

岐阜薬科大学 博士 (薬学) 学位論文

血管内皮障害に着目したシンデカン-1による
救急領域の重症化予測に関する研究

**Prediction of severity by syndecan-1 focusing on
vascular endothelial disorder in critically ill patients**

鈴木 景子

2022年

略語一覽

ABPC/SBT	Ampicillin/Sulbactam
ACoTS	Acute coagulopathy of trauma shock
AIS	Abbreviated injury scale
AKI	Acute kidney injury
ALB	Albumin
ALP	Alkaline phosphatase
ALT	Alanine aminotransferase
APRV	Airway pressure release ventilation
APTT	Activated partial thromboplastin time
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
AST	Aspartate aminotransferase
AT III	Antithrombin III
BE	Base
BUN	Blood urea nitrogen
ChE	Cholinesterase
CI	Confidence interval
CK	Creatine kinase
CKD	Chronic kidney disease
COVID-19	Coronavirus disease 2019
CPAP	Continuous positive airway pressure
CRE	Creatinine
CRP	C-reactive protein
CT	Computed tomography
DAMPs	Damage-associated molecular patterns
DEX	Dexamethasone
DIC	Disseminated intravascular coagulation
DM	Diabetes mellitus
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ER	Emergency room
FDP	Fibrin degradation product
FDR	False discovery rate
F _I O ₂	Fraction of inspired oxygen
GCX	Glycocalyx
HA	Hyaluronic acid
HCO ₃ ⁻	Bicarbonate ion
HFNC	High-flow nasal cannula

HGB	Hemoglobin
HMGB1	High-mobility group box 1
HR	Hazard ratio
HS	Heparin sodium
ICU	Intensive care unit
IL	Interleukin
IQR	Interquartile range
LPS	Lipopolysaccharide
NAF	Nafamostat mesylate
NC	Nasal cannula
PaCO ₂	Partial pressure of carbon dioxide
PaO ₂	Partial pressure of oxygen
PaO ₂ /FiO ₂	Partial pressure of oxygen/Fraction of inspired oxygen
PEEP	Positive end-expiratory pressure
PICS	Post intensive care syndrome
PIPC/TAZ	Piperacillin/Tazobactam
PLT	Platelet
Ps	Probability of survival
PTD	Preventable trauma death
PT-INR	Prothrombin time-international normalized ratio
RDV	Remdesivir
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction
RTS	Revised trauma score
SARS-CoV-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2
SDC1	Syndecan-1
SIMV	Synchronized intermittent mandatory ventilation
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
SOFA	Sequential organ failure assessment
SpO ₂	Saturation of percutaneous oxygen
sTM	Soluble thrombomodulin
T-Bil	Total bilirubin
TEIC	Teicoplanin
TG	Triglyceride
TP	Total protein
TRISS	Trauma and injury severity score
UCL	Upper confidence limit
WBC	White blood cell

目次

序論	1
第1章 重症患者における臓器障害に対するバイオマーカーとしてのシンデカン-1の有用性の検討	
第1節 緒言	8
第2節 方法	
2.1. 対象患者	10
2.2. 研究デザイン	10
2.3. 統計解析	11
2.4. 倫理的配慮	12
第3節 結果	
3.1. 対象患者および患者背景	13
3.2. 血清 SDC1 濃度と翌日の各種検査値との関連	14
3.3. 血清 SDC1 濃度による経時的なパラメータ値の予測	16
3.4. 重症患者における血清 SDC1 濃度と死亡率の関係	21
第4節 考察	22
第2章 重症外傷患者に対する重症度マーカーとしてのシンデカン-1の有用性の検討	
第1節 緒言	27
第2節 方法	
2.1. 対象患者	30
2.2. データの収集方法	30

2.3. 検討に用いた各種スコアの算出方法	30
2.4. 統計解析	31
2.5. 倫理的配慮	32
第3節 結果	
3.1. 対象患者および患者背景	33
3.2. ER 到着時の血清 SDC1 濃度と ISS の関係	35
3.3. 外傷患者における ER 到着時の血清 SDC1 濃度と Ps との関係	37
第4節 考察	39
第3章 重症 COVID-19 症例における病態変化と血清シンデカン-1 濃度との関 連に関する検討	
第1節 緒言	43
第2節 倫理的配慮	44
第3節 患者背景および症例経過	44
第4節 考察	49
総括	51
謝辞	53
引用文献	54

序論

救急ならびに集中治療領域における重症患者は全身性かつ複合的な病態を呈し、また、治療中に感染症や臓器障害などの合併症により急激な病態変化を辿ることがある^(1,2)。そのため、疾患の重症度や臓器障害等の進展を迅速かつ正確に評価することは、早期に適切な治療法の選択へとつながるため、救命率向上に寄与できる。実際に、敗血症では抗菌薬投与の遅れと死亡率が関連しており^(3,4)、救急外来到着から抗菌薬投与開始までの時間が1時間遅れるごとに死亡率が10%増加し、抗菌薬投与開始時間が救急外来到着から3時間以内に比べ、3時間以上で死亡率が有意に高いことが報告されている(図1)⁽⁴⁾。

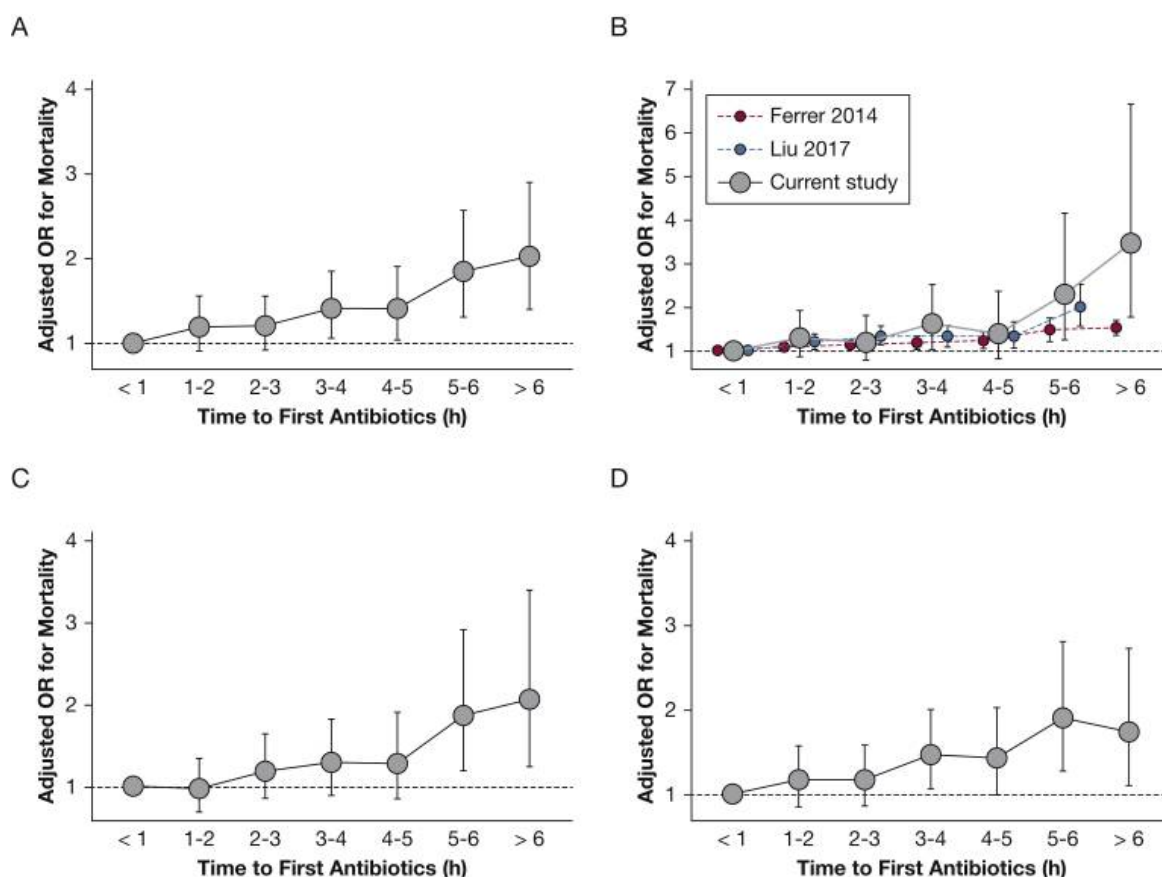


図1 救急外来到着から抗菌薬投与開始までの時間と1年死亡率(A)、院内死亡率(B)、30日死亡率(C)、90日死亡率(D)との関連 (文献⁽⁴⁾より引用)

一方、本領域の患者は、原疾患や外科的処置・薬物治療に伴う医療行為により強い侵襲下にある。身体に組織損傷や感染などの侵襲が加わると、炎症性サイトカインやプロテアーゼなどが産生される⁽⁵⁾。通常、これらのケミカルメディエーターは損傷した組織の修復や免疫応答を含む生体防御として働くが、過大な侵襲は激しい炎症反応を誘導し、血管透過性を亢進させる^(6,7)。そのため、重症患者では血流分布の異常や血管透過性の亢進等により水溶性薬物の分布容積が増大し、薬物血中濃度が低下することが知られている(表1)^(8,9)。

表1 敗血症患者における抗菌薬の水溶性/脂溶性による薬物動態パラメータの変化 (文献⁽⁹⁾を改変)

薬物動態	水溶性抗菌薬	脂溶性抗菌薬
通常	<ul style="list-style-type: none"> ・分布容積：小 ・クリアランス： 腎機能依存 ・細胞内移行性：低 	<ul style="list-style-type: none"> ・分布容積：大 ・クリアランス： 肝機能依存 ・細胞内移行性：高
重症患者	<ul style="list-style-type: none"> ・分布容積：増加 ・クリアランス： 腎機能と蛋白結合に依存し増減 	<ul style="list-style-type: none"> ・分布容積：大きな変化なし ・クリアランス： 肝機能に依存し増減
例(抗菌薬)	<ul style="list-style-type: none"> ・β-ラクタム ・アミノグリコシド ・グリコペプチド 	<ul style="list-style-type: none"> ・フルオロキノロン ・マクロライド

著者らは、集中治療室(Intensive care unit: ICU)にてグリコペプチド系抗菌薬であるテイコプラニン(Teicoplanin: TEIC)が投与された患者の約30%が腎機能と体重に基づく初期投与設計の予測値よりも実測値(初回血中トラフ濃度)が低下し、また、重症度マーカーであるSOFA(Sequential organ failure assessment)スコアが高値や低アルブミン血症では薬物血中濃度が上昇しない要因であること

を報告した⁽¹⁰⁾。同様に、SOFA スコアが高値では、 β -ラクタム系抗菌薬による緑膿菌感染症の治療不奏功となる要因でもあることも明らかにしており⁽¹¹⁾、重症患者では血管透過性が亢進するため抗菌薬血中濃度が上昇せず、有効性が低下すると考えられた。

この血管透過性を規定する因子として、血管内皮細胞上に存在する糖タンパク質や多糖類で構成されるグリコカリックス (Glycocalyx: GCX) があげられる⁽¹²⁾。GCX は健全な血管内皮細胞の内膜面を覆う層状の構造物である。血管内皮 GCX は糖たんぱく質で構成された複合体であり、血管内皮細胞を貫通するコア蛋白 (シンデカンファミリー) のほか、グリコサミノグリカン (ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸など) やヒアルロン酸などの糖鎖から構成される (図 2)⁽¹³⁾。

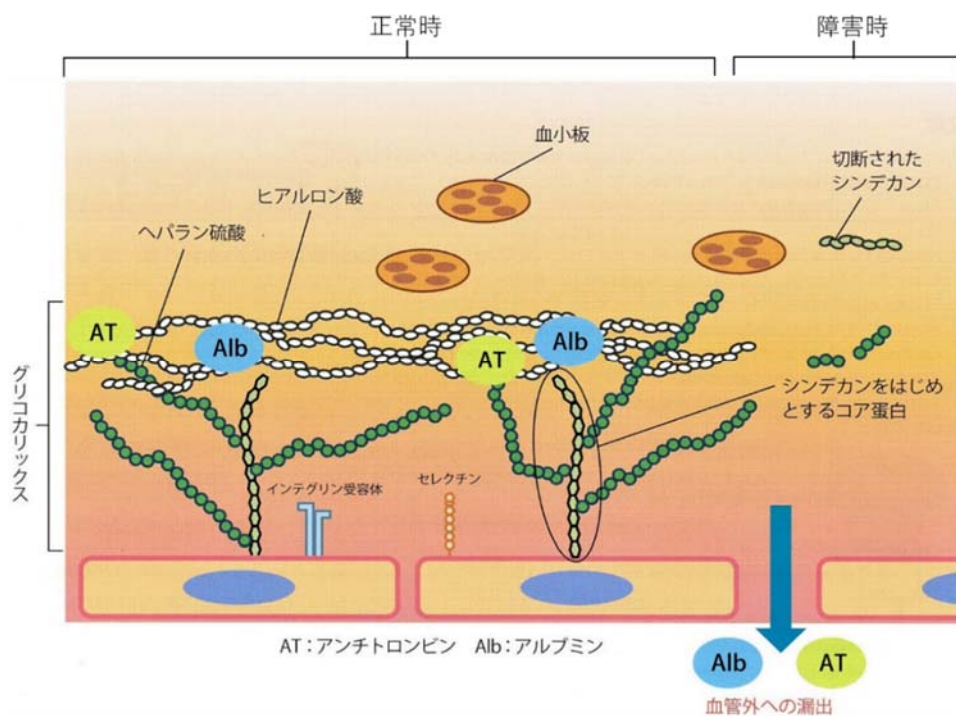


図 2 血管内皮グリコカリックスの模式図 (文献⁽¹⁴⁾より改変)

ALB: Albumin、AT: Antithrombin

血管内皮 GCX の機能は、血管透過性の調節をはじめとして、物理的な血管内皮保護や微小血管のトーンスの調節、白血球の接着や遊走の調節、血管内血栓の抑制など多岐にわたる^(12, 13)。血管が正常な状態であれば、血管内皮 GCX が血管表面を覆っているため、血管透過性は正常に保たれ、適量の水分や栄養分が組織へ移動し静脈やリンパ管へ回収され、組織が浮腫を起こすことはない。しかし、感染や外傷などのストレスにより組織で炎症が惹起されると、炎症性サイトカインやプロテアーゼにより血管内皮 GCX が障害される(図 3)⁽¹⁵⁾。血管内皮 GCX の障害により血管の密封性が破綻して血管透過性が亢進すると、血管から液体成分の漏出がおこる。その結果、血管内容量は減少して組織への血液環流の減少が生じ、最終的に臓器障害をきたす⁽¹⁶⁻¹⁸⁾。Okada らは、硝酸ランタンによりマウスの心臓、腎臓、肝臓の GCX を描出し、走査型電子顕微鏡像により確認した(図 3)⁽¹⁷⁾。健常マウスの心臓毛細血管の血管内皮 GCX 像は、ブロッコリー状の GCX が血管内腔を覆い、血管内皮細胞の内腔表面を確認することができない(図 3 A1、A2)。一方、リポ多糖 (Lipopolysaccharide: LPS) により血管炎を誘発したマウスでは心筋細胞の壊死とともに、炎症により惹起された浮腫様変化による毛細血管壁の肥厚と GCX の脱落が観察された(図 3 A3、A4)。さらに、腎臓や肝臓においても同様の所見を認めた(図 3 B、C)。

このように臓器障害に先行して血管透過性亢進が生じ、その原因として血管内皮 GCX が障害されることから、血管内皮 GCX の障害を定量することで、それに続発する血管透過性亢進、臓器障害、さらには様々な疾患の重症化等を迅速に予測できる可能性が考えられた。

