

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18347

研究課題名（和文）心不全における血管内皮グリコカリックスの超微形態学的検討

研究課題名（英文）Ultrastructural Analysis of Vascular Endothelial Glycocalyx in Heart Failure

研究代表者

福田 哲也（FUKUTA, Tetsuya）

岐阜大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00839201

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）：血管内皮細胞表面に存在するグリコカリックスは血管の恒常性維持に対して重要な役割を果たしている。循環血液量増加で生じる機械的刺激によりグリコカリックスが障害されると水分の血管外漏出が増加するため浮腫形成および臓器障害が生じる。多臓器にわたる心不全の臨床症状が出現する原因のひとつにこの血管内皮グリコカリックスの障害があると仮定した。心不全で入院した患者において血管内皮グリコカリックスの障害マーカーである血清シンデカン-1濃度を測定したところ、血清シンデカン-1濃度が高値の患者は再入院また死亡率が有意に高値であった。また、心不全モデルマウスは多臓器にわたって血管内皮グリコカリックス障害が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グリコカリックスは血管の恒常性維持に重要な役割を果たしており、その機能維持・回復は新しい治療の開発のターゲットとして注目されている。近年、質量分析やグライコミクスによる網羅的解析は盛んであるが、疾患の病因・病態からのアプローチは遅れており、血管内皮グリコカリックスについては心不全時の動態や形状についての報告はない。近年、高齢化社会の到来とともに心不全パンデミックの到来が問題となっているが、本研究の結果によりシンデカン-1の測定により早期に心不全治療を開始できる可能性があり、社会的意義は非常に大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Glycocalyx on the surface of vascular endothelial cells plays an important role in vascular homeostasis. Glycocalyx damage caused by mechanical stimuli from increased circulating blood volume increases extravascular leakage of fluid, resulting in edema formation and organ disorder.

We hypothesized that the impairment of the vascular endothelial glycocalyx is one of the causes of the clinical manifestations of heart failure in multiple organs. Serum syndecan-1, a marker of endothelial glycocalyx injury, was measured in patients hospitalized for heart failure, and patients with higher serum syndecan-1 levels had significantly higher rates of re-hospitalization and mortality. In addition, mice models of heart failure showed endothelial glycocalyx injury across multiple organs.

研究分野：救急集中治療医学

キーワード：血管内皮グリコカリックス 心不全

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血管内皮グリコカリックスは、微小血管のトーンズ及び透過性を調節、内皮バリアにより浸透圧較差を保つなど微小血管や内皮細胞の恒常性維持に重要な役割を果たしている。内皮グリコカリックスが障害を受けると血管内皮全体の陰性荷電が消失して傍細胞部透過性が亢進する。透過性亢進に伴い体液の血管外漏出、間質浮腫を引き起こすとともに、血管トーンズの低下、凝固活性の亢進そして持続的な微小血栓の形成、白血球遊走に伴う接着因子発現の増加、および内皮への強力な酸化ストレス障害に起因する抗酸化活性の低下が引き起こされる。臨床的には大量輸液によりグリコカリックスを障害することが明らかになっており、血管緊張性、間質液貯留による浮腫形成および臓器障害と関連すると考えられている。

近年の超高齢化社会の到来により患者の高齢化が進み、基礎疾患を持った状態で集中治療を要する急性期重症疾患が発症するケースが増加している。心不全では心臓のポンプ機能が低下することにより十分な酸素や影響が臓器に供給されず全身の臓器機能が低下する。この原因として心不全では心拍出量の減少を補うために循環血液量が増加することで血管内皮グリコカリックスが障害されることにあると仮定できる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、心不全による体液量増加が内皮グリコカリックスを障害して血管透過性亢進が生じることを明らかにすることである。本研究の学術的独自性は以下の2点である。

- 1) 心不全増悪時の血管内皮グリコカリックスに対する影響を検討し、患者の病状の変化との関連を調査すること
- 2) 心不全モデルマウスを用いて血管内皮グリコカリックスの構造を臓器ごとに血管の形態、特に電子顕微鏡を用いた超微形態学的検討をすること

3. 研究の方法

研究1：患者血清を用いた心不全と内皮グリコカリックス障害の関連の検討

血管内皮グリコカリックスの構成成分の一つであるシンデカン-1は、グリコカリックスが障害されると血液中に遊離してその血中濃度が上昇するため、シンデカン-1の血中濃度の測定により血管内皮グリコカリックスの障害を定量することが可能である。本研究では、入院中の心不全患者を対象に、血清シンデカン-1濃度が再入院または死亡を予測し得ないか検討した。

