

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09029

研究課題名（和文）オミクス解析から心停止症候群の病態を解明し新規治療法を開発する

研究課題名（英文）Elucidating the Pathophysiology of Post-Cardiac Arrest Syndrome and Developing Novel Therapies through Omics Analysis

研究代表者

佐々木 淳一（Sasaki, Jinichi）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授

研究者番号：90235250

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）：背景：心停止症候群（PCAS）に対して有効な治療法は存在しない。方法：PCAS動物をECPRで蘇生し、水素（H₂）ガス投与による各種パラメータを評価した。結果：H₂群は生存率、EEG活動を改善させた。脳組織酸素化を改善し、中心静脈圧の上昇を抑制した。また、Syndecan-1の増加を抑制し、IL-10、VEGF、レプチンを増加させた。オミクス解析では、d-グルタミンおよびd-グルタミン酸代謝に有意な変化を同定した。結論：H₂治療はECPRで蘇生させたPCAS動物の死亡率を改善し、脳電気活動を回復させた。オミクス解析で新規治療ターゲットの候補を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昨今増加している体外循環式心肺蘇生（ECPR）に対して、水素ガス（H₂）の投与が生存率と脳機能の回復を顕著に改善することを示した。さらに、オミクス解析による代謝物分析において、ECPR後2時間で両群間にd-グルタミンおよびd-グルタミン酸代謝における有意な変化を同定した。これにより、患者の予後改善、医療コスト削減、新規治療法の開発に貢献する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Background: There are no effective treatments for post-cardiac arrest syndrome (PCAS).

Methods: PCAS animals were resuscitated with extracorporeal cardiopulmonary resuscitation (ECPR), and various parameters were evaluated with hydrogen (H₂) gas administration. Results: The H₂ group showed improved survival rates and EEG activity. H₂ improved brain tissue oxygenation and suppressed the increase in central venous pressure. It also inhibited the increase of Syndecan-1 and increased levels of IL-10, VEGF, and leptin. Omics analysis identified significant changes in d-glutamine and d-glutamic acid metabolism. Conclusion: H₂ treatment improved the survival rate and restored brain electrical activity in PCAS animals resuscitated with ECPR. Omics analysis identified potential new therapeutic targets.

研究分野：救急医学

キーワード：心停止症候群

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦における病院外で心肺機能停止状態に陥る患者は年間 13 万人である。このうち目撃されている 2 万人のうち 1 ヶ月生存率は 8%、社会復帰率は 4%にすぎない。この心停止後の諸臓器障害は心停止後症候群(PCAS)と呼ばれ、特異的治療は体温管理療法しか存在せず、効果も限定的である。そのため、PCAS の予後を改善することは喫緊の課題である。

2. 研究の目的

本研究では、特別な医療資源を用いずに、PCAS 患者の予後を改善する創薬を目指して研究を実施する。具体的には、当教室で有効性を確認した PCAS に対する水素ガス吸入療法が標的臓器の代謝経路にもたらす変化および、それに関与する代謝産物を網羅的に検討するため、トランスオミクス解析を行う。それにより、ターゲットとなる代謝経路を同定できれば、新規治療薬の開発に繋がることが期待される。

3. 研究の方法

SD ラット(400-500g)を用いて 20 分間の窒息による心肺停止を誘発し、対外式心肺蘇生(ECPR)で蘇生した。ECPR 開始時に機械的換気を開始し、プラセボまたは水素ガス治療群にランダムに割り当てた。ECMO 膜および機械的換気を通じて酸素とともに試験ガスが投与された。生存時間、脳波(EEG)、脳機能、脳組織酸素化を測定し、Syndecan-1(内皮損傷のマーカー)、サイトカイン、ケモカイン、GC-MS を用いて血漿代謝物のレベルの変化を評価した。サンプルはメトキシメーション/シリル化処理後、GC-MS で分析した。化合物は保持時間と質量スペクトルを Fiehn ライブラリと比較して同定し、60%以上の類似度で名前を付け、60%未満は未知の代謝物としてリストアップした。GC-MS で 189 種類の代謝物が検出されましたが、変動係数(CV)値が 30%を超える 76 種類は除外した。残りの 113 種類の代謝物から、データが 50%以上欠損しているものは削除し、検出限界値で置換した。最終的に 53 種類の代謝物を使用し、PCA と PLS-DA を用いてデータを解析した。PLS-DA で VIP>1 の代謝物を選択し、VIP 選択に基づいて代謝物セット濃縮解析(MSEA)を行い、FDR<0.05 のものを異常とした。すべての解析は MetaboAnalyst(v5.0)で行った。

4. 研究成果

(1) H₂ による ECPR により心停止後の生存率を改善した

ベースラインの変数(体重、MAP、心拍数、CVP、体温、動脈 dP/dt(max)、dP/dt(min)、EtCO₂)は各群で同等であった。ECPR 開始後 10 分の CVP はプラセボ群と H₂ 群で有意差を認めた(CVP, プラセボ vs. H₂: 5.7 ± 0.8 vs. 3.1 ± 0.8 mmHg, P = 0.036)。心停止/ECPR 後 4 時間の生存率は H₂ 群で 77.8%(7/9)、プラセボ群で 22.2%(2/9)であった。Kaplan-Meier 解析では、H₂ が心停止後の生存時間を大幅に改善させた(対プラセボで log-rank P = 0.025)。ECPR による心拍再開の後、プラセボを投与した動物(3 頭中 0 頭)は、最初の 4 時間、脳波が連続的に回復しなかった。H₂ を投与した動物(3 匹中 3 匹)は、ROSC 後 47 ± 9.9 時間で連続脳波を回復した。このことは、H₂ が心停止後の脳の電氣的回復に有益であることを示唆している。これらの観察から、ECPR とともに H₂ を投与することで、心停止および ECPR 後の生存転帰と脳予後の改善に寄与することが示唆された。

