユニットが存在する (図 1) [34]。pNF-H は分子量が 200KDa と比較的小さく、BBB を通過する性質を持つが、通常は神経組織内にのみ含まれており血液中には存在しない。しかし脊髄損傷などの神経損傷によって pNF-H が脳脊髄液中に放出されると、それが BBB を通過して血液中に検出されるようになる (図 2) [34]。さらに pNF-H は lysine-serine-proline (KSP) の繰り返し配列を複数含み、セリン残基がリン酸化されているため、他のサブユニットと比較してタンパク質分解酵素に高い抵抗性を示

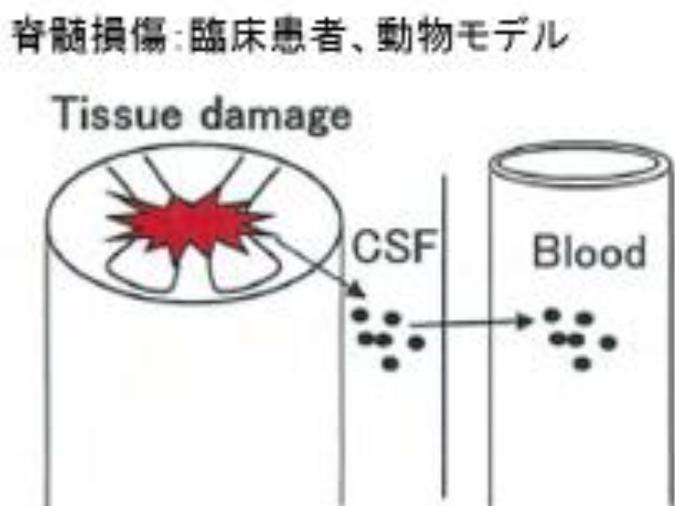
し、血液中でも安定性が高く 9～96 時間と長い期間計測することができる。さらに画像診断を用いた研究では脊髄損傷の重症度と pNF-H の血中濃度には相関が見られ、CNS の解剖学的損傷を血液検査で定量的に評価することができると言われており[35, 36, 37]。脊髄損傷に関する研究だけでなく、多発性硬化症や筋委縮性側索硬化症などの神経変性疾患に加えて[38, 39]、遷延性の熱性けいれんや Alzheimer 病でも血清 pNF-H が陽性となることが確認されている[40, 41]。また、近年がん化学療法の影響で記憶力や思考力、集中力が低下する chemobrain と呼ばれる化学療法に関連した認知機能障害の存在が明らかになり研究が進んでいる。がん化学療法後 6 か月の時点で脳萎縮が起こっていることが示されており、我々の研究グループは化学療法の施行中から血清 pNF-H が陽性となることを明らかにし、CNS 細胞がダメージを受け、脳に解剖学的変化が生じて脳萎縮をきたす前からその異常を検出できる可能性を示唆した[42]。さらに血清 pNF-H は末梢神経の障害ではほとんど上昇しないと言われており、前述の研究でも化学療法後に末梢神経障害を呈した患者においては、血清 pNF-H の上昇を認めなかった。

図 1. リン酸化ニューロフィラメント重鎖の構造



Beck R, et al. Nature Materials 2010; 9: 40-6 [34] より改変して引用

図 2. リン酸化ニューロフィラメント重鎖の検出モデル



Beck R, et al. Nature Materials 2010; 9: 40-6 [34] より改変して引用

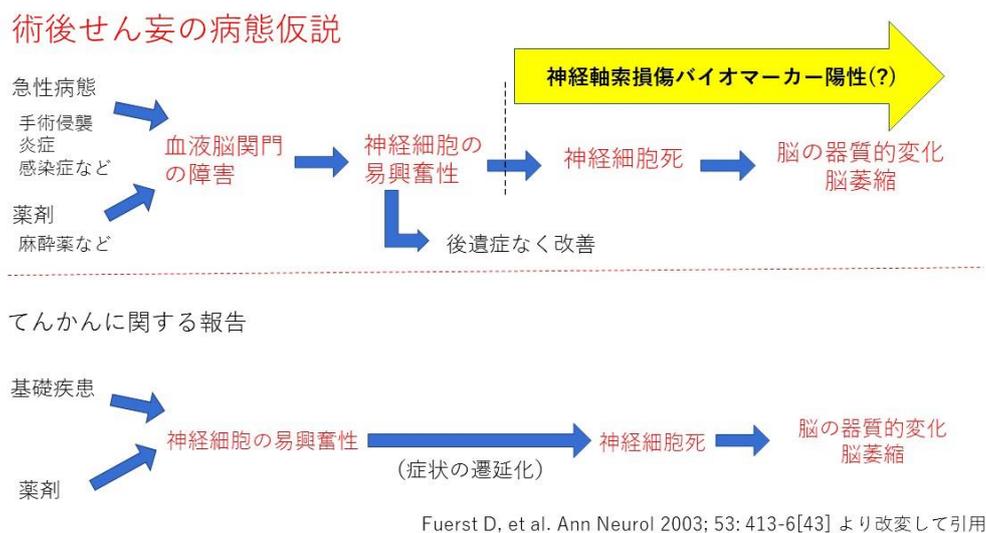
III-6. せん妄の病態生理と進展機序に関する我々の仮説

これまでせん妄は全身の急性病態に伴う一過性の脳の機能不全とされてきたが、近年、全身性の急性病態が治癒しせん妄が改善した後も、長期間継続して認知機能の低下と脳の解剖学的変化が認められることが分かってきた[7]。このような臨床経過は、てんかん患者において、てんかん重責発作が遷延化した際に CNS 細胞に解剖学的損傷が生じ、脳萎縮が顕在化する経過によく似ている。てんかん患者では、痙攣発作の発生により CNS の易興奮性が引き起こされ、CNS 細胞の過剰興奮が遷延化して痙攣が繰り返されるようになると、次第に CNS 内で神経細胞死が起こり脳萎縮などの解剖学的変化が出現する[43]。このような、てんかんの痙攣発作の遷延化により CNS 細胞に解剖学的損傷が生じる機序を参考にして[44, 45]、我々は、術後せん妄においても手術侵襲や感染症などによる全身性の急性病態により CNS の易興奮性が引き起こされ、CNS 細胞の過剰興奮が遷延化すると脳の解剖学的変化（脳萎縮）が起こると考え、先行研究において術後せん妄患者に対し血清 pNF-H を用いて調査を行った。その結果、せん妄患者の 65%で血清 pNF-H 値が陽性となり CNS 細胞組織の傷害が示唆された。さらに pNF-H の血清レベルはせん妄の臨床的重症度と相関していた[46]。一般的には、せん妄を発症した全ての患者で脳の解剖学的変化（脳萎縮）が起こっているわけではなく、大多数の患者は原疾患の増悪や感染症などの急性病態が改善

するとせん妄の症状も後遺症なく速やかに改善し、脳波上も過剰興奮を示すだけでなく、徐波化や平坦化など臨床症状の変動に伴って様々な波形を示すと言われている[25]。また、先述したように神経伝達物質の過剰産生や欠乏が原因でせん妄が引き起こされるといった仮説や[16]、炎症性サイトカインが局所的に CNS に直接作用し、もしくは全身性の炎症反応が間接的に CNS に作用することでせん妄が引き起こされるといった仮説など様々な仮説が提唱されているが[17, 18]、いずれかの仮説が有力であるか結論は出ておらず、我々の先行研究の結果と、てんかんの発生や進展が BBB の機能不全に関連しているといった報告もあることなどから[44, 45]、今回我々はせん妄による CNS 細胞の傷害にも BBB の機能不全が関連している可能性があると考えた。手術侵襲や感染症などによる炎症反応の亢進がせん妄の主な原因であることを示唆している報告や[17, 20]、BBB の炎症反応による機能不全が術後認知機能障害の 1 つのメカニズムであると示唆している報告もあることから[47]、我々は、炎症反応により BBB の血管内皮細胞が障害され、普段は BBB を通過することのできなかつた免疫担当細胞や炎症分子が CNS 内に侵入して炎症反応を引き起こすことでせん妄を発症し、CNS 細胞の易興奮性が惹起され過剰興奮が遷延化することで神経細胞死に至り、脳の解剖学的変化（脳萎縮）が起こるといった仮説を考えた。そして、原疾患の増悪や感染症などの急性病態が改善した後も、せん妄が重症化し症状が遷延した

一部の患者で不可逆的な脳の解剖学的変化（脳萎縮）をきたし、軸索損傷バイオマーカーの pNF-H が陽性になると考えた（図 3）。この仮説に基づき、我々が研究している軸索損傷バイオマーカーの pNF-H と BBB 機能不全のバイオマーカー、炎症性サイトカインを測定し、術後せん妄と CNS の障害、BBB の機能不全との関係について調査を行った。

図 3. 術後せん妄の病態仮説モデル



Ⅲ-7. 背景のまとめ

術後せん妄は周術期に発生する CNS の合併症で最も一般的だが、現在のところ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。またせん妄は臨床予後や医療経済の面でも大きな問題がある。せん妄のメカニズムの解明や治療法の確立のためにも、せん妄を客観的かつ定量的に評価することのできる検査方法を確立することは臨床上重要であると考え、簡便に検査を行うことのできるバイオマーカーに着目した。これまでせん妄に関する様々なバイオマーカーが研究されているが、有効なバイオマーカーは見つかっていない。そこで我々は以前に、術後せん妄患者においてせん妄と脳の解剖学的変化に関連があると考え、軸索損傷バイオマーカーである pNF-H の血清値が、中等度以上のせん妄で陽性となることからせん妄による CNS 傷害を明らかにし、血清 pNF-H 値はせん妄の臨床的重症度と相関していることを報告した。今回我々は、仮説でも述べたように、手術侵襲や感染症などによる炎症反応の亢進が BBB の機能不全を引き起こし、免疫担当細胞が CNS 内に侵入することでせん妄を発症し、CNS 細胞の易興奮性が惹起され過剰興奮が遷延化することで CNS 細胞が細胞死に至り、脳萎縮など脳の解剖学的変化が起こると考え、pNF-H と BBB 機能不全のバイオマーカー、炎症性サイトカインを測定し、術後せん妄と CNS 障害、BBB の機能不全との関係について調査を行った。