2017年9月から2018年6月までに心不全の悪化で入院した患者(表1)を対象に、血清シンデカン-1濃度を分析した。ただし、20歳未満、急性冠症候群での入

Characteristics	N = 152
Age (years), median (IQR)	76 (68-85)
Sex (Female/Male), n (%)	58 (38.2) / 94 (61.8)
Follow-up time per patient (days), median (IQR)	23 (11-230)
Number of measurements per patient, median (IQR)	4 (3-6)
Death, n (%)	21 (13.8)
Readmission, n (%)	46 (30.3)
Basal heart disease, n (%)	
Hypertensive heart disease	26 (17.1)
Ischemic heart disease (post-PCI)	21 (13.8)
Ischemic heart disease (post-CABG)	12 (8.9)
Ischemic heart disease (conservative treatment)	7 (4.6)
Arrhythmia (tachycardia)	20 (13.2)
Arrhythmia (bradycardia)	1 (0.7)
Dilated cardiomyopathy	17 (11.2)
Hypertrophic cardiomyopathy	5 (3.3)
Other cardiomyopathy	6 (4.0)
Aortic valve stenosis (post-operation)	6 (4.0)
Aortic valve stenosis (conservative treatment)	3 (2.0)
Aortic valve insufficiency (post-operation)	1 (0.7)
Aortic valve insufficiency (conservative treatment)	5 (3.3)
Mitral valve insufficiency (post-operation)	3 (2.0)
Mitral valve insufficiency (conservative treatment)	8 (5.3)
Tricuspid valve insufficiency (conservative treatment)	3 (2.0)
Congestive disease	2 (1.3)
Other	6 (3.9)

表1：患者背景

院、悪性腫瘍合併、肝硬変合併、膠原病合併、血液透析の患者は除外した。本研究の主要アウトカムは、最初の入院から心不全の悪化による再入院またはあらゆる原因による死亡までの期間と定義した無再入院生存率として、退院後 30 カ月の評価をした。また、副次的な結果として、生存期間を評価した。血液サンプルと心エコー図のデータを解析した。統計解析の方法として、年齢、クレアチニン値、抗生剤の使用を調整した単変量および多変量の時間依存型 Cox 回帰分析を行った。

研究 2：心不全モデル動物での体液量の増加と内皮グリコカリックス構造変化の検討

心不全による体液貯留が血管内皮グリコカリックスに対してどのような影響を与えるのかを検討するために、心不全モデルマウスとして 10 週齢のオスの δ サルコグリカンノックアウト (dSGKO) マウスを Sacrifice し、検討を行う。 δ サルコグリカンは、心筋の細胞膜表面に存在し心臓の形態維持に重要な役割を果たしているが、欠損により心筋が脱落し、心筋症を引き起こすことが知られている。

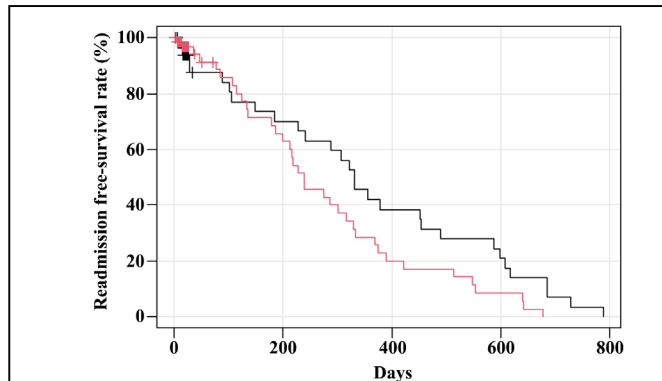


図 1：血清シンデカン-1 濃度と再入院もしくは死亡の関連

血清シンデカン-1 濃度が高い患者は再入院もしくは死亡の率が低い群に比べて高かった。

4. 研究成果

研究 1：患者血清を用いた心不全と内皮グリコカリックス障害の関連の検討

対象期間内に入院し、研究の対象とした患者は 152 人であり、男性が 94 人、年齢の中央値は 76 歳であった。心不全の背景疾患は、虚血性心疾患 (40 人)、高血圧性心疾患 (26 人)、不整脈 (21 人)、拡張型心筋症 (17 人) などであった。観察期間中に、67 回の再入院または死亡のイベントが認められた (表 1)。入院時の血清シンデカン-1 濃度の中央値 (33.48 ng/mL) よりも高い患者は再入院または死亡のイベントが発生する率が有意に高かった。入院後、血清シンデカン-1 濃度は、2.77 日目に最大となり、その後徐々に低下した。無再入院生存率と血清シンデカン-1 濃度の関係に影響を及ぼした因子としては、ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチドの投与と抗生剤の投与であった (それぞれ $p = 0.01, 0.008$)。

