

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17787

研究課題名(和文)酸化ストレスによる内皮グリコカリックスの障害に対するアルブミンを用いた治療戦略

研究課題名(英文)Albumin-based treatment strategies for endothelial glycocalyx injury under oxidative stress.

研究代表者

数馬 聡 (Kazuma, Satoshi)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：20722060

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：虚血再灌流障害モデルのラットを使用し、in vivoでの冠動脈の虚血再灌流障害は毛細血管のグリコカリックス(eGCX)を傷害することを確認した。ラットアルブミンを投与するとこのeGCXの障害を抑制し、心筋浮腫の進行を抑制した。スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)の受容体の阻害薬の投与はアルブミンの保護効果を抑制した。これらの結果は第49回日本集中治療医学会学術集会シンポジウムでも発表を行った。さらに英文誌BBRC Volume 666, 23 July 2023, Pages 29-35.でpublicationされた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

虚血再灌流障害などの炎症性疾患におけるアルブミンの投与はグリコカリックスの障害を緩和することを見出した。重症患者においてアルブミンの投与の有用性はまだ証明されていないものの、サブグループ解析では生存率に寄与することも報告されている。また、アルブミンは酸化ストレスのスカベンジャー、膠質浸透圧の維持、生理活性物質のキャリアなど多彩な機能を有する報告がなされている。本研究の結果は他の報告に加えてアルブミンの有するグリコカリックス保護作用と位置付けられると考えられる。またアルブミンのこの作用はスフィンゴシン-1-リン酸を介したものであることも見出され、今後より詳細な作用ポイントを解析する必要がある。

研究成果の概要(英文)：Using a rat model of ischaemia-reperfusion injury, we confirmed that in vivo ischaemia-reperfusion injury in coronary arteries damages capillary glycocalyx (eGCX). Administration of rat albumin inhibited this eGCX injury and prevented the progression of myocardial oedema. Administration of an inhibitor of the sphingosine-1-phosphate (S1P) receptor suppressed the protective effect of albumin. These results were presented at the Symposium of the 49th Annual Meeting of the Japanese Society of Intensive Care Medicine. Further publication was made in the English journal BBRC Volume 666, 23 July 2023, Pages 29-35.

研究分野：集中治療医学

キーワード：グリコカリックス アルブミン スフィンゴシン-1-リン酸 虚血再灌流障害 血管内皮 酸化ストレス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

血管内皮細胞の内膜面には内皮グリコカリックス (eGCX) とよばれるゲル状の層が存在する。eGCX が障害されると、血管内を循環している細胞と血管内皮細胞との直接的な接触による炎症反応をひき起こす。虚血再灌流障害、高血糖や動脈硬化、敗血症などでは、炎症反応の亢進による活性酸素種の産生増大の結果、酸化ストレスによる eGCX の障害されることが示されている。したがって、eGCX を保護、または回復を促進することは、血管内皮の機能を維持し、生体の恒常性を保つ上で重要であると考えられる。現在、ステロイド、吸入麻酔薬、活性酸素種消去剤の投与などは、eGCX の保護を有することが示されているが、一般化された方法はない。同様に、アルブミンは虚血再灌流障害による eGCX の障害に対して保護作用をもつことが示されているが、eGCX への効果を検討したこれらの報告のほぼ全ては実験動物から単離した組織を用いたものであり、実際の生体への効果を反映していない可能性がある。私はパイロット研究として、ラットに対してほかの多くの報告で用いられているヒトアルブミンを投与した結果、ほとんどの個体が異種反応による心不全で死亡することがわかった。これらの反応は、単離組織では起こり得るものではないため、本来のアルブミンの eGCX への効果を検討するためには、ラットアルブミンを用いた、ラット個体への投与の検討が必要と考えられる。一方、アルブミンの eGCX への効果に関連して、私は、eGCX の糖たんぱく質構造の先端に存在するシアル酸に注目した。シアル酸は、酸化ストレス下において活性酸素消去酵素の誘導や eGCX の安定化に働くという報告がある。私は本研究のパイロット研究において、ラット大動脈標本にシアル酸を分解するシアリダーゼを暴露することによって、内皮機能の一つの血管内皮依存性弛緩反応が減弱することを見出した。さらに、この弛緩反応の減弱はアルブミンを投与することによって回復することを認めた。この結果から、内皮依存性弛緩反応にシアル酸が関与し、アルブミンは何らかの機序でシアル酸を含む eGCX に保護的な影響を及ぼしていることが考えられた。これまでに、アルブミンは血管機能の安定化に重要なスフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) のキャリアであり、炎症反応におけるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) による eGCX の分解を S1P が抑制する機序が報告されている。

