

令和 3 年 5 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09193

研究課題名(和文) ラット腎移植モデルにおけるシリコンナノ粒子を用いた新規水素発生法の治療効果

研究課題名(英文) Efficacy of novel hydrogen generation using Si nanopowder in rat renal transplantation model

研究代表者

阿部 豊文 (ABE, TOYOFUMI)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：90750894

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：腎移植において虚血再灌流障害は不可避である。採取された臓器が移植され酸素化された血液が再灌流する際に活性酸素が過剰に産生され、細胞傷害、マクロファージやリンパ球の活性化、炎症性サイトカインの産生が引き起こされる。この虚血再灌流障害は移植後の急性拒絶反応や慢性拒絶反応にも影響を与える。水素はヒドロキシラジカルに反応し水に変換することで抗酸化作用を発揮する。またナノサイズ化されたシリコン粒子を弱アルカリ性の水に加えると水素を発生する。ラット異系腎移植モデルにおいて、シリコンナノ粒子を経口摂取することで血中の水素濃度が上昇し、酸化ストレスが軽減され拒絶反応の進展が抑制されることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水素の特徴として非常に拡散しやすいことから貯蔵と運搬方法が問題となっていた。また従来の電気分解方式では専用のサーバーが必要で持ち運びが困難である。我々が考案したシリコンナノ粒子を経口摂取する新規水素投与方法は、簡便で確実に体内の水素濃度を高めることが可能である。臓器移植における虚血再灌流障害、拒絶反応を抑制しうる新たな治療法として期待されるとともに、酸化ストレスが関与する様々な病態においても応用が可能である。

研究成果の概要(英文)：Renal ischemia-reperfusion (I/R) injury is unavoidable in kidney transplantation. An imbalance in metabolic supply and demand within the ischemic organ results in profound tissue hypoxia and microvascular dysfunction. Subsequent reperfusion generates cytotoxic oxygen radicals, and enhances the activation of acute and chronic immune responses. Hydrogen gas has been reported to display antioxidant properties and protective effects against organ dysfunction induced by various I/R injuries. Si nanopowder easily reacts with water in the pH range between 7.0 and 8.6 and generate hydrogen. We revealed that oral administration of Si nanopowder generated hydrogen, and attenuated oxidative stress and immune responses in rat kidney allografts after transplantation.

研究分野：腎移植

キーワード：腎移植 シリコン 水素 酸化ストレス 拒絶反応 ラット

1. 研究開始当初の背景

腎移植は末期腎不全における最良の腎代替療法である。臓器移植においてドナーから摘出された臓器は酸素供給がなくなり細胞死へ至る。またレシピエントに移植され酸素化された血液が再灌流する際には、ヒドロキシラジカル等の活性酸素が過剰に産生され、細胞傷害、マクロファージやリンパ球の活性化、炎症性サイトカインの産生が引き起こされる。このような虚血再灌流障害は移植後の急性拒絶反応や慢性拒絶反応にも影響を与えることが報告されている。虚血再灌流障害を軽減し、移植臓器の機能を維持することは移植臓器の長期生着につながる。

2007年にラット脳梗塞モデルにおける酸化ストレスに対し、水素吸入による scavenger 効果が初めて報告された (Nat Med 2007;13:688)。水素はヒドロキシラジカルに直接的かつ選択的に働き、水に変換することで抗酸化作用を発揮する。水素の特徴として、非常に拡散しやすいことから貯蔵と運搬方法が問題となる。また作成方法として、従来の電気分解方式では専用のサーバーが必要で持ち運びが困難である。我々と共同研究を行っている大阪大学産業科学研究所 小林研究室はナノサイズ化されたシリコン粒子を弱アルカリ性の水に加えることで、自然に水素が発生することを見出した (Kobayashi H, et al. Nanopart Res. 2016;18:116)。シリコン (Si) および反応によって生成される SiO₂ は人体に無害であることが知られており、シリコンを経口摂取することで体内で水素を発生させることができるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