内皮グリコカリックスのコア蛋白であるシンデカン-1 は、全身の血管内皮細胞の表面に存在し、血漿量の急激な増大により血中へ遊離し、血中濃度が上昇することから、心不全による容量過多の状態を評価することのできるバイオマーカーとなる可能性が示唆された。過去の報告で、血清シンデカン-1 濃度は、心不全の予後や左室収縮率と相関しているといわれていた。今回の研究でも、健康な成人の血清シンデカン-1 濃度 (13.7-27.3ng/mL) よりも、心不全での入院時の濃度が高値 (72.4ng/mL) であった。さらに、血清シンデカン-1 濃度が、入院後 2.77 日目に最大となり、治療開始後、速やかに低下を認めた。これ

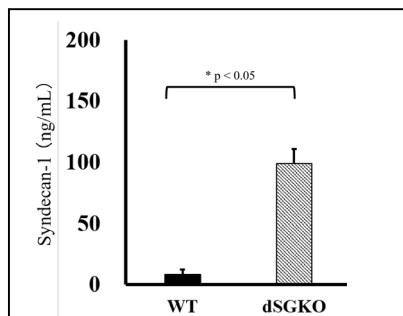


図 2： δ サルコグリカンノックアウトマウス (dSGKO) の Profile

dSGKO マウスで Wild Type に比べて有意に血清シンデカン-1 濃度が高値でありグリコカリックスの障害が示唆された。

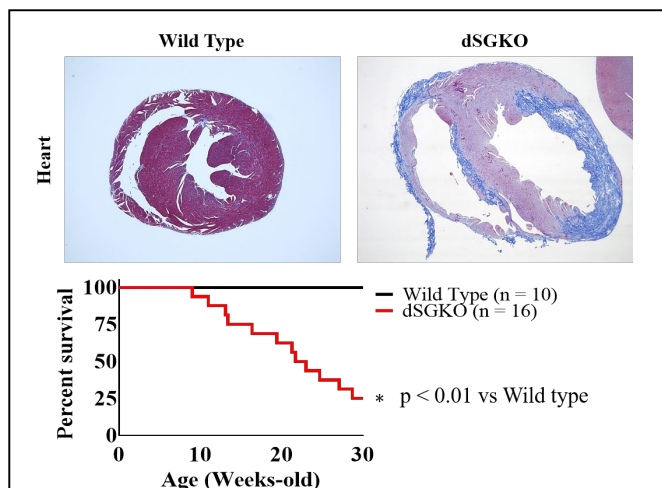


図 3： δ サルコグリカンノックアウトマウス (dSGKO) の Profile

δ サルコグリカン欠損により心筋が脱落し、ノックアウトマウスでは拡張型心筋症を引き起こす。dSGKO マウスは 10 週齢で著明な線維化を引き起こす。生存率は 30 週齢で 25%である

までの報告で、心筋の線維化のマーカーであるとの報告があるが、この速やかな低下からは、線維化のマーカーではないと考えられた。ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチドの投与と抗生剤の投与が、血清シンデカン-1 濃度を上昇させ、無再入院生存率を悪化させた。ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチドの投与は、血漿量のコントロールが十分でないこと、抗生剤の使用は肺炎などの感染症を合併していることがそれぞれの要因と考えられた。以上から血清シンデカン-1 濃度が心不全患者の無再入院生存率を予測することができる可能性があると考えられた (Kitagawa Y et al. *PLoS One* 2021)。

研究 2：心不全モデル動物での体液量の増加と内皮グリコカリックス構造変化の検討

dSGKO マウスでは血清シンデカン-1 濃度の有意な上昇が認められ血管内皮グリコカリックスが障害されていることが示唆された (図 2)。また、心臓は 10 週齢で左室自由壁の心筋の大半が脱落し線維化が認められた (図 3)。

