

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11587

研究課題名(和文) 虚血再灌流起因の急性腎障害に対する水素の予防および治療効果の検討

研究課題名(英文) The prevention and therapeutic effects of hydrogen on acute kidney injury due to ischemia-reperfusion injury

研究代表者

根木 茂雄 (NEGI, SHIGEO)

和歌山県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20208284

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：虚血再灌流(ischemia-reperfusion injury: IRI)による急性腎障害(AKI)に対して水素がAKIを予防・軽減することができるのか、そのメカニズムを解明することが本研究の目的であった。IRI起因のAKIモデルラットを水素を投与する群(水素投与群)と投与しない群(コントロール群)に2群に分けて、IRI前、24時間後、48時間後、72時間後、7日後のクレアチン値、尿素窒素(BUN)値を測定した。Cr値、BUN値とも水素投与群がコントロール群に比し、有意にピーク値(24時間)が高く、水素によるAKIに対する腎障害の軽減効果は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水素によるAKIの予防効果や腎障害に対する軽減効果が証明できれば、臨床において水素を用いてAKIの予防やAKIを発症した患者に対して治療薬として使用できる可能性があり、予後改善が認められないAKI症例の予後改善につながることを期待できた。しかしながら、今回の検討では水素によるAKIにおける腎障害の軽減効果は認められず、水素をAKI患者の治療薬として使用することはできないと結論できる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the mechanism that hydrogen can prevent and ameliorate AKI in AKI due to ischemia-reperfusion injury (IRI). IRI-induced AKI model rats were divided into two groups, a hydrogen-administered group and a non-hydrogen-administered group (control group). Before IRI, 24 hours, 48 hours, 72 hours, and 7 days after IRI, creatine (Cr) level and blood urea nitrogen (BUN) level were measured. Both peak Cr and BUN values were significantly higher in the hydrogen-administered group than in the control group (24 hours). The protective effect of hydrogen against IRI-induced AKI was not observed.

研究分野：腎臓内科

キーワード：急性腎障害 水素 虚血再灌流 ラット

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

急性腎障害 (AKI) は高齢化や患者背景 (糖尿病, 慢性腎臓病, 心血管系合併症) の多様化などから年々増加の一途をたどっている。AKI は入院患者, とくに救急医療の現場においては最も一般的で重篤な合併症のひとつである。これほど医療技術が進歩した現代においても AKI の予後はここ十数年来改善されたとはいえない<sup>1)</sup>。それは AKI に対する根本治療が確立されていないことが一番の要因といえる。唯一の治療法である腎代替療法も補助療法に過ぎず, 根本的治療法とは言えない。これまで培養細胞や AKI の動物モデルを用いて研究がなされているが, 未だ多くも基礎研究によっても AKI の詳細な病態と生体防御機構に不明な点が多く, AKI に対する新規治療法の開発にはつながっていない。

### 2. 研究の目的

水素は不活性で機能を有しない分子とこれまで考えられていたが, 近年, 抗酸化作用, 抗炎症作用, 抗アポトーシス作用, 脂質代謝改善作用などさまざまな効果を有することがいくつかの報告で知られるようになってきた。また, 水素には活性酸素種 (ROS) を除去する作用のあることが報告され<sup>2)</sup>, 脳梗塞や心筋梗塞の際に虚血再灌流傷害 (ischemia-reperfusion injury: IRI) を水素が軽減することが多くの報告で証明されている。しかしながら, AKI の動物モデルである IRI モデルにおいて水素が AKI を予防・軽減するのを実証した報告は多くない<sup>3)</sup>。本研究は IRI ラットを用いて, 1) 水素が IRI に起因する AKI を予防・軽減するかどうかを証明し, 2) そのメカニズムを解明することが目的である。また AKI は末期腎不全 (ESRD) 進展へのリスクファクターであることが知られており, AKI から ESRD へ進展するモデルを確立するとともに, ESRD への進展を水素が抑制するかどうか検討することも本研究の目的である。

