

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24592302

研究課題名(和文) ストレス惹起インスリン抵抗性に伴う血管内皮障害への硫化水素による治療戦略

研究課題名(英文) New treatment strategy of H₂S for vascular endothelial damage due to stress-induced insulin resistance

研究代表者

杉田 道子 (Sugita, Michiko)

熊本大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70305019

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ストレス惹起インスリン抵抗性に伴う血管内皮障害への硫化水素(H₂S)治療の可能性を評価した。血管内皮障害はストレス惹起インスリン抵抗性による重要臓器障害の主要因である。硫化水素は血管内皮に多く発現し多彩な生理活性を有し、動脈硬化、糖尿病、敗血症との関連が注目される。重症疾患モデルとして熱傷ラットを用いた。雄性SDラットに熱傷を受傷させ、その後硫化水素産生の基質であるLシステインを経口投与させた。受傷から3日後下行大動脈を採取し実験に供した。硫化水素は熱傷により惹起されたインスリン抵抗性を改善した。また酸化ストレスを抑制し、血管弛緩反応を改善する傾向にあった。治療薬としての可能性が期待できる。

研究成果の概要(英文)：H₂S was evaluated for therapeutic potential on stress-induced insulin resistance and vascular endothelial damage. Vascular endothelial damage is a major cause of organ failure in stress-induced insulin resistance. Whereas hydrogen sulfide often expressed in vascular endothelium, have various physiological activities, and attracted attention to arteriosclerosis, diabetes, and sepsis. Burn rat was used as a model for critical disease. Burn injury was prepared to male SD rats, and L-cysteine a substrate of hydrogen sulfide production was administered by oral. The descending aorta after three days from the injury was sampled and subjected to the experiment. Hydrogen sulfide improved insulin resistance, further to suppress oxidative stress, it tended to improve vascular relaxation response. H₂S can be expected as a potential therapeutic agent.

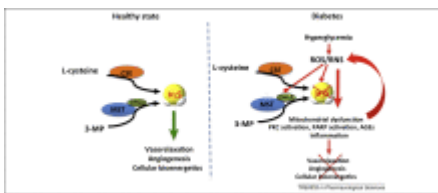
研究分野：麻酔科学

キーワード：硫化水素 ストレス インスリン抵抗性 血管内皮

1. 研究開始当初の背景

敗血症、熱傷などの critical illness の状態においてはインスリン抵抗性の亢進、hyperglycemia により、易感染性や創傷治癒遅延をはじめ心筋障害、血管障害、肝腎障害など主要臓器にさまざまな障害をもたらす。血管内皮障害はインスリン抵抗性による臓器不全の主要因とされており、早期の病態解明が待たれるところである。血管内皮機能は健常者においては NO やエンドセリン-1 (ET-1) に司られているが、インスリン抵抗性の状態では酸化 LDL や Nitrosative stress が血管内皮障害を増悪させている可能性がある (Clavreul N et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 26:2454-61, 2006)。

硫化水素 (H_2S) は第 3 のガスメディエーターとして NO や CO とならんで情報伝達ガスとして近年注目されている。 H_2S は内皮由来血管弛緩物質、抗炎症、抗サイトカイン作用を有し、ストレス (熱傷、敗血症) モデル動物におけるアウトカムを改善したとする報告があり、糖尿病、インスリン抵抗性における関与が明らかになるにつれ治療への可能性は大いに期待される。しかしながらインスリン抵抗性に伴う血管内皮障害との関連の研究は未だない。



2. 研究の目的

これまで我々はストレス惹起インスリン抵抗性に伴う血管内皮障害の病態およびインスリンシグナル、酸化ストレスとの関連について検討してきた。血管内皮細胞に多く発現する硫化水素が有用な治療法となりえるのではないかと考え、治療へとつながる可能性、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

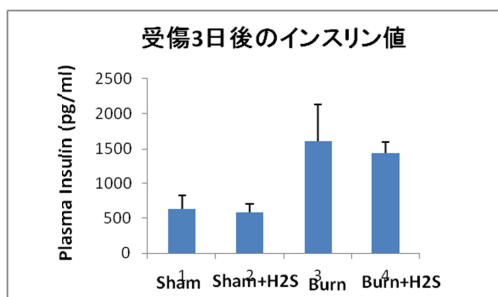
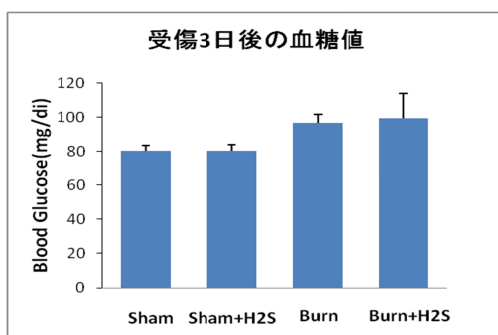
3. 研究の方法

