HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Hydrogen attenuates endothelial glycocalyx damage associated with partial cardiopulmonary bypass in rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2024-03-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 岩田, 紘樹 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/0002000126

博士（医学）岩田　紘樹
論文題目
Hydrogen attenuates endothelial glycocalyx damage associated with partial cardiopulmonary bypass in rats
（水素はラット部分体外循環モデルにおいて血管内皮グリコカリックスの傷害を軽減する）

論文の内容の要旨
［はじめに］
血管内皮グリコカリックス（Endothelial Glycocalyx : EG）は血管内皮細胞の表面に存在し、血管保護や炎症反応の抑制などの働きを持つ。人工心肺（Cardiopulmonary Bypass : CPB）では血液と体外回路の接触により炎症が生じ、EG が傷害されることが知られている。水素は抗酸化・抗炎症・抗アポトーシス作用を示し、治療効果を持つことが報告されている。今回、水素が CPB に伴う EG の傷害を軽減すると仮説を立て、ラット CPB モデルを作成して検証した。
［材料ならびに方法］
Sprague-Dawley ラット（オス、12～13 週齢、体重約 380～400g）をシャム群、対照群、2%水素群、4%水素群の 4 群に分け、各群 7 匹とした。90 分間の CPB を行い、離脱後 120 分間の経過観察を行った。CPB の送脱血量は 100 ml/kg/min とした。水素群は水素を CPB 開始から自己肺と人工肺から投与し、CPB 終了後も自己肺から 60 分間投与した。シャム群は全てのカニュレーションとヘパリン投与のみ行い、CPB は行わなかった。経過観察終了後、採血と左肺摘出を行った後に経心臓的に灌流固定を行った。灌流終了後、心臓と右肺と脳を摘出し、電子顕微鏡用の超薄切片を作成した。主要評価項目を血清中の syndecan-1 の濃度とした。これは EG の構成成分であり、傷害を受けると血中に放出され、EG の傷害の程度を示す。副次評価項目として、電子顕微鏡像を用いた心臓と肺と脳の EG の平均の厚さ、血清中の炎症性サイトカインである interleukin-1β（IL-1β）と tumor necrosis factor-α（TNFα）と酸化ストレスマーカーの指標である malondialdehyde（MDA）の濃度、肺組織中の炎症性サイトカイン（IL-1β と TNFα）の濃度と myeloperoxidase（MPO）染色を用いた肺組織中の好中球の出現率とした。この研究は、本学動物実験委員会の承認を受け実施した（承認番号 20-029、23-017）。
［結果］
血清 syndecan-1 濃度は、4%水素群（5.7±4.4 pg/ml）は対照群（19.5±6.6 pg/ml）と 2%水素群（19.8±5.0 pg/ml）に比べ有意に低く（それぞれ $P < 0.001$）、シャム群（5.4±4.3 pg/ml）に対して有意差はなかった（$P = 0.999$）。
心臓の EG は、4%水素群では対照群に対して有意に厚く（$P = 0.016$）、2%水素

群と対照群の間に有意差はなかった（P = 0.843）。肺の EG は、4%水素群は対照群に対して有意に厚く（P = 0.025）、2%水素群と対照群の間に有意差はなかった（P = 0.577）。脳の EG の厚さは 4 群間で有意差はなかった（P = 0.884）。

血清中の IL-1β と TNFα の濃度は、ともに 4%水素群で対照群と 2%水素群に対して有意に低値であり（IL-1β：ともに P = 0.005、TNFα：ともに P = 0.010）、対照群と 2%水素群の間に有意差はなかった（それぞれ P = 0.697、P = 0.869）。MDA の濃度は、4%水素群で対照群と 2%水素群に対して有意に低値であり（ともに P = 0.011）、対照群と 2%水素群の間に有意差はなかった（P = 0.577）。

肺組織中の IL-1β と TNFα の濃度は、ともに 4%水素群では対照群と 2%水素群に対して有意に低値であり（IL-1β：それぞれ P = 0.017、P = 0.011、TNFα：それぞれ P < 0.001、P = 0.011）、対照群と 2%水素群の間に有意差はなかった（それぞれ P = 0.918、P = 0.075）。肺組織における MPO 陽性細胞の割合は、4%水素群は対照群と 2%水素群とシャム群に対して有意に低値であり（それぞれ P = 0.017、P = 0.011、P = 0.017）、対照群と 2%水素群の間に有意差はなかった（P = 1.000）。

［考察］

4%水素は CPB による EG の傷害を軽減し、抗炎症及び抗酸化作用を示すことが明らかとなった。EG は IL-1β と TNFα、及び活性酸素種によって傷害されることが知られている。4%水素が EG の保護作用を示したのは、抗炎症及び抗酸化作用によって EG の傷害因子の発現を抑制したことによると考えられた。そして、4%水素群は肺組織の炎症も軽減されており、肺の EG 保護が関係した可能性が考えられた。

2%水素群は対照群に対して血清及び肺組織中の炎症性サイトカインと、血清中の酸化ストレスマーカーが低下傾向を示したが有意差はなかった。水素を経気管的に投与した場合、抗酸化・抗炎症作用は濃度依存性ではなく、2%で最も効果を示すことが報告されている（Nat Med. 2007;13: 688–694.）。これは 2%を投与した時に、治療効果が最大となる血中濃度が得られることを示す。しかし、今回の実験では 2%よりも 4%で有意な治療効果が得られた。この理由として部分体外循環が関係している可能性を考えた。本実験では CPB 中の呼吸数が通常の 1/3 に低下しており、肺からの水素の取り込みが既存の報告に比べて低下したと考えられる。加えて、人工肺を介して水素を血液に投与した場合、水素の治療効果が認められなかったという報告があり、人工肺を介した水素の血液への取り込みは効率が悪い可能性が考えられた。以上により、本実験モデルは同じ投与濃度でも水素を経気管的に投与した既存の報告に比べて、実際の水素の血中濃度が低かった可能性があり、4%を用いた場合に有効な治療効果が得られる血中濃度に達したと考えられた。

また、脳の EG は対照群でもシャム群と同程度の厚さを保っており、CPB による炎症の影響を受けにくい性質を持つ可能性が示唆された。この理由として、

脳の EG は血液脳関門の構成成分であり、脳の血管内皮細胞の負の電荷が他の臓器の血管内皮細胞に比べて大きいことなどが考えられた。

［結論］

部分体外循環において、4%水素を自己肺及び人工肺から投与することで、CPB に伴う EG の傷害が軽減されることが示された。水素は CPB による炎症と酸化ストレスを抑制することで、EG の新しい保護方法になりうる。