

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09413

研究課題名(和文)重症熱傷におけるグリコカリックスからみた血管内皮障害メカニズム解明と制御法の確立

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of vascular endothelial damage from the viewpoint of glycocalyx in severe burns and establishment of control methods

研究代表者

大須賀 章倫 (Osuka, Akinori)

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：60552081

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：動物モデルを用いて重症熱傷後に生じる血管内皮グリコカリックスの損傷の程度を直視下に観察し、熱傷受傷後、受傷直後より血管内皮グリコカリックスが脱落していることを見出した。この脱落の程度および修復にかかる時間は臓器により異なることも分かった。さらに種々の薬品を用いて血管内皮グリコカリックスの脱落を防ぐことにより、多臓器不全への進展を防ぐ治療法を検討してきた。rTMでは低用量では効果が見られなかったが、投与量を上げることで死亡率が減少することが分かった。抗IL6受容体抗体投与では、グリコカリックスが維持されることは分かった。メカニズムに関しては未だ解明中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
グリコカリックスという血管内皮構造を直接視認することにより、重症熱傷受傷後の体液変動のメカニズムの一部を解明した。これにより、今までは重症熱傷により死亡していた患者を救命できる可能性の道筋がみえた。一方で、病態解明は進んだが、制御法については未だ確立されておらず、今後の課題も明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Using an animal model, we observed under direct observation the degree of vascular endothelial glycocalyx damage that occurs after severe burn injury and found that vascular endothelial glycocalyx is shed from immediately after burn injury. The degree of shedding and the time required for repair varied from organ to organ. We have also investigated treatment methods to prevent the progression to multiple organ failure by preventing the loss of endothelial glycocalyx using various drugs. rTM was found to be ineffective at low doses, but mortality was reduced at higher doses. Anti-IL6 receptor antibody administration was found to maintain glycocalyx. The mechanism is still being elucidated.

研究分野：救急、熱傷、外傷、血管内皮障害、免疫

キーワード：熱傷 外傷 血管内皮障害 グリコカリックス

## 1. 研究開始当初の背景

外傷は我が国における 10 歳から 44 歳までの死亡原因の 1 位に挙げられる。近年自然災害などが各地で起きており、多くの熱傷や外傷の傷病者を出している。これら傷病者の死因は急性期のショックと、その後継続する感染性合併症からの多臓器不全である。ショックの病態では、血管透過性の亢進が病態の増悪に関与しており、中でも熱傷性ショックではその体液変動は著しい。蘇生の急性期には大量の輸液を要し、その合併症として心不全や肺水腫、コンパートメント症候群を生じ予後を悪化させることを報告してきた。蘇生輸液量の増加は損傷の重症度だけでなく、年齢によっても増加することは以前から知られていたが、そのメカニズムは未解決のままであった。我々は熱傷受傷後の患者ではグリコカリックスの脱落が受傷早期に起こり、損傷の程度よりも年齢と相関することを世界で初めて報告した。さらに熱傷受傷後には腸管のダメージが受傷直後から発現しており、多臓器不全の進展に関与している可能性があることも報告してきた。熱傷などの多大な侵襲が加わると心・肺・肝・腎等の各種臓器の機能が低下し多臓器不全に至るが、我々の報告は、そのトリガーが受傷直後にすでに生じた末梢循環の破綻に起因していることを示唆している。かつては全身性の炎症反応が多臓器不全を引き起こすと考えられていたが、外傷による炎症性の自然免疫能の発現が生体防御的役割を担うことも世界で初めて報告し、さらにサイトカインがネットワークを構成し産生されていることも報告した。一旦、多臓器不全に陥ると、治療に難渋するだけでなく救命が困難となり、集中治療に莫大な治療費を要する。我々の研究室では重度侵襲に伴うショックとその病態の解明として、全身炎症反応及び血管内皮障害と多臓器不全の関連性とその進行を制御する研究を世界に先駆けて進めてきている。