IV. 対象と方法

IV-1. 研究計画

本研究は、2013年7月から2016年6月にかけて、東京大学医学部附属病院とさいたま赤十字病院、筑波大学附属病院で実施された。研究開始前に倫理審査委員会において、臨床研究プロトコルの妥当性と倫理的配慮に対して審査・承諾され、大学医療情報ネットワークに登録した（UMIM トライアル ID：UMIN000010329）。全ての患者に対して手術前に試験参加とプロトコールについてインフォームドコンセントを行い、文書での同意を得た。

IV-2. 研究対象

全身麻酔で癌に対して非心臓手術を受ける予定の患者を罹患臓器に関係なく研究対象とした。これらのうち、アメリカ麻酔科学会（ASA：American Society of Anesthesiologists）による全身機能評価分類がIV未満の患者が登録された（表2）。手術前に明らかな認知機能障害を有する患者、および脳脊髄病変を有する患者は除外した。また、抗精神病薬にはせん妄に対する予防・治療効果が報告されているため[48]、術前から抗精神病薬を内服している患者は除外した。さらに、脳や脊髄に直接侵襲が加わる可能性のある術式が予定されている患者は、CNS細胞に傷害を及ぼす可能性があるため除外し、人工心肺装置や補助循環装置を用

いた術式が予定されている患者は、循環動態が急激に変化することで CNS 細胞に虚血性の傷害を引き起こす可能性があるため除外した。

表 2. アメリカ麻酔科学会 (ASA) 分類

ASA 分類	定義	一部の具体例
I 度	手術対象となる疾患以外に全身的に疾患がない。	健康な人、非喫煙者、非飲酒者またはごく少量飲酒者
II 度	軽度ないし中等度の全身疾患を有する。	喫煙者、機会飲酒者、妊婦、肥満、コントロール良好な糖尿病/高血圧
III 度	重篤の全身疾患を有する。	コントロール不良な糖尿病/高血圧、COPD、高度肥満(BMI>40)、中等度 EF 低下、末期腎不全(透析)、3 か月以上経過した心筋梗塞/脳血管障害/TIA
IV 度	重篤な全身疾患を有して、生命の危険な状態。	3 か月未満の心筋梗塞/脳血管障害/TIA、進行中の心虚血や重度の弁膜症、重度の EF 低下、敗血症、DIC
V 度	死に至る状態で、24 時間以内の生存の可能性はほとんどない状態。	破裂した腹部/胸部動脈瘤、重症外傷、頭蓋内出血(脳圧迫所見あり)、重症心疾患または多臓器不全に陥っている腸閉塞
VI 度	臓器摘出時の脳死状態。	

ASA Physical Status Classification System. Last approved by the ASA House of Delegates on October 15, 2014 [74]より改変して引用

IV-3. 患者評価

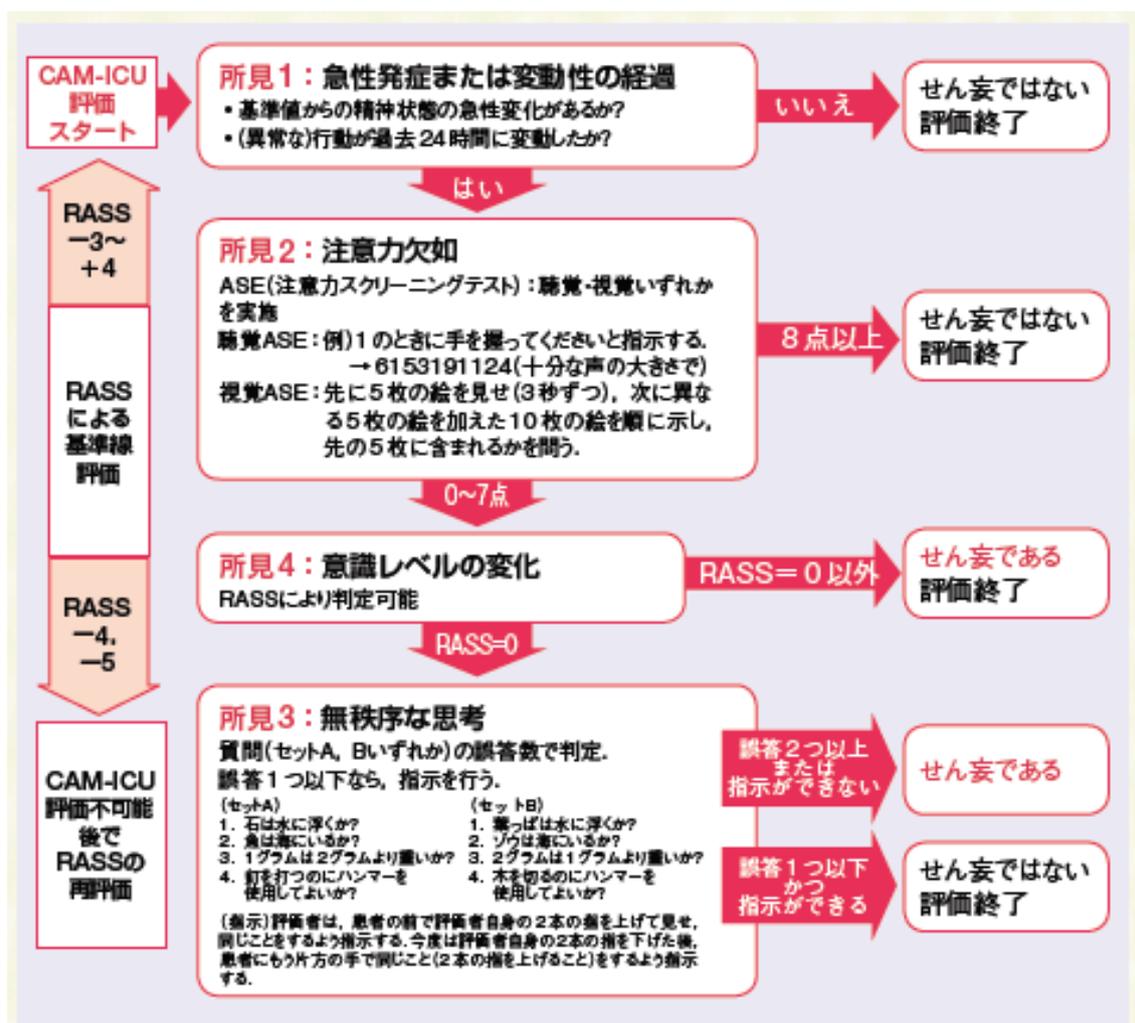
手術後 1 週間の間、毎日主治医及び担当看護師が日勤帯に定期的な回診を行い、以下のせん妄関連症状について患者を 1 日に 3 回評価した。

- (a) 見当識障害（時間、場所、人物との関係が正しく認識できていない）。
- (b) 睡眠障害（不眠、日中の傾眠傾向、昼夜の逆転）。
- (c) 激しい興奮や落ち着きのなさ、神経過敏、易刺激性など。
- (d) 不適切な行動（点滴を引き抜く、尿道カテーテルを引っ張るなど）。
- (e) 不適切な意思疎通（意味不明な言動など）。
- (f) 幻覚、妄想。

さらに、これら (a)~(f) のせん妄関連症状のいずれかが認められた患者には、評価者が質問紙を用いたせん妄評価ツールである **Confusion Assessment Method for the ICU (CAM-ICU ; 図 4)** を使用して診断を行った。CAM-ICU[49]は、術後患者や ICU 患者に対してせん妄を診断するために広く使用されている最も一般的な質問紙によるせん妄評価ツールで、本研究でもせん妄の診断に CAM-ICU を用いた。患者スクリーニングは評価者及び担当看護師が臨床症状を元に行ったため、主に過活動型のせん妄が集められた。血液サンプルは術後 3 日目の日勤帯に採取し、その後遠心分離をかけて血清を分離し、3 倍に希釈してから **Human Phosphorylated Neurofilament H ELISA (Bio Vendor, Modrice, Czech Republic)** を製

造元のプロトコールに則って使用し、血清 pNF-H を計測した。血清 pNF-H 値は測定最小感度である 70.5pg/ml を超えた場合に陽性と定義した[36]。さらに、せん妄と BBB の炎症との関連を示唆する報告が複数存在することから[50, 51]、Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)、PECAM-1、Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)、E-selectin、P-selectin などの血管内皮活性化及び BBB 機能不全のバイオマーカーである細胞接着因子を測定した。一方、外科的侵襲は、炎症促進性メディエーター及び IL-6、IL-1 β 、TNF- α を含むサイトカインの放出を誘発し、これらはすべてせん妄の発症と関連しているという報告がある[47, 52, 53]。これらの炎症性サイトカインは、血管内皮細胞の障害を引き起こし、その結果 BBB の透過性を機能不全にすることが明らかにされている[52]。以上のことなどから、我々はこれら 3 つの炎症性サイトカインの血清レベルも測定した。これらの細胞接着因子及び炎症性サイトカインは、市販の ELISA キットを使用して測定した。

図 4. CAM-ICU フローシート日本語版



IV-4. 統計解析

我々は以前に、術後せん妄を発症した患者のうち 65%が血清 pNF-H 陽性であり、pNF-H の血清レベルがせん妄の重症度と有意に関連していることを明らかにした[46]。本研究では、せん妄の診断のために血清 pNF-H 検出の感度と特異度を求めた。また、術後せん妄陽性の患者と陰性の患者間で血清 pNF-H の値に関