従来の水素発生方法や運搬方法では水素ガスを十分に体内に取り込むことが困難であった。本研究はシリコンナノ粒子を経口摂取することで体内において水素を発生させるという簡便で新しい水素発生方法を臓器移植の領域に導入し、酸化ストレスを軽減することができるか、そして虚血再灌流障害や拒絶反応を軽減し移植成績を改善しうるか検証する。

3. 研究の方法

シリコンナノ粒子の効果と安全性の検討

粉末飼料にシリコンナノ粒子を混ぜて LEW ラットに経口投与し、血中水素濃度を測定することにより、体内に水素が吸収されているか確認するとともに、シリコンナノ粒子の至適投与法を検討する。通常飼料で飼育した群、0.1% ~ 5%の割合でシリコンナノ粒子を混ぜた飼料で1週間飼育した群に分け、血中に含まれる水素濃度をガスクロマトグラフィーで測定した。

同種ラット腎移植モデルにおける効果の検討 (臓器保存モデル)

LEW ラットをドナー、レシピエントに用いた同系腎移植を行った。ドナーより摘出した腎を4に冷却した UW 液で24時間保存した後にレシピエントへ移植した。固有腎は移植時に左腎を摘出、右腎を移植後7日目に摘出した。シリコン群は1週間前から0.5%シリコンナノ粒子含有飼料で飼育し、臓器保存による障害を軽減し移植腎機能を改善するか検討した。

異系ラット腎移植モデルにおける効果の検討 (慢性拒絶モデル)

F344 ラットをドナー、LEW ラットをレシピエントに用いた異系腎移植を行い、それぞれ通常飼料、シリコンナノ粒子含有飼料で移植1週間前から飼育し、移植後の免疫反応への影響を検討した。

4. 研究成果

シリコンナノ粒子の効果と安全性の検討

0.5%シリコンナノ粒子混入飼料を摂取した群は、通常飼料で飼育したラット群よりも有意に血中水素濃度が上昇していることを確認した。また30日間投与後の体重変化、腎機能や肝機能について通常飼料群とシリコン群で差は認めなかった。

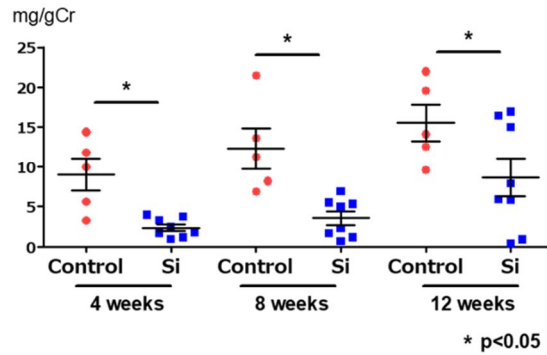
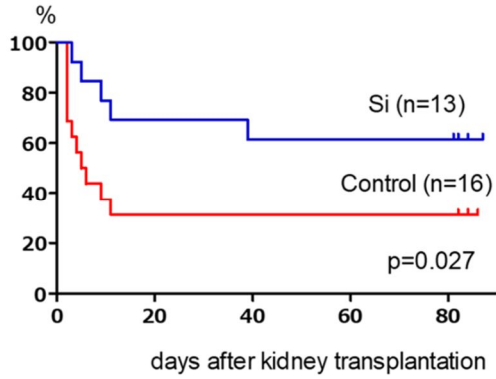
同種ラット腎移植モデルにおける効果の検討 (臓器保存モデル)

UW 液による単純浸漬保存法で24時間保存したドナー腎を移植した。各群20匹の移植を行って生着率、腎機能を評価したが、両群間に有意差は得られなかった。

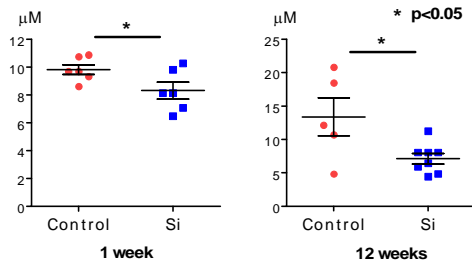
異系ラット腎移植モデルにおける効果の検討 (慢性拒絶モデル)