生体が大きな侵襲を受けたときに各種メディエーターにより免疫応答が引き起こされ、種々のサイトカイン・ケモカインが放出されることはすでに示されてきた。本研究の研究課題の核心をなす学問的「問い」は、生体への危険なシグナルと炎症や血管内皮障害が生じるカスケードの中心にグリコカリックスの脱落があるのではないかと、ということである。本研究では血管内皮障害の指標としてグリコカリックスをターゲットとし、多臓器不全との関連性を解明するものである。生体内の血管のうち 99%は毛細血管であり、機能血管として酸素・栄養素の交換に寄与している。グリコカリックスは血管内皮上に存在し、血管内皮の透過性や恒常性を維持していると考えられている。本研究により、末梢循環の血管内皮障害をグリコカリックスの脱落という観点から観察し、各臓器の機能悪化との関連性を明らかにすることで、侵襲期の体液変動を制御し、多臓器不全への進行を食い止めるといった新たな治療が可能になる。

## 2. 研究の目的

申請者は、重症外傷後の侵襲に対する免疫応答と血管内皮障害について世界に先駆けて研究を進めてきた。しかし、侵襲後に生じる免疫応答の変化が血管内皮障害・血管透過性亢進を引き起こすメカニズムに関して未だ十分には解明されていない。グリコカリックスは血管内皮に存在する糖タンパクであり、血管内皮障害・血管透過性亢進に大きな影響を与えることが注目されている。我々は、熱傷患者におけるグリコカリックス脱落のタイミングと蘇生輸液に与える影響を世界で初めて報告した。本研究の目的は、重症外傷受傷後の各臓器におけるグリコカリックス脱落の関連性を明らかにし、多臓器不全への進展を阻止することである。

## 3. 研究の方法

重症外傷期における血管内皮障害の指標としてグリコカリックスの脱落の程度を各臓器で観察しグリコカリックスの脱落と、多臓器不全への進展の関連性を明らかにし、その防御策を構築することである。

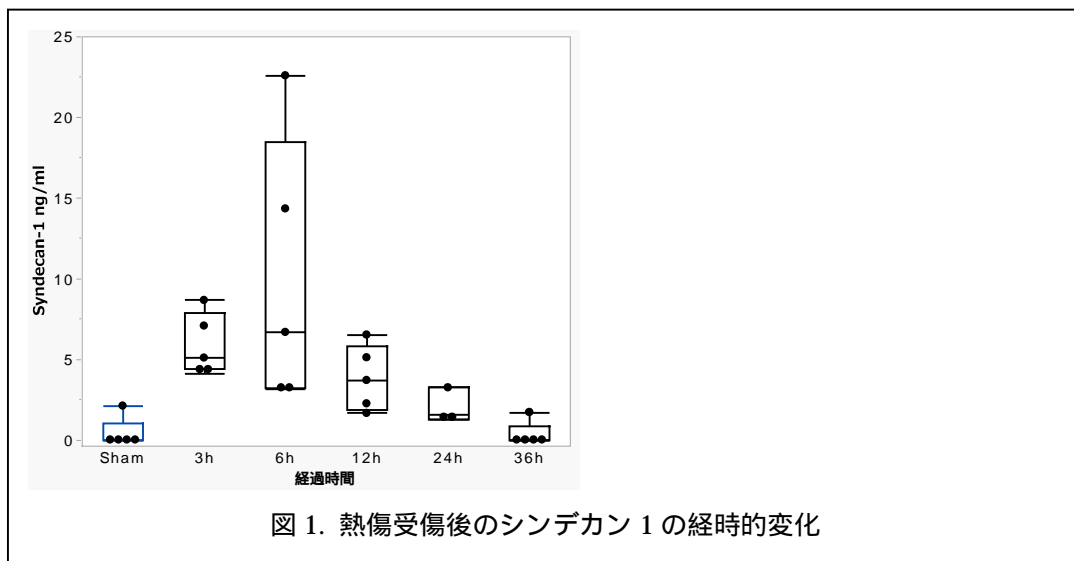
(1) 既存の熱傷モデルのマウス心臓、肝臓、腎臓、小腸で、硝酸ランタン染色を用いた走査顕微鏡像および透過型顕微鏡像で構造を経時的に観察する。同時に血中 syndecan-1 濃度、トロポモデュリン濃度、および各種サイトカイン濃度、AST/ALT、BUN/Cr、I-FABP、Troponin 等を測定し、グリコカリックス脱落との関連性を評価する。