重症患者モデル動物として熱傷ラットを用

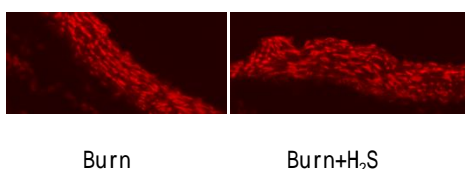
いた。雄性 SD ラットをペントバルビタール麻酔下に 3 度熱傷を体表面積 55% に行い Sham 群では 37 度の温水につけた。熱傷受傷直後より H_2S 産生の基質である L-システイン 1 mg/kg BW を経口摂取させ、対照には生理食塩水を投与し、4 群 (Sham+vehicle、Sham+ H_2S 、Burn+vehicle、Burn+ H_2S) を作成した。熱傷後、インスリン抵抗性は術後 3 日目に最も増悪するという我々の知見があるため、3 日目に屠殺し、上下行大動脈を採取、等尺性張力測定に用いるため Krebs 液に保存、また一部は摘出後速やかに OCT コンパウンド内で液体窒素にて冷却し凍結切片を作成し Dihydroethidium によりスーパーオキシド産生を観察した。摘出した下行大動脈を、直ちに Krebs-Ringer 液に保存し、実体顕微鏡下に付着組織を剥離除去、リング標本を作成した。オーガンバス中にリング標本を吊るし、基礎張力をかけた後、フェニレフリン (PE: α_1 -receptor selective agonist) の用量依存反応曲線、その後アセチルコリン (ACh: endothelium-derived relaxing factor releaser) による内皮依存性血管弛緩反应用量依存曲線を記録した。実験終了時にパパベリン (PDE inhibitor: 10^{-4} M) の投与により血管標本を完全弛緩させ、最高収縮力からの差を 100% として弛緩張力を算出した。

4. 研究成果

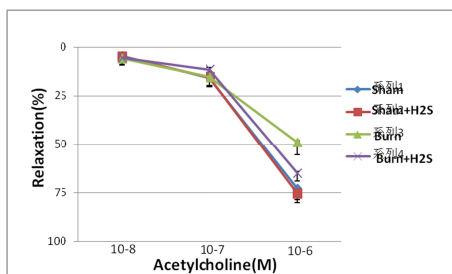
(1) 受傷 3 日後、Burn 群では血糖上昇がみられ、加えてインスリン値も上昇した。ストレスに伴うインスリン抵抗性の存在が確認された。 H_2S 投与群で血糖値に変化はなかったがインスリン値は Burn 群に比べ、ややインスリン抵抗性の改善みられたものの有意差はなかった。死亡した個体はなかった。



(2)受傷後 3 日の大動脈凍結切片におけるスーパーオキシド産生を Dihydroethidium 処理で観察した。スーパーオキシド産生については Burn 群で増加するが H₂S はその産生を抑制した。H₂S の投与はストレスにより惹起された血管内皮細胞の酸化ストレスを抑制することが示唆された。



(3) 血管弛緩収縮反応については Burn 群において血管弛緩反応は低下し、血管内皮細胞障害の存在が示唆された。これに対し H₂S 投与にて血管弛緩反応の改善傾向がみられたが、有意差はなかった。



これらの結果から、硫化水素は熱傷により惹起されたインスリン抵抗性を改善した。また酸化ストレスを抑制し、血管弛緩反応を改善する傾向にあった。治療薬としての

可能性が期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

1. Fukunaga C., Sugita M.*, Yamamoto T. Validity of ultrasonographic measurement of gastric volume in fasted pediatric without sedation. J. Anesth (in press) (査読あり)

2. Nonaka T., Hara M., Miyamoto C., Sugita M., Yamamoto T.* Comparison of the analgesic effect of intravenous acetaminophen with that of flurbiprofen axetil on post-breast surgery pain: a randomized controlled trial.

J Anesth. 30, 405-9(2016) (査読あり)

3. Sugita M., Sugita H., Kim M., Mao J., Yasuda Y., Habiro M., Shinozaki S., Yasuhara S., Shimizu N., Martyn J.A., Kaneki M.*

Inducible nitric oxide synthase deficiency ameliorates skeletal muscle insulin resistance but does not alter unexpected lower blood glucose levels after burn injury in C57BL/6 mice. Metabolism 61,127-36 (2012) (査読あり)

4. Sugita M.*, Harada H. & Yamamoto T. Perioperative management of a patient with thyroid hormone resistance who underwent total thyroidectomy for thyroid cancer.

J Anesth. 26,595-7 (査読あり) (2012)

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

6．研究組織

(1)研究代表者

杉田 道子（SUGITA Michiko）

熊本大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70305019