連が認められるか検討するために、Wilcoxon 検定を行った。さらに、我々は本研究で 2 つの目標を設定し解析を行った。まず、解剖学的神経損傷を伴う術後せん妄の発症と代用することのできる血清 pNF-H 陽性に寄与する独立したバイオマーカーを同定することを目標とし、患者全体でロジスティック回帰分析を行った。BBB 機能不全のバイオマーカーである細胞接着因子及び炎症性サイトカインを独立変数として設定し、血清 pNF-H 陽性を従属変数として設定した。続いて、血清 pNF-H が検出された患者群において、せん妄の臨床的重症度に関連している pNF-H の血清レベルに影響を及ぼす独立したバイオマーカーを同定することを目的とし、BBB 機能不全のバイオマーカーである細胞接着因子及び炎症性サイトカインを独立変数、血清 pNF-H レベルを従属変数として、ステップワイズ法で重回帰分析を行った。血清 pNF-H 陽性群と陰性群の患者背景についてはカイ二乗検定を用いて比較した。全ての統計解析は、SPSS Statistics Software version: 22.0 (IBM Corp, Armonk, NY) を用いて行われた。 p 値が 0.05 未満を統計的に有意とみなした。

V. 結果

我々の設定した研究対象項目を満たす患者にインフォームドコンセントを行い、117名から文書で同意を得た。血清 pNF-H 陽性群 (n=30) と陰性群 (n=87) において、血清 pNF-H 陽性群でせん妄の発症率が有意に高かった ($P<0.0001$)。また、年齢が血清 pNF-H 陽性群で有意に高かった ($P<0.0001$)。その他、患者の臨床的背景に有意差はなかった (表 3)。

117名の患者のうち、41名が術後せん妄ありと臨床的に判断され、これらの患者のうち23名で血清 pNF-H が陽性を示した。さらに臨床的に術後せん妄なしと判断された患者のうち7名で血清 pNF-H が陽性を示した。血清 pNF-H の術後せん妄に対する感度と特異度は、それぞれ 56.1%と 90.8%であった (表 4)。

また、せん妄患者で血清 pNF-H 値が有意に上昇していた ($P=0.0001$: 図 5)。

表 3. 患者背景

	PNF-H 陽性	PNF-H 陰性	<i>P</i> 値
人数	30	87	
せん妄+(人)	23 (76.7%)	18 (20.7%)	< 0.0001 [#]
年齢 (歳)	76.9 ± 5.2	66.2 ± 12.0	< 0.0001 [#]
性別, 男性 (人)	18 (60.0%)	46 (52.9%)	0.53
Body mass index (kg/m ²)	23.2 ± 6.8	23.0 ± 5.2	0.85
手術時間 (min)	403 ± 214	359 ± 127	0.61
White blood cell (/μL)	12425 ± 4110	15236 ± 5121	0.40
C-reactive protein (mg/dL)	14.1 ± 6.9	13.3 ± 6.1	0.57

[#], *P* value < 0.05.

血清 pNF-H 陽性群でせん妄の発症率が有意に高かった ($P < 0.0001$)。その他年齢を除いて主な患者背景に有意差はなかった。

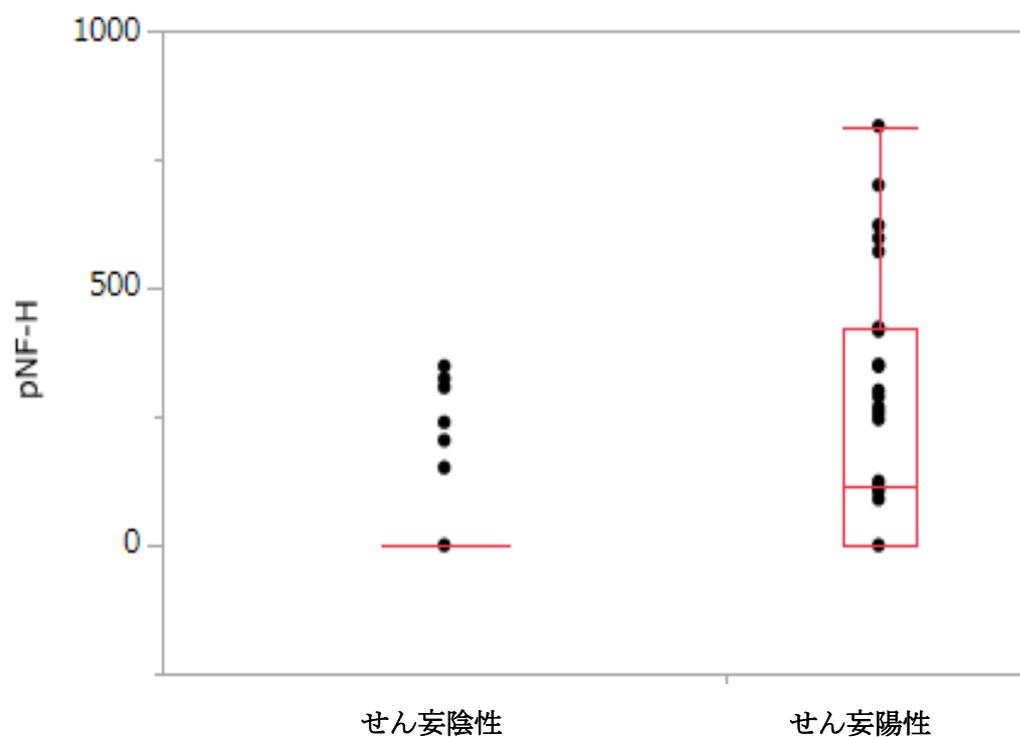
Mietani K, et al. PLoS One 2019; 14: e0222721 [75] より改変して引用

表 4. 2 群間のせん妄発症率の比較

	せん妄 あり	せん妄 なし
pNF-H 陽性	23	7
pNF-H 陰性	18	69

血清 pNF-H の術後せん妄に対する感度と特異度はそれぞれ 56.1%と 90.8%であった。

図 5. 術後せん妄陽性患者と陰性患者における血清 pNF-H 値の分布



($P < 0.0001$; Wilcoxon 検定)

さらに CNS 損傷を伴う術後せん妄の発症に寄与する要因を特定するために、117名の患者全員を含むロジスティック回帰分析を行った。我々が調査した細胞接着因子と炎症性サイトカインのうち、P-selectin が唯一、血清 pNF-H 陽性に関連していた ($P<0.0001$; 表 5)。さらに、血清 pNF-H 陽性群の 30 名に対しステップワイズ法による重回帰分析を行ったところ、PECAM-1 が唯一、血清 pNF-H 値の上昇と関連していた ($P=0.02$; 表 6)。また、P-selectin と PECAM-1 はそれぞれ患者全体及び pNF-H 陽性群において、血清 pNF-H 値と正の相関関係が認められた (図 6、7)。その他の各種細胞接着因子と炎症性サイトカインは血清 pNF-H 値と相関関係が認められなかった (図 8)。

表 5. 全患者を対象としたロジスティック回帰分析の結果

	Serum levels (pg/ml) (Mean ± SD)	Wald	Degree of freedom	<i>P</i> value
Constant	-	6.294	1	0.01
ICAM-1	110666.7 ± 238761.2	1.048	1	0.31
PECAM-1	12680.6 ± 3865.5	0.229	1	0.63
VCAM-1	523359.9 ± 596216.9	2.016	1	0.16
E-selectin	44155.2 ± 23810.7	1.131	1	0.29
P-selectin	99582.3 ± 67763.2	12.604	1	0.0004 [#]
IL-6	167.5 ± 393.1	0.268	1	0.60
IL-1 β	3.6 ± 7.2	0.152	1	0.70
TNF- α	4.1 ± 15.4	1.301	1	0.25

ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; PECAM-1, platelet and endothelial cell adhesion molecule-1; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1; IL-6, interleukin-6; IL-1 β , interleukin-1 beta; TNF- α , tumor necrosis factor- α [TNF- α]; #, *P* value < 0.05.

細胞接着因子及び炎症性サイトカインを独立変数として、血清 pNF-H 陽性を従属変数として設定し、患者全体でそれぞれロジスティック回帰分析を行った。P-selectin が唯一、血清 pNF-H 陽性に関連していた ($P < 0.0001$)。

Mietani K, et al. PLoS One 2019; 14: e0222721 [75] より改変して引用

表 6. pNF-H 陽性患者を対象とした重回帰分析 (ステップワイズ法)

	Serum levels (pg/ml) (Mean ± SD)	Standardized regression coefficient	T value	P value
Constant	-	-	-0.824	0.42
PECAM-1	13441.5 ± 4036.5	0.425	2.481	0.019 [#]
ICAM-1	161527.3 ± 325449.8	-0.136	-0.774	0.45
VCAM-1	644607.8 ± 797160.3	-0.102	-0.571	0.57
E-selectin	36129.4 ± 14830.6	-0.218	-1.185	0.25
P-selectin	159320.0 ± 70313.1	0.095	0.544	0.59
IL-6	54.3 ± 88.4	-0.047	-0.269	0.79
IL-1β	1.9 ± 3.8	0.107	0.604	0.55
TNF-α	2.1 ± 2.8	0.167	0.970	0.34

ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; PECAM-1, platelet and endothelial cell adhesion molecule-1; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1; IL-6, interleukin-6; IL-1β, interleukin-1 beta; TNF-α, tumor necrosis factor-alfa [TNF-α]; #, *P* value < 0.05.