2. 研究の目的

酸化ストレスの代表的な病態である虚血再灌流障害モデルのラット個体を使用し、シアル酸を含む eGCX の構造に対するラットアルブミンの保護および回復効果を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

ラットに対して麻酔下で左冠動脈を結紮、再灌流させることによって、虚血再灌流障害モデルを作成する。再灌流後にランタン溶液を冠動脈に還流させ、eGCX を特異的に標識する。虚血前のラットアルブミンの投与、もしくは非投与による内皮グリコカリックスの障害の程度を、透過型および走査型電子顕微鏡によって観察、定量し、虚血再灌流障害モデルのラットでアルブミンが eGCX の減少を抑制する (保護作用) 程度を評価する。同様に、虚血再灌流後のアルブミンの投与、非投与の影響を比較検討することで、アルブミンが虚血再灌流障害後の内皮グリコカリックスの増加を促進する (回復作用) 程度を評価する。これら

のプロトコルの過程で、虚血再灌流障害前後の血中アルブミン濃度を測定するとともに、eGCXの構成成分であるシアル酸、シンデカン-1、ヘパラン硫酸および血管内皮障害に伴うトロンボモジュリンの血中への逸脱の程度をELISA法で測定し、eGCXの障害の程度を評価する。また、虚血再灌流障害による炎症反応の亢進は血管透過性の亢進および組織浮腫を招くと考えられるため、摘出したモデル動物の心臓の乾燥重量を測定することにより組織浮腫を評価し、アルブミンの実際の生理学的効果を検討する。さらにモデル動物から摘出した心臓を抗好中球抗体および抗S1P抗体を使用して免疫組織化学を行い、虚血再灌流障害による炎症反応の亢進を反映する好中球およびeGCXの防御因子としてのS1Pの組織局在を評価する。

4. 研究成果

in vivoでの冠動脈の結紮、再開通による虚血再灌流障害は冠動脈毛細血管のグリコカリックスを傷害することを電子顕微鏡、免疫組織化学で確認した。さらにラットアルブミンを投与するとこのグリコカリックスの障害を抑制することができた。グリコカリックスの障害の抑制は心筋浮腫の進行を抑制した。さらにアルブミンのキャリア蛋白であるスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)の受容体の阻害薬であるFingolimodの投与はこのアルブミンの保護効果を抑制することを見出した。これらの結果はアルブミンが単なる膠質浸透圧の維持の機能にとどまらず、生体の恒常性に寄与し、さらにグリコカリックスに対してもS1Pを介して保護的に働くことを示唆するものである。これらの結果は第48回日本集中治療医学会学術集会の優秀演題候補としてノミネートされ、また第49回日本集中治療医学会学術集会シンポジウムでも発表を行った。さらに英文誌Biochemical and Biophysical Research Communications Volume 666, 23 July 2023, Pages 29-35. で publication された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 数馬聡
2. 発表標題 虚血再灌流障害によるグリコカリックスの障害に対するアルブミンの保護作用の検討
3. 学会等名 第48回日本集中治療医学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 数馬聡
2. 発表標題 敗血症における血管内皮グリコカリックス保護因子としてのアルブミンの有用性
3. 学会等名 第49回日本集中治療医学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 数馬聡
2. 発表標題 虚血再灌流障害によるグリコカリックスの障害に対するアルブミンの保護作用の検討
3. 学会等名 第48回日本集中治療医学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 数馬聡	4. 発行年 2020年
2. 出版社 株式会社メジカルレビュー社	5. 総ページ数 253
3. 書名 ICU 輸液がみえるグリコカリックス×アトラス	

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------