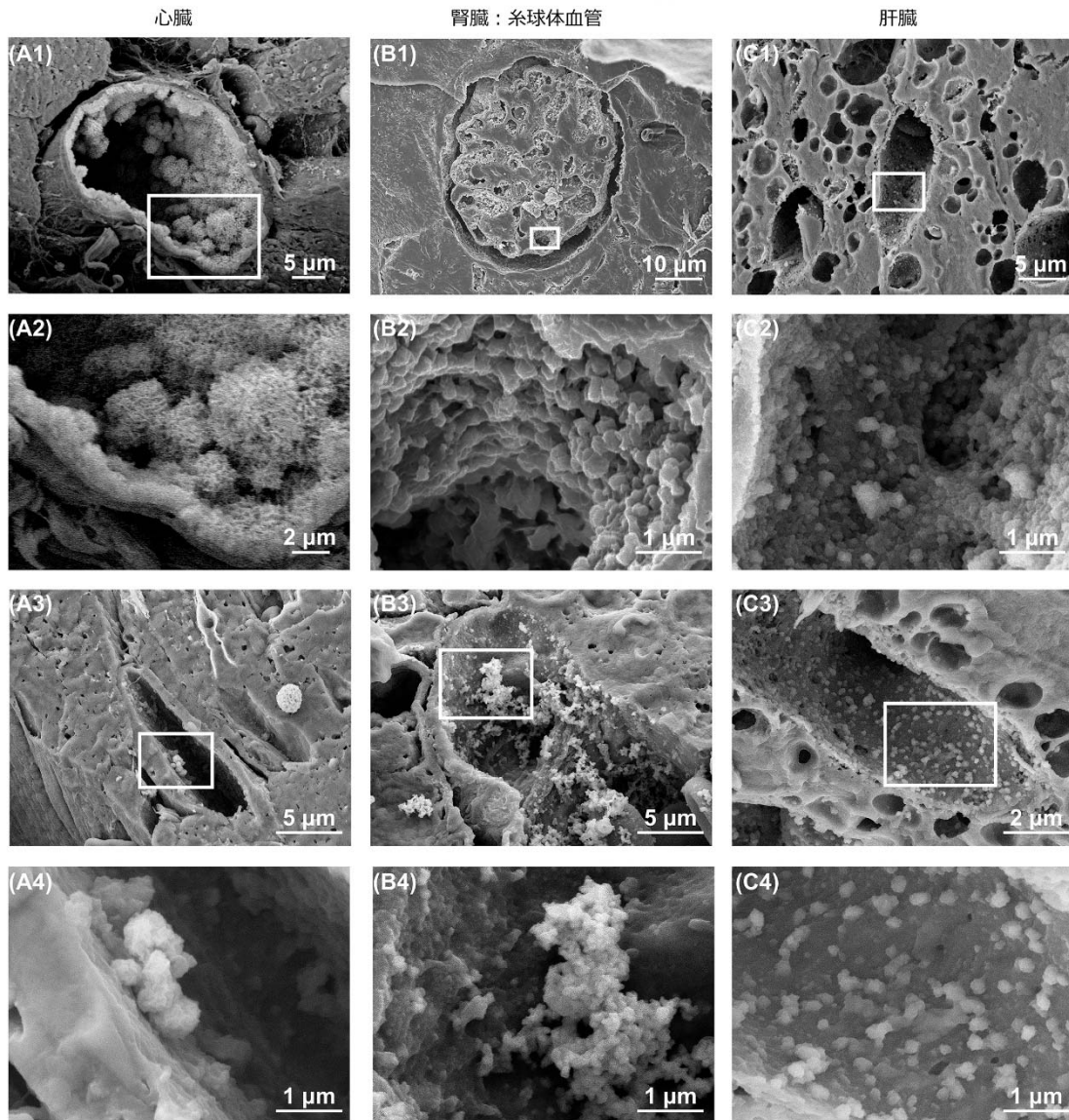


図 3 LPS により血管炎を誘発したマウスにおける血管内皮 GCX の走査型電子顕微鏡像 (文献⁽¹⁷⁾より引用・改変)

硝酸ランタンにより GCX を描出したマウスの心臓、腎臓、肝臓の走査型電子顕微鏡像。
 A1: 健常マウスの心臓毛細血管の血管内皮 GCX 像。A2: A1 の四角部分の拡大像。A3: LPS を腹腔内投与したマウスの血管内皮 GCX 像。A4: A3 の四角部分の拡大像。
 B1: 健常マウスの糸球体毛細血管内皮 GCX 像。B2: B1 の四角部分の拡大像。B3: LPS を腹腔内投与したマウスの腎糸球体有窓型毛細血管の GCX 像。B4: B3 の四角部分の拡大像。
 C1: 健常マウスの肝臓洞様血管の内皮の GCX 像。C2: C1 の四角部分の拡大像。C3: LPS を腹腔内投与したマウスの肝臓洞様型毛細血管の GCX 像。C4: C3 の四角部分の拡大像。
 LPS: Lipopolysaccharide, GCX: Glycocalyx

GCX の構成成分であるシンデカン (Syndecan: SDC) は、細胞膜貫通型のヘパラン硫酸プロテオグリカンであり、4つのサブタイプ (SDC1, 2, 3, 4) が存在する。SDC1, 2, 4は血管内皮細胞同士の間隙や基底膜側に GCX のコア蛋白として発現している⁽¹⁹⁾。このうち血清 SDC1 濃度はバイオマーカーとして既に多くの臨床研究が実施され、これまで慢性腎臓病 (Chronic kidney disease: CKD)^(20, 21)、糖尿病^(22, 23)、心疾患^(24, 25)、高トリグリセリド血症⁽²⁶⁾や敗血症^(27, 28)など、いくつかの疾患との関連が明らかになっている (表 2)。

表 2 各種疾患に対するバイオマーカーとしてのシンデカン-1

疾患	試験デザイン	患者数	結果	文献
CKD	観察研究	CKD 患者 125 名 vs. 健常人 31 名	SDC1 と HA の血漿中濃度は CKD 患者の方が健常人より有意に高い	Padberg 他 ⁽²⁰⁾
	観察研究	維持透析患者 145 名	血清 SDC1 濃度は透析前より透析後で有意に増加	Kusuzawa、 Suzuki 他 ⁽²¹⁾
糖尿病	観察研究	2 型 DM 患者 62 名 vs. 健常人 20 名	血清 SDC1 濃度は 2 型 DM 患者の方が健常人より有意に高い	Wang 他 ⁽²²⁾
	観察研究	2 型 DM 患者 41 名 vs. 健常人 31 名	血清 SDC1 濃度は 2 型 DM 患者の方が健常人より有意に高く、アポタンパクと負の相関あり	Wang 他 ⁽²³⁾
心疾患	観察研究	心不全入院患者 219 名	血清 SDC1 濃度は院内の AKI の発症および死亡率、6 カ月死亡率との関連あり	Neves 他 ⁽²⁴⁾
	観察研究	心不全入院患 152 名	血清 SDC1 濃度は心不全患者の再入院・死亡と有意に関連あり	Kitagawa、 Suzuki 他 ⁽²⁵⁾
動脈硬化	観察研究	健康診断を 受診した 1313 名	血清 SDC1 濃度は TG、BUN、AST と関連あり	Oda 他 ⁽²⁶⁾
敗血症	観察研究	敗血症ショック患者 20 名 vs. 健常人 20 名	血清 SDC1 濃度は敗血症ショック患者の方が健常人より有意に高い	Sallisalmi 他 ⁽²⁷⁾
	観察研究	重症敗血症または敗血症 ショック患者 175 名	挿管と非挿管で血清 SDC1 濃度に差はなし、非生存者で有意に血清 SDC1 濃度が高い	Puskarich 他 ⁽²⁸⁾

SDC1: Syndecan-1, DM: Diabetes mellitus, AKI: Acute kidney injury, TG: Triglyceride, BUN: Blood urea nitrogen, AST: Aspartate aminotransferase, CKD: Chronic kidney disease, HA: Hyaluronic acid

本研究では、救急・集中治療領域において、血管内皮 GCX の障害を定量することにより、疾患の重症度評価や臓器障害を早期発見するためのバイオマーカーとして利用できるかを検討する目的で SDC1 に着目し、第 1 章では血清 SDC1 濃度とその翌日の各種検査値との関係から、血清 SDC1 濃度と臓器障害との関連について検討した。第 2 章では血清 SDC1 濃度と外傷患者の重症度スコアとの関係から、血清 SDC1 濃度により外傷患者における重症度評価が可能であるかを検討した。第 3 章では重症新型コロナウイルス感染症 (Coronavirus disease 2019: COVID-19) 患者における病勢と血清 SDC1 濃度の推移との関係から、血清 SDC1 濃度により COVID-19 の重症化予測が可能であるかを検討した。

第 1 章 重症患者における臓器障害に対するバイオマーカーとしてのシンデカン-1 の有用性の検討

第 1 節 緒言

血管内皮は、内皮細胞で構成される一層の細胞層からなり、血管、リンパ管、心臓などの管腔の内側を覆う人体最大の内分泌器官である。血管内皮細胞の管腔表面に存在する GCX は、糖タンパク質、プロテオグリカン、およびグリコサミノグリカンにより構成され^(13, 29-31)、血管の透過性と微小血管の緊張の調節、微小血管における血栓形成の抑制、内皮上での白血球の接着と移動の調節など血管の恒常性維持を担っている⁽³²⁻³⁵⁾。

全身性の炎症状態は血管内皮の機能障害を引き起こし、その結果、血管透過性が亢進し、アルブミンや体液が間質へ流出するが⁽³²⁾、これは GCX の障害によると考えられている。さらに、Schmidt らはリポ多糖 (Lipopolysaccharide: LPS) 誘発性の敗血症モデルマウスを用いた *in vivo* 試験および臨床試験において、GCX の障害が急性呼吸窮迫症候群の発症に寄与していることを示した^(36, 37)。また、LPS 誘発性の敗血症モデルマウスを用いた *in vivo* 試験において、毛細血管内皮にある GCX の障害は心臓、腎臓、肺、肝臓や脳などの臓器の損傷を引き起こすことが走査型および透過型電子顕微鏡によって観察され、血管内皮の機能不全が臓器損傷の過程で起こることが示唆されている⁽¹⁶⁻¹⁸⁾。したがって、血管内皮障害時に血液中に脱落する GCX 構成成分を測定することにより、臓器機能障害のバイオマーカーとして使用できる可能性がある。

実際に救急・集中治療領域では、GCX のコア蛋白である SDC1 の血清濃度が臓器障害の評価スコアである SOFA スコアと有意な相関があることや^(27, 38-40)、敗血症により死亡した患者の血清 SDC1 濃度が死亡しなかった患者と比較し有意に高いことが報告されている^(28, 39, 41)。しかし、本領域において、どの臓器が

障害を受けると血清 SDC1 濃度が上昇するのか、また、血清 SDC1 濃度がこれらの臓器障害を早期に検出するのに有用なマーカーであるかは十分に明らかになっていない。

そこで、本章では重症患者における臓器機能障害と血清 SDC1 濃度との関連を明らかにし、血清 SDC1 濃度によって早期検出が可能な臓器機能障害を特定することを目的とした。

第2節 方法

2.1. 対象患者

本研究では 2019 年 3 月から 2020 年 2 月までに岐阜大学医学部附属病院 (以下、岐阜大学病院) の ICU に入室した患者を対象とした。18 歳未満、入院後に血液透析を実施した患者、72 時間以内に ICU から退出した患者、本研究への参加同意が得られなかった患者は除外した。

2.2. 研究デザイン

本研究は後方視的な観察研究として実施した。ICU に入室したすべての患者は日常の診療行為として毎日 1 回以上の採血が実施され、各種検査が測定された。検査測定後の検体はすべて回収され、その残余検体を用いて血清 SDC1 濃度を測定した。また、各種検査の測定結果および輸液量は電子カルテより後方視的に収集した。前日の血清 SDC1 濃度が各種検査値および輸液量に与える影響を評価した。

血清 SDC1 濃度の測定には酵素結合免疫吸着測定法 (Enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA) 法 (Diacclone sCD138 ELISA Kit; Diacclone, Besancon, Cedex, France) を用いた。検査値として、総タンパク (Total protein: TP)、アルブミン (Albumin: ALB)、クレアチンキナーゼ (Creatinine kinase: CK)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (Aspartate aminotransferase: AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (Alanine aminotransferase: ALT)、乳酸脱水素酵素 (Lactate dehydrogenase: LD)、アルカリホスファターゼ (Alkaline phosphatase: ALP)、コリンエステラーゼ (Cholinesterase: ChE)、クレアチニン (Creatinine: CRE)、血清尿素窒素 (Blood Urea Nitrogen: BUN)、中性脂肪 (Triglyceride: TG)、総ビリルビン (Total bilirubin: T-Bil)、フィブリン分解産物 (Fibrin degradation product: FDP)、D-ダイマー (D-dimer)、アンチトロンビン III (Antithrombin III:

ATIII) を用いた。輸液量は細胞外補充液、維持液等の 1 日に投与されたすべての水分量の総和とした。

2.3. 統計解析

患者基礎情報について、連続変数は中央値および四分位範囲 (Interquartile range: IQR)、カテゴリ変数は頻度および割合で示した。

本研究の目的は血清 SDC1 濃度をモニタリングすることにより、これまでの検査値よりも早期に検出可能な臓器障害を特定することである。そこで、SDC1 測定日の翌日の各種検査値や輸液量に対する血清 SDC1 濃度の影響について時間経過を考慮して評価するため、各種検査値および輸液量を変数とする混合効果モデル (Mixed effects model) を構築した。モデルには調整因子として年齢と性別を加え、血清 SDC1 濃度と時間 (ICU 入室からの時間) の交互作用項も含めた。血清 SDC1 濃度と各項目との交互作用項に有意な差を認めた場合は時間経過による各項目の変化が血清 SDC1 濃度によって修飾されていると判断した。血清 SDC1 濃度の主効果についても同様に各項目との関連を検討した。残差を正規分布とするために、CK、AST、ALT、LD、ALP、ChE、CRE、BUN、TG、T-Bil は自然対数変換をした後、解析を行った。 q 値は Benjamini-Hochberg 法を用いて算出し、偽発見率 (False discovery rate: FDR)⁽⁴²⁾ を決定した。 q 値 0.05 未満で、FDR が有意差有りとした。

SDC1 と死亡率の関連は、血清 SDC1 濃度を時間変動する変数として、年齢による調整を行った時間依存性 Cox 比例ハザード回帰モデルを用いて解析した。血清 SDC1 濃度は時間変動する変数として扱った。統計解析には R ver. 3.6.2 を使用した⁽⁴³⁾。 P 値が 0.05 未満を統計学的有意差ありとした。

2.4. 倫理的配慮

本研究はヘルシンキ宣言⁽⁴⁴⁾に準拠し、岐阜大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認を得て実施した(承認番号: 2018-167)。また、UMIN 臨床試験レジストリ(登録番号: UMIN000036261)に登録を行った。すべての患者に対して説明同意文書を用いて説明を行い、書面による同意を得た。

第3節 結果

3.1. 対象患者および患者背景

研究期間内に岐阜大学病院 ICU に入室した患者は 314 名であった。このうち、18 歳未満の患者 17 名、72 時間以内に ICU を退室した患者 79 名、血液透析を受けていた患者 9 名、本研究への参加同意を得られなかった患者 115 名の計 220 名を除外し、残りの 94 名 (男性 70 名、女性 24 名) を解析対象とした。また、SDC1 濃度が測定可能な血液検体は 831 検体あり、患者ひとりあたりの血清 SDC1 濃度の測定回数の中央値は 8 回 (IQR, 4.25 – 15) であった。

患者背景を表 3 に示す。年齢の中央値は 67.0 歳 (IQR, 53.3 – 77.0)、ICU 入室時の SOFA スコアの中央値は 6.0 (IQR, 4.0 – 9.8)、ICU 滞在期間の中央値は 10.5 日 (IQR, 6.0 – 19.0) であった。入院契機となった疾患は外傷が 40 名 (42.6%) と最も多く、次いで心筋梗塞が 15 名 (16.0%)、敗血症が 10 名 (10.6%)、熱傷が 6 名 (6.4%)、熱中症が 3 名 (3.2%)、心不全、急性大動脈解離、心室細動、皮膚・軟部組織感染および低血糖がそれぞれ 2 名 (2.1%) であった。敗血症の起因菌としては、*Klebsiella* 属が 4 名と最も多く、次いで *Streptococcus* 属が 3 名、Methicillin-susceptible *Staphylococcus epidermidis*、*Escherichia coli*、起炎菌不明がそれぞれ 1 名ずつであった。対象期間中に severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) に感染した患者はいなかった。

表 3 患者背景

年齢 (歳), 中央値 (IQR)	67 (53.3 – 77.0)
性別 (男性 / 女性), n (%)	70 (74.5) / 24 (25.5)
体重 (kg), 中央値 (IQR)	60.4 (53.1 – 75.1)
ICU 入室時の SOFA スコア, 中央値 (IQR)	6.0 (4.0 – 9.8)
入院契機, n (%)	
外傷	40 (42.6)
心筋梗塞	15 (16.0)
敗血症	10 (10.6)
熱傷	6 (6.4)
熱中症	3 (3.2)
心不全	2 (2.1)
急性大動脈解離	2 (2.1)
心室細動	2 (2.1)
皮膚・軟部組織感染症	2 (2.1)
低血糖	2 (2.1)
その他	10 (10.6)
ICU 入室期間 (日), 中央値 (IQR)	10.5 (6.0 – 19.0)

IQR: Interquartile range, ICU: Intensive care unit, SOFA: Sequential organ failure assessment

3.2. 血清 SDC1 濃度と翌日の各種検査値との関連

表 4 に年齢と性別で調整した mixed effects model による結果を示す。各種検査項目と輸血量のうち、前日の血清 SDC1 濃度と有意な主効果が認められた項目は AST [coefficient (β) = 0.0042、95%信頼区間 (Confidence interval: CI) 0.0018 – 0.0065、 $P = 0.001$ 、 $q = 0.003$]、ALT ($\beta = 0.0034$ 、95%CI 0.0012 – 0.0057、 $P = 0.003$ 、 $q = 0.009$)、CRE ($\beta = 0.002$ 、95%CI 0.0012 – 0.0028、 $P < 0.001$ 、 $q < 0.001$)、BUN ($\beta = 0.0015$ 、95%CI 0.0002 – 0.0028、 $P = 0.019$ 、 $q = 0.044$)、T-Bil ($\beta = -0.0026$ 、95%CI -0.0041 – -0.0011、 $P = 0.001$ 、 $q = 0.003$)、FDP ($\beta = 0.154$ 、95%CI 0.023 – 0.285、 $P = 0.021$ 、 $q = 0.038$)、AT III ($\beta = -0.0707$ 、95%CI -0.1307 – -0.0107、 $P = 0.021$ 、 $q = 0.042$) および総輸液量 ($\beta = -17.8331$ 、95%CI -25.2211 – -10.4450、 $P <$

0.001、 $q < 0.001$)であった。また、統計学的に有意ではなかったが、前日の血清 SDC1 濃度は LD ($\beta = 0.0012$ 、95%CI 0 - 0.0024、 $P = 0.056$ 、 $q = 0.089$)、D-dimer ($\beta = 0.0821$ 、95%CI 0.0135 - 0.1507、 $P = 0.019$ 、 $q = 0.051$) に影響する傾向を認めた。