細胞接着因子及び炎症性サイトカインを独立変数として、血清 pNF-H 値を従属変数として設定し、pNF-H 陽性患者を対象に多変量解析 (ステップワイズ法) を行った。PECAM-1 が唯一、血清 pNF-H 値の上昇と関連していた (*P* = 0.02)。

Mietani K, et al. PLoS One 2019; 14: e0222721 [75] より改変して引用

図 6. P-selectin と pNF-H 値の相関関係

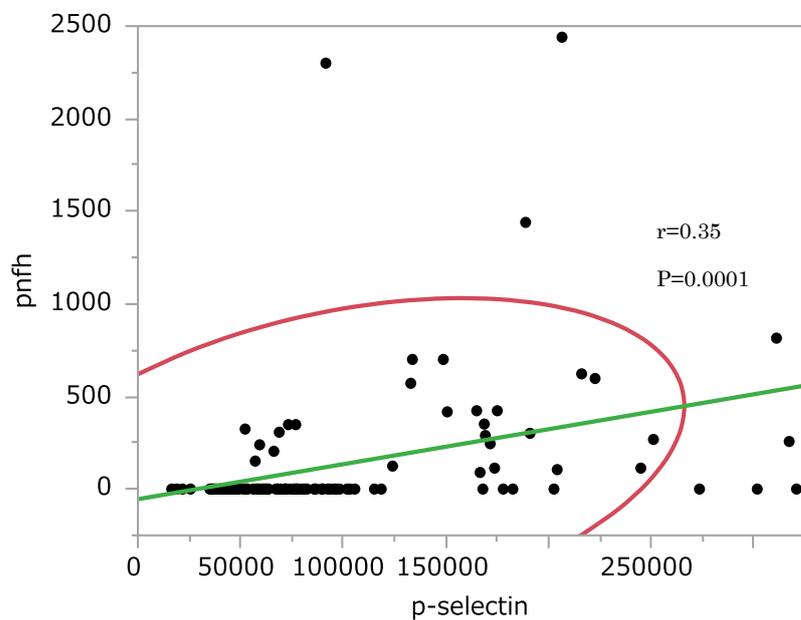


図 7. PECAM-1 と pNF-H 値の相関関係

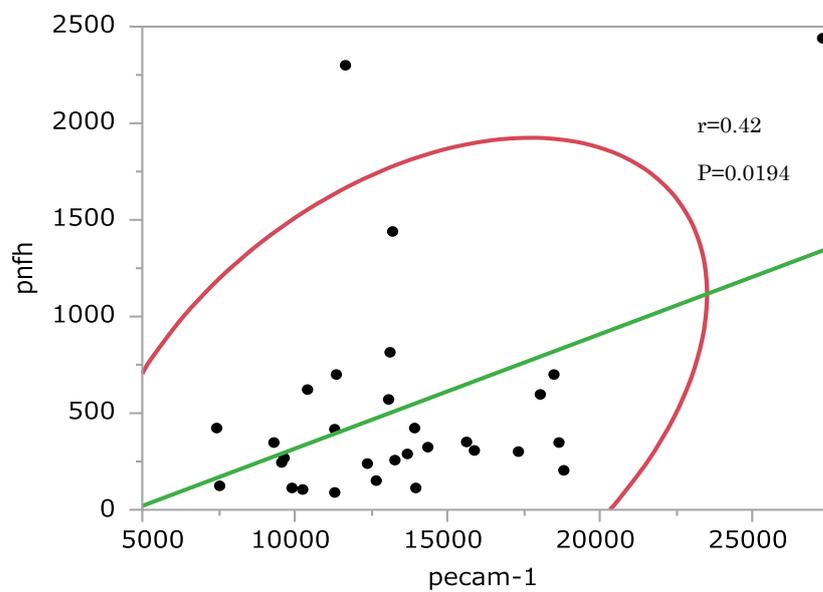
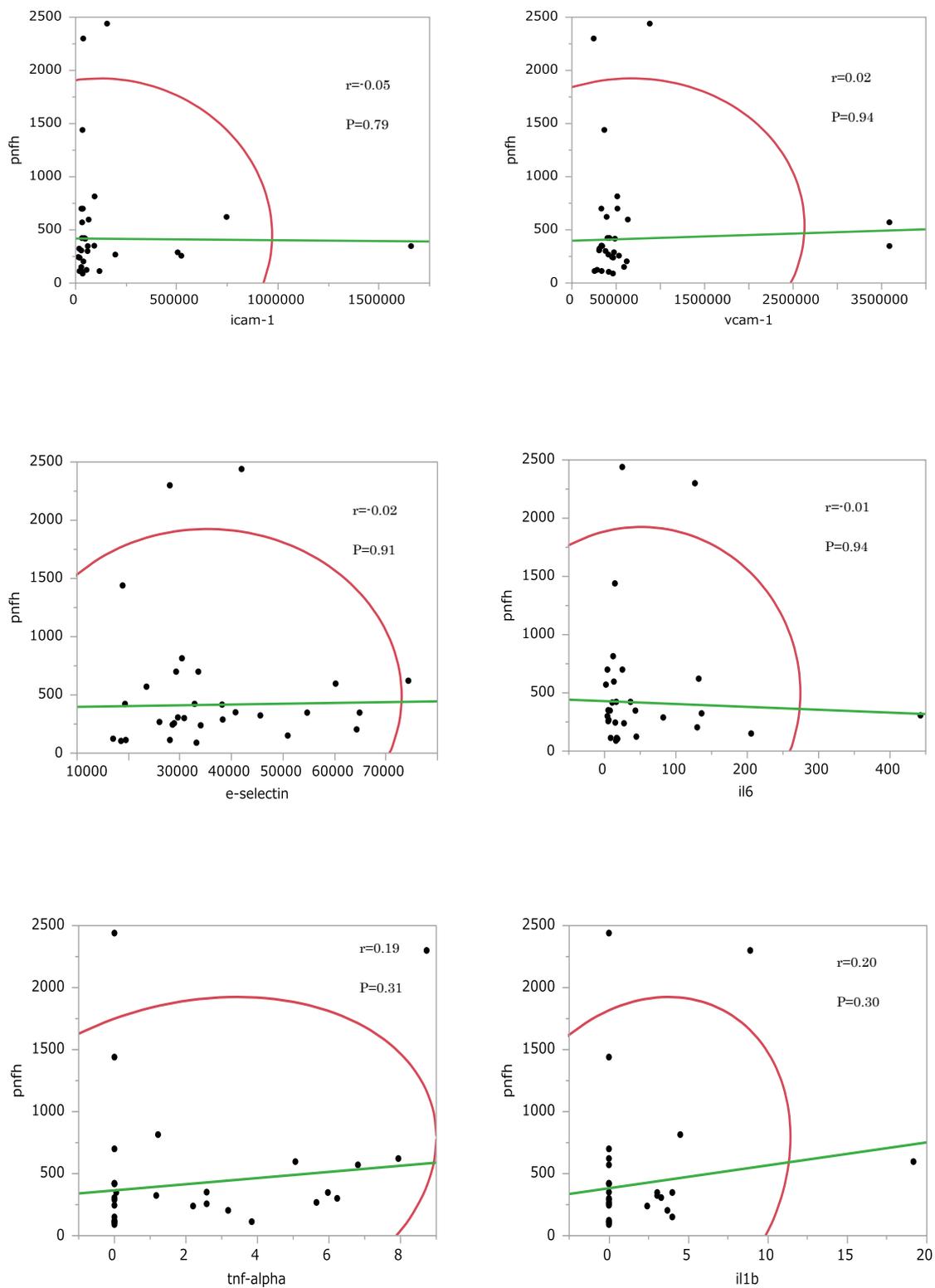


図 8. その他細胞接着因子及び炎症性サイトカインと pNF-H 値の相関関係



VI. 考察

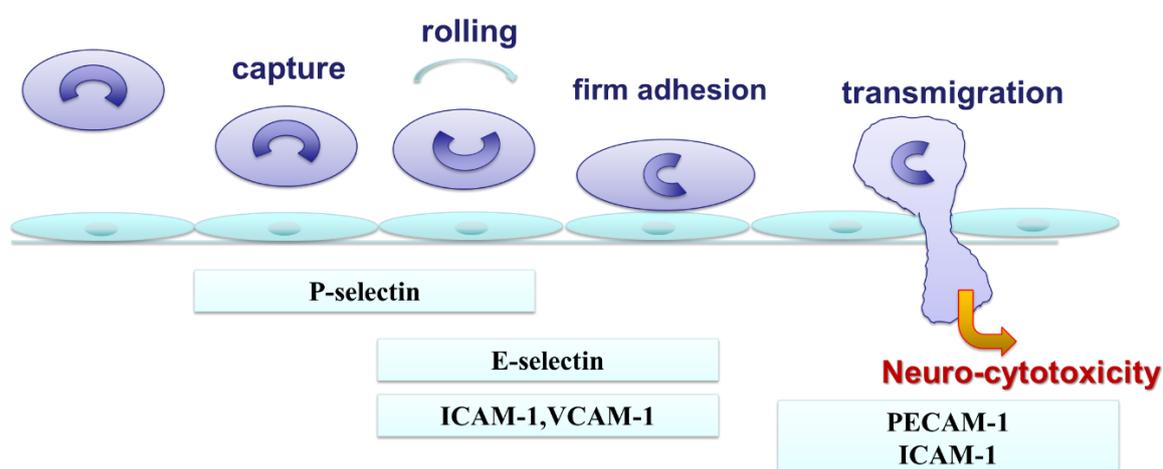
VI-1. 本研究から導き出される結論

本研究では、軸索損傷バイオマーカーである血清 pNF-H が、術後せん妄患者の診断マーカーとして感度 (56.1%) は低かったものの、高い特異度 (90.8%) を示した。血清 pNF-H は末梢血で採取可能で計測が簡便であること、質問紙による評価ツール等と比べると臨床症状に左右されず客観的な評価方法であること [54, 55, 56]、我々の研究グループの既報で血清 pNF-H 値がせん妄の臨床的重症度と相関していたことを併せて考慮すると、血清 pNF-H がせん妄の重症度の評価における客観的で定量的なバイオマーカーとして機能する可能性を示している。また、血清 pNF-H 陽性群で術後せん妄発症率と年齢が有意に高くなっていたことは、今回の研究で術後せん妄患者で血清 pNF-H 値が有意に高く関連が認められたこと、高齢がせん妄の独立した危険因子であること等から矛盾はしないが [17]、高齢患者では脳内炎症反応が亢進しやすく、遷延しやすいといった報告もあり [23]、高齢患者の血清 pNF-H 値が術後容易に上昇する可能性や、術前に認知機能障害を有する患者は除外したものの、顕在化しない脳虚血障害などの影響で術前から血清 pNF-H 値が高い高齢患者が含まれていた可能性がある。また、測定した全ての炎症性サイトカインは血清 pNF-H と関連が認められなかったが、これは過去にせん妄と炎症性サイトカインには直接の関連がなかったと