(2) 上記観察結果と実際のヒトの採血データを解析し、今後の新たな治療戦略を模索する。具体的には DIC 治療薬である遺伝子組み換え型トロポモデュリン等がグリコカリックスを保護する可能性があると考えている。

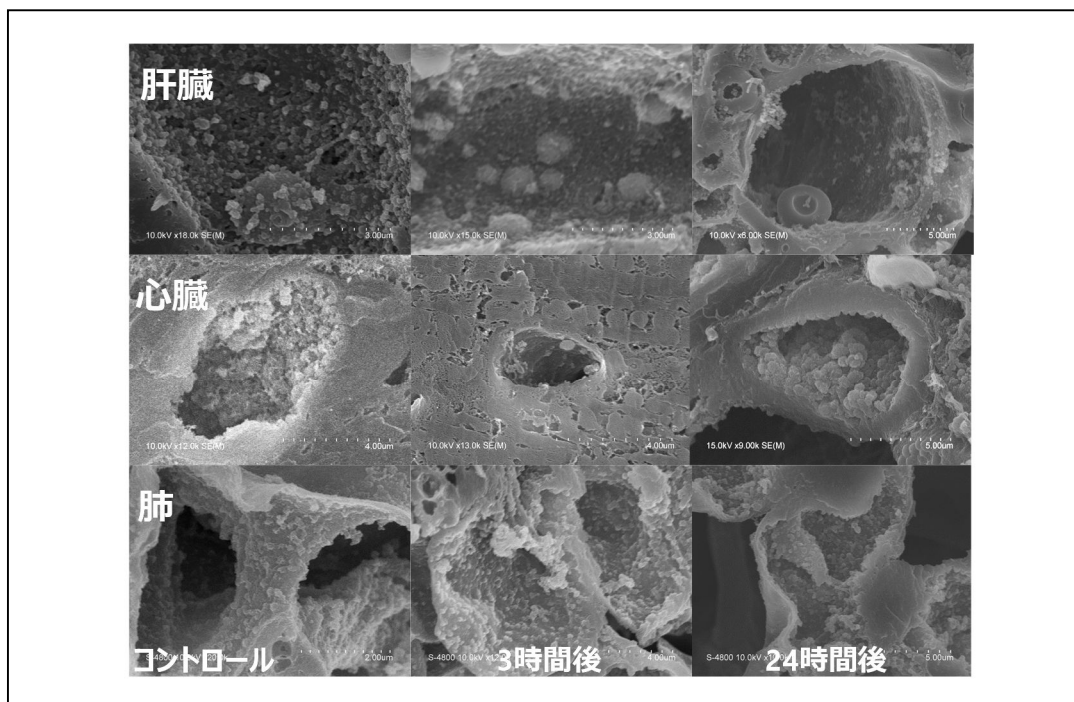
## 4. 研究成果

(1) 熱傷モデルマウスを用いて、グリコカリックスの脱落のマーカーであるシンデカン-1 を経時的に測定したところ、グリコカリックス脱落のピークが受傷後 6 時間程度であることが明