さらに、時間と血清 SDC1 濃度の交互作用を認めた項目は、AST ($P < 0.001$ 、 $q = 0.002$)、ALT ($P < 0.001$ 、 $q = 0.001$)、LD ($P < 0.001$ 、 $q < 0.001$)、ALP ($P < 0.001$ 、 $q = 0.004$)、CRE ($P = 0.009$ 、 $q = 0.021$)、BUN ($P = 0.018$ 、 $q = 0.037$)、T-Bil ($P = 0.004$ 、 $q = 0.01$)、1日の総輸液量 ($P < 0.001$ 、 $q < 0.001$) で有意な差を認めた。

表 4 Linear mixed effects model を用いた血清 SDC1 濃度の主効果および時間と血清 SDC1 濃度の交互作用

パラ メータ	主効果				交互作用	
	Coefficient ^a	95% CI	<i>P</i> 値	<i>q</i> 値 ^b	<i>P</i> 値	<i>q</i> 値 ^b
TP	0.0012	-0.0037 – 0.0061	0.638	0.729	0.362	0.482
ALB	0.0015	-0.0013 – 0.0042	0.289	0.385	0.111	0.198
log_CK	0.0013	-0.0017 – 0.0043	0.401	0.494	0.861	0.861
log_AST	0.0042	0.0018 – 0.0065	0.001	0.003	< 0.001	0.002
log_ALT	0.0034	0.0012 – 0.0057	0.003	0.009	< 0.001	0.001
log_LD	0.0012	0 – 0.0024	0.056	0.089	< 0.001	< 0.001
log_ALP	0.0002	-0.0010 – 0.0015	0.695	0.741	0.001	0.004
log_ChE	-0.0014	-0.0032 – 0.0004	0.115	0.168	0.365	0.449
log_CRE	0.002	0.0012 – 0.0028	< 0.001	< 0.001	0.009	0.021
log_BUN	0.0015	0.0002 – 0.0028	0.019	0.044	0.018	0.037
log_TG	0.0032	-0.0455 – 0.0519	0.874	0.874	0.805	0.859
log_T-Bil	-0.0026	-0.0041 – -0.0011	0.001	0.003	0.004	0.01
FDP	0.154	0.023 – 0.285	0.021	0.038	0.336	0.489
D-dimer	0.0821	0.0135 – 0.1507	0.019	0.051	0.152	0.243
AT III	-0.0707	-0.1307 – -0.0107	0.021	0.042	0.694	0.793
輸液量 (mL/日)	-17.8331	-25.2211 – -10.445	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

すべての model は年齢と性別で調整した。

^a Coefficient は血清 SDC1 濃度が 10 増加した時のパラメータの平均値の増加量を示した。

^b *q* 値は Benjamini-Hochberg 法により算出した。

SDC1: Syndecan-1, TP: Total protein, ALB: Albumin, CK; Creatine kinase, AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase, LD: Lactate dehydrogenase, ALP; Alkaline phosphatase, ChE: Cholinesterase, CRE: Creatinine; BUN: Blood urea nitrogen, TG: Triglyceride, T-Bil: Total bilirubin, FDP: Fibrin degradation product, AT III: Antithrombin III, CI: Confidence interval

3.3. 血清 SDC1 濃度による経時的なパラメータ値の予測

図 4 に各血清 SDC1 濃度における翌日の各種検査値および輸液量をプロットした時間推移の散布図を示す。血清 SDC1 濃度は 10%値未満、10%値 – 中央値、中央値 – 90%値、90%値超過の 4 群 (10%値未満 : < 16.67 ng/mL、10%値 – 中央値 : 16.67 – 45.78 ng/mL、中央値 – 90%値 : 45.78 – 318.11 ng/mL、90%超

過： $< 318.11 \text{ ng/mL}$) に分け、ICU入室からの経過時間を横軸に、各種検査値または検査値の対数値を縦軸にプロットした。

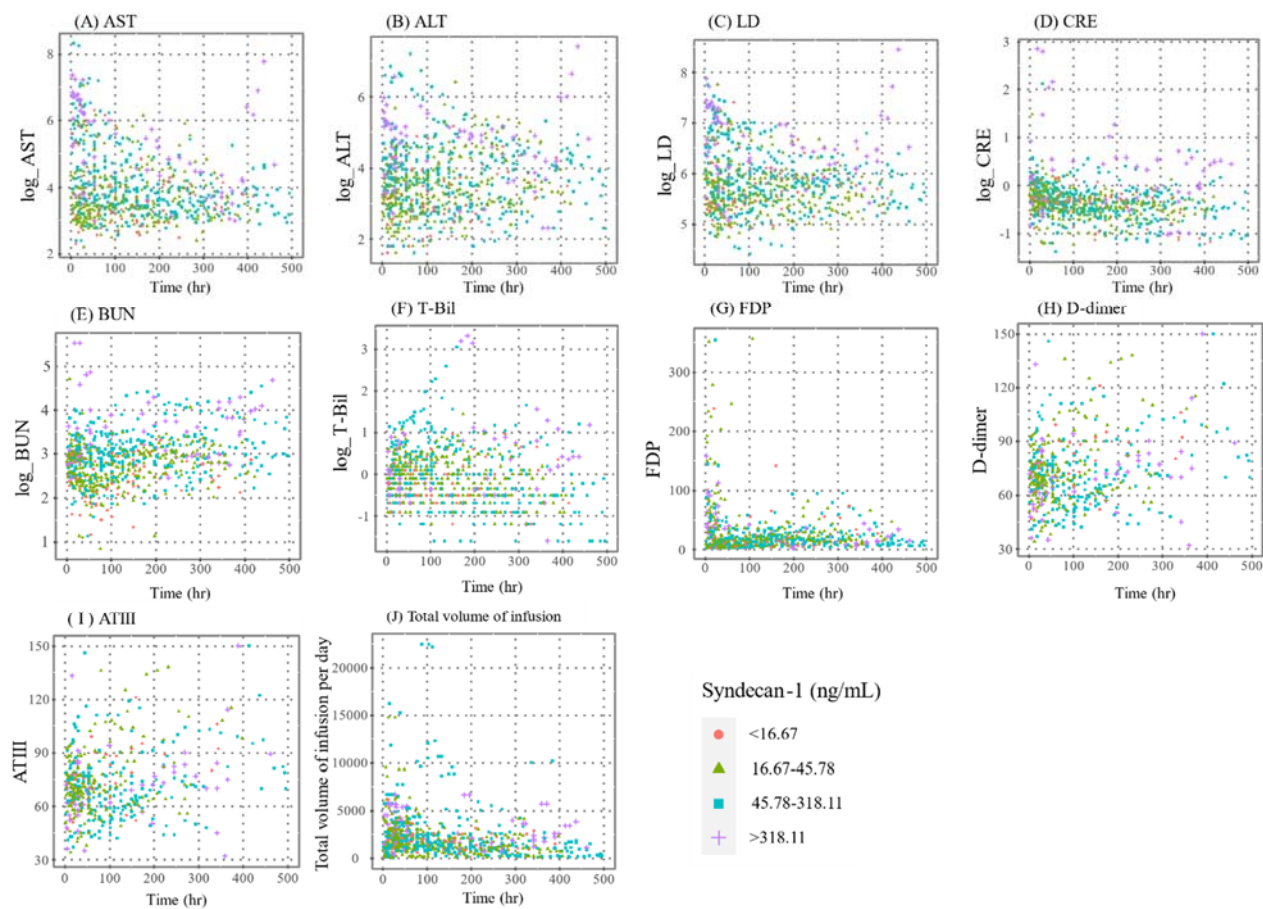


図4 血清 SDC1 濃度が < 16.67 ng/mL (赤丸)、16.67 – 45.78 ng/mL (緑三角)、45.78 – 318.11 ng/mL (青四角)、> 318.11 ng/mL (紫十字) の患者における翌日の各パラメータの時間的推移の散布図

AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase, LD: Lactate dehydrogenase, CRE: Creatinine; BUN: Blood urea nitrogen, T-Bil: Total bilirubin, FDP: Fibrin degradation product, AT III: Antithrombin III

図 5 に表 3 にまとめた mixed effects models から得られた各パラメータの線形予測値の時間推移を示す。血清 SDC1 濃度が 10%値、中央値、90%値 (16.67 ng/mL、45.78 ng/mL、318.11 ng/mL) の患者における翌日の各パラメータの時間的な線形予測値を算出した。

その結果、AST、ALT、LD、CRE、BUN、FDP、D-dimer 値は、血清 SDC1 濃度が 318.11 ng/mL (SDC1 高値) の患者の方が 16.67 ng/mL および 45.78 ng/mL (SDC1 低値) の患者に比べ高かった。一方、輸液量、T-Bil、AT III 値は、血清 SDC1 濃度が高値の患者において、血清 SDC1 濃度が低値の患者より低かった。

血清 SDC1 濃度が高値と低値の患者における AST、ALT、LD、CRE、BUN 値の差は入室時から時間経過とともにさらに拡大したが、FDP と AT III 値の差は観察期間終了時には同程度に収束した。一方、血清 SDC1 濃度が高値と低値の患者における D-dimer、T-Bil、輸液量の差は入室時から時間経過とともに収束し、終了時には逆転した。また、入室時における D-dimer と T-Bil の値は血清 SDC1 高値の患者の方が高く、観察期間終了時は血清 SDC1 濃度が低値の患者の方が高かった。逆に、輸液量では入室時は血清 SDC1 濃度が低値の患者の方が高く、終了時は血清 SDC1 濃度が高値の患者の方が高かった。

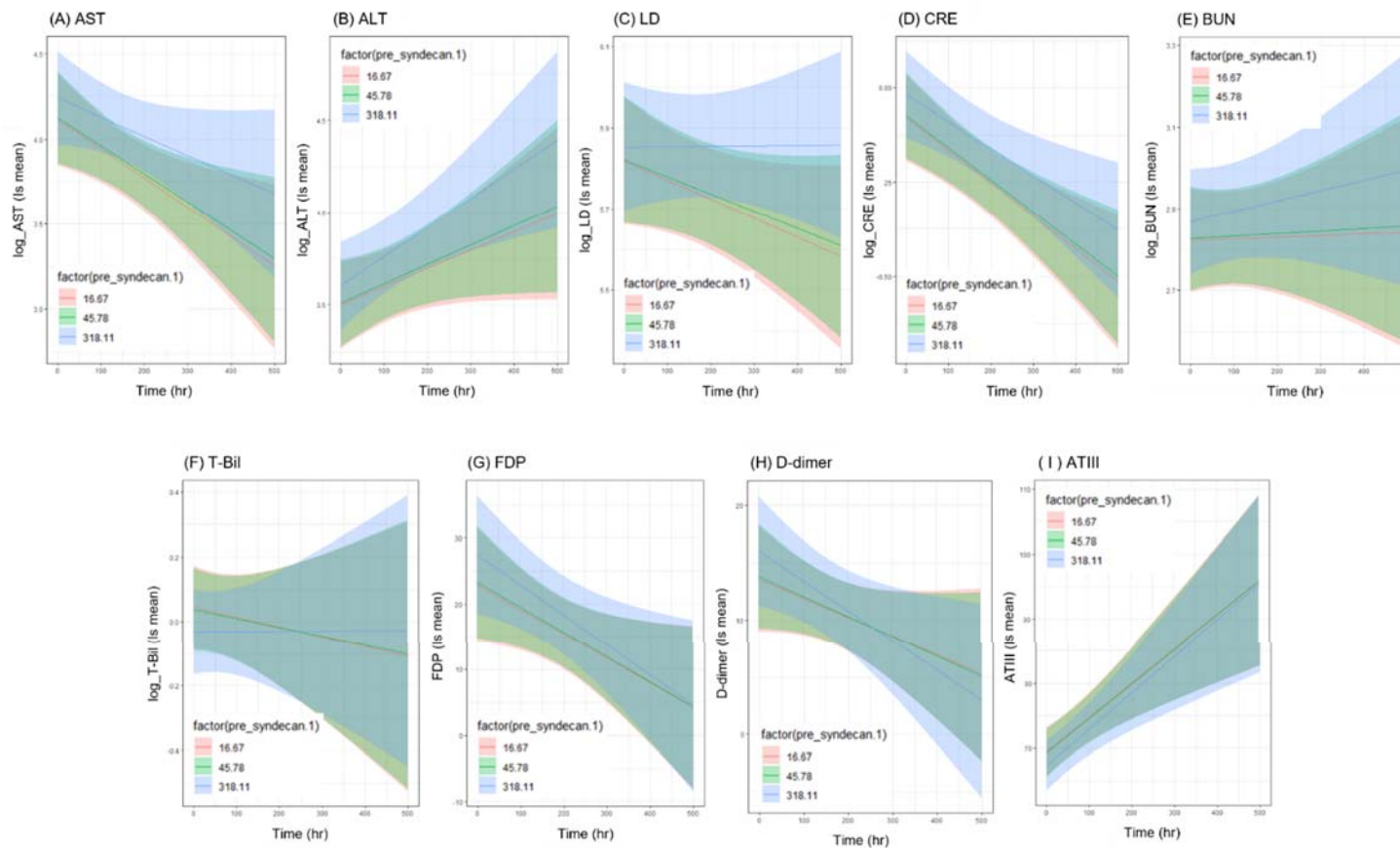


図5 血清 SDC1 濃度が 16.67 ng/mL (赤線)、45.78 ng/mL (緑線)、318.11 ng/mL (青線) の患者における翌日の各パラメータの経時的な予測値

AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase, LD: Lactate dehydrogenase, CRE: Creatinine, BUN: Blood urea nitrogen, T-Bil: Total bilirubin, FDP: Fibrin degradation product, AT III: Antithrombin III

3.4. 重症患者における血清 SDC1 濃度と死亡率の関係

年齢を調整因子として時間依存性 Cox 比例ハザード回帰分析を行った結果、血清 SDC1 濃度の上昇は死亡率と有意な関連を示した (SDC1 が 24.23 ng/mL から 143.91 ng/mL への上昇に対するハザード比 2.08、95%CI 1.24 – 3.49、 $P = 0.006$; 表 5)。

表 5 重症患者における血清 SDC1 濃度と死亡率との関連 (時間依存性 Cox 比例ハザード回帰分析)

要因	HR ^a	95% CI	<i>P</i> 値
血清 SDC1 濃度 (IQR: 24.23 – 143.91)	2.08	1.24 – 3.49	0.006
年齢 (IQR: 54 – 78.5)	1.93	0.53 – 6.95	0.317

^a各要因の 25 パーセンタイル値に対する 75 パーセンタイル値のハザード比

SDC1: Syndecan-1, IQR: Interquartile range, HR: Hazard ratio

第4節 考察

本研究において、前日の血清 SDC1 濃度は、AST、ALT、T-Bil、CRE、BUN、FDP、AT III 値および輸液量に有意な主効果を認め、LD と D-dimer 値に対して傾向を認めた。一方、AST、ALT、LD、ALP、CRE、BUN、T-Bil および輸液量は、血清 SDC1 濃度によって時間的な変化に差が認められた。また、血清 SDC1 濃度の上昇は、死亡率の有意な危険因子となっていた。

血管内皮 GCX の構成成分である SDC1^(28, 39)、ヘパリン硫酸^(45, 46)、ヒアルロン酸⁽⁴⁵⁾の血清濃度は敗血症、重症敗血症または敗血症性ショックの患者の死亡率と関連があることが報告されている。本研究においても血清 SDC1 濃度は、ICU に入室した重症患者の死亡率と関連があることが示された。これらの結果は、臓器機能障害の過程において、血管内皮障害が微小循環機能の障害を引き起こし、その後の臓器障害につながるという理論を支持するものであった^(47, 48)。

AST、ALT、LD、CRE、BUN 値は、前日の血清 SDC1 濃度が高い患者の方が低い患者よりも高く、その差は ICU 入室からの時間経過にともない大きくなった。なお、血清 SDC1 濃度が中央値から 90 パーセンタイルに変化した際の AST、ALT、LD、CRE、BUN の Fold-change はそれぞれ 12%、10%、3%、6%、4%であった(表 6)。

表6 血清 SDC1 濃度が中央値から 90 パーセントイルに変化した際の各項目の Fold-change

項目	Fold-change [exp (coefficient)]	95% CI
AST	1.12	1.05 – 1.20
ALT	1.10	1.03 – 1.17
LD	1.03	1.00 – 1.07
CRE	1.06	1.03 – 1.08
BUN	1.04	1.01 – 1.08
T-Bil	0.93	0.90 – 0.97

CI: Confidence interval, AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase, LD: Lactate dehydrogenase, CRE: Creatinine, BUN: Blood urea nitrogen, T-Bil: Total bilirubin

Oda らは健康診断を受診した成人において、AST と BUN が血清 SDC1 濃度と有意な相関を示すことを報告した⁽²⁶⁾。また、Johansson らはノルアドレナリンを投与された敗血症患者において、血清 SDC1 濃度が CRE と相関することを報告しており⁽³⁸⁾、本研究と同様の結果であった。一般的に、肝障害では AST と ALT が上昇し、腎障害では CRE と BUN が上昇することから、血清 SDC1 濃度は重症患者の肝障害と腎障害を早期発見するために日常的にモニタリング可能なバイオマーカーとなりうることを示唆された。実際に、血清 SDC1 濃度と急性腎障害 (Acute kidney injury: AKI) との関連について複数報告されており、Puskarich らは重症敗血症または敗血症性ショック患者において、AKI を発症した患者では発症しなかった患者と比較して、血清 SDC1 濃度が有意に高かったことを報告した⁽²⁸⁾。同様に、Libório らは軍人の間で発生したレプトスピラ症のアウトブレイクを対象としたコホート研究において、AKI を発症した患者では AKI を発症しなかった患者と比較して、血清 SDC1 濃度および ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule-1) が有意に上昇していたことを報告した⁽⁴⁹⁾。