いう報告もあり[21, 22, 23]、今回の研究でも明確な関係が認められなかった可能性や、検体採取の時点で既に炎症反応がピークアウトしていた可能性が考えられる。一方、BBB 機能不全のバイオマーカーである P-selectin と PECAM-1 の 2 つの細胞接着因子は、それぞれ全患者を対象とした血清 pNF-H 陽性と、血清 pNF-H 陽性患者における血清 pNF-H 値に対して関連が認められた。現在では、CNS の様々な病態で免疫担当細胞が CNS の解剖学的損傷に重要な役割を果たすと考えられているが、好中球、リンパ球、単球などの免疫担当細胞は、その分子量及び BBB の機能のために生理的条件下では CNS 内に移動することができず神経細胞傷害性を発揮しない[47]。しかしながら、先に我々が仮説として述べたように、外科的侵襲や敗血症などにより炎症反応が亢進すると、BBB の血管内皮細胞同士を接続している密着結合が破綻し、免疫担当細胞及び炎症性分子が BBB を通過できるようになる[50]。免疫担当細胞が CNS 内に侵入するプロセスにはいくつかの Step を経ることが知られている (図 9)。免疫担当細胞は (i) 血管内皮細胞に捕捉され (Capture)、(ii) 減速しながら血管内皮に沿って転がり (Rolling)、(iii) 固定され (Firm-adhesion)、(iv) 血管内皮細胞を通過する (Transmigration) [57, 58]。これら (i) ~ (iv) の Step の進行にはそれぞれ異なる細胞接着因子が関連し、重要な役割を果たしている。Capture~Rolling step にかけては、P-selectin や L-selectin、E-selectin といった細胞接着因子が関連する。

Firm-adhesion step にはやや緩徐に発現する E-selectin に加えて ICAM-1 や VCAM-1 が関連している。Transmigration step には PECAM-1 と ICAM-1 が関連している[58, 59]。そして、血液中で測定可能な細胞接着因子の濃度は、血管内皮細胞の活性化と関連しており、血管内皮細胞の活性化は BBB の障害と関連することがこれまでに十分検証されて分かっている[50, 60, 61, 62]。

図 9. 免疫担当細胞が血管内皮細胞を通過するプロセス



Scott DW, et al. Glycobiology 2013; 23: 622-33 [58] より改変して引用

今回測定した BBB 機能不全のバイオマーカーのうち、P-selectin は最初期の Capture step に関与し、PECAM-1 は最終的な Transmigration step に関与する細胞接着因子である[58, 59]。本研究では、P-selectin が測定した全患者において血清 pNF-H の陽性化に関連していた。このことは、P-selectin が最初期の Capture step

に關与する細胞接着因子であることから、P-selectin はせん妄による CNS の解剖学的損傷の発症における重要なバイオマーカーとなり得ることを示唆しており、術後せん妄による CNS 障害の発症を予防するための潜在的治療標的とみなすことができる。一方、PECAM-1 は、血清 pNF-H 陽性患者のうち血清 pNF-H 値の上昇と関連していた。この結果は、PECAM-1 が最終的な Transmigration step に關与する細胞接着因子であることから、術後せん妄による CNS 傷害の重症化に重要な役割を果たしていることを示唆している。手術後 6 か月以降も免疫担当細胞による神経細胞傷害性から脳萎縮と認知機能障害が起こることが報告されているが[8, 63]、PECAM-1 はせん妄が生じた後に CNS 傷害の重症化を予防し、脳萎縮と関連して觀察される持続的な認知機能障害を防ぐための潜在的な治療標的とみなすことができる可能性がある。これまでのせん妄研究では、せん妄の発症や重症度の定量指標の客観化が困難であるため、これらを指標としたせん妄の病態生理や発症の機序解明はほとんど行われてこなかった。今回の我々の発見は、定量化できる軸索損傷バイオマーカーの血清 pNF-H を指標として用いることで、BBB の機能不全に關連する 2 つの細胞接着因子である P-selectin と PECAM-1 が、術後せん妄による CNS 障害の発症及び重症化に關与することを明らかにした。これによりせん妄の病態生理や発症の機序解明につながる可能性がある。

VI-2. 現在のせん妄評価ツールの問題点

現在までの研究で、せん妄がアセチルコリン作動性ニューロンの異常によって引き起こされるという報告があることから[64]、せん妄患者で脳波（EEG：Electroencephalogram）を測定し、EEGの波形パターンによる機能的変化が明らかにされている[65]。しかしながら、EEGの計測とその解析、診断には専門的知識と専門的技能の習熟が必要で、かつ計測には安静臥床が必要なため、せん妄患者では協力が得難く簡便に実施することはできない。したがって、医療現場で多職種の医療従事者がEEGを一般的に使用することは現実的ではない。一方、先述したCAM-ICUや先行研究でせん妄の重症度評価に用いたMemorial Delirium Assessment Scale（MDAS；図10）は、臨床現場においてせん妄の診断とその重症度評価に広く使用されている[66]。現在、信頼性の高い日本語版のせん妄評価ツールが限定的であるため、これらの質問紙による評価ツールが本邦の一般診療で広く使用されているが、評価者である医師や看護師がその解答内容を主観的に評価するため、ばらつきが大きいという問題点がある。また、これらのせん妄評価ツールは一つの検査でせん妄の診断と重症度評価を同時に行うことができないため、それぞれの評価ツールを用いて段階的に検査を行う必要があり、非常に煩雑である[67, 68]。したがって、現行のせん妄評価ツールによるせん妄の診断や重症度評価は正確に遂行することが困難で、偽陰性が生じている可能性が

指摘されており[69, 70]、CAM-ICUの使用を専門医によるせん妄の臨床診断の代理とすべきでないことも提言されている[69]。

図 10. せん妄重症度評価ツール MDAS 日本語版

Memorial Delirium Assessment Scale (MDAS)

この尺度は Memorial Delirium Assessment Scale (Breitbart W et al. J Pain Symptom Manage 13:128-37, 1997)を原著者らの許可を得て翻訳したもので、日本語版の信頼性と妥当性の検証は終わっています(Matsuoka Y et al. Gen Hosp Psychiatry 23:36-40, 2001)。本印刷物の無断転載を禁じます。

検査日： _____ 年 月 日 時 分
 検査者： _____
 氏名： _____ 歳 男・女
 合計点： _____

◆ 検査者は患者の現時点での周囲とのやりとり、あるいは過去数時間にわたる患者の行動や体験に基づいて、以下にあげるせん妄の重症度を評価する。

①意識障害
 現時点の周囲（検査者、室内にいる他の人やもの）に対する覚醒度および周囲とのやりとりを評価する（例えば患者に周囲の状況を説明するように求めてみる）。

- 0：なし 患者は言われなくても周囲の状況を十分に把握しており、適切なやりとりができる。
- 1：軽度 患者は周囲の状況の内いくつか把握していない点がある。もしくは自然に検査者と適切なやりとりができない。強い刺激を与えると完全に覚醒し、適切なやりとりができる。面接は長引くが、ひどく中断することはない。
- 2：中等度 患者は周囲の状況の内いくつかのことについてあるいは全く把握していない。もしくは自発的には検査者と適切なやりとりができない。強い刺激を与えても完全には覚醒せず、適切なやりとりができない。面接は長引くが、ひどく中断することはない。
- 3：重度 患者は周囲の状況について全く把握しておらず、検査者との自発的なやりとりもないし、検査者に気づくこともなく、最大の刺激を与えても面接は困難ないし不可能である。

②見当識障害
 見当識に関する以下の10項目について質問する。
 （年・月・日・曜日・季節・何階・病院の名称・区市町村・都道府県・地方）

- 0：なし 正答9～10項目
- 1：軽度 正答7～8項目
- 2：中等度 正答5～6項目
- 3：重度 正答4項目以下

③短期記憶障害
 検査者は3つの単語（例えば「りんご・テーブル・明日」「空・タバコ・正義」）を一個ずつ言う。その後、患者に繰り返させ、別の課題を経て約5分後に再度復唱させる。

- 0：なし 3単語の即時再生と遅延再生が可能
- 1：軽度 3単語の即時再生は可能だが、1単語だけ遅延再生が不可能
- 2：中等度 3単語の即時再生は可能だが、2～3単語の遅延再生が不可能
- 3：重度 1単語以上の即時再生が不可能

④順唱、逆唱の障害
 まず3数字の順唱、次に4数字、5数字の順唱、続いて3数字、4数字の逆唱を行う。ただし、正答できた場合のみ次の段階に進むこと（例えば「6-8-2」「3-5-2-9」「1-7-4-6-3」など）。

- 0：なし 少なくとも5数字の順唱と4数字の逆唱が可能
- 1：軽度 少なくとも5数字の順唱と3数字の逆唱が可能
- 2：中等度 4～5数字の順唱は可能だが、3数字の逆唱は不可能
- 3：重度 3数字の順唱のみ可能