(2) H2 は ECPR 中の脳酸素化を改善した

H2 が ECPR 後の脳の回復に及ぼす影響を調べるため、ECPR 中に PtO₂ を用いて組織の酸素化を測定した。

20 分間の窒息心停止後、すべての動物の脳内 PtO₂ は 28.6% ± 6.6% まで著しく低下した。

プラセボ群では、100% O₂ による ECPR により、PtO₂ レベルはベースライン付近まで回復した。

30% O₂。しかし、ECPR 開始後 50 分間の PtO₂ は、プラセボ群ではベースラインレベルと変わらなかった。

プラセボ群ではベースラインと変わらなかった。対照的に、H2 投与群の PtO₂ は、ECPR 開始後 20 ~ 40 分で、ベースラインの 200% 以上に顕著に上昇した。

ECPR 開始後 20 ~ 40 分でベースラインの 200% 以上まで増加した。ECPR 開始 20 分後の PtO₂ 回復率は、プラセボ群よりも H2 群で有意に高かった(ベースラインの 291% 対 164%、P = 0.009)。

(3) H2 は心停止および ECPR 後早期に観察された CVP 上昇を抑制した

H2 が ECPR 後の脳の回復に及ぼす影響を調べるため、ECPR 中に PtO₂ を用いて組織の酸素化を測定した。

ECPR 開始 20 分後の PtO₂ 回復率は、プラセボ群よりも H2 群で有意に高かった(ベースラインの 291% 対 164%、P = 0.009)。

両群とも、MAP は ROSC 後約 50 分で上昇し、HR は ROSC 後約 1 時間で低下した。心停止後の最初の 75 分間は、体温、MAP、HR に群間差はなかった。H2 群は、ベースラインと比較して、ROSC 後早期に dP/dt(max) が著しく高く、dP/dt(min) が低かった。注目すべきは、CVP に関して有意差があったことである。プラセボ群では、CVP は心停止/ECPR 後に徐々に上昇した。しかし、H2 群では、CVP は最初の 75 分間は維持され、H2 投与動物はプラセボ群よりも CVP が著しく低かった。

H2 投与群では CVP は最初の 75 分間維持され、心停止後 75 分ではプラセボ群よりも低い CVP を示した(P = 0.038)。これらの観察結果は、ECPR と H2 が心筋収縮力を改善し、その結果、ECPR 後早期に中心静脈うっ血を減弱させることを示唆している。

(4) H2 は血漿中の内皮糖鎖の過剰な脱落を抑制し、心停止/ECPR 後の血漿 IL-10、VEGF、レプチンレベルを上昇させた。

ベースラインと心停止後 120 分の血漿中シンデカン-1 濃度を測定した。心停止と ECPR により、120 分後の血漿中シンデカン-1 レベルはかなり上昇した。H2 と ECPR の併用は血漿中シンデカン-1 濃度の上昇を抑制した。このことは、H2 による治療成績の保護効果は、内皮糖鎖の血中への遊離に対する抑制効果に関連していることを示している。また、心拍再開後 2 時間における血漿中のサイトカインとケモカインのレベルも測定した。心停止と ECPR は IL-10、VEGF、レプチン、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、フラクタルカイン、IL-5、IL-18、IP-10、IL-4、エオタキシン、MIP-1 α 、IL-17 α 、IL-12、RANTES、G-CSF、LIX、MCP-1 の血漿レベルを著しく上昇させた。しかし、この時点での H2 ガス投与は、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、フラクタルカイン、IL-5、IL-18、IP-10、IL-4、エオタキシン、MIP-1 α 、IL-17 α 、IL-12、RANTES、G-CSF、LIX、および MCP-1 の血漿レベルには影響を与えなかった。一方で、IL-10、VEGF、およびレプチンの血漿レベルは H2 によって増加した。

(5) 心停止および ECPR 後の血漿代謝物の変化

バイアスのかかっていない PCA 分析では、心停止前後のサンプルの代謝物が明確なクラスターを示

し、さらなる分析を実施するのに十分なサンプルサイズであることを確認した。PLS-DAでも、代謝物が明確にクラスタリングされていることが確認した。次に、心停止前群とプラセボ群を比較することで、心停止後のメタボローム反応を評価した。PLS-DAおよびボルケーノプロット解析に基づき、心停止前群と比較してプラセボ群で有意に変化した27代謝物が同定された。次に、H2が心停止/ECPR後の代謝物に及ぼす影響を調べるため、プラセボ群とH2投与群との間で心停止後のメタボローム反応を評価した。H2群では、プラセボ群と比較して、6つの代謝物(ミオイノシトール、L-ヒスチジン、ラフィノース、マンニトール、L-グルタミン酸、N-アセチルノイラミン酸)が有意に変化した。プラセボ群とH2群間のPLS-DA分析に基づき、MSEAを実施した。MSEAによりd-グルタミンおよびd-グルタミン酸代謝が同定された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	本間 康一郎 (Homma Koichiro) (10383762)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・准教授 (32612)	

	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
研究協力者	林田 敬 (Hayashida Kei) (20445258)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師(非常勤) (32612)	

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