また、LD は心臓、肺、腎臓、肝臓、脳などの組織に広く発現する細胞質酵素

であり、これらの組織が損傷した際には放出される^(50, 51)。LD と血清 SDC1 濃度との関連についての報告はほとんどなく、重症患者における心臓、肺、脳の損傷と血清 SDC1 濃度との関連を明らかにするために、さらなる臨床研究の実施が望まれる。

前日の血清 SDC1 濃度が高値の患者では、低値の患者よりも T-Bil 値および輸液量が少なく、SDC1 は T-Bil と負の相関を認めた。SDC1 濃度が中央値から 90 パーセンタイルに変化した際の T-Bil の Fold-change は -7%であった(表 6)。一方で、本研究では ICU 入室時のほぼすべての患者の T-Bil 値は正常範囲内であり、このため T-Bil の変化が血清 SDC1 濃度に十分に反映されなかった可能性が考えられた。Oda らは健康診断を受診した成人を対象とした後方視的な観察研究において、T-Bil は血清 SDC1 濃度と負の相関を示したと報告している⁽²⁶⁾。一方で、Johansson らはノルアドレナリンを投与された敗血症患者では、血清 SDC1 濃度が Bil 値と正の相関を示したと報告している⁽³⁸⁾。本研究においても、T-Bil 高値の患者は血清 SDC1 濃度が高い傾向を示しており、これらの患者が多かった場合には T-Bil と血清 SDC1 濃度の上に正の相関を確認できた可能性がある。

また、本研究では輸液量を細胞外補充液、維持液、中心静脈栄養等の 1 日に投与されたすべての水分量の総和とした。一般に血管透過性が亢進した際に投与する輸液の種類はナトリウム含有量が多い細胞外補充液が中心となるため、本結果は血管内皮障害に伴う血管透過性亢進の病態を十分に反映できなかった可能性がある。一方で、血清 SDC1 濃度が高値の患者は低値の患者よりも輸液量の傾きが小さく、継続的に多くの輸液が必要であったが、これは血管内皮障害を反映している可能性が考えられた。

FDP、D-dimer、AT III 値は、前日の血清 SDC1 濃度と有意な主効果を認めたが、血清 SDC1 濃度によって時間的な変化に差が認められなかった。血清 SDC1

濃度が中央値から 90 パーセンタイルへ変化した際の FDP、D-dimer、AT III の Coefficient は、それぞれ 4.19、2.23、-1.93 であった (表 7)。

表 7 血清 SDC1 濃度が中央値から 90 パーセンタイルに変化した際の各項目の Coefficient

項目	Coefficient	95% CI
FDP	4.19	0.63 – 7.76
D-dimer	2.23	0.37 – 4.10
AT III	-1.93	-3.56 – -0.29

CI: Confidence interval, FDP: Fibrin degradation product, AT III: Antithrombin III

AT III 値は、前日の血清 SDC1 濃度が高い患者と低い患者で比較すると、血清 SDC1 濃度が高い患者において、AT III 値が低かった。重症患者では、血管内皮障害による血管透過性の亢進、肝臓での AT III の産生低下、エラスターゼによる AT III の不活性化により、血清 AT III 濃度が低下する^(52, 53)。したがって、血清 SDC1 濃度が AT III 値に主効果を示すことは理にかなっていると考えられた。また、FDP と D-dimer は、血管内皮傷害によって惹起される播種性血管内凝固症候群 (DIC: Disseminated intravascular coagulation) の診断基準に含まれる検査項目である⁽⁵⁴⁾。Ikeda らは敗血症患者を対象とした前向き観察研究において、血清 SDC1 濃度と AT III 値との間に弱い負の相関があることを報告している⁽⁵⁴⁾。さらに、1 日目の血清 SDC1 濃度は、DIC を発症した患者の方が発症しなかった患者よりも有意に高く、DIC の発症と死亡の両方を予測できると報告している。これらの結果は本研究結果と一致しており、血清 SDC1 濃度が DIC を日常的にモニタリングするための有用なバイオマーカーとなる可能性を示唆している。

前日の血清 SDC1 濃度が高値の患者と低値の患者における、AT III と FDP の差は時間の経過とともに変化した。観察期間終了時には同じ値に収束するという予測となった。また、D-dimer については、治療開始時は血清 SDC1 濃度が

高値の患者の方が高く、治療期間終了時には血清 SDC1 濃度が低値の患者の方が高いという経時的に逆転する予測となった。これらの変化の理由は不明であるが、AT III の補充療法や DIC に対する治療などが影響している可能性がある。

本研究の限界は以下のとおりである。1) SDC1 は血管内皮に加えて、他の臓器でも発現しているが、本研究では血清 SDC1 濃度のみに着目し、他の臓器における SDC1 の発現やその関連する影響については評価していない。2) 血管内皮障害においては、その程度と IL-6、TNF- α 、NGAL 等の炎症性サイトカインの評価も重要であるが、これらの評価を行うことができなかった。3) 単施設研究でありサンプルサイズが小さいことである。4) 平均値に関して信頼区間が狭く、臨床的に重要な知見となる可能性があるが、解析に利用したデータ数が少ないために、結果に大きなばらつきもあった。そのため、今回の結果を確認するためには、さらなる大規模な研究が必要である。

結論として、血管内皮の構成成分である SDC1 は、肝臓、腎臓および凝固系の臓器障害をより早期に発見するための日常モニタリングに有用なバイオマーカーとなる可能性がある。さらに、血清 SDC1 濃度の上昇は重症患者の死亡率において重要なリスクファクターとなる可能性がある。臓器機能障害の早期発見に対する血清 SDC1 濃度の有用性を検証するために、さらなる大規模な研究が必要である。

第2章 重症外傷患者に対する重症度マーカーとしてのシンデカン-1の有用性の検討

第1節 緒言

外傷は世界の主要な死因の1つである⁽⁵⁵⁾。外傷による死亡の主な原因は、受傷後24時間以内は出血と脳損傷であり、それ以降は臓器不全や感染症、呼吸困難である⁽⁵⁶⁾。外傷は傷の種類(鋭的、鈍的)や部位、損傷度合に応じて幅広い症状を呈し、多発外傷は「身体を頭部・頸部・胸部・腹部・骨盤・四肢などと区分した場合に、複数の身体区分に重度の損傷が及んだ状態」と定義される。複雑な外傷の重症度を評価することは、患者の生命予後や機能予後の改善に極めて重要である。

現在、外傷に対する重症度や予後予測評価として、AIS (Abbreviated Injury Scale)⁽⁵⁷⁾、ISS (Injury Severity Score)^(58,59)、RTS (Revised Trauma Score)⁽⁶⁰⁾、TRISS (Trauma and Injury Severity Score)^(61,62)が使用されている(表8)。このうち、ISSは解剖学的なスコアリングシステムであり、AISをもとに多発外傷患者に対して重症度を評価するスコアである^(58,59)。

一方、ISSは多発外傷の重症度を評価するためのゴールドスタンダードであるが⁽⁶³⁾、ISSによる重症度評価は解剖学的評価であり、生理学的評価は加味されていない。外傷に伴う大量出血、ショックによる循環障害や組織障害は、DAMPs (Damage associated molecular patterns)の放出、低灌流・再灌流、炎症反応、内分泌・神経系の活性化などを引き起こし、その結果、血管内皮障害を惹起し、細胞障害や臓器障害を引き起こすことが明らかになっている(図6)⁽⁶⁴⁾。

表 8 外傷における重症度評価

スケール	種類	詳細
AIS (Abbreviated injury scale) ⁽⁵⁷⁾	解剖学的 指標	自動車事故に関する大規模なデータベースとして利用することを目的に米国で考案され、1971年に発表された。外傷の種類と解剖学的重症度をコードで表し、重症度を6段階で評価する。
ISS (Injury severity score) ^(58, 59)	解剖学的 指標	AISを基に多発外傷の重症度を評価する。損傷部位を6部位(頭頸部、顔面、胸部、腹部及び骨盤内臓器、四肢及び骨盤、体表)に分類し、各部位、最高のAIS重症度スコアの中で上位3つを抽出し、それぞれを二乗して合計した値で評価する。
RTS (Revised trauma score) ⁽⁶⁰⁾	生理学的 指標	生理学的な指標 (GCS: Glasgow Coma Scale、収縮期血圧、呼吸数) をもとに重症度を評価する。
TRISS (Trauma and injury severity score) ^(61, 62)	予測 生存率	生理学的重症度、解剖学的重症度および年齢因子から予測生存率 (Ps: Probability of survival) を算出する。

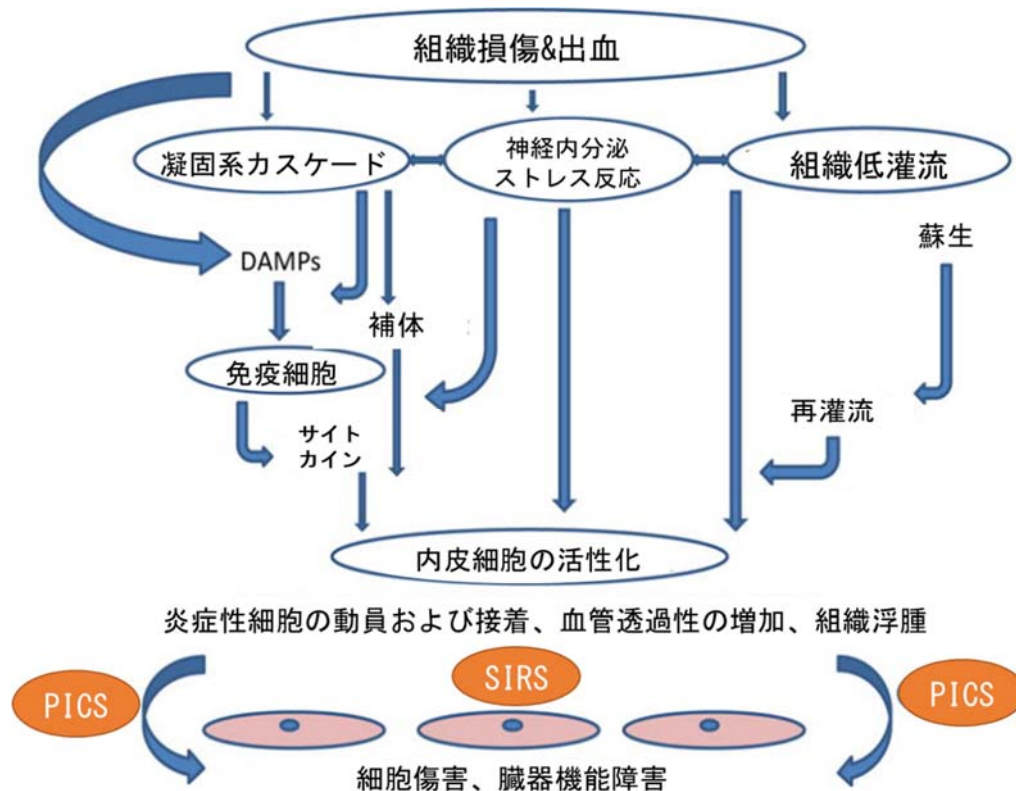


図 6 外傷と血管内皮障害との関連 (文献⁽⁶⁴⁾より改変)

DAMPs: Damage associated molecular patterns, PICS: Post intensive care syndrome, SIRS: Systemic inflammatory response syndrome

さらに、外傷患者において SDC1 をはじめとする血管内皮 GCX の構成成分が循環血液中に脱落することが報告されている⁽⁶⁵⁻⁶⁹⁾。特に、血清 SDC1 濃度については、75 名の外傷患者を対象とした前向き観察研究において、搬送時の血清 SDC1 濃度 ≥ 63 ng/mL 以上が年齢と ISS で調整後の 30 日死亡の独立因子であることが報告されている⁽⁶⁵⁾。同様に、410 名の外傷患者を対象とした前向き観察研究では、年齢、ISS、収縮期血圧、塩基 (HCO_3^-) を調整因子とした多変量ロジスティック解析の結果、血清 SDC1 濃度 ≥ 40 ng/mL が 30 日間の院内死亡の有意な要因であることが報告された⁽⁶⁶⁾。しかし、血清 SDC1 濃度が外傷患者における重症度マーカーとして有用であるかどうかは不明である。

そこで、本章では重症外傷患者における救急外来到着時の ISS と血清 SDC1 濃度との関係を検討し、外傷患者の重症度マーカーとしての SDC1 の有用性を検討した。

第2節 方法

2.1. 対象患者

本研究は単施設の後方視的な観察研究として実施した。2019年1月から2021年12月までに外傷で岐阜大学病院 救急救命センター (Emergency room: ER) に搬送され、その後、ICUに入室となった患者を対象とした。受傷後24時間以上経過してから搬送された患者、受傷時間が不明な患者、簡易式外傷スコアであるAISが3未満と診断された患者、搬送中に心肺蘇生や蘇生輸液を受けた患者、維持透析を受けている患者および20歳未満の患者を解析対象から除外した。

2.2. データの収集方法

岐阜大学病院 ER では搬送時の患者の状態を把握するために血液検査が実施される。その際の残余検体を用いて血清SDC1濃度の測定を行った。血清SDC1濃度の測定にはELISA法 (Diaclone sCD138 ELISA Kit; Diaclone, Besancon, Cedex, France) を用いた。患者基本情報および各種検査値は診療録より後方視的に抽出し、解析を行った。

2.3. 検討に用いた各種スコアの算出方法

AISは外傷の種類と解剖学的重症度をコードで表し、重症度を0から5の6段階で評価する方法である。本研究ではAIS 2008⁽⁵⁷⁾を用いてERの医師がスコアリングを行った。多発外傷の重症度スコアであるISSの算出はAISをもとに定義された6つの損傷部位: (1) 頭頸部、(2) 顔面、(3) 胸部、(4) 腹部または骨盤内臓器、(5) 四肢または骨盤、(6) 体表に分類し、各部位の最高のAIS重症度スコアの中から上位3つを抽出し、以下の式のようにそれぞれを二乗して合計した値で算出できる^(58, 59)。

$$ISS = (AIS_1)^2 + (AIS_2)^2 + (AIS_3)^2$$

ISS の最大値は 75 点であるが、ISS 25～34 点での死亡率は 30%強、ISS > 35 点では 50%を超えることが報告されている⁽⁵⁸⁾。ISS 15 点以上は重症、もしくは重症化の可能性があるため、入院による治療や経過観察が必要となる。

また、予測生存率 (Probability of survival: Ps) は外傷領域で汎用されるパラメータであり、TRISS から算出できる^(61, 62)。これは生理学的に重症度を評価する指標である TRISS、解剖学的に重症度を評価する指標である ISS に年齢因子 (年齢スコア) を加えて、以下の式のように算出する。

$$Ps = 1 / (1 + e^{-b})$$

$$e = 2.718282 \text{ (base of natural logarithm)}$$

$$b = b_0 + b_1 \times (\text{RTS}) + b_2 \times (\text{ISS}) + b_3 \times (\text{年齢スコア})$$

b₀、b₁、b₂、b₃ は係数であり Major Trauma Outcome Study データベース⁽⁶¹⁾の重回帰分析から導かれた。55 歳以下では年齢指数は 0、55 歳以上では年齢指数は 1 であり、これらの係数は被験者が小児患者であるか、鈍的外傷であるかにより変化する。RTS は以下の 3 つのパラメータから算出することができる⁽⁶⁰⁾。

$$\text{RTS} = 0.9368 (\text{GCS}) + 0.7326 (\text{SBP}) + 0.2908 (\text{RR})$$

GCS は Glasgow Coma Scale であり、開眼、言語による応答、運動による応答の 3 要素からスコアリングする。SBP は収縮期血圧 (mmHg)、RR は呼吸数 (/min) である。Ps > 0.5 で死亡した場合はその死は「避けられた死」、0.25 ≤ Ps ≤ 0.5 の場合は「救命の可能性があったかもしれない死 (Preventable trauma death: PTD)」、Ps < 0.25 の場合は「避けることできなかった死 (Non-preventable death)」と考えられる。

2.4. 統計解析

患者基礎情報について、連続変数は中央値および IQR で示し、カテゴリー変

数は頻度および割合で示した。ISS と血清 SDC1 濃度との関連を評価するために多変量回帰分析を実施した。また、先行研究において血清 SDC1 濃度との関連が示されている年齢^(26, 70)、性別^(71, 72)、他院で受けた搬送前治療歴(輸血、血管造影)⁽⁷³⁾および、ISS との関連が示されている内服歴(抗血小板薬あるいは抗凝固薬)^(74, 75)も共変量として用いた。血清 SDC1 濃度は非正規分布であったため、回帰モデルには自然対数変換を用い、結果は逆変換して示した。ISS の算出に使用する 6 つの身体部位のうち、どこの部位が血清 SDC1 濃度と関連するかを評価するために、ISS の算出に使用する各身体部位のスコアを目的変数として血清 SDC1 濃度との関連を同様の分析にて評価した。Ps と血清 SDC1 濃度との関連は多変量線形回帰モデルを用いて評価した。調整因子は主解析のモデルと同様とした。P 値が 0.05 未満を統計学的有意差ありとした。すべての解析に R ver. 4.1.1 を用いた⁽⁴³⁾。

2.5. 倫理的配慮

本研究はヘルシンキ宣言⁽⁴⁴⁾に準拠し、岐阜大学大学院医学系研究科医学研究等倫理審査委員会の承認を得て実施した(承認番号 2021-B097)。本研究は後方視的な研究であるため、被験者のインフォームドコンセントは不要であった。