### 3. 研究の方法

(1) 8~10 週令のラットを用い, まず IRI に起因する AKI モデルを作成する。AKI モデル作成する際に使用する麻酔に関してはイソフルランを使用した。しかしながら, イソフルランには腎障害の軽減効果があるとの報告<sup>4)</sup>があったため, まずそれを検証するための実験を行った。右腎を摘出後に左腎動脈の阻血 (50 分) 後再灌流施行し, IRI 起因の AKI モデルラットを作成する。麻酔をイソフルランと 3 種混合麻酔薬 (塩酸メドミジン, ミタゾラム, 酒石酸プトルファンール) を使用する 2 群に分類して阻血前, 再灌流 24 時間後, 48 時間後, 72 時間後, 7 日後の血清クレアチニン (Cr), 尿素窒素 (BUN) 濃度を測定した。

(2) IRI 起因する AKI モデルを作成して, 水素投与群と水素投与しない群 (コントロール群) にわけ, 阻血前, 再灌流 24 時間後, 48 時間後, 72 時間後, 7 日後の血清クレアチニン (Cr), 尿素窒素 (BUN) 濃度を測定した。水素は阻血前 2 時間, 阻血後 2 時間投与した。

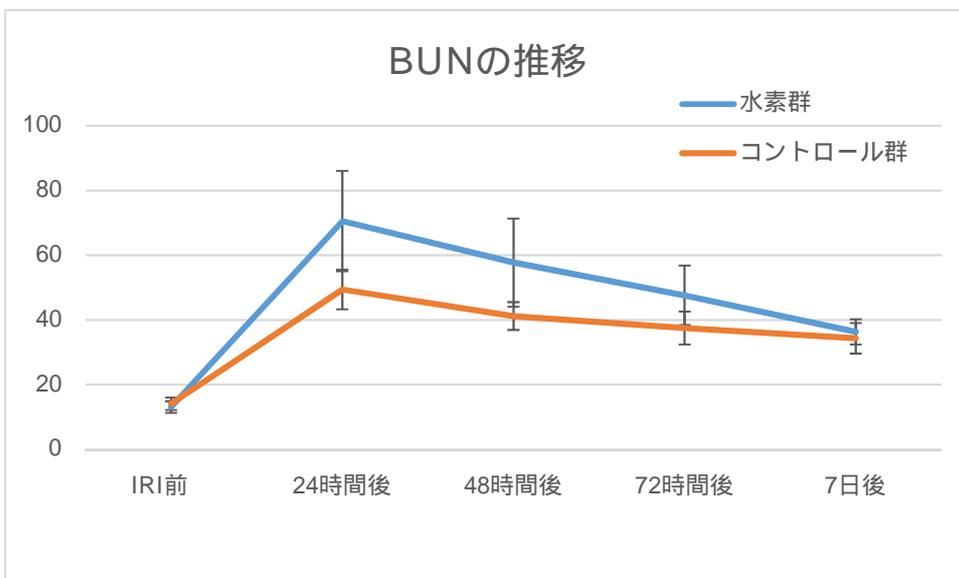
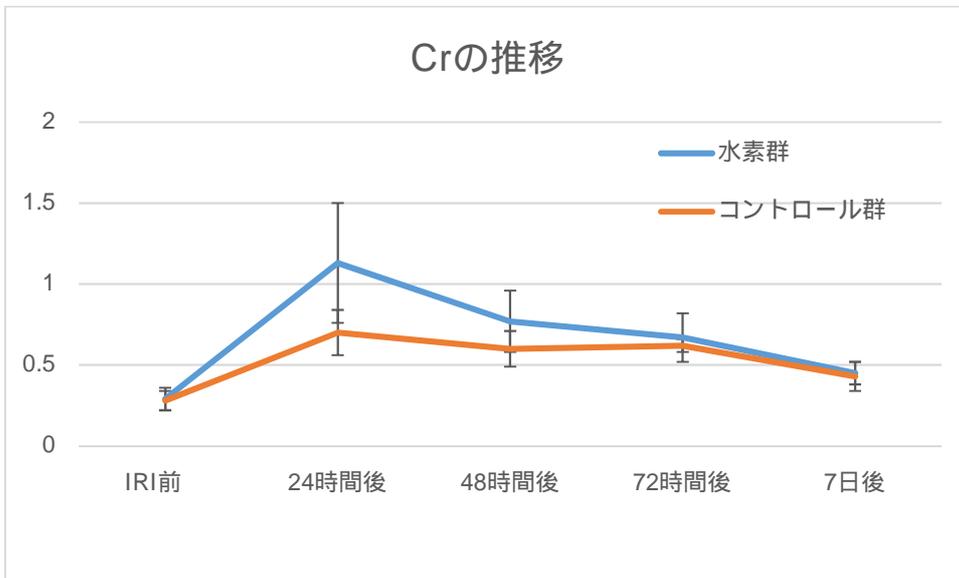
### 4. 研究成果

