

令和 2 年 9 月 8 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11057

研究課題名(和文) 内皮グリコカリックスの障害に対する麻酔薬による保護作用の検討

研究課題名(英文) The restoring effect of anesthetics on damaged-endothelial glycocalyx

研究代表者

時永 泰行 (Tokinaga, Yasuyuki)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：60438281

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：血管内皮細胞の内膜面には内皮グリコカリックスとよばれる糖鎖の層が存在し多様な機能をもつ。血管内皮の機能を維持する上で内皮グリコカリックスを治療の対象となっている。麻酔薬が内皮グリコカリックスの障害を抑制することにより保護する効果があるという仮説をたて、内皮グリコカリックス障害時の内皮依存性弛緩反応における麻酔薬の効果およびその機序を明らかにすることを本研究の目的とした。ラット大動脈標本を用いて、活性酸素種の一つの過酸化水素により内皮グリコカリックス障害をきたした血管に対してセボフルランを暴露することによりシアル酸転移酵素の発現を促すことで内皮グリコカリックスが回復することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を足がかりとして、内皮グリコカリックスの他の機能に関する応用、すなわち、選択性のある防護壁としての機能保持をめざす輸液管理、特に、近年着目されている制限輸液療法、目標志向型輸液療法を行う上での血管外への輸液のシフトをコントロールできるようになる可能性、薬剤濃度の局所分布までをシミュレートした薬剤投与といった新たな周術期管理の視点を期待できる点が本研究の意義である。

研究成果の概要(英文)：Vascular endothelium has a glycocalyx coating. Endothelial glycocalyx (EG) have crucial role of endothelial cell function. EG is one of the target to maintain the endothelial cell functions. We hypothesized that sevoflurane promotes regeneration of EG and endothelium-dependent vasodilation after oxidative stress. This study was to elucidate the effect of sevoflurane on damaged EG.

Sevoflurane significantly upregulated the reduced expression of ST6Gal-I induced by hydrogen peroxide treatment. Sevoflurane exerts regenerative effects on endothelium-dependent vasodilation and the endothelial glycocalyx following oxidative stress in the rat aorta.

研究分野：麻酔科学

キーワード：内皮グリコカリックス 吸入麻酔薬

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

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とよばれる糖鎖の層が存在し多様な機能をもつ。内皮グリコカリックスは、第1に透過選択性のある防護壁として、第2に酵素、補酵素、液性伝達物質の局所濃度調節領域として、第3にシェアストレスといった物理的刺激のシグナル伝達経路の一部として働いている(図1)。内皮グリコカリックスが障害されると、血管内皮細胞にリポタンパク質の流入が生じ、また、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、それに伴う生理現象を引き起こすこととなる(1)。内皮グリコカリックスに関する知見の増加に伴い、血管内皮の機能を維持する上で内皮グリコカリックスそのものを治療の対象とする見方が生じている。すなわち、内皮グリコカリックスをいかにして保護し、修復させることができるかが論点となっている。内皮グリコカリックスの障害は様々な病態で起こりえる。その病態には、糖尿病、虚血再灌流時、敗血症(2)、Tumor necrosis factor- α (3、4)に暴露された時、さらに、hypervolemiaによって起きる(5)。これらの内皮グリコカリックスの障害には活性酸素種、Mast cellからのHeparanase、各種プロテアーゼ、サイトカインの放出の関与が示されている(2、6)。周術期における内皮グリコカリックスの保護に関して、Hydrocortisoneの投与、albuminの投与、抗酸化剤の投与、normovolemiaの維持、吸入麻酔薬であるセボフルランの投与(7)、鎮静薬としてデクスメデトミジン投与(8)という方法が報告されているが、一般化された方法は未だない。Sialic acidは内皮グリコカリックスの構成要素の一つである。肺血管内皮細胞を用いた研究で、糖鎖分解酵素のシアリダーゼによってSialic acidを分解することにより内皮の防護作用を抑制したという報告がある(9)。

2. 研究の目的

本研究では麻酔薬が内皮グリコカリックスの障害を抑制し、回復機序を亢進することにより、内皮依存性弛緩反応を保護・回復する効果があるという仮説をたて、内皮グリコカリックス障害時の内皮依存性弛緩反応における麻酔薬の効果およびその機序を明らかにすることを目的とした。