第3節 結果

3.1. 対象患者および患者背景

対象患者の内訳を図7に示す。研究期間中に外傷が原因で岐阜大学病院のERに搬送された患者は447名であった。このうち、AISが3未満であった137名、受傷時刻が不明であった54名、受傷24時間以上経過して搬送された21名、搬送時に20歳未満であった13名、搬送中に心肺蘇生または蘇生輸液療法を受けた3名の計228名を解析対象から除外し、残りの219名が研究対象となった。研究対象者のうち、143名は残余の血液検体が不足しており、血清SDC1濃度を測定できなかった。したがって、血清SDC1濃度が測定可能であった76名(男性54名、女性22名)を本研究の解析対象とした。

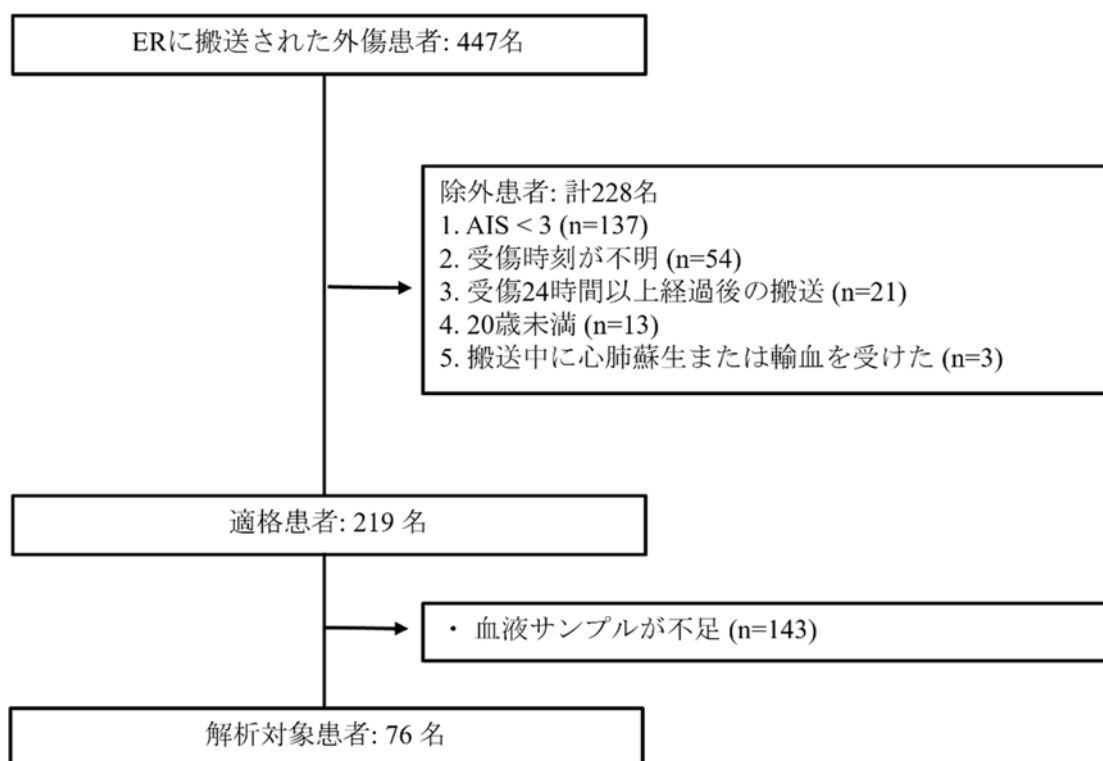


図7 解析対象患者および除外患者の内訳

ER: Emergency room, AIS: Abbreviated injury scale

患者背景を表9に示す。年齢の中央値は66.0歳 (IQR, 47.0 – 78.0)、入院期間の中央値は29.0日 (IQR, 20.0 – 48.8)であった。受傷理由は転落外傷が35名 (46.0%)、交通外傷が33名 (43.4%)、その他が8名 (10.5%)であった。岐阜大学病院ERへ搬送される前に3名 (3.9%)が輸血、5名 (6.6%)が血管造影を施行され、6名 (7.9%)が抗血小板薬、3名 (3.9%)が抗凝固薬を服用していた。

表9 患者背景

年齢 (歳), 中央値 (IQR)	66.0 (47.0 – 78.0)
性別 (男性 / 女性), n (%)	54 (71.1) / 22 (28.9)
搬送前治療歴, n (%)	
輸血	3 (3.9)
血管造影	5 (6.6)
内服歴, n (%)	
抗血小板薬	6 (7.9)
抗凝固薬	3 (3.9)
受傷理由, n (%)	
転落外傷	35 (46.0)
交通外傷	33 (43.4)
その他	8 (10.5)
入院期間 (日), 中央値 (IQR)	29.0 (20.0 – 48.8)
ER 到着時の検査値	
ALB (g/dL)	3.7 (3.3 – 4.1)
AST (U/L)	43.0 (28.8 – 77.0)
ALT (U/L)	30.5 (20.8 – 50.5)
CRE (mg/dL)	0.9 (0.7 – 1.1)
BUN (mg/dL)	17.9 (13.8 – 21.6)
WBC ($\times 10^3 / \mu\text{L}$)	13.0 (8.2 – 16.9)
HGB (g/dL)	12.4 (10.3 – 13.9)
PLT ($\times 10^3 / \mu\text{L}$)	210.5 (161.5 – 255.0)
FIB (mg/dL)	216.0 (187.5 – 279.8)
FDP ($\mu\text{g/mL}$)	95.2 (29.5 – 226.9)
D-dimer ($\mu\text{g/mL}$)	37.4 (12.1 – 75.7)

データは特記がない場合は中央値と25–75パーセンタイルで表記した。

IQR: Interquartile range, ER: Emergency room, ALB: Albumin, AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase, CRE: Creatinine; BUN: Blood urea nitrogen, WBC: White blood cell, HGB: Hemoglobin, PLT: Platelet, FIB: Fibrinogen, FDP: Fibrin degradation product

3.2. ER 到着時の血清 SDC1 濃度と ISS の関係

受傷から ER で採血が行われるまでの時間の中央値は 62.5 分 (IQR, 39.75 – 150.25) であった。血清 SDC1 濃度の中央値は 34.6 ng/mL (IQR, 27.1 – 67.8)、ISS の中央値は 20.0 (IQR, 13.8 – 29.0) であった。年齢、性別、搬送前治療歴 (輸血、血管造影)、内服歴 (抗血小板薬、抗凝固薬) を調整した多変量線形回帰モデルの結果を表 10 および図 8 に示す。AIS ≥ 3 の外傷がある外傷患者において、ISS は血清 SDC1 濃度と有意に関連していた [Exp (β) = 1.046、95% CI = 1.020 – 1.072、 $P = 0.001$ 、 $R^2 = 0.23$]。

表 10 重症外傷患者における ER 到着時の血清 SDC1 濃度と ISS との線形回帰分析

要因	Exp (β)	95% CI	P 値	R^2
ISS	1.046	1.020 – 1.072	0.001	0.23

年齢、性別、搬送前治療歴、内服歴により調整した。

ER: Emergency room, SDC1: Syndecan-1, ISS: Injury severity score,
Exp(β): Exponentiation of the β coefficient, CI: Confidence interval,
 R^2 : Coefficient of determination

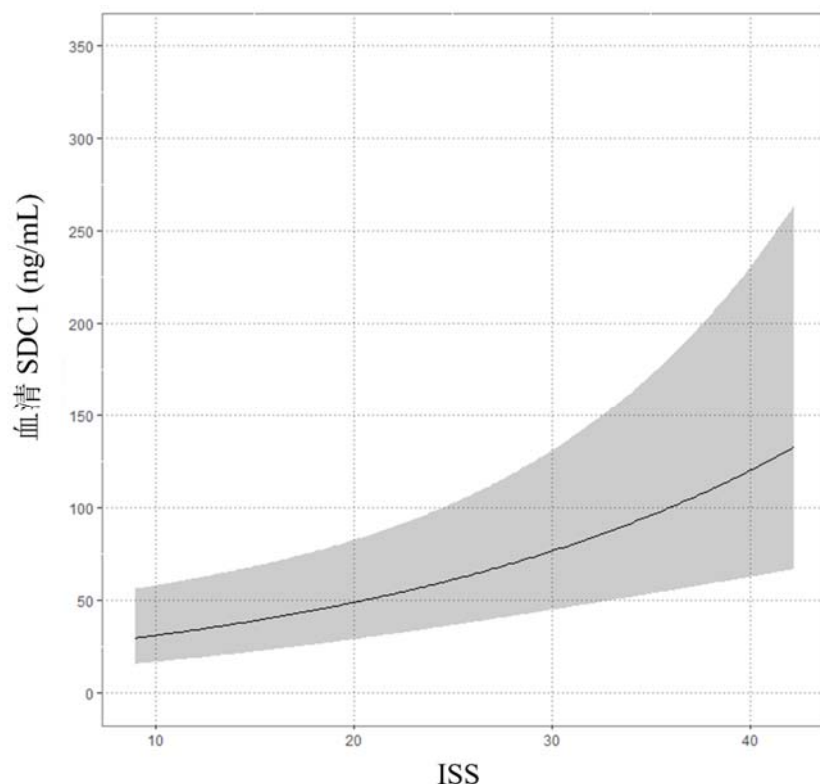


図8 血清 SDC1 濃度と ISS の関連

年齢、性別、搬送前治療歴、内服歴により調整した。
 実線は中央値、灰色は 95%信頼区間を示した。
 SDC1: Syndecan-1, ISS: Injury severity score

次に、年齢、性別、搬送前治療歴(輸血、血管造影)、内服歴(抗血小板薬、抗凝固薬)で調整した多変量線形回帰モデルを用いて、血清 SDC1 濃度が ISS スコアの算出に用いる AIS で定義された 6 つの身体部位のどの部位と関連するかを検討した。表 11 および図 9 に示すように、「胸部」および「腹部または骨盤内臓器」の身体部位別スコアは、血清 SDC1 濃度と有意に関連した(胸部: $\text{Exp}(\beta) = 1.273$ 、 $95\% \text{CI} = 1.076 - 1.506$ 、 $P = 0.006$ 、 $R^2 = 0.18$; 「腹部または骨盤内臓器」: $\text{Exp}(\beta) = 1.326$ 、 $95\% \text{CI} = 1.090 - 1.614$ 、 $P = 0.005$ 、 $R^2 = 0.18$)。また、「四肢または骨盤」のスコアも血清 SDC1 濃度と関連を示す傾向があった($\text{Exp}(\beta) = 1.178$ 、 $95\% \text{CI} = 0.982 - 1.412$ 、 $P = 0.077$ 、 $R^2 = 0.12$)。

表 11 重症外傷患者における ER 到着時の血清 SDC1 濃度と ISS 算出に用いる AIS で定義された 6 つの身体部位との線形回帰分析

臓器部位	Exp (β)	95% CI	P 値	R ²
頭頸部	1.061	0.909 – 1.239	0.445	0.09
顔面	1.073	0.736 – 1.566	0.710	0.08
胸部	1.273	1.076 – 1.506	0.006	0.18
腹部または骨盤内臓器	1.326	1.090 – 1.614	0.005	0.18
四肢または骨盤	1.178	0.982 – 1.412	0.077	0.12
体表	0.876	0.467 – 1.643	0.676	0.08

年齢、性別、搬送前治療歴、内服歴により調整した。

ER: Emergency room, SDC1: Syndecan-1, ISS: Injury severity score, Exp (β): Exponentiation of the β coefficient, CI: Confidence interval, R²: Coefficient of determination

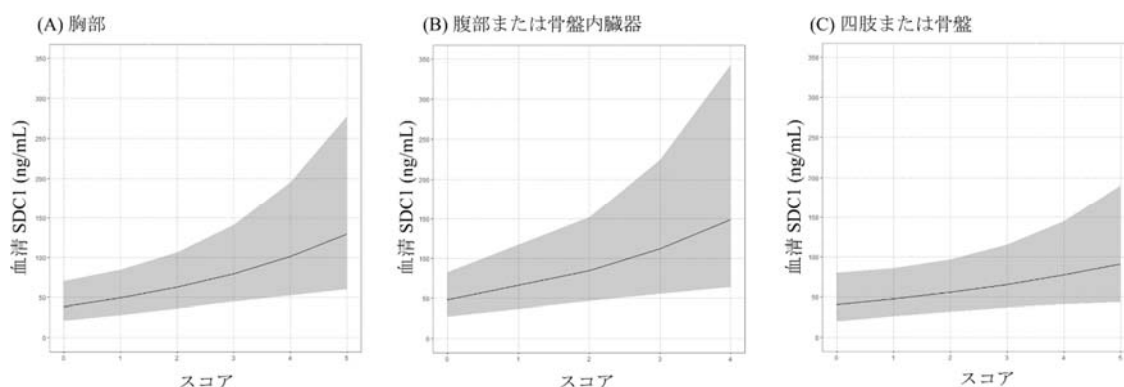


図 9 血清 SDC1 濃度と ISS 算出に用いる AIS で定義された胸部 (A)、腹部または骨盤内臓器 (B)、四肢または骨盤 (C) のスコアの関連

年齢、性別、搬送前治療歴、内服歴により調整した。

実線は中央値、灰色は 95%信頼区間を示した。

SDC1: Syndecan-1, ISS: Injury severity score, AIS: Abbreviated injury scale

3.3. 外傷患者における ER 到着時の血清 SDC1 濃度と Ps との関係

Ps の中央値は 0.9225 (IQR, 0.8134 – 0.9655) であった。年齢、性別、搬送前治療歴、内服歴による調整後の多変量線形回帰モデルにおいて、血清 SDC1 濃度の上昇は Ps の低下と有意に関連していた (Exp (β) = 0.973、95% CI = 0.960 – 0.986、 $P < 0.001$ 、R² = 0.26、表 12; 図 10)。

表 12 重症外傷患者における ER 到着時の血清 SDC1 濃度と Ps の線形回帰分析

因子	Exp (β)*	95% CI	P 値	R ²
Ps (/0.01)	0.973	0.960 – 0.986	< 0.001	0.26

年齢、性別、搬送前治療歴、内服歴により調整した。

ER: Emergency room, SDC1: Syndecan-1, Ps: Probability of survival,

Exp (β): Exponentiation of the β coefficient, CI: Confidence interval,

R²: Coefficient of determination,

* Ps の 0.01 刻みの値。

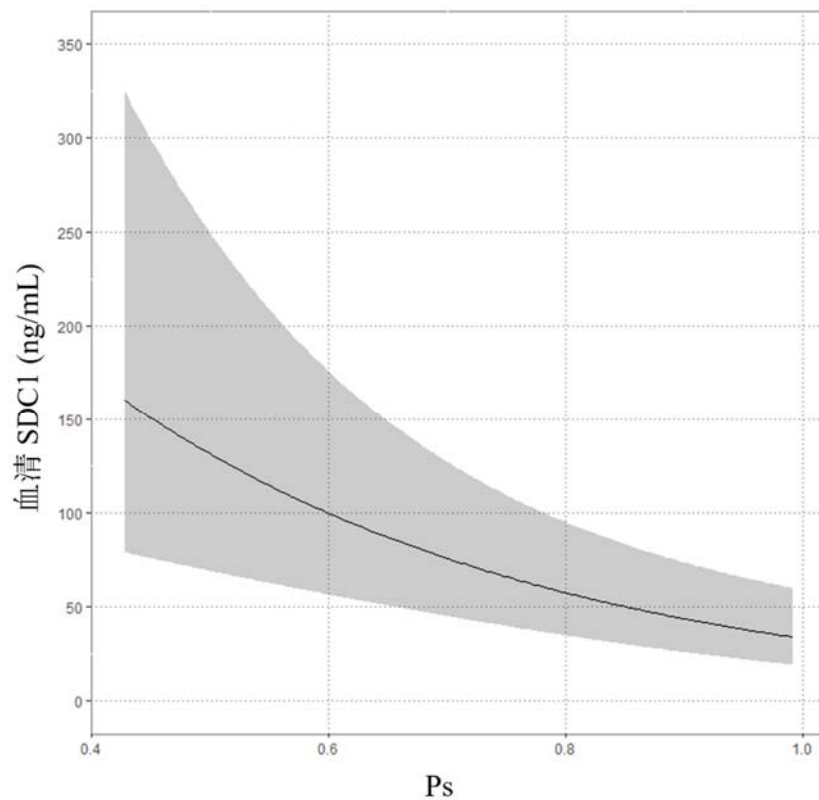


図 10 血清 SDC1 濃度と Ps の関連

年齢、性別、搬送前治療歴、内服歴により調整した。

実線は中央値、灰色は 95%信頼区間を示した。

SDC1: Syndecan-1, Ps: Probability of survival

第4節 考察

本研究では重症外傷患者において、ER 搬送時に測定した血清 SDC1 濃度と ISS が有意に関連することが明らかとなった。さらに、ISS 算出のための6つの身体部位のうち、「胸部」、「腹部または骨盤内臓器」は血清 SDC1 濃度と有意に関連し、「四肢または骨盤」は血清 SDC1 濃度と相関を示す傾向があった。また、血清 SDC1 濃度の上昇は Ps の低下と有意な相関を認めた。