らかとなった(図 1)。

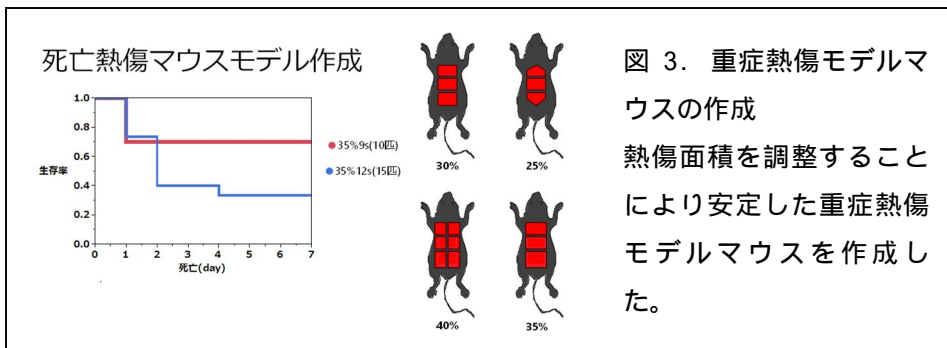


(2) 電子顕微鏡を用いて、心臓、肺、肝臓のグリコカリクスの脱落の程度を評価した(図 2)。

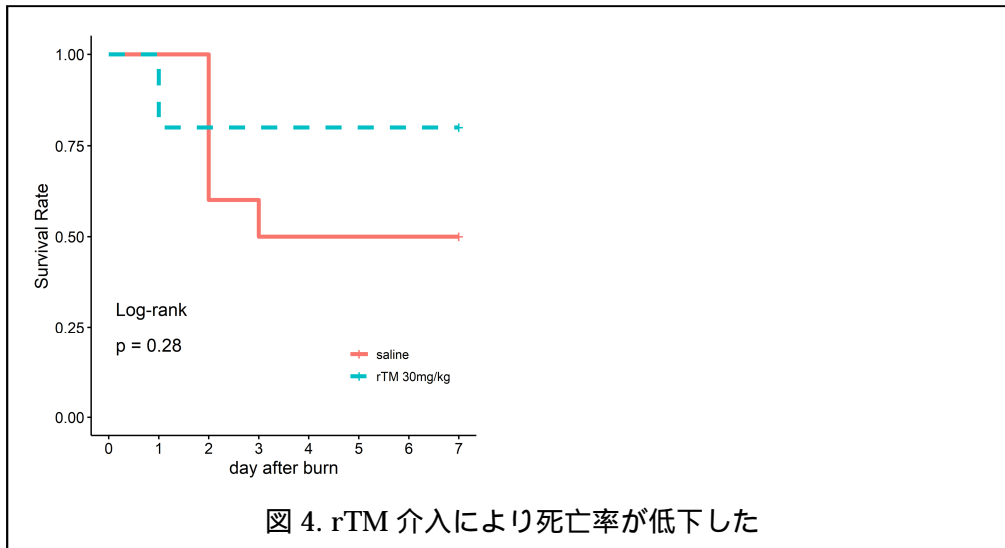


肝臓ではグリコカリクスが脱落し 24 時間後まで回復が見られなかった。  
心臓では 3 時間後には見られたグリコカリクスの脱落が、24 時間後には回復していた。

(3) 熱傷モデルマウスの死亡率が低かったため、より重症のモデルマウスを作成した(図 3)。



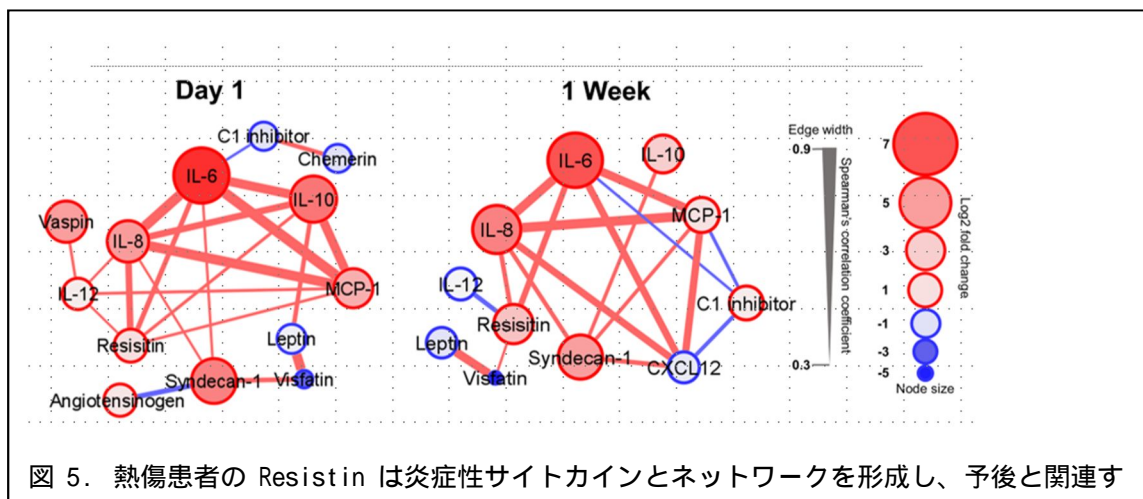
(4) 新たに作成した熱傷マウスを用いてリコンビナントトロノモデュリンによるグリコカリ