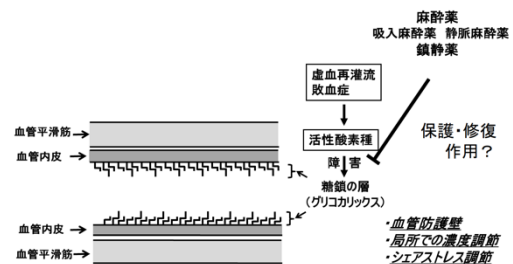


図1 血管内皮グリコカリックス

3. 研究の方法

ラット大動脈を標本として、セボフルランの存在下、非存在下で過酸化水素処理後、アセチルコリンによる内皮依存性弛緩反応を比較し、麻酔薬による内皮グリコカリックス保護作用を検討した(等尺性張力変化の測定)。同時に、免疫化学的手法(内皮グリコカリックス障害の組織化学的検討)により、内皮グリコカリックスの障害性との相関性を検討した。麻酔薬としてセボフルランを用いて、内皮グリコカリックスの産生に関わるシアリ酸転移酵素(ST6Gal-I)の発現を免疫化学的に評価し、シアリ酸転移酵素阻害薬存在下で内皮依存性弛緩反応を比較し、セボフルランによる内皮グリコカリックス保護作用を検討した。

4. 研究成果

ラット大動脈標本を用いて、活性酸素種の一つの過酸化水素により内皮グリコカリックス障害をきたした血管に対して、セボフルランを暴露することにより、シアリ酸転移酵素の発現を促すことで内皮グリコカリックスが回復することを示した(図2、図3)(10)。しかし、ポリシアリ酸以外の内皮グリコカリックス構成要素について、セボフルラン以外の麻酔薬・鎮静薬による内皮グリコカリックス障害の改善効果および、その具体的機序は明らかではなく、今後の課題と考えられる。

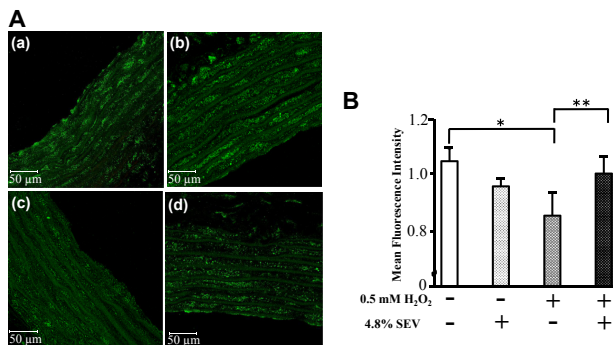


図2 (A) シアリ酸転移酵素(ST6Gal-I)の免疫組織学的染色による発現の検討。(a)コントロール群、(b)セボフルラン暴露群、(c)過酸化水素処理群、(d)過酸化水素処理、セボフルラン暴露群。(B)平均蛍光強度による比較。(n=6)、* : p<0.001、** : p<0.01

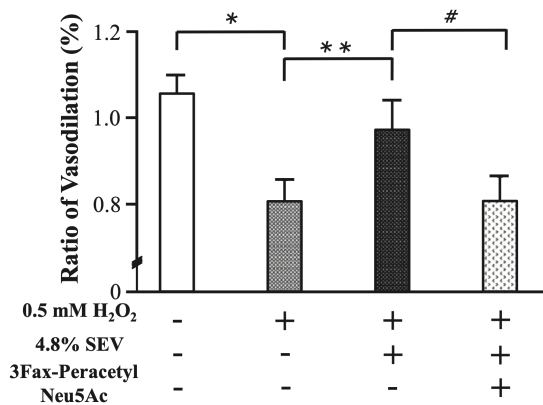


図3 セボフルランの内皮グリコカリックス回復効果に対するシアル酸転移酵素阻害薬3Fax-Peracetyl Neu5Acの影響. (n=6), *P < 0.001 コントロール群 versus H₂O₂ 群; **P < 0.001. H₂O₂群 versus H₂O₂ with 4.8% SEV post-treatment 群; #P < 0.001 H₂O₂ with 4.8% SEV post-treatment 群 versus H₂O₂ with 4.8% SEV post-treatment and 阻害薬群.