血管内皮 GCX の構成成分とその機能は外傷の病態と関連しており⁽⁷⁶⁾、構成成分である SDC1 の循環血液中への脱落が、外傷の病態に関連する炎症性サイトカインやケミカルメディエーター類の産生と関連することが報告されている⁽⁶⁵⁻⁶⁷⁾。Johansson らは、血清 SDC1 濃度が高値 (≥ 63 ng/mL) の外傷患者では ISS とアドレナリン、インターロイキン (Interleukin: IL) -6、ヒストン複合 DNA 断片、High-mobility group box 1 (HMGB1)、Soluble thrombomodulin (sTM)、プロテイン C が相関したが、低値 (< 63 ng/mL) の患者では相関しないことを報告している⁽⁶⁵⁾。また、Gonzalez Rodriguez らは、鈍的外傷または貫通外傷を受けた患者において、血清 SDC1 濃度が 40 ng/mL 以上の患者では血清 SDC1 濃度が 40 ng/mL 未満の患者に比べ、外傷後 24 時間で sTM 値が約 1.5 倍高くなることを報告した⁽⁶⁶⁾。さらに、Haywood-Watson らは出血性ショックを経験した重傷患者の血清 SDC1 濃度は、IL-10 と正の相関を示し、インターフェロン (Interferon: IF) - γ 、フラクタルカイン (fractalkine)、IL-1 β と負の相関を示すことを報告した⁽⁶⁷⁾。これらの知見は血清 SDC1 濃度が外傷の病態を反映する可能性を示唆している。

血清 SDC1 濃度と ISS の関係については、外傷患者を対象とした2つの臨床研究が報告されている。Johansson らは、80 名の外傷患者を対象とした観察研究において、活性化部分トロンボプラスチン時間 (Activated partial thromboplastin time: APTT) またはプロトロンビン時間-国際標準化比 (Prothrombin time-

international normalized ratio: PT-INR) が正常基準値を超えた外傷性ショックの急性凝固障害 (Acute coagulopathy of trauma shock: ACoTS) 患者では、ACoTS を発症しなかった患者と比べて、ISS と血清 SDC1 濃度の中央値が有意に高かったことを報告しており [ISS: 34 (IQR, 30 – 43) vs. 17 (IQR, 10 – 25)、 $P < 0.001$ 、SDC1 : 62 (IQR, 34 – 107 vs. 31 (IQR, 18 – 48)、 $P = 0.013$]、本研究結果と一致している⁽⁶⁸⁾。一方、Johansson らによる 75 名の外傷患者を対象とした前向き観察研究では、血清 SDC1 濃度が高値の患者群と低値の患者群の間で ISS に有意差はなかったことが報告されている⁽⁶⁵⁾。ただし、ISS の中央値は、血清 SDC1 濃度が低値の患者群と比べて高値の患者群で高く、対象患者数が少ないことに注意すべきである [17 (IQR, 14 – 28) vs. 23 (IQR, 14 – 37)]。さらに、上記の 2 つの研究ではいずれも SDC1 濃度と ISS の関係を解析するために連続値を用いた比較は行っておらず、中央値によるグループ分けでの比較を行っており、また、中央値によるグループ分けの妥当性については言及されていない。実際に、本研究で得られた血清 SDC1 濃度と ISS スコアの中央値は、彼らの先行研究結果とは異なっていた。本研究では年齢、性別、ER 到着前治療歴、内服歴を調整した多変量回帰分析を用いて患者背景等を考慮して検討を行い、重症外傷患者の ER 到着時に測定した血清 SDC1 濃度は ISS と有意に関連することを見出した。本研究の結果は血清 SDC1 濃度が重症外傷患者における重症度評価のためのバイオマーカーとして有用である可能性を示唆している。

本研究では、ISS 算出に用いる AIS で定義された 6 つの身体部位のうち、「胸部」と「腹部または骨盤内臓器」は血清 SDC1 濃度と有意に関連し、「四肢または骨盤」は血清 SDC1 濃度と関連する傾向があることが認められた。一方、「頭頸部」、「顔面」、「体表」では血清 SDC1 濃度と関連を認めなかった。AIS で定義され各部位と血清 SDC1 濃度との関連の強さが異なる理由は不明であるが、

各部位の血管内皮の総表面積の違いや GCX の構造の違いが血清 SDC1 濃度に影響を与えることが推測された。例えば、主に外胚葉組織に分類される「頭頸部」「顔面」「体表」は血管内皮の表面積が小さく、主に内胚葉組織または中胚葉組織に分類される「胸部」「腹部または骨盤内臓器」「四肢または骨盤」は血管内皮の表面積が大きいことが知られている。実際に腹部、心臓、胸部手術が施行された患者では血清 SDC1 濃度が上昇することが報告されており、今回の研究結果と一致する⁽⁷⁷⁻⁷⁹⁾。さらに、血管内皮 GCX の構造や構成成分は臓器によって異なり、血管内皮傷害に対する感受性も異なることがモデルマウスを用いた *in vivo* 試験において報告されている^(15, 18)。脳の毛細血管の GCX 構造は心臓や肺の毛細血管の GCX 構造と異なり、非常に厚いことが知られており、さらに、LPS により全身性の血管傷害を起こしても心臓や肺の毛細血管の GCX 構造は完全に消失するものの、脳の毛細血管の GCX 構造は大部分が保持される⁽¹⁸⁾。

本研究では、外傷患者の死亡率が 3.947% (3/76 例)と低く、解析に十分な症例が得られなかったため、生存率を予測するパラメータである Ps を用いて血清 SDC1 濃度と死亡率との関連を検討した。多変量線形回帰モデルにおいて、血清 SDC1 濃度の上昇は Ps の低下と有意な相関があり、この結果は過去の報告と一致していた^(65, 67)。

本研究の限界として以下があげられる。1) 外傷の病態に関連する内皮傷害の程度と IL-6、ヒストン複合 DNA 断片、HMGB1、sTM、プロテイン C などの炎症性サイトカインおよびケミカルメディエーターとの関連を評価していない。2) SDC1 は血管内皮 GCX 以外に他の臓器にも発現しているが、本研究では臓器ごとでの SDC1 の発現は評価できていない。3) 死亡率は Ps により間接的に評価しており、直接的な死亡率は評価できなかった。4) 本研究は後方視的な観察研究であり適格基準を満たした患者の多く (143 名)で血液サンプルが不足してい

たために、血清 SDC1 濃度を測定することができず、潜在的に関連する交絡因子が見落とされた可能性がある。5) 単施設の研究でありサンプルサイズが小さいことがあげられる。

結論として、血清 SDC1 濃度は、重症外傷患者、特に「胸部」、「腹部または骨盤内臓器」「四肢または骨盤」の領域の外傷の重症度を評価するうえで、有用なバイオマーカーとなる可能性がある。また、血清 SDC1 濃度の上昇は外傷患者の予後不良のリスクファクターとなる可能性がある。今後、重症外傷患者における重症度マーカーとしての血清 SDC1 濃度の有用性を検証するためには、さらなる大規模な研究が必要である。

第3章 重症 COVID-19 症例における病態変化と血清シンデカン-1 濃度との関連に関する検討

第1節 緒言

新型コロナウイルス (Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2: SARS-CoV-2) の感染による COVID-19 は、2019 年からのパンデミックの原因となっている。2020 年までの報告では、COVID-19 患者の約 8 割は軽症のまま回復するが、残りの約 2 割の患者では酸素投与や人工呼吸器を必要とする重症化へ至るとされている^(80,81)。重症化リスクとして、高齢者、循環器系疾患、糖尿病、喫煙者、肥満、妊婦などが報告されているが、重症化を予測するための有用な指標は十分に確立されていない。

重症 COVID-19 患者の死亡原因の 1 つに、肺の血管透過性亢進により誘発される重症急性呼吸器症候群 (Acute respiratory distress syndrome: ARDS) がある⁽⁸²⁾。ARDS は、肺炎や敗血症などによる高度な炎症反応に伴うサイトカインストームを契機として、肺胞隔壁 (血管内皮、肺胞上皮) の透過性が亢進することによる肺水腫 (非心原性肺水腫) を特徴とする急性呼吸不全である⁽⁸³⁾。一方、重症 COVID-19 患者では血栓塞栓症を高率に合併していることが多数報告され、初期の血管内皮障害が血栓症を引き起こし、後に ARDS を合併することが新たに提唱されている⁽⁸⁴⁻⁸⁶⁾。

中国・武漢の病院に入院した 183 名の COVID-19 患者を調べたところ、死亡患者の 71.4% が DIC の基準を満たしていた⁽⁸⁴⁾。また、オランダの報告では、ICU に入室した 184 名のうち 70 名 (38%) に凝固障害が確認され、25 名 (13.6%) が肺塞栓症、3 名 (1.6%) が動脈塞栓症、3 名 (1.6%) が動脈塞栓症、3 名 (1.6%) が他の静脈塞栓症を合併した⁽⁸⁵⁾。さらに、米国・ニューヨークの報告では、COVID-19 で死亡した 2 名の患者の肺からは広範囲な出血性肺炎とともに血栓

が観察され、また生存した3名の患者の手のひらや足などの皮膚の内側から血栓が確認された⁽⁸⁶⁾。これらの報告から、血管内皮障害をモニタリングすることにより、COVID-19の重症化を予測できる可能性があると考えられた。

一方、内皮細胞の管腔表面を覆うGCXは微小血管に血小板が付着するのを阻害している。このGCXの構成成分であるSDC1、sP-セレクチンおよびヒアルロン酸の血漿中の濃度がCOVID-19患者において上昇していることが報告されている^(87,88)。そこで、本章ではARDSを合併したCOVID-19患者の血清SDC1濃度を経時的に測定し、COVID-19の重症化と血清SDC1濃度との関連を追究することを目的とした。

第2節 倫理的配慮

本研究は、日本政府が制定した「人を対象とする医学・医療技術の研究に関する倫理指針」に準拠して実施した。現在本邦では、症例報告には倫理的な承認は必要とされていないが、本症例報告および添付画像の公開について、患者の法的保護者から書面を用いてインフォームドコンセントを得た。

第3節 患者背景および症例経過

症例は63歳、男性、特筆すべき既往歴はなかった。38°Cの発熱があったため、近隣の総合病院を受診し、鼻咽頭ぬぐい液のSARS-CoV-2を対象とした逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (Reverse transcription polymerase chain reaction: RT-PCR) 検査が実施されたが陰性であった。症状が発現してから、6日経過しても解熱が得られなかったため、再度受診した。胸部CTで両側肺にスリガラス様陰影を認め、酸素投与無しでの経皮的動脈血酸素飽和度 (Saturation of percutaneous oxygen: SpO₂) は85%であった。鼻咽頭ぬぐい液を用いてSARS-CoV-2のLoop-

Mediated isothermal amplification (LAMP) 法による検査を行ったところ陽性であった。同日に気管挿管となり、抗ウイルス薬としてレムデシビル (Remdesivir: RDV) を初日 1回 200 mg、1日 1回点滴投与、2日目以降 1回100 mg、1日1回点滴投与、デキサメタゾン (Dexamethasone: DEX)、1回 6.6 mg、1日1回点滴投与およびヘパリンナトリウム、1日 10,000単位、24時間持続投与の投与が開始された。症状出現から8日後 (入院2日後) に、呼吸状態が悪化し、岐阜大学病院に転院となった。

岐阜大学病院のICU入室時の臨床検査所見は、ALB 2.4 g/dL、AST 27 U/L、ALT 27 U/L、CRE 0.74 mg/dL、CK 33 U/L、WBC (White blood cell) $14.67 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 、HGB (Hemoglobin) 13.7 g/dL、PLT (Platelet) $247 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 、D-dimer 2.4 $\mu\text{g/mL}$ 、FDP 3.4 $\mu\text{g/mL}$ 。吸気酸素濃度 (Fraction of inspired oxygen: FiO_2) 60%における動脈血ガス分析で、pH 7.373、酸素分圧 (Partial pressure of oxygen: PaO_2) 134 mmHg、二酸化炭素分圧 (Partial pressure of carbon dioxide: PaCO_2) 34.9 mmHg、重炭酸 (Bicarbonate ion: HCO_3^-) 19.8mmol/L、塩基過剰-(Base: BE-) 4.3 mmol/L、乳酸10 mg/dL [呼吸器設定は同期式間欠必須呼吸 (Synchronized intermittent mandatory ventilation: SIMV) モード、呼気端正圧 (Positive end-expiratory pressure: PEEP) 12 cmH₂O] であった。胸部CT (Computed tomography: CT) で両側肺にスリガラス様陰影 (図13a、赤矢印部) を認め、ARDSと診断された。前医からの継続で、RDV、1回 100 mg 1日1回点滴投与、およびDEX、1回 6.6 mg、1日1回点滴投与を継続するとともに、メシル酸ナファモスタット (Nafamostat mesylate: NAF)、1時間当たり 6.25 mgを持続点滴投与およびアンピシリン/スルバクタムを1回 3g、1日4回点滴投与で開始した。検査時の残余検体を用いて、ELISA法 (Diacclone sCD138 ELISA Kit; Diacclone, Besancon, Cedex, France) により血清SDC1濃度を測定したところ、400.5 ng/mLであった (図14)。

(A) ICU入室時



(B) ICU入室15日後



図13 ICU入室時(A)および入室15日後(B)における胸部CT画像
ICU: Intensive care unit, CT: Computed tomography

PaO₂/F_IO₂ 比は入院翌日から徐々に上昇し、2日目166、3日目173、4日目223、5日目179となり、徐々に改善を認めた。血清SDC1値も入院翌日から徐々に低下し、2日目244.6 ng/mL、3日目168.5 ng/mL、4日目194.0 ng/mL、5日目165.1 ng/mLとなり、6日目にはDEXを3.3 mg 1日1回点滴投与に減量した(図14)。

一方、D-dimerは入院翌日から日ごとに上昇が認められ、SARS-CoV-2による内皮細胞障害に伴う全身性の血栓症が考えられ、5日目からヘパリンナトリウム15,000単位/日、24時間持続投与を再開した。D-dimerは6日目にピークに達し、その後徐々に減少した(図14)。血清SDC1濃度は、6日目に612.9 ng/mLと再び上昇し、8日目まで高値を維持したが、D-dimerの低下に伴って低下した。7日目にはNAFの投与を中止した。8日目に胸部X線検査で両側肺のスリガラス様陰影の改善が認められ(データ非掲載)、DEXの投与を終了した。9日目にLAMP法によるSARS-CoV-2の検査を行ったところ陽性であったが、11日目には呼吸状態が改善し、SARS-CoV-2の伝播性も発症からの時間経過から失われていると判断し、人工呼吸器を離脱し、高流量鼻カニューラ酸素療法(High-flow nasal

cannula: HFNC)に変更した。11日目の血清SDC1濃度は、206.0 ng/mLと低下していた。

その後、誤嚥性肺炎を合併し、一時的にPaO₂/FiO₂比が低下し、CRP (C-reactive protein) やWBCの増加が認められたが(図14)、抗菌薬開始後は速やかに改善した。誤嚥性肺炎の治療中には血清SDC1値が533.6 ng/mLまで上昇を認めた。

15日目の時点でもLAMP法によるSARS-CoV-2の検査は陽性であった。15日目の胸部CTでは入院時に比べ両側肺のスリガラス様陰影の改善がみられたものの(図13b、赤矢印)、一方で、誤嚥性肺炎等のその他の肺炎の徴候がみられた(図13b、白矢印)。状態が改善したため、入院後21日目には他院へ転院となった。

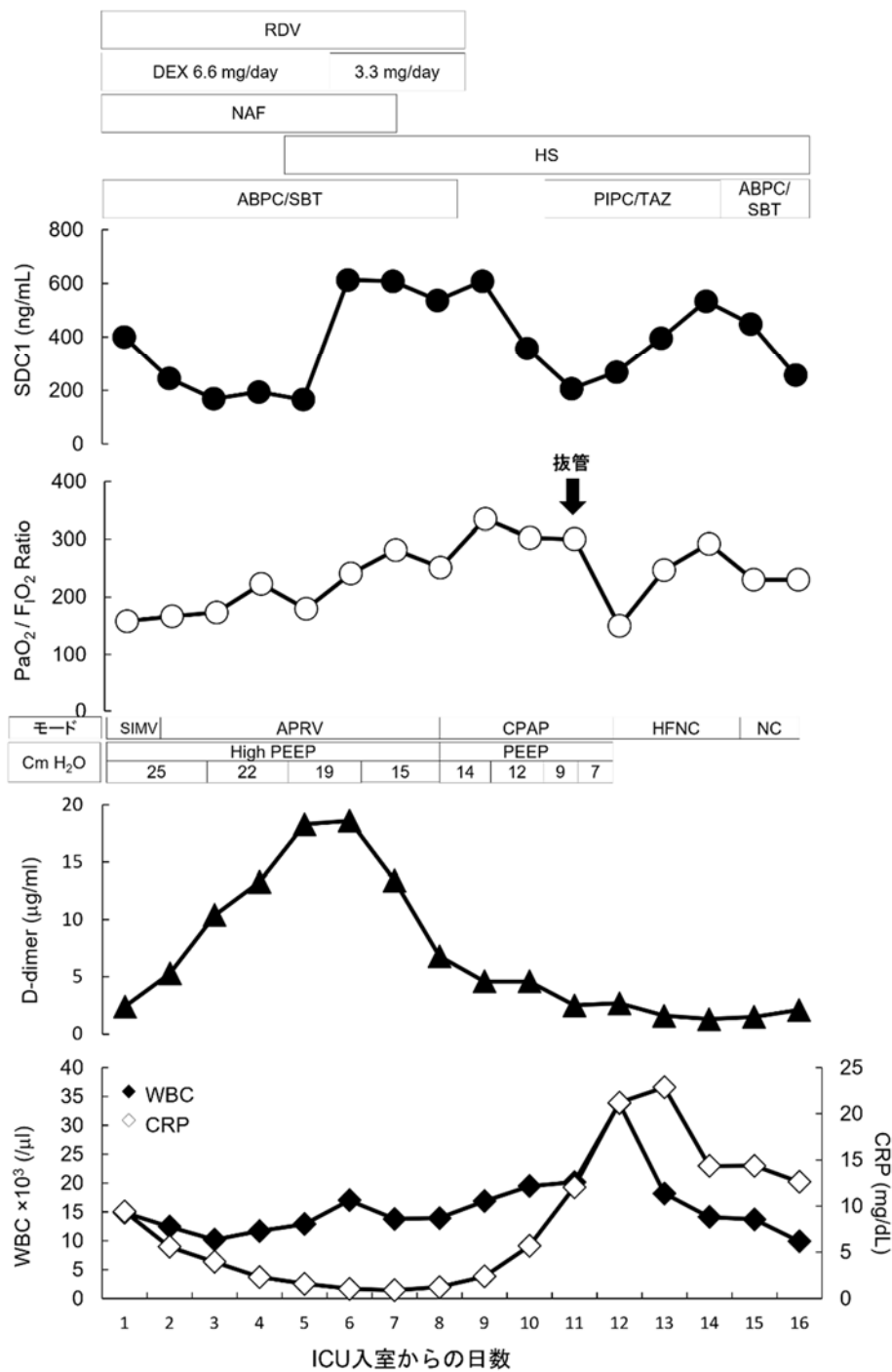


図 14 血清 SDC1 濃度、呼吸状態、炎症および凝固マーカーの経時変化

RDV: Remdesivir, DEX: Dexamethasone, NAF: Nafamostat mesylate, HS: Heparin sodium, ABPC/SBT: Ampicillin/Sulbactam, PIPC/TAZ: Piperacillin/Tazobactam, APRV: Airway pressure release ventilation, CPAP: Continuous positive airway pressure, HFNC: High-flow nasal cannula, NC: Nasal cannula, PEEP: Positive end expiratory pressure, SDC1: syndecsn-1, PaO₂/F₁O₂: Partial pressure of oxygen /Fraction of inspired oxygen, FDP: Fibrin degradation product, WBC: White blood cell, CRP: C-reactive protein, ICU: Intensive care unit