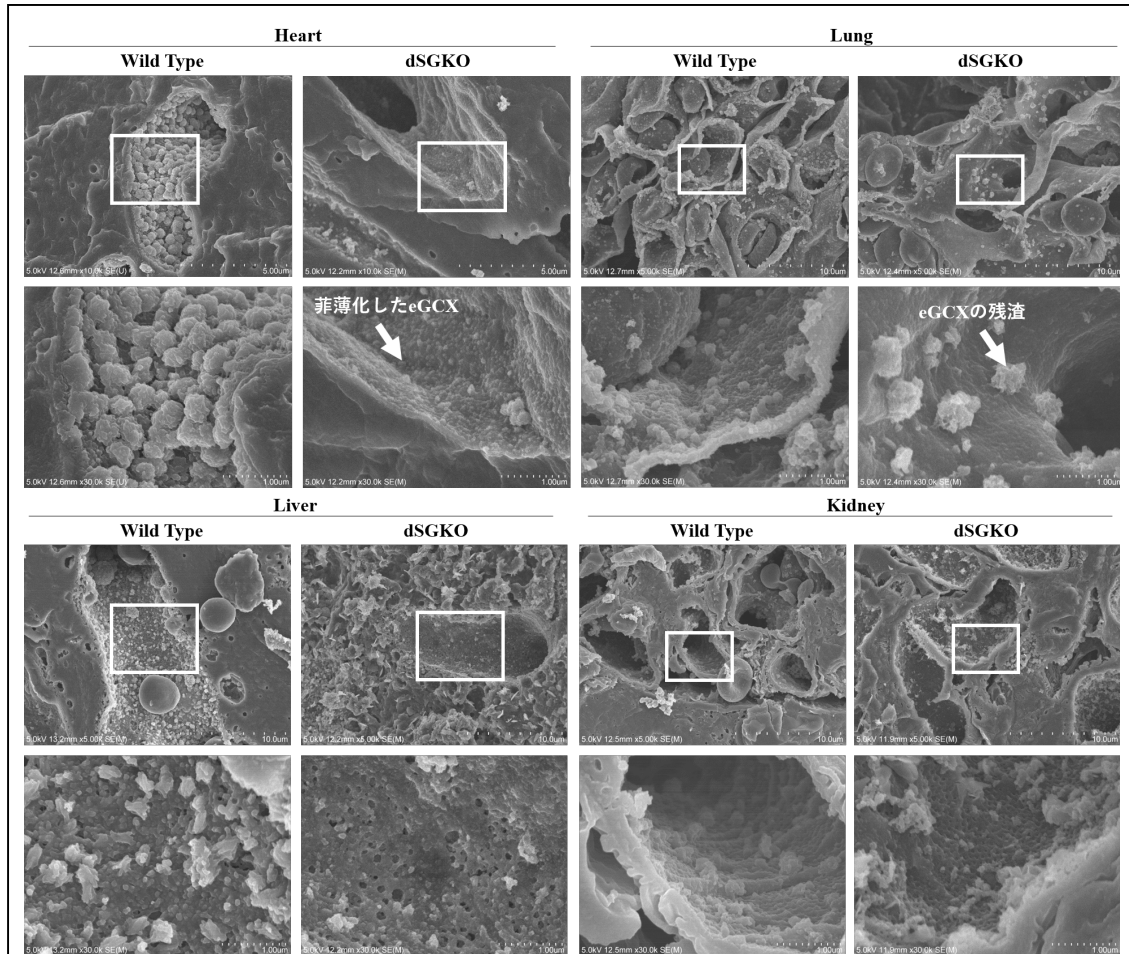


図 4： δ サルコグリカンノックアウトマウス (dSGKO) の各臓器の血管内皮グリコカリックスの超微形態

δ サルコグリカン欠損マウスと Wild Type マウスの血管内皮グリコカリックスを硝酸ランタンにて描出した像。血管内皮グリコカリックスは心不全による体液貯留により心臓や肺、肝臓、腎臓においても血管内皮グリコカリックスが障害されていることが確認できる