⑤注意の集中と注意の転換の障害
 患者の注意力が変動する・話の筋道がそれる・外部からの刺激により注意が散漫になる・課題に夢中になりすぎる、などのために検査者が質問を言い換えたり、何度も繰り返す必要があるかどうかによって面接中に評価する。

- 0：なし 上記のいずれも認められない。患者の注意の集中とその転換は正常である。
- 1：軽度 注意力の問題が1～2度生じるが面接が長引くことはない。
- 2：中等度 注意力の問題がしばしば生じ面接は長引くが、ひどく中断することはない。
- 3：重度 注意力の問題が常にあり面接は中断し、困難ないし不可能である。

⑥思考障害
まとまりのない、的外れな、支離滅裂な話、あるいは脱線した、迂遠な、誤った論法などによって面接中に評価する。患者に多少複雑な質問を試みる（例えば「あなたの体は今どういう状態なのか教えて下さい」）。

- 0：なし 患者の話は理路整然としておりまとまりがある。
- 1：軽度 患者の話についていくのがやや困難である。質問に対する答えはやや的外れであるが、面接が長引くほどではない。
- 2：中等度 解体した思考や話が明らかに存在し、面接は長引くが中断することはない。
- 3：重度 解体した思考や話のために、検査が非常に困難ないし不可能である。

⑦知覚障害
面接中、場にそぐわない行動から推測される誤解、錯覚、幻覚。患者自らが認める場合もある。過去数時間ないし前回評価以後の期間において、看護者や家族の話、診療録よりうかがえるそれらの症状も同様に評価する。

- 0：なし 誤解、錯覚、幻覚は認めない。
- 1：軽度 睡眠に関連した誤認、錯覚、あるいは一過性の幻覚が時折出現するが、場にそぐわない行動は認めない。
- 2：中等度 幻覚、頻繁な錯覚が数回出現するが、場にそぐわない行動はわずかで、面接は中断されない。
- 3：重度 頻繁で激しい錯覚ないし幻覚があり、場にそぐわない行動が持続するため、面接は中断され、身体的ケアもひどく妨げられる。

⑧妄想
面接中、場にそぐわない行動から推測される妄想を評価する。患者自らが訴える場合もある。過去数時間ないし前回評価以後の期間において、看護者や家族の話、診療録からうかがえるそれらの症状も同様に評価する。

- 0：なし 誤った解釈や妄想は認めない。
- 1：軽度 誤った解釈や疑念が認められるが、明らかな妄想観念や場にそぐわない行動は認めない。
- 2：中等度 患者自らが妄想を認める。場にそぐわない行動が妄想の証拠になることもある。ただし、妄想は面接の中断や身体的ケアの妨げになるほどではなく、その寸前にとどまる。
- 3：重度 持続的な激しい妄想を認め、その結果ばにそぐわない行動につながったり、面接が中断されるか、身体的ケアが著しく妨げられる。

⑨精神運動抑制もしくは精神運動興奮
過去数時間にわたる活動性ならびに面接中の活動性について評価し、以下のいずれかに○印をつけること。
a：低活動型 b：過活動型 c：混合型

- 0：なし 正常な精神活動
- 1：軽度 抑制は動作がやや遅いことからかろうじて気づく程度。興奮はかろうじて気づく程度か、単にじつとしていられないように見えるのみ。
- 2：中等度 抑制が明らかに存在し、動作回数の著しい減少や動作の著しい遅延を認める（患者が自発的に動いたり話したりすることはほとんどない）。興奮が明らかに存在し、患者は絶えず動いている。抑制・興奮いずれにおいても結果的には検査に要する時間が長くなる。
- 3：重度 抑制は重度。患者は刺激なしには動くことも話すこともしない。緊張病像の場合もある。興奮は重度。患者は絶えず動き、刺激に対して過度に反応し、監視や抑制を必要とする。検査を完遂することは困難ないし不可能である。

⑩睡眠覚醒リズムの障害
適切な時間帯に入眠し、かつ覚醒していただけるかどうかを、面接中の直接観察、ならびに過去数時間ないし前回評価以後の期間における睡眠覚醒リズム障害についての看護者、家族、患者の話、診療録記載によって評価する。ただし朝方に評価する時だけは前夜の観察を参考にする。

- 0：なし 夜間よく眠り、日中も覚醒を維持できる。
- 1：軽度 適切な睡眠・覚醒状態からの軽度の逸脱。夜間の入眠困難と一時的な中途覚醒があり、薬物を内服すれば睡眠は良好となる。日中には時々眠気がある程度、もしくは面接中傾眠ではあるが容易に完全覚醒できる。
- 2：中等度 適切な睡眠・覚醒状態からの中等度の逸脱。夜間、中途覚醒を繰り返し、再入眠しにくい。日中に長い居眠り状態が多い、もしくは面接中傾眠状態で強い刺激を与えないと完全覚醒しない。
- 3：重度 適切な睡眠・覚醒状態からの重度の逸脱。夜間は眠らず、日中はほとんど眠って過ごす。もしくは面接中いかなる刺激を与えても完全覚醒しない。

VI-3. pNF-H や他のバイオマーカーによるせん妄診断の有用性

現行のせん妄評価ツールが臨床的に有効でない原因の一つに、せん妄が医療従事者に検出されやすい興奮や幻覚などの症状が特徴的な過活動型せん妄だけでなく、診療行為の提供や継続を妨害するような症状を認めず見逃されやすい低活動型せん妄と、その両者が混在した混合型せん妄といった異なるサブタイプが存在することが考えられる。低活動型せん妄は活動量・行動速度の低下や無気力・無関心、傾眠傾向等の症状を呈し、過活動型せん妄よりも発症頻度が高いが[71]、医療従事者の立場からは診療行為の提供やその継続を妨害するような行為が認められないため、せん妄と認識されずに見逃されている場合が多い。さらに低活動型せん妄の症状は、一見うつ病や認知症の症状と類似しているため、判断が難しく誤って診断されてしまう場合もある。したがって、低活動型せん妄の患者は十分に治療を提供されていない可能性があり、実際に過活動型せん妄よりも死亡率が高い[72]。以上のことなどから、一般臨床におけるせん妄の評価ツールは、患者が呈する症状とは無関係でかつ簡便であることが望ましい。実際、心疾患の急性冠症候群では通常心電図のみによる診断は困難だが、血液検査による診断（例えばクレアチニンキナーゼとトロポニン T の複合的な増加）は臨床的に非常に簡便で信頼性が高い。このような観点から今回我々が用いた血清 pNF-H や細胞接着因子は、血液検査で測定が可能でせん妄を客観的に診断する

のに有効な指標となる可能性がある。さらに血清 pNF-H の特異度は CAM-ICU と同等であり、我々の既報から pNF-H の血清レベルは臨床的に検証されたせん妄の重症度と相関しているため、血清 pNF-H 値の測定によりせん妄の重症度の客観的な評価ができる可能性がある。血清 pNF-H の他にもせん妄の診断に有効なバイオマーカーの研究は行われているが、前述した S100 β や NSE 等のバイオマーカーは、半減期が短く髄液中と比べると血清中では不安定であるため、臨床的応用には限界があり [27]、一般的なせん妄の評価ツールとしては普及していない。したがって血清 pNF-H の測定は、臨床現場での簡便で客観的なせん妄の診断と重症度評価となり得ることが期待され、患者の臨床症状や測定者の主観に影響を受ける CAM-ICU 等の従来の評価ツールより優れている可能性がある [49]。

IV-4. 本研究の限界

本研究には 3 つの制限がある。第一に、術後せん妄患者のスクリーニングに際して担当看護師の臨床判断を用いたため、主に過活動型せん妄の症例を抽出した。しかしながら、せん妄には過活動型の他にも低活動型、混合型といったサブタイプが存在し、さらに低活動型せん妄は過活動型せん妄より発生頻度が高く、その予後が不良なことから [71, 72]、これらすべてのサブタイプのせん妄を症例

に含める必要がある。低活動型せん妄を診断するためには、臨床的に教育を受けた評価者が 24 時間体制で観察や確認ができる環境が必要である。本研究では、まず過活動型せん妄での血清 pNF-H および細胞接着因子を指標とした病態解明及び診断・重症度評価ツールとしての可能性を明らかにできたため、今後の研究においては低活動型や混合型を含めて調査を行い、せん妄の型による類似性あるいは相違点を通じて、より詳細な病態解明とその診断・重症度指標の開発に繋げる。第二に、脊髄損傷の場合では血清 pNF-H の測定に最適な時間が 18～96 時間であったという以前の概念に基づいて[36]、本研究では手術後 72 時間以内に血清 pNF-H を測定した。しかしながら、術後せん妄による CNS 傷害の指標として血清 pNF-H を測定するのに最適な時間は、脊髄損傷の場合とは異なる可能性があるため、今後の研究では術後患者の血清 pNF-H 値をより細かい時間隔で経時的に測定する必要がある。第三に、アルツハイマー病や前頭側頭型認知症、熱性けいれんなどの CNS の疾患では、血清 pNF-H 値が上昇すると言われていたため[40, 41]、今回の研究では患者を登録する際に術前に認知機能障害のある患者を除外した。しかし、これら CNS 疾患の臨床症状は術後せん妄の臨床症状に類似している場合があるため、血清 pNF-H を測定する際に術後せん妄と他の CNS 疾患の急性発症や急性増悪の臨床症状を明確に区別できない可能性がある。いずれにせよ、血清 pNF-H 値の上昇は、これまでの知見より術後急

性期における CNS 傷害を直接示唆することができる。今後の対策としては、せん妄の症状には日内変動があり、改善と増悪を繰り返すことが特徴なので、これらの疾患の鑑別のためにも前述したように教育を受けた評価者が 24 時間体制で観察・確認ができる環境が必要である。