第4節 考察

SDC1はヘパラン硫酸プロテオグリカン的一种でGCXのコアタンパク質であり、SDC1の脱落は血管内皮傷害のバイオマーカーとなる^(79,89,90)。最近、2つのグループが重症COVID-19患者と血清SDC1濃度との関連について報告している^(87,91)。Fraserらは、重症COVID-19患者ではICU入室後3日目以降に血清SDC1、sP-セクレチン、ヒアルロン酸濃度が高値を示すことを報告した⁽⁸⁷⁾。一方、Hutchingsらは、重症COVID-19患者では血清SDC1濃度が健常対照者と比べて軽度上昇していたが、上昇が観察されたのは一部の患者に限定されていたことを報告している⁽⁹¹⁾。そのため、COVID-19患者と血清SDC1濃度との関連については、依然として議論の余地があった。今回、著者らは、重症COVID-19患者におけるICU入室から呼吸状態が改善するまでの血清SDC1濃度の時間経過を検討した。

本症例では、岐阜大学病院搬送時に胸部CT所見でARDSを疑う両側スリガラス様陰影を認め、血清SDC1濃度は400.5 ng/mLであった。著者らは以前に、治療歴および病歴のない健康成人78名における血清SDC1濃度の中央値は19.3 ng/mLであったことを報告した⁽²⁶⁾。本症例における搬送時の血清SDC1濃度は健康成人と比較して高値であり、前述したFraserらの報告と同様の傾向であった⁽⁸⁷⁾。またPaO₂/FiO₂比を指標とした呼吸状態の改善とともに血清SDC1濃度が徐々に低下したことも重要な知見であると考えられる。

一方、D-dimerは入院後徐々に上昇し、COVID-19に伴う凝固障害が示唆された⁽⁴⁸⁾。ヘパリンナトリウム再開後、D-dimerは6日後をピークに低下した。また、低下した血清SDC1濃度はCOVID-19に伴う血栓症による血管内皮障害に反応して再度上昇し、D-dimerが減少した後に血清SDC1濃度も減少した。こ

これらのことから、血清 SDC1 濃度は COVID-19 に伴う血管内皮障害をよく反映することが示唆された。

SARS-CoV-2 感染により、GCX が血管内皮から脱落する詳細なメカニズムは明らかになっていない。しかしながら、Fraser らはセリンプロテアーゼであるグランザイム B とエラスターゼ 2 が COVID-19 を発症した ICU 入室患者において、発症していない ICU 入室患者と比較して上昇することを報告した⁽⁸⁷⁾。重度の炎症が起こった状態では、グランザイム B とエラスターゼ 2 の上昇が血管内皮の傷害に影響を及ぼすことが明らかとなっている^(92,93)。そのため、これらのセリンプロテアーゼが GCX の脱落に関与している可能性がある。少数例の報告ではあるものの、セリンプロテアーゼ阻害剤である NFT が COVID-19 に有効であるということが数例報告されている^(94,95)。一方、SDC1 は血管内皮以外の臓器にも発現していることが確認されている。また、重要な点として、COVID-19 患者の凝固系マーカーとしての D-dimer の有用性は明らかになっていないことに留意する必要がある⁽⁴⁸⁾。

最後に、本報告は 2020 年時の症例についての 1 例報告である。その後も SARS-CoV-2 にはスパイクタンパク等の変異が報告されており、ウイルスの病原性や伝播性には変化を生じている⁽⁹⁶⁻⁹⁸⁾。COVID-19 患者における血清 SDC1 濃度の変化の影響を検討するためには、さらなる大規模な調査が必要である。

総括

多種多様な疾患を扱い、かつ病態変化が著しい救急・集中治療領域では、疾患の重症度や臓器障害等の進展を迅速かつ正確に評価することが、早期に適切な治療を開始するうえで重要である。一方、血管内皮細胞の管腔表面に存在する GCX は、血管透過性の調整等の血管内恒常性維持に寄与しているが、感染などの炎症反応により容易に障害され、SDC1 などの GCX 構成成分が循環血液中へ脱落する。本研究では、血管内皮障害が臓器障害に先んじて引き起こされることに着目し、救急・集中治療領域において、血管内皮 GCX のコア蛋白である SDC1 が疾患の重症度評価や臓器障害を早期発見するためのバイオマーカーとなるかについて、以下の 3 つの研究を実施した。

第 1 章では、血清 SDC1 濃度によって早期に検出可能な臓器障害を見出すことを目的として、ICU に入室した重症患者を対象に、各臓器障害に関わる検査値および輸液量に対する血清 SDC1 濃度の影響を検討した。その結果、血清 SDC1 濃度は、翌日の AST、ALT、T-Bil、CRE、BUN、FDP、AT III 値および輸液量と有意な関連を認め、このうち、AST、ALT、CRE、BUN 値および輸液量は、血清 SDC1 濃度によって経時的変化が有意に異なった。さらに、血清 SDC1 濃度は死亡率との有意な関連を認めた。以上より、血清 SDC1 濃度の上昇は、救急・集中治療領域において肝臓、腎臓、凝固系障害の早期検出および死亡予測のための有用なバイオマーカーとなりうることが示唆された。

第 2 章では、外傷患者の重症度マーカーとしての SDC1 の有用性を明らかにすることを目的として、救急搬送された重症外傷患者を対象に、血清 SDC1 濃度と多発外傷に対する重症度スコアである ISS との関連を検討した。その結果、

血清 SDC1 濃度は ISS と有意に関連しており、血清 SDC1 濃度の上昇は「胸部」、「腹部または骨盤内臓器」損傷と有意な関連を認め、「四肢または骨盤」損傷と関連する傾向を認めた。一方、「頭頸部」、「顔面」、「体表」損傷との関連は認められなかった。さらに、血清 SDC1 濃度の上昇は、生存率を予測する因子である Ps の低下と有意な関連があった。以上より、血清 SDC1 濃度は重症外傷患者において、特に体幹部位の外傷に対する重症度評価および死亡予測のための有用なバイオマーカーとなりうることが示唆された。

第 3 章では、救急搬送された人工呼吸器管理を要する重症 COVID-19 症例における経時的な病態変化と血清 SDC1 濃度との関連を検討した。その結果、血清 SDC1 濃度は本症例の病態変化に応じて変動し、血清 SDC1 濃度が COVID-19 の重症化予測に有用である可能性が考えられた。

以上より、本研究では血管内皮 GCX の構成成分である SDC1 が救急・集中治療領域における臓器障害や外傷、COVID-19 の重症化を予測するためのバイオマーカーとして有用である可能性を示した。また、血清 SDC1 濃度は輸液量との関連が認められたため、血清 SDC1 濃度は血管透過性亢進の指標として本領域における薬物投与設計にも応用できる可能性が考えられた。一方、血管内皮 GCX の構成成分には SDC1 以外に SDC3 や 4、ヘパラン硫酸、ヒアルロン酸、シアル酸などがあり、これらの成分は臓器等により発現の分布が異なり、また、GCX 障害時の循環血液中への脱落の程度が異なる⁽¹⁵⁾。したがって、GCX の各構成成分を組み合わせることにより、バイオマーカーとしての臓器特異性や感度をさらに向上できる可能性が考えられた。今後、本研究成果が重症患者の病態予測の向上および予後改善の一助につながることを期待される。

謝辞

本稿を纏めるのに際し、終始御懇切なるご指導ご鞭撻を賜りました岐阜薬科大学 先端医療薬学研究室 特任教授・岐阜大学医学部附属病院 薬剤部長 鈴木昭夫先生、同講師 小林亮先生に深甚なる謝意を表します。

本研究の遂行にあたり数々のご指導、ご協力をいただくとともに、本論文作成に際して、御懇切なるご指導ご鞭撻を賜りました、岐阜大学 大学院医学系研究科 救急・災害医学分野 教授 小倉真治先生、同准教授 岡田英志先生に深く感謝いたします。

本論文審査にあたり有益なご助言を賜りました岐阜薬科大学 地域医療実践薬学研究室 教授 林秀樹先生、岐阜薬科大学 薬局薬学研究室 教授 井口和弘先生、岐阜薬科大 免疫生物学研究室 教授 田中宏幸先生に深く感謝いたします。

最後に、本研究の実施にあたり、甚大なるご支援をいただきました岐阜大学 大学院医学系研究科 虐待に関する救急医学講座 特任教授 吉田省造先生、岐阜大学大学院医学系研究科 感染症寄附講座 特任教授 手塚宜行先生、同特任助教 三浦智孝先生、同大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究推進センター 助教 石原拓磨先生、同大学大学院医学系研究科 救急・災害医学分野の諸先生方、同大学医学部附属病院 高次救命治療センターの諸先生方、同薬剤部の諸先生方に深く感謝いたします。

引用文献

1. de Mendonça A, Vincent JL, Suter PM, Moreno R, Dearden NM, Antonelli M, Takala J, Sprung C, Cantraine F: Acute renal failure in the ICU: risk factors and outcome evaluated by the SOFA score. *Intensive Care Med*, 26: 915-921, 2000.
2. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall JR, Payen D: Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med*, 34: 344-353, 2006.
3. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L, Gurka D, Kumar A, Cheang M: Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*, 34: 1589-1596, 2006.
4. Peltan ID, Brown SM, Bledsoe JR, Sorensen J, Samore MH, Allen TL, Hough CL: ED Door-to-Antibiotic Time and Long-term Mortality in Sepsis. *Chest*, 155: 938-946, 2019.
5. Joffre J, Hellman J, Ince C, Ait-Oufella H: Endothelial Responses in Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*, 202: 361-370, 2020.
6. Hosein S, Udy AA, Lipman J: Physiological changes in the critically ill patient with sepsis. *Curr Pharm Biotechnol*, 12: 1991-1995, 2011.
7. Gosling P, Sanghera K, Dickson G: Generalized vascular permeability and pulmonary function in patients following serious trauma. *J Trauma*, 36: 477-481, 1994.
8. Blot SI, Pea F, Lipman J: The effect of pathophysiology on pharmacokinetics in the critically ill patient--concepts appraised by the example of antimicrobial agents. *Adv Drug Deliv Rev*, 77: 3-11, 2014.
9. Roberts JA, Lipman J: Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Crit Care Med*, 37: 840-851; quiz 859, 2009.
10. Yoshida T, Yoshida S, Okada H, Suzuki A, Niwa T, Suzuki K, Ohmori T, Kobayashi

- R, Baba H, Suzuki K, Murakami N, Itoh Y, Ogura S: Risk factors for decreased teicoplanin trough concentrations during initial dosing in critically ill patients. *Pharmazie*, 74: 120-124, 2019.
11. Yoshida S, Suzuki K, Suzuki A, Okada H, Niwa T, Kobayashi R, Murakami N, Ogura S, Itoh Y: Risk factors for the failure of treatment of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in critically ill patients. *Pharmazie*, 72: 428-432, 2017.
 12. Chelazzi C, Villa G, Mancinelli P, De Gaudio AR, Adembri C: Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability. *Crit Care*, 19: 26, 2015.
 13. Salmon AH, Satchell SC: Endothelial glycocalyx dysfunction in disease: albuminuria and increased microvascular permeability. *J Pathol*, 226: 562-574, 2012.
 14. 岡田 英志, 富田 弘之: ICU 輸液がみえるグリコカリックス×アトラス : New Strategy!超微形態生理学. メジカルビュー社, 2020.
 15. Suzuki A, Tomita H, Okada H: Form follows function: The endothelial glycocalyx. *Transl Res*, 247: 158-167, 2022.
 16. Inagawa R, Okada H, Takemura G, Suzuki K, Takada C, Yano H, Ando Y, Usui T, Hotta Y, Miyazaki N, Tsujimoto A, Zaikokuji R, Matsumoto A, Kawaguchi T, Doi T, Yoshida T, Yoshida S, Kumada K, Ushikoshi H, Toyoda I, Ogura S: Ultrastructural Alteration of Pulmonary Capillary Endothelial Glycocalyx During Endotoxemia. *Chest*, 154: 317-325, 2018.
 17. Okada H, Takemura G, Suzuki K, Oda K, Takada C, Hotta Y, Miyazaki N, Tsujimoto A, Muraki I, Ando Y, Zaikokuji R, Matsumoto A, Kitagaki H, Tamaoki Y, Usui T, Doi T, Yoshida T, Yoshida S, Ushikoshi H, Toyoda I, Ogura S: Three-dimensional ultrastructure of capillary endothelial glycocalyx under normal and experimental endotoxemic conditions. *Crit Care*, 21: 261, 2017.
 18. Ando Y, Okada H, Takemura G, Suzuki K, Takada C, Tomita H, Zaikokuji R, Hotta Y, Miyazaki N, Yano H, Muraki I, Kuroda A, Fukuda H, Kawasaki Y, Okamoto H, Kawaguchi T, Watanabe T, Doi T, Yoshida T, Ushikoshi H, Yoshida S, Ogura S:

Brain-Specific Ultrastructure of Capillary Endothelial Glycocalyx and Its Possible Contribution for Blood Brain Barrier. *Sci Rep*, 8: 17523, 2018.

19. Gondelaud F, Ricard-Blum S: Structures and interactions of syndecans. *Febs j*, 286: 2994-3007, 2019.
20. Padberg JS, Wiesinger A, di Marco GS, Reuter S, Grabner A, Kentrup D, Lukasz A, Oberleithner H, Pavenstädt H, Brand M, Kümpers P: Damage of the endothelial glycocalyx in chronic kidney disease. *Atherosclerosis*, 234: 335-343, 2014.
21. Kitagawa Y, Kawamura I, Suzuki K, Okada H, Ishihara T, Tomita H, Suzuki K, Takada C, Sampei S, Kano S, Kondo K, Asano H, Wakayama Y, Kamidani R, Kawasaki Y, Fukuda H, Nishio A, Miyake T, Fukuta T, Yasuda R, Oiwa H, Kakino Y, Miyazaki N, Watanabe T, Yoshida T, Doi T, Suzuki A, Yoshida S, Matsuo H, Ogura S: Serum syndecan-1 concentration in hospitalized patients with heart failure may predict readmission-free survival. *PLoS One*, 16: e0260350, 2021.
22. Wang JB, Guan J, Shen J, Zhou L, Zhang YJ, Si YF, Yang L, Jian XH, Sheng Y: Insulin increases shedding of syndecan-1 in the serum of patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*, 86: 83-88, 2009.
23. Wang JB, Zhang YJ, Zhang Y, Guan J, Chen LY, Fu CH, Du HJ, Sheng Y, Zhou L, Si YF, Zhang Y: Negative correlation between serum syndecan-1 and apolipoprotein A1 in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol*, 50: 111-115, 2013.
24. Neves FM, Meneses GC, Sousa NE, Menezes RR, Parahyba MC, Martins AM, Libório AB: Syndecan-1 in Acute Decompensated Heart Failure--Association With Renal Function and Mortality. *Circ J*, 79: 1511-1519, 2015.
25. Kusuzawa K, Suzuki K, Okada H, Suzuki K, Takada C, Nagaya S, Yasuda R, Okamoto H, Ishihara T, Tomita H, Kawasaki Y, Minamiyama T, Nishio A, Fukuda H, Shimada T, Tamaoki Y, Yoshida T, Nakashima Y, Chiba N, Yoshimura G, Kamidani R, Miura T, Oiwa H, Yamaji F, Mizuno Y, Miyake T, Kitagawa Y, Fukuta T, Doi T, Suzuki A, Yoshida T, Tetsuka N, Yoshida S, Ogura S: Measuring the Concentration of Serum Syndecan-1 to Assess Vascular Endothelial Glycocalyx Injury During Hemodialysis. *Front Med (Lausanne)*, 8: 791309, 2021.