このマウスの心臓、肺、肝臓、腎臓の毛細血管内皮グリコカリックスは脱落し、それぞれの血管内皮に特異的な構造が破壊されていた (図 4)。心機能の低下は血管内皮グリコカリックスの傷害を引き起こしていた。このことが心不全の多彩な臨床症状の要因のひとつになっていると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Fukuta Tetsuya, Okada Hideshi, Takemura Genzou, Suzuki Kodai, Takada Chihiro, Tomita Hiroyuki.....Yoshida Shozo, Maekawa Yoichi, Ogura Shinji	4. 巻 54
2. 論文標題 Neutrophil Elastase Inhibition Ameliorates Endotoxin-induced Myocardial Injury Accompanying Degradation of Cardiac Capillary Glycocalyx	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Shock	6. 最初と最後の頁 386 ~ 393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SHK.0000000000001482	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 -
1. 著者名 Suzuki Kodai, Okada Hideshi, Takemura Genzou, Takada Chihiro, Tomita Hiroyuki.....Fukuta Tetsuya, Yamada Noriaki, Watanabe Takatomo.....Yoshida Shozo, Ogura Shinji	4. 巻 177
2. 論文標題 Recombinant thrombomodulin protects against LPS induced acute respiratory distress syndrome via preservation of pulmonary endothelial glycocalyx	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 4021 ~ 4033
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bph.15153	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 -
1. 著者名 Yoshiyama Naomasa, Okada Hideshi, Miyake Takahito, Kitagawa Yuichiro, Fukuta Tetsuya, Yasuda Ryu, Matsuo Mikiko, Hatano Yuichiro, Tomita Hiroyuki, Yoshida Shozo, Ogura Shinji	4. 巻 7
2. 論文標題 Emphysematous cholecystitis during the treatment of heat stroke	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acute Medicine & Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ams2.613	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 -
1. 著者名 Suzuki Keiko, Okada Hideshi, Tomita Hiroyuki, Sumi Kazuyuki, Kakino Yoshinori, Yasuda Ryu, Kitagawa Yuichiro, Fukuta Tetsuya, Miyake Takahito, Yoshida Shozo, Suzuki Akio, Ogura Shinji	4. 巻 19
2. 論文標題 Possible involvement of Syndecan-1 in the state of COVID-19 related to endothelial injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Thrombosis Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12959-021-00258-x	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 -

1. 著者名 Kamidani Ryo, Okada Hideshi, Kitagawa Yuichiro, Kusuzawa Keigo, Ichihashi Masahiro, Kakino Yoshinori, Oiwa Hideaki, Yasuda Ryu, Fukuta Tetsuya.....Yoshida Shozo, Ogura Shinji	4. 巻 15
2. 論文標題 Severe heat stroke complicated by multiple cerebral infarctions: a case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Medical Case Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13256-020-02596-2	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 -

1. 著者名 Hirohisa Yano, Ayumi Kuroda, Hideshi Okada, Hiroyuki Tomita, Kodai Suzuki, Chihiro Takada, Hirotsugu Fukuda.....Tetsuya Fukuta, Takahito Miyake, Norihide Kanda, Nagisa Miyazaki, Tomoaki Doi, Takahiro Yoshida, Akio Suzuki, Shozo Yoshida, Shinji Ogura	4. 巻 13
2. 論文標題 Ultrastructural alteration of pulmonary tissue under conditions of high oxygen concentration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical and Experimental Pathology	6. 最初と最後の頁 3004-3012
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 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 -

1. 著者名 Fukuta T, Okada H, Takemura G, Suzuki K, Takada C, Tomita H, Suzuki A, Oda K, Uchida A, Matsuo S, Fukuda H, Yano H, Muraki I, Zaikokuji R, Kuroda A, Nishio A, Sampei S, Miyazaki N, Hotta Y, Yamada N, Watanabe T, Morishita K, Doi T, Yoshida T, Ushikoshi H, Yoshida S, Maekawa Y, Ogura S.	4. 巻 2019 Nov 19.
2. 論文標題 Neutrophil Elastase Inhibition Ameliorates Endotoxin-Induced Myocardial Injury Accompanying Degradation of Cardiac Capillary Glycocalyx	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Shock	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SHK.0000000000001482	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 -

1. 著者名 Oda K, Okada H, Suzuki A, Tomita H, Kobayashi R, Sumi K, Suzuki K, Takada C, Ishihara T, Suzuki K, Kano S, Kondo K, Iwashita Y, Yano H, Zaikokuji R, Sampei S, Fukuta T et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Factors Enhancing Serum Syndecan-1 Concentrations: A Large-Scale Comprehensive Medical Examination	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 1320 ~ 1320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm8091320	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 -