VI-5. 本研究の意義

周術期の合併症は、心臓や肺、腎臓、CNS など様々な臓器に発生するが、CNS は他の臓器に比べ、迅速かつ簡便に診断や重症度の測定を行う方法が確立しておらず、臨床において治療開始が遅れる場面が少なくない。周術期の CNS の合併症で最も一般的な術後せん妄においても、その早期診断と重症度評価を客観的に行うことは現時点では困難で、その発症機序も不明である。重症化したせん妄は、術後 6 か月後の死亡や老人介護施設への入所等に関連しており [73]、せん妄の重症度は医療経済の視点からも重要な課題である [6]。したがってせん妄の診断や重症度評価ツールの確立や発症機序の解明は臨床上重要である。我々が今回明らかにした軸索損傷バイオマーカー pNF-H と BBB 機能不全に関与する細胞接着因子である P-selectin と PECAM-1 は、採血で簡便に測定可能なためせん妄の診断と重症度評価において非常に有意義で、せん妄評価の客観的なバイオマーカーとして機能する可能性を示唆している。さらに、せん妄による CNS

の障害と BBB の障害に関連が示せたことから、せん妄の発症機序の解明にもつながることが期待される。

VI-6. 今後の展望

今後の展望としては、本研究に基づきせん妄の診断について教育を受け経験を積んだ評価者が、過活動型だけでなく低活動型と混合型を含む全てのサブタイプのせん妄の調査を行い、対象症例数を増やし、経時的な血清 pNF-H 値の推移をより細かい時間間隔で計測する予定である。既に我々の研究グループは同様の術式を受けた患者において、術後せん妄を起こしていない患者も含めて経時的に臨床データを追跡し、術後せん妄発症に伴う血清 pNF-H 値の推移を観察し、術後せん妄未発症の患者との比較検討を行う研究を開始している。さらに、今回測定した血清バイオマーカー以外にも、せん妄と BBB 障害の関係をより詳細に検討するため、またせん妄の診断と重症度評価により適したバイオマーカーを検討するために、追加で血清バイオマーカーの計測を行っている。将来的には、せん妄に対する診断や重症度評価、治療反応性を血清 pNF-H やその他のバイオマーカーの測定といった簡便な検査方法で、客観的かつ定量的に判定することが可能となるよう研究を継続していく予定である。

VII. 結語

術後せん妄による CNS 障害と BBB の機能不全との関係を調べるために、全身麻酔下で手術を受けた患者から、軸索損傷バイオマーカー血清 pNF-H と BBB 機能不全のバイオマーカーの各種細胞接着因子、炎症性サイトカインを調査した。P-selectin は患者全体における血清 pNF-H の陽性化と関連し、PECAM-1 は血清 pNF-H 陽性患者における血清 pNF-H 値の上昇と関連していた。この結果は、血清 pNF-H と相関する BBB の機能不全に関与する 2 つの細胞接着因子である P-selectin と PECAM-1 が、術後せん妄による CNS 傷害の発症及び重症化に関与することを示している。これにより、術後せん妄による CNS 障害と BBB の機能不全との関係性が示唆された。

VIII. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、温かいご指導とご支援を賜り、更には本論文の作成にも多大なご意見を賜りました、東京大学大学院医学系研究科外科学専攻生体管理講座麻酔学 准教授 内田寛治 先生、国際医療福祉大学三田病院 病院長 山田芳嗣 先生に厚く御礼申し上げます。

また、本研究を遂行するにあたり、直接ご指導を賜り、更には本論文の作成においても終始一貫してご指導を賜りました、東京大学医学部附属病院緩和ケア・診療部 准教授 住谷昌彦 先生に厚く御礼申し上げます。

さらには、本研究を進めるにあたり、重要で貴重なご意見やご指導をいただきました、国立障害者リハビリセンター研究所 緒方徹 先生、東京大学大学院医学系研究科外科学専攻生体管理講座麻酔学 講師 河村岳 先生、東京大学医学部附属病院緩和ケア・診療部 阿部博昭 先生に厚く御礼申し上げます。

本研究におけるご指導、ご協力に加え、貴重なデータをご提供いただきました、筑波大学附属病院救急・集中治療部 講師 下條信威 先生に厚く御礼申し上げます。

同意書の取得、データ収集、データ解析など様々な面でご協力いただきました、さいたま赤十字病院 富岡俊也 先生、東京大学医学部附属病院麻酔科・痛みセンター 井上玲央 先生、古田愛 先生、そして東京大学医学部附属病院、さ

いたま赤十字病院、筑波大学附属病院の各病棟でご対応いただきました看護師
の皆様にも厚く御礼申し上げます。

IX. 参考文献

1. Franco K, Litaker D, Locala J, Bronson D: The Cost of Delirium in the Surgical Patient. *Psychosomatics* 2001; 42: 68–73
2. Pisani MA, Kong SY, Kasl SV, et al: Days of delirium are associated with 1-year mortality in an older intensive care unit population. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180: 1092–7
3. Ely EW, Shintani A, Truman B, et al: Delirium as a predictor of mortality in mechanically ventilated patients in the intensive care unit. *JAMA* 2004; 291: 1753-62
4. Thomason JW, Shintani A, Peterson JF, et al: Intensive care unit delirium is an independent predictor of longer hospital stay: a prospective analysis of 261 non-ventilated patients. *Crit Care* 2005; 9: R375-81
5. Ouimet S, Kavanagh BP, Gottfried SB, et al: Incidence, risk factors and consequences of ICU delirium. *Intensive Care Med* 2007; 33: 66-73
6. Milbrandt EB, Deppen S, Harrison PL, et al: Costs associated with delirium in mechanically ventilated patients. *Crit Care Med* 2004; 32: 955–62
7. Gunther ML, Morandi A, Krauskopf E, et al: The association between brain volumes, delirium duration, and cognitive outcomes in intensive care unit survivors: the VISIONS cohort magnetic resonance imaging study. *Crit Care Med* 2012; 40: 2022-32

8. Kline RP, Pirraglia E, Cheng H, et al: Surgery and Brain Atrophy in Cognitively Normal Elderly Subjects and Subjects Diagnosed with Mild Cognitive Impairment. *Anesthesiology* 2012; 116: 603-12
9. Hattori H, Kamiya J, Shimada H, et al: Assessment of the risk of postoperative delirium in elderly patients using E-PASS and the NEECHAM Confusion Scale. *Int J Geriatr Psychiatry* 2009; 24: 1304-10
10. van Eijk MM, van Marum RJ, Klijn IA, et al: Comparison of delirium assessment tools in a mixed intensive care unit. *Crit Care Med* 2009; 37: 1881-5
11. Spronk PE, Riekerk B, Hofhuis J, et al: Occurrence of delirium is severely underestimated in the ICU during daily care. *Intensive Care Med* 2009; 35: 1276-80
12. Devlin JW, Skrobik Y, Gélinas C, et al: Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Pain, Agitation/Sedation, Delirium, Immobility, and Sleep Disruption in Adult Patients in the ICU. *Crit Care Med* 2018; 46: e825–73
13. Gamberini M, Bolliger D, Lurati Buse GA, et al: Rivastigmine for the prevention of postoperative delirium in elderly patients undergoing elective cardiac surgery--a randomized controlled trial. *Crit Care Med* 2009; 37: 1762-8
14. Schweickert WD, Pohlman MC, Pohlman AS, et al: Early physical and occupational therapy in mechanically ventilated, critically ill patients: A randomised controlled trial.

Lancet 2009; 373:1874-82

15. Needham DM, Korupolu R, Zanni JM, et al: Early physical medicine and rehabilitation for patients with acute respiratory failure: A quality improvement project.

Arch Phys Med Rehabil 2010; 91: 53

16. Trzepacz PT: Is there a final common neural pathway in delirium? Focus on acetylcholine and dopamine. Semin Clin Neuropsychiatry 2000; 5: 132–148

17. de Rooij SE, van Munster BC, Korevaar JC, et al: Cytokines and acute phase response in delirium. J Psychosom Res 2007; 62: 521–5

18. Cerejeira J, Firmino H, Vaz-Serra A, et al: The neuroinflammatory hypothesis of delirium. Acta Neuropathol 2010; 119: 737-54

19. Eikelenboom P, Hoogendijk WJ, Jonker C, et al: Immunological mechanisms and the spectrum of psychiatric syndromes in Alzheimers disease. J Psychiatr Res 2002; 36: 269–80

20. Barr J, Fraser GL, Puntillo K, Wesley Ely E, et al: Clinical practice guidelines for the management of pain, agitation, and delirium in adult patients in the intensive care unit. Crit Care Med 2013; 41: 263-306

21. Adamis D, Treloar A, Martin FC, et al: ApoE and cytokines as biological markers for recovery of prevalent delirium in elderly medical inpatients. Int J Geriatr Psychiatry 2007;

22: 688–94

22. Lemstra AW, Kalisvaart KJ, Vreeswijk R, et al: Pre-operative inflammatory markers and the risk of postoperative delirium in elderly patients. *Int J Geriatr Psychiatry* 2008; 23: 943–8

23. Kawano T, Eguchi S, Iwata H, et al: Impact of Preoperative Environmental Enrichment on Prevention of Development of Cognitive Impairment following Abdominal Surgery in a Rat Model. *Anesthesiology* 2015; 123: 160-70

24. Tune L, Coyle JT: Serum levels of Anticholinergic drugs in treatment of acute extrapyramidal side effects. *Arch Gen Psychiatry* 1980; 37: 293–7

25. Thomas C, Hestermann U, Kopitz J, et al: Serum anticholinergic activity and cerebral cholinergic dysfunction: An EEG study in frail elderly with and without delirium. *BMC Neurosci* 2008; 9: 86

26. Van Munster BC, Korevaar JC, Zwinderman AH, et al: The association between delirium and the apolipoprotein E epsilon 4 allele: New study results and a meta-analysis. *Am J Geriatr Psychiatry* 2009; 17: 856–62