26. 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, Kitagawa Y, Okamoto H, Watanabe T, Kawaguchi T, Kojima T, Deguchi F, Miyazaki N, Yamada N, Doi T, Yoshida T, Ushikoshi H, Yoshida S, Takemura G, Ogura S: Factors Enhancing Serum Syndecan-1 Concentrations: A Large-Scale Comprehensive Medical Examination. *J Clin Med*, 8, 2019.
27. Sallisalimi M, Tenhunen J, Yang R, Oksala N, Pettilä V: Vascular adhesion protein-1 and syndecan-1 in septic shock. *Acta Anaesthesiol Scand*, 56: 316-322, 2012.
28. Puskarich MA, Cornelius DC, Tharp J, Nandi U, Jones AE: Plasma syndecan-1 levels identify a cohort of patients with severe sepsis at high risk for intubation after large-volume intravenous fluid resuscitation. *J Crit Care*, 36: 125-129, 2016.
29. Luft JH: Fine structures of capillary and endocapillary layer as revealed by ruthenium red. *Fed Proc*, 25: 1773-1783, 1966.
30. Paulus P, Jennewein C, Zacharowski K: Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis? *Biomarkers*, 16 Suppl 1: S11-21, 2011.
31. Li L, Ly M, Linhardt RJ: Proteoglycan sequence. *Mol Biosyst*, 8: 1613-1625, 2012.
32. Woodcock TE, Woodcock TM: Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy. *Br J Anaesth*, 108: 384-394, 2012.
33. Frati-Munari AC: [Medical significance of endothelial glycocalyx]. *Arch Cardiol Mex*, 83: 303-312, 2013.
34. Lee WL, Slutsky AS: Sepsis and endothelial permeability. *N Engl J Med*, 363: 689-691, 2010.
35. Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, van Zandvoort MA, oude Egbrink MG: The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch*,

454: 345-359, 2007.

36. Schmidt EP, Yang Y, Janssen WJ, Gandjeva A, Perez MJ, Barthel L, Zemans RL, Bowman JC, Koyanagi DE, Yunt ZX, Smith LP, Cheng SS, Overdier KH, Thompson KR, Geraci MW, Douglas IS, Pearse DB, Tudor RM: The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. *Nat Med*, 18: 1217-1223, 2012.
37. Schmidt EP, Li G, Li L, Fu L, Yang Y, Overdier KH, Douglas IS, Linhardt RJ: The circulating glycosaminoglycan signature of respiratory failure in critically ill adults. *J Biol Chem*, 289: 8194-8202, 2014.
38. Johansson PI, Haase N, Perner A, Ostrowski SR: Association between sympathoadrenal activation, fibrinolysis, and endothelial damage in septic patients: a prospective study. *J Crit Care*, 29: 327-333, 2014.
39. Anand D, Ray S, Srivastava LM, Bhargava S: Evolution of serum hyaluronan and syndecan levels in prognosis of sepsis patients. *Clin Biochem*, 49: 768-776, 2016.
40. Ostrowski SR, Gaïni S, Pedersen C, Johansson PI: Sympathoadrenal activation and endothelial damage in patients with varying degrees of acute infectious disease: an observational study. *J Crit Care*, 30: 90-96, 2015.
41. Ostrowski SR, Haase N, Müller RB, Møller MH, Pott FC, Perner A, Johansson PI: Association between biomarkers of endothelial injury and hypocoagulability in patients with severe sepsis: a prospective study. *Crit Care*, 19: 191, 2015.
42. Benjamini Y, Hochberg Y: Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)*, 57: 289-300, 1995.
43. Team RC: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>, 2020.
44. Rickham PP: HUMAN EXPERIMENTATION. CODE OF ETHICS OF THE WORLD MEDICAL ASSOCIATION. DECLARATION OF HELSINKI. *Br Med J*,

2: 177, 1964.

45. Nelson A, Berkestedt I, Bodelsson M: Circulating glycosaminoglycan species in septic shock. *Acta Anaesthesiol Scand*, 58: 36-43, 2014.
46. Schmidt EP, Overdier KH, Sun X, Lin L, Liu X, Yang Y, Ammons LA, Hiller TD, Suflita MA, Yu Y, Chen Y, Zhang F, Cothren Burlew C, Edelstein CL, Douglas IS, Linhardt RJ: Urinary Glycosaminoglycans Predict Outcomes in Septic Shock and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 194: 439-449, 2016.
47. 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: Neutrophil Elastase Inhibition Ameliorates Endotoxin-induced Myocardial Injury Accompanying Degradation of Cardiac Capillary Glycocalyx. *Shock*, 54: 386-393, 2020.
48. Okada H, Yoshida S, Hara A, Ogura S, Tomita H: Vascular endothelial injury exacerbates coronavirus disease 2019: The role of endothelial glycocalyx protection. *Microcirculation*, 28: e12654, 2021.
49. Libório AB, Braz MB, Seguro AC, Meneses GC, Neves FM, Pedrosa DC, Cavalcanti LP, Martins AM, Daher Ede F: Endothelial glycocalyx damage is associated with leptospirosis acute kidney injury. *Am J Trop Med Hyg*, 92: 611-616, 2015.
50. Ballas SK: Lactate dehydrogenase and hemolysis in sickle cell disease. *Blood*, 121: 243-244, 2013.
51. Riske L, Thomas RK, Baker GB, Dursun SM: Lactate in the brain: an update on its relevance to brain energy, neurons, glia and panic disorder. *Ther Adv Psychopharmacol*, 7: 85-89, 2017.
52. Jordan RE, Kilpatrick J, Nelson RM: Heparin promotes the inactivation of antithrombin by neutrophil elastase. *Science*, 237: 777-779, 1987.

53. Seitz R, Wolf M, Egbring R, Havemann K: The disturbance of hemostasis in septic shock: role of neutrophil elastase and thrombin, effects of antithrombin III and plasma substitution. *Eur J Haematol*, 43: 22-28, 1989.
54. Ikeda M, Matsumoto H, Ogura H, Hirose T, Shimizu K, Yamamoto K, Maruyama I, Shimazu T: Circulating syndecan-1 predicts the development of disseminated intravascular coagulation in patients with sepsis. *J Crit Care*, 43: 48-53, 2018.
55. Sakran JV, Greer SE, Werlin E, McCunn M: Care of the injured worldwide: trauma still the neglected disease of modern society. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*, 20: 64, 2012.
56. Holcomb JB, del Junco DJ, Fox EE, Wade CE, Cohen MJ, Schreiber MA, Alarcon LH, Bai Y, Brasel KJ, Bulger EM, Cotton BA, Matijevic N, Muskat P, Myers JG, Phelan HA, White CE, Zhang J, Rahbar MH: The prospective, observational, multicenter, major trauma transfusion (PROMMTT) study: comparative effectiveness of a time-varying treatment with competing risks. *JAMA Surg*, 148: 127-136, 2013.
57. Gennarelli TA, Wodzin E: Abbreviated injury scale 2005: update 2008. *Russ Reeder*, 200, 2008.
58. Baker SP, O'Neill B, Haddon W, Jr., Long WB: The injury severity score: a method for describing patients with multiple injuries and evaluating emergency care. *J Trauma*, 14: 187-196, 1974.
59. Baker SP, O'Neill B: The injury severity score: an update. *J Trauma*, 16: 882-885, 1976.
60. Champion HR, Sacco WJ, Copes WS, Gann DS, Gennarelli TA, Flanagan ME: A revision of the Trauma Score. *J Trauma*, 29: 623-629, 1989.
61. Boyd CR, Tolson MA, Copes WS: Evaluating trauma care: the TRISS method. Trauma Score and the Injury Severity Score. *J Trauma*, 27: 370-378, 1987.
62. Champion HR, Copes WS, Sacco WJ, Lawnick MM, Keast SL, Bain LW, Jr.,

- Flanagan ME, Frey CF: The Major Trauma Outcome Study: establishing national norms for trauma care. *J Trauma*, 30: 1356-1365, 1990.
63. Lavoie A, Moore L, LeSage N, Liberman M, Sampalis JS: The Injury Severity Score or the New Injury Severity Score for predicting intensive care unit admission and hospital length of stay? *Injury*, 36: 477-483, 2005.
 64. Lord JM, Midwinter MJ, Chen YF, Belli A, Brohi K, Kovacs EJ, Koenderman L, Kubes P, Lilford RJ: The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment. *Lancet*, 384: 1455-1465, 2014.
 65. Johansson PI, Stensballe J, Rasmussen LS, Ostrowski SR: A high admission syndecan-1 level, a marker of endothelial glycocalyx degradation, is associated with inflammation, protein C depletion, fibrinolysis, and increased mortality in trauma patients. *Ann Surg*, 254: 194-200, 2011.
 66. Gonzalez Rodriguez E, Ostrowski SR, Cardenas JC, Baer LA, Tomasek JS, Henriksen HH, Stensballe J, Cotton BA, Holcomb JB, Johansson PI, Wade CE: Syndecan-1: A Quantitative Marker for the Endotheliopathy of Trauma. *J Am Coll Surg*, 225: 419-427, 2017.
 67. Haywood-Watson RJ, Holcomb JB, Gonzalez EA, Peng Z, Pati S, Park PW, Wang W, Zaske AM, Menge T, Kozar RA: Modulation of syndecan-1 shedding after hemorrhagic shock and resuscitation. *PLoS One*, 6: e23530, 2011.
 68. Johansson PI, Sørensen AM, Perner A, Welling KL, Wanscher M, Larsen CF, Ostrowski SR: Disseminated intravascular coagulation or acute coagulopathy of trauma shock early after trauma? An observational study. *Crit Care*, 15: R272, 2011.
 69. Walker SC, Richter RP, Zheng L, Ashtekar AR, Jansen JO, Kerby JD, Richter JR: Increased Plasma Hyaluronan Levels are Associated With Acute Traumatic Coagulopathy. *Shock*, 57: 113-117, 2022.
 70. Bruijns SR, Guly HR, Bouamra O, Lecky F, Lee WA: The value of traditional vital signs, shock index, and age-based markers in predicting trauma mortality. *J Trauma Acute Care Surg*, 74: 1432-1437, 2013.

71. van Teeffelen J, Jansen C, Spaan J, Vink H: Gender difference in systemic glycocalyx volume in mice. *The FASEB Journal*, 21: A491-A491, 2007.
72. Magnotti LJ, Fischer PE, Zarzaur BL, Fabian TC, Croce MA: Impact of gender on outcomes after blunt injury: a definitive analysis of more than 36,000 trauma patients. *J Am Coll Surg*, 206: 984-991; discussion 991-982, 2008.
73. Chappell D, Bruegger D, Potzel J, Jacob M, Brettner F, Vogeser M, Conzen P, Becker BF, Rehm M: Hypervolemia increases release of atrial natriuretic peptide and shedding of the endothelial glycocalyx. *Crit Care*, 18: 538, 2014.
74. Francesco V, Roberto B, Giulia C, Piero CS, Michele A, Andrea S, Osvaldo C, Stefania C: All elderly are fragile, but some are more fragile than others: an epidemiological study from one of the busiest trauma centers in Italy. *Updates Surg*, 74: 1977-1983, 2022.
75. Kerschbaum M, Lang S, Henssler L, Ernstberger A, Alt V, Pfeifer C, Worlicek M, Popp D: Influence of Oral Anticoagulation and Antiplatelet Drugs on Outcome of Elderly Severely Injured Patients. *J Clin Med*, 10, 2021.
76. Chignalia AZ, Yetimakman F, Christiaans SC, Unal S, Bayrakci B, Wagener BM, Russell RT, Kerby JD, Pittet JF, Dull RO: THE GLYCOCALYX AND TRAUMA: A REVIEW. *Shock*, 45: 338-348, 2016.
77. Pesonen E, Passov A, Andersson S, Suojaranta R, Niemi T, Raivio P, Salmenperä M, Schramko A: Glycocalyx Degradation and Inflammation in Cardiac Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 33: 341-345, 2019.
78. Pustetto M, Goldsztejn N, Touihri K, Engelman E, Ickx B, Van Obbergh L: Intravenous lidocaine to prevent endothelial dysfunction after major abdominal surgery: a randomized controlled pilot trial. *BMC Anesthesiol*, 20: 155, 2020.
79. Arthur A, McCall PJ, Jolly L, Kinsella J, Kirk A, Shelley BG: Endothelial glycocalyx layer shedding following lung resection. *Biomark Med*, 10: 1033-1038, 2016.

80. Kutsuna S: Coronavirus disease 2019 (COVID-19): research progress and clinical practice. *Glob Health Med*, 2: 78-88, 2020.
81. Pons S, Fodil S, Azoulay E, Zafrani L: The vascular endothelium: the cornerstone of organ dysfunction in severe SARS-CoV-2 infection. *Crit Care*, 24: 353, 2020.
82. Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, Duan G: Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses*, 12, 2020.
83. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, Arabi YM, Beitler JR, Mercat A, Herridge M, Randolph AG, Calfee CS: Acute respiratory distress syndrome. *Nat Rev Dis Primers*, 5: 18, 2019.
84. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z: Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*, 18: 844-847, 2020.
85. Klok FA, Kruip M, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers D, Kant KM, Kaptein FHJ, van Paassen J, Stals MAM, Huisman MV, Endeman H: Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*, 191: 145-147, 2020.
86. Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, Nuovo G, Salvatore S, Harp J, Baxter-Stoltzfus A, Laurence J: Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases. *Transl Res*, 220: 1-13, 2020.
87. Fraser DD, Patterson EK, Slessarev M, Gill SE, Martin C, Daley M, Miller MR, Patel MA, Dos Santos CC, Bosma KJ, O'Gorman DB, Cepinskas G: Endothelial Injury and Glycocalyx Degradation in Critically Ill Coronavirus Disease 2019 Patients: Implications for Microvascular Platelet Aggregation. *Crit Care Explor*, 2: e0194, 2020.
88. Stahl K, Gronski PA, Kiyan Y, Seeliger B, Bertram A, Pape T, Welte T, Hoepfer MM, Haller H, David S: Injury to the Endothelial Glycocalyx in Critically Ill Patients with

- COVID-19. *Am J Respir Crit Care Med*, 202: 1178-1181, 2020.
89. Rehm M, Bruegger D, Christ F, Conzen P, Thiel M, Jacob M, Chappell D, Stoeckelhuber M, Welsch U, Reichart B, Peter K, Becker BF: Shedding of the endothelial glycocalyx in patients undergoing major vascular surgery with global and regional ischemia. *Circulation*, 116: 1896-1906, 2007.
 90. Murphy LS, Wickersham N, McNeil JB, Shaver CM, May AK, Bastarache JA, Ware LB: Endothelial glycocalyx degradation is more severe in patients with non-pulmonary sepsis compared to pulmonary sepsis and associates with risk of ARDS and other organ dysfunction. *Ann Intensive Care*, 7: 102, 2017.
 91. Hutchings SD, Watchorn J, Trovato F, Napoli S, Mujib SF, Hopkins P, McPhail M: Microcirculatory, Endothelial, and Inflammatory Responses in Critically Ill Patients With COVID-19 Are Distinct From Those Seen in Septic Shock: *A Case Control Study*. *Shock*, 55: 752-758, 2021.
 92. Omoto Y, Yamanaka K, Tokime K, Kitano S, Kakeda M, Akeda T, Kurokawa I, Gabazza EC, Tsutsui H, Katayama N, Yamanishi K, Nakanishi K, Mizutani H: Granzyme B is a novel interleukin-18 converting enzyme. *J Dermatol Sci*, 59: 129-135, 2010.
 93. 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: Neutrophil Elastase Damages the Pulmonary Endothelial Glycocalyx in Lipopolysaccharide-Induced Experimental Endotoxemia. *Am J Pathol*, 189: 1526-1535, 2019.
 94. Doi K, Ikeda M, Hayase N, Moriya K, Morimura N: Nafamostat mesylate treatment in combination with favipiravir for patients critically ill with Covid-19: a case series. *Crit Care*, 24: 392, 2020.
 95. Jang S, Rhee JY: Three cases of treatment with nafamostat in elderly patients with COVID-19 pneumonia who need oxygen therapy. *Int J Infect Dis*, 96: 500-502, 2020.

96. Hardy M, Lecompte T, Douxfils J, Lessire S, Dogné JM, Chatelain B, Testa S, Gouin-Thibault I, Gruel Y, Medcalf RL, Ten Cate H, Lippi G, Mullier F: Management of the thrombotic risk associated with COVID-19: guidance for the hemostasis laboratory. *Thromb J*, 18: 17, 2020.
97. Omar AMS, Hernandez N, Ronderos Botero DM, Delacruz A, Doppalapudi S, Itare V, Shin D, Mahasamudram J, Pandey N, Allena N, Sud K, Chilimuri S, Bella JN: Association between right ventricular dysfunction and in-hospital mortality in surges of SARS-CoV-2 infection attributed to the Alpha, Delta, and Omicron variants. *Int J Cardiol Heart Vasc*, 43: 101150, 2022.
98. Souza PFN, Mesquita FP, Amaral JL, Landim PGC, Lima KRP, Costa MB, Farias IR, Belém MO, Pinto YO, Moreira HHT, Magalhaes ICL, Castelo-Branco D, Montenegro RC, de Andrade CR: The spike glycoprotein of SARS-CoV-2: A review of how mutations of spike glycoproteins have driven the emergence of variants with high transmissibility and immune escape. *Int J Biol Macromol*, 208: 105-125, 2022.