1. 著者名 Suzuki K, Okada H, Takemura G, Takada C, Kuroda A, Yano H, Zaikokuji R, Morishita K, Tomita H, Oda K, Matsuo S, Uchida A, Fukuta T, Sampei S, Miyazaki N, Kawaguchi T, Watanabe T, Yoshida T, Ushikoshi H, Yoshida S, Maekawa Y, Ogura S.	4. 巻 189
2. 論文標題 Neutrophil Elastase Damages the Pulmonary Endothelial Glycocalyx in Lipopolysaccharide-Induced Experimental Endotoxemia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 1526 ~ 1535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2019.05.002	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12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 楠澤 佳悟、上谷遼、市橋雅大、安田立、北川雄一郎、福田哲也、柴將人、熊田恵介、土井智章、小倉真治
2. 発表標題 デブリードマンの判断に苦慮した高温蒸気に伴った広範囲化学熱傷の1例
3. 学会等名 第46回日本熱傷学会総会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上谷遼、三宅喬人、岡本遥、福田哲也、中野通代、吉田隆浩、牛越仁明、吉田省造、小倉真治
2. 発表標題 産科危機的出血に対するクリオプレシペートの有用性の検討
3. 学会等名 第48回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田法顕、吉田隆浩、名知祥、福田哲也、安田立、北川雄一郎、柿野圭紀、三宅喬人、大岩秀明、館正仁、小倉真治
2. 発表標題 消防本部常駐型ドクターカーの有効性に関する検討
3. 学会等名 第48回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土井智章、柴將人、福田哲也、楠澤佳悟、上谷遼、熊田恵介、小倉真治
2. 発表標題 多数熱傷患者発生時の対応と問題点～日常診療の集約化と分散化について再考する～
3. 学会等名 第48回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三瓶想、岡田英志、鈴木浩大、岡本遥、土井智章、三宅喬人、福田哲也、北川雄一郎、吉田省造、久志本成樹、小倉真治
2. 発表標題 糖尿病モデルマウスのグリコカリックス障害と敗血症性血管炎下における炎症細胞の遊走遅延
3. 学会等名 第48回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田隆浩、福田哲也、三宅喬人、鈴木浩大、山田法顕、名知祥、土井智章、小倉真治
2. 発表標題 岐阜県外傷調査から見てきたもの～外傷評価で過小評価となりやすい部位や合併損傷となりやすい部位の検討～
3. 学会等名 第23回日本臨床救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神田典秀、市橋雅大、福田哲也、三宅喬人、吉田隆浩、小倉真治、山路文範、水野洋佑、豊田泉
2. 発表標題 麻酔科ストレステストで不安性を評価した骨盤輪骨折の治療成績～より低侵襲な内固定方法を目指して～
3. 学会等名 第33回日本外傷学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田 哲也,岡田英志、鈴木浩大、高田ちひろ、岡本遥、山田法顕、土井智章、吉田隆浩、牛越博昭、吉田省造、小倉真治
2. 発表標題 感染症敗血症1 敗血症心筋傷害に対するリコンビナントトロンボモジュリンの治療効果の検討
3. 学会等名 第47回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三宅 喬人,土井智章、神田典秀、市橋雅大、岡本遥、福田哲也、中野通代、吉田隆浩、吉田省造、牛越博昭、小倉真治
2. 発表標題 壊死性筋膜炎における手術治療の検討
3. 学会等名 第47回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大岩 秀明,三宅喬人、柿野圭紀、熊田恵介、吉田隆浩、吉山直政、福田哲也、小倉真治
2. 発表標題 軽微な頸部外傷による咽頭後壁血腫によって気道緊急を来した1例
3. 学会等名 第47回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三瓶 想,岡田英志、鈴木浩大、福田哲也、土井智章、熊田恵介、牛越博昭、吉田省造、久志本成樹、小倉真治
2. 発表標題 糖尿病マウス敗血症性血管炎モデルにおける血管内皮グリコカリックスの障害と炎症への関与
3. 学会等名 第47回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 土井 智章, 山田法顕、熊田恵介、名知祥、長屋聡一郎、中野通代、三宅喬人、吉田隆浩、安田立、北川雄一郎、福田哲也、館正仁、小倉真治
2. 発表標題 岐阜県ドクターヘリが対応した熱傷症例からみた熱傷診療の課題
3. 学会等名 第26回日本航空医療学会総会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------