27. Žurek J, Fedora M: The usefulness of S100B, NSE, GFAP, NF-H, secretagogin and Hsp70 as a predictive biomarker of outcome in children with traumatic brain injury. *Acta Neurochir* 2012; 154: 93-103

28. Grandi C, Tomasi CD, Fernandes K, et al: Brain-derived neurotrophic factor and neuron-specific enolase, but not S100 β , levels are associated to the occurrence of delirium in intensive care unit patients. *J Crit Care* 2011; 26: 133-7
29. Sawada Y, Konno A, Nagaoka J, et al: Inflammation-induced reversible switch of the neuron-specific enolase promoter from Purkinje neurons to Bergmann glia. *Scientific Reports* 2016; 6: 27758
30. Hirai H: Production of the neuron-specific enolase in astrocytes, but not in neurons, under the neuronal inflammation. *Journal of Japanese Biochemical Society* 2017; 89: 241-3
31. Van Munster BC, Korse CM, de Rooij SE, et al: Markers of cerebral damage during delirium in elderly patients with hip fracture. *BMC Neurol* 2009; 27: 9-21
32. Khan BA, Zawahiri M, Campbell NL, et al: Biomarkers for delirium--a review. *J Am Geriatr Soc* 2011; 59: S256-61
33. Ramlawi B, Rudolph JL, Mieno S, et al: Serologic markers of brain injury and cognitive function after cardiopulmonary bypass. *Ann Surg* 2006; 244: 593-601
34. Beck R, Deek J, Jones J.B, et al: Gel-expanded to gel-condensed transition in neurofilament networks revealed by direct force measurements. *Nature Materials* 2010; 9: 40-6

35. Shaw G, Yang C, Ellis R, et al: Hyperphosphorylated neurofilament NF-H is a serum biomarker of axonal injury. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 336: 1268-77
36. Hayakawa K, Okazaki R, Ishii K, et al: Phosphorylated neurofilament subunit NF-H as a biomarker for evaluating the severity of spinal cord injury patients, a pilot study. *Spinal Cord* 2012; 50: 493-6
37. Ueno T, Ohori Y, Ito J, et al: Hyperphosphorylated neurofilament NF-H as a biomarker of the efficacy of minocycline therapy for spinal cord injury. *Spinal Cord* 2011; 49: 333-6
38. Gresle MM, Liu Y, Dagley LF, et al: Serum phosphorylated neurofilament-heavy chain levels in multiple sclerosis patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014; 85: 1209-13
39. Ganesalingam J, An J, Bowser R, et al: pNF-H is a promising biomarker for ALS. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener* 2013; 14: 146-9
40. Matsushige T, Inoue H, Fukunaga S, et al: Serum neurofilament concentrations in children with prolonged febrile seizures. *J Neurol Sci* 2012; 321: 39-42
41. Hu YY, He SS, Wang XC, et al: Elevated levels of phosphorylated neurofilament proteins in cerebrospinal fluid of Alzheimer disease patients. *Neurosci Lett* 2002; 320: 156-60

42. Natori A, Ogata T, Sumitani M, et al: Potential Role of pNF-H, a Biomarker of Axonal Damage in the Central Nervous System, as a Predictive Marker of Chemotherapy-Induced Cognitive Impairment. *Clin Cancer Res.* 2015; 21: 1348-52
43. Fuerst D, Shah J, Shah A, et al: Hippocampal sclerosis is a progressive disorder: a longitudinal volumetric MRI study. *Ann Neurol* 2003; 53: 413-6
44. Mendes NF, Pansani AP, Carmanhaes ERF, et al: The Blood-Brain Barrier Breakdown During Acute Phase of the Pilocarpine Model of Epilepsy Is Dynamic and Time-Dependent. *Front Neurol* 2019;10: 382
45. Gorter JA, Aronica E, van Vliet EA: The Roof is Leaking and a Storm is Raging: Repairing the Blood-Brain Barrier in the Fight Against Epilepsy. *Epilepsy Curr* 2019; 19: 177-181
46. Inoue R, Sumitani M, Ogata T, et al: Direct evidence of central nervous system axonal damage in patients with postoperative delirium: A preliminary study of pNF-H as a promising serum biomarker. *Neuroscience Letters* 2017; 653: 39–44
47. Saxena S, Maze M: Impact on the brain of the inflammatory response to surgery. *Presse Med* 2018; 47: e73-81
48. Schrijver EJ, de Vries OJ, Verburg A, et al: Efficacy and safety of haloperidol prophylaxis for delirium prevention in older medical and surgical at-risk patients acutely

admitted to hospital through the emergency department: study protocol of a multicenter, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *BMC Geriatr* 2014; 14: 96

49. Ely EW, Margolin R, Francis J, et al: Evaluation of delirium in critically ill patients: validation of the Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit (CAM-ICU). *Crit Care Med* 2001; 29: 1370–9

50. Hughes CG, Pandharipande PP, Thompson JL, et al: Endothelial activation and blood-brain barrier injury as risk factors for delirium in critically ill patients. *Crit Care Med* 2016; 44: e809–17

51. Tomasi CD, Vuolo F, Generoso J, et al: Biomarkers of Delirium in a Low-Risk Community-Acquired Pneumonia-Induced Sepsis. *Mol Neurobiol* 2017; 54: 722–6

52. Rengel KF, Pandharipande PP, Hughes CG: Postoperative delirium. *Presse Med*. 2018; 47: e53–64

53. Terrando N, Monaco C, Ma D, et al: Tumor necrosis factor- α triggers a cytokine cascade yielding postoperative cognitive decline. *PNAS* 2010; 107: 20518-22

54. Gusmao-Flores D, Salluh JI, Chalhub RÁ, et al: The confusion assessment method for the intensive care unit (CAM-ICU) and intensive care delirium screening checklist (ICDSC) for the diagnosis of delirium: a systematic review and meta-analysis of clinical studies. *Crit Care* 2012; 16: R115

55. Shi Q, Warren L, Saposnik G, et al: Confusion assessment method: a systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2013; 9: 1359-70
56. Neto AS, Nassar AP Jr, Cardoso SO, et al: Delirium screening in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2012; 40: 1946-51
57. Nourshargh S, Alon R: Leukocyte migration into inflamed tissues. *Immunity* 2014; 41: 694-707
58. Scott DW, Patel RP: Endothelial heterogeneity and adhesion molecules N-glycosylation: implications in leukocyte trafficking in inflammation. *Glycobiology* 2013; 23: 622-33
59. Vainer B, Nielsen OH: Changed colonic profile of P-selectin, platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), ICAM-2, and ICAM-3 in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 2000; 121: 242-7
60. Blyth BJ, Farhavar A, Gee C, et al: Validation of serum markers for blood-brain barrier disruption in traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2009; 26:1497–1507
61. Kanner AA, Marchi N, Fazio V, et al: Serum S100beta: a noninvasive marker of blood-brain barrier function and brain lesions. *Cancer* 2003; 97:2806–13
62. Vachharajani V, Cunningham C, Yoza B, et al: Adiponectin-deficiency exaggerates

sepsis-induced microvascular dysfunction in the mouse brain. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 20:498–504

63. Pandharipande PP, Girard TD, Jackson JC, et al: Long-term cognitive impairment after critical illness. *N Engl J Med* 2013; 369: 1306-16

64. Hsieh TT, Fong TG, Marcantonio ER, et al: Cholinergic deficiency hypothesis in delirium: a synthesis of current evidence. *J Gerontol A Biol Sci* 2008; 63: 764-72

65. Naeije G, Depondt C, Meeus C, et al: EEG patterns compatible with nonconvulsive status epilepticus are common in elderly patients with delirium: a prospective study with continuous EEG monitoring. *Epilepsy Behav* 2014; 36: 18-21

66. Matsuoka Y, Miyake Y, Arakaki H, et al: Clinical utility and validation of the Japanese version of Memorial Delirium Assessment Scale in a psychogeriatric inpatient setting. *Gen Hosp Psychiatry* 2001; 23: 36-40

67. de la Cruz M, Fan J, Yennu S, et al: The frequency of missed delirium in patients referred to palliative care in a comprehensive cancer center. *Support Care Cancer* 2015; 23: 2427-33

68. Adamis D, Sharma N, Whelan PJ, et al: Delirium scales: A review of current evidence. *Aging Ment Health* 2010; 14:543-55

69. Shi Q, Warren L, Saposnik G, et al: Confusion assessment method: a systematic

review and meta-analysis of diagnostic accuracy. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2013; 9: 1359-70

70. Ely EW, Inouye SK, Bernard GR, et al: Delirium in mechanically ventilated patients: validity and reliability of the confusion assessment method for the intensive care unit (CAM-ICU). *JAMA* 2001; 286: 2703-10

71. Peterson JF, Pun BT, Dittus RS, et al: Delirium and its motoric subtypes: a study of 614 critically ill patients. *J Am Geriatr Soc* 2006; 54: 479-84

72. Robinson TN, Raeburn CD, Tran ZV, et al: Motor subtypes of postoperative delirium in older adults. *Arch Surg* 2011; 146: 295-300

73. Marcantonio E, Ta T, Duthie E, et al: Delirium severity and psychomotor types: their relationship with outcomes after hip fracture repair. *J Am Geriatr Soc* 2002; 50: 850-7

74. American Society of Anesthesiologists. STANDARDS AND GUIDELINES. ASA Physical Status Classification System. Last approved by the ASA House of Delegates on October 15, 2014

75. Mietani K, Sumitani M, Ogata T, et al: Dysfunction of the blood-brain barrier in postoperative delirium patients, referring to the axonal damage biomarker phosphorylated neurofilament heavy subunit. *PLoS One* 2019; 14: e0222721