クス脱落の制御を試みた(図 4)。

これらの研究は新型コロナウイルスのパンデミックのため、一部実験計画の遅れや試薬の調達に遅延が生じたため、現在も続行中である。

(5) 並行して行っていた熱傷患者の血液検体を用いて研究成果として、血中のアディポカインの中にはシンデカンと相関関係があるものがあることが判明した(図 5, Burns 2022)。



(6) また、GDF-15 が熱傷患者の予後と関連することも見出し、発表した(Shock 2022)。

当初の研究目的は概ね達成でき、新たな知見も多くえられた。これらの知見を発展させ、現在はグリコカリクスをターゲットとした新たな治療戦略の開発に取り組んでいる。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Onishi Shinya, Matsuura Hiroshi, Osuka Akinori, Matsumoto Hisatake, Ebihara Takeshi, Ogura Hiroshi	4. 巻 48
2. 論文標題 Resistin forms a network with inflammatory cytokines and is associated with prognosis in major burns	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Burns	6. 最初と最後の頁 1680-1689
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.burns.2021.10.009	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 -

1. 著者名 Onishi Shinya, Ebihara Takeshi, Togami Yuki, Matsumoto Hisatake, Osuka Akinori, Ogura Hiroshi, Oda Jun	4. 巻 57
2. 論文標題 GROWTH DIFFERENTIATION FACTOR-15 CORRELATES WITH MORTALITY AND SEVERITY IN SEVERE BURNS	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 SHOCK	6. 最初と最後の頁 211-217
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.burns.2021.10.009.	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 -

1. 著者名 Osuka Akinori, Miyao Daiki, Kuge Yuji, Nakajima Shinji, Kuroki Yuichi, Ueyama Masashi	4. 巻 32
2. 論文標題 Good recovery without decompression fasciotomy for crush syndrome caused by using a Japanese-style toilet	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Trauma Case Reports	6. 最初と最後の頁 100411 ~ 100411
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.tcr.2021.100411	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大須賀草倫
2. 発表標題 熱傷患者の死亡時期の検討
3. 学会等名 日本救急医学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大須賀章倫
2. 発表標題 救急領域講習 熱傷診療 ～熱傷蘇生輸液を中心に～
3. 学会等名 日本救急医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大須賀章倫
2. 発表標題 重症熱傷後の血球数の推移と予後に与える影響
3. 学会等名 日本熱傷学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松浦裕司
2. 発表標題 熱傷マウスモデルにおける臓器ごとの毛細血管内皮上グリコカリックスの脱落とその制御
3. 学会等名 日本熱傷学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松浦裕司
2. 発表標題 熱傷初期蘇生のブレイクスルーをめざして：血管透過性亢進制御の観点から
3. 学会等名 日本救急医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大西伸也
2. 発表標題 重症熱傷においてGDF-15は、転帰を予測する新規のバイオマーカーである
3. 学会等名 日本集中治療学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大須賀章倫
2. 発表標題 重症熱傷患者に対する初期輸液管理の現状と問題点 重症熱傷患者に対する初期輸液療法の歴史的変遷と今後の展望
3. 学会等名 日本集中治療学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大西伸也
2. 発表標題 Resistinは炎症性サイトカインとネットワークを形成し、熱傷患者の予後に関連する
3. 学会等名 日本熱傷学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大須賀章倫
2. 発表標題 熱傷蘇生輸液の今までとこれから
3. 学会等名 日本臨床救急医学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大須賀章倫
2. 発表標題 熱傷蘇生輸液の歴史的変遷と今後の展望
3. 学会等名 日本熱傷学会総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 岡田 英志、富田 弘之	4. 発行年 2020年
2. 出版社 メジカルビュー社	5. 総ページ数 268
3. 書名 New Strategy! 超微形態生理学 ICU輸液がみえるグリコリックス×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
研究分担者	松浦 裕司  (Matsuura Hiroshi)  (10791709)	大阪大学・医学部附属病院・医員   (14401)	
研究分担者	岡田 英志  (Okada Hideshi)  (30402176)	岐阜大学・医学部附属病院・准教授   (13701)	
研究分担者	清水 健太郎  (Kentaro Shimizu)  (60379203)	大阪大学・医学部附属病院・助教   (14401)	



6. 研究組織（つづき）

	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	小倉 裕司  (Ogura Hiroshi)  (70301265)	大阪大学・大学院医学系研究科・准教授    (14401)	

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