(1) イソフルラン麻酔群 (n=5), 3 種混合麻酔群 (n=5) で血清 Cr 値, BUN 値は阻血前, 再灌流 24 時間後, 48 時間後, 72 時間後, 7 日後はそれぞれ以下の通りであった。

	IRI 前	再灌流 24 時間 後	48 時間後	72 時間後	7 日後
Cr 値 (mg/dL)					
イソフルラン	0.32 ± 0.08	0.9 ± 0.25	0.60 ± 0.25	0.67 ± 0.06	0.43 ± 0.06
3 種混合	0.84 ± 0.23	0.84 ± 0.23	0.64 ± 0.17	0.67 ± 0.06	0.47 ± 0.15
BUN (mg/dL)					
イソフルラン	15.1 ± 2.4	39.2 ± 7.7	28.9 ± 6.0	27.7 ± 4.9	24.7 ± 4.7
3 種混合	15.6 ± 1.2	38.1 ± 14.4	28.8 ± 9.0	26.6 ± 2.5	22.9 ± 1.7

ピーク値はそれぞれ, 再灌流 24 時間後であり, イソフルラン麻酔群, 3 種混合麻酔群, 両群で Cr, BUN 値とも有意差は認めなかった。以上の結果よりイソフルランの腎障害軽減効果はないものと判断した。

(2) 水素投与群がコントロール群に比し, ピーク値 (24 時間後) は Cr 値, BUN 値とも有意 ( $p < 0.05$ ) に高値であった。Cr 値 (24 時間後) 水素投与群:  $1.13 \pm 0.37$  mg/dL, コントロール群  $0.7 \pm 0.14$  mg/dL, BUN 値 (24 時間後) 水素投与群:  $70.5 \pm 15.5$  mg/dL, コントロール群  $49.4 \pm 6.1$  mg/dL。また, BUN 値に関しては水素投与群が 48 時間後, 72 時間後においても有意に ( $p < 0.05$ ) に高値を呈した。48 時間後: 水素投与群  $57.7 \pm 13.6$  mg/dL, コントロール群  $41.2 \pm 4.3$  mg/dL, 72 時間後: 水素投与群  $47.6 \pm 9.2$  mg/dL, コントロール群  $37.5 \pm 5.1$  mg/dL。



(3)IRI 起因する AKI モデルラットにおいては水素投与群でコントロール群に比し、ピーク(24時間後) Cr 値, BUN 値は有意に高値であり,水素が IRI 起因する AKI モデルラットにおいて腎障害の軽減効果はあるとは本検討において結論づけることはできなかった。したがって, 予定していた水素の腎障害軽減効果のメカニズム解明の実験や, 水素が AKI から ESRD への移行を抑制するかどうかの実験を続行することを断念した。

#### 引用文献

- 1) Susantitaphong P, Cruz DN, Cerda J, et al. World incidence of AKI: a meta-analysis. Clin J Am Soc Nephrol 8:1482-93, 2013
- 2) Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. Nat Med 13: 688-94, 2007
- 3) Han SJ, Kim JI, Park JW, et al. Hydrogen sulfide accelerates the recovery of kidney tubules after renal ischemia/reperfusion injury. Nephrol Dial Transplant 30: 1497-506, 2015
- 4) Lee HT, Ota-Stetlik A, Fu Y, et al. Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia-reperfusion injury in vivo. Anesthesiology 101: 1313-24, 2004

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	重松 隆  (SHIGEMATSU TAKASHI)  (30187348)	和歌山県立医科大学・医学部・教授    (24701)	