引用文献

- (1) Broekhuizen LN, Mooija HL, Kasteleina JJP, et al. Endothelial glycocalyx as potential diagnostic and therapeutic target in cardiovascular disease. *Current Opinion in Lipidology*. 2009;20:57-62.
- (2) Becker BF, Jacob M, Leipert S, et al. Degradation of the endothelial glycocalyx in clinical settings: searching for the sheddases. *Br J Clin Pharmacol*. 2015;80:389-402.
- (3) Chappell D, Kiefer KH, Jacob M, et al. TNF- α induced shedding of the endothelial glycocalyx is prevented by hydrocortisone and antithrombin. *Basic Res Cardiol*. 2009;104:78-89.
- (4) Ramnath R, Foster RR, Qui Y, et al. Matrix metalloproteinase 9-mediated shedding of syndecan 4 in response to tumor necrosis factor α : a contributor to endothelial cell glycocalyx dysfunction. *FASEB J*. 2014;28:4686-99.
- (5) Becker BF, Chappell D, Bruegger D, et al. Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential. *Cardiovascular Research* 2010; 87:300-10
- (6) Kumagai R, Lu X, Kassab GS. Role of Glycocalyx in Flow-Induced Production of Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species. *Free Radic Biol Med*. 2009;47:600-7.
- (7) Bashandy GM. Implications of recent accumulating knowledge about endothelial glycocalyx on anesthetic management. *J Anesth*. 2015;29:269-78.
- (8) Kobayashi K, Mimuro S, Sato T, et al. Dexmedetomidine preserves the endothelial glycocalyx and improves survival in a rat heatstroke model. *J Anesth*. 2018;32:880-5.
- (9) Cioffi DL, Pandey S, Alvarez DF, et al. Terminal sialic acids are an important determinant of pulmonary endothelial barrier integrity. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2012; 302:L1067-77.
- (10) Kazuma S, Tokinaga Y, Kimizuka M, et al. Sevoflurane Promotes Regeneration of the Endothelial Glycocalyx by Upregulating Sialyltransferase. *J Surg Res*. 2019;241:40-47.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 時永泰行, 数馬聡, 山蔭道明	4. 巻 3
2. 論文標題 血管透過性と内皮グリコカリックス.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 救急・集中治療エクス パートに学ぶショック管理のすべて.	6. 最初と最後の頁 343-348
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 時永泰行, 数馬 聡, 山蔭道明	4. 巻 29
2. 論文標題 内皮グリコカリックス障害が発生する? -今後の輸液戦略のキーワード-	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 救急・集中治療	6. 最初と最後の頁 327-332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazuma Satoshi, Tokinaga Yasuyuki, Kimizuka Motonobu, Azumaguchi Ryu, Hamada Kohsuke, Yamakage Michiaki	4. 巻 241
2. 論文標題 Sevoflurane Promotes Regeneration of the Endothelial Glycocalyx by Upregulating Sialyltransferase	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Surgical Research	6. 最初と最後の頁 40~47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jss.2019.03.018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2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, 時永泰行, 東口隆, 君塚基修, 濱田耕介, 山蔭道明
2. 発表標題 セボフルランは酸化ストレスによる血管内皮依存性弛緩反応およびグリコカリックスの障害を回復させる.
3. 学会等名 第33回体液・代謝管理研究会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 数馬 聡, 時永 泰行, 君塚 基修, 東口 隆, 濱田 耕介, 山蔭 道明
2. 発表標題 セボフルランは酸化ストレスによるグリコカリックスの障害および血管内皮依存性弛緩反応の減弱をシアル酸転移酵素ST6Gal- の発現増強を介して回復させる.
3. 学会等名 日本麻酔科学会北海道・東北支部第8回学術集会
4. 発表年 2018年

〔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
研究 分 担 者	枝長 充隆 (Edanaga Mitsutaka) (70616169)	札幌医科大学・医学部・准教授 (20101)	