1) 生着率と腎機能の評価

通常飼料群 (n=16) と比較し、シリコン群 (n=13) は有意に腎生着率が優れていた。また、尿中蛋白排泄量も移植後4週、8週、12週いずれの時点でもシリコン群が優位に低値であった。

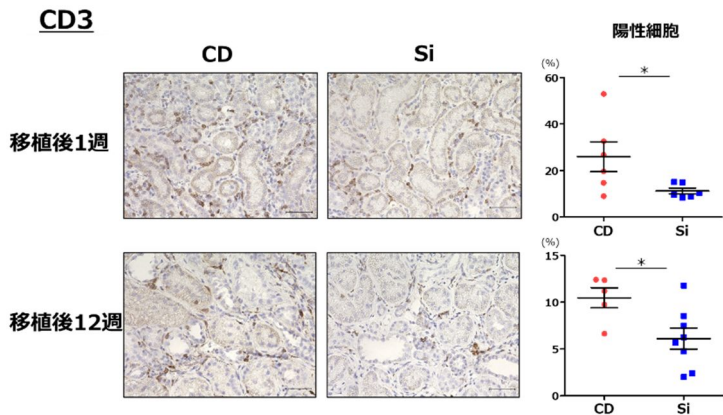


2) 酸化ストレスの評価



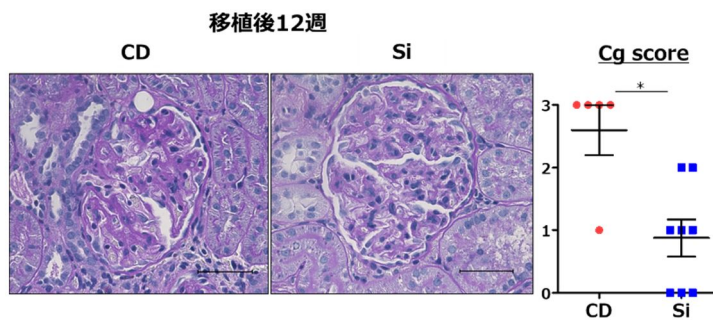
酸化ストレスマーカーであるマロンジアルデヒド(MDA)の血清中の濃度を測定したところ、移植後1週目、12週目いずれもシリコン群が有意に低値であり、酸化ストレスが軽減されていることが示された。

3) 免疫学的評価



通常飼料群と比較し、シリコン群では移植腎へのCD3陽性Tリンパ球の浸潤が移植後1週目、12週目いずれにおいても抑制されていた。また、同様にマクロファージの浸潤も抑制されており、関連する炎症性サイトカインもシリコン群で抑制されていた。

PAS染色



移植後12週目のPAS染色では、慢性抗体関連型拒絶反応の診断基準の1つである移植糸球体症の指標であるCgスコアがシリコン群で有意に低値となっており糸球体基底膜の二重化が抑制されていた。

以上の結果より、シリコンナノ粒子の経口摂取により血中水素濃度が上昇、酸化ストレスが軽減され、その後の拒絶反応の進展を抑制することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Imamura Ryoichi, Kawamura Masataka, Taniguchi Ayumu, Kobayashi Yuki, Nakazawa Shigeaki, Kato Taigo, Abe Toyofumi, Uemura Motohide, Kobayashi Hikaru, Nonomura Norio	4. 巻 533
2. 論文標題 Efficacy of a Si-based agent against developing renal failure in a rat remnant kidney model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 698 ~ 703
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.10.067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kawamura Masataka, Imamura Ryoichi, Kobayashi Yuki, Taniguchi Ayumu, Nakazawa Shigeaki, Kato Taigo, Namba-Hamano Tomoko, Abe Toyofumi, Uemura Motohide, Kobayashi Hikaru, Nonomura Norio	4. 巻 7
2. 論文標題 Oral Administration of Si-Based Agent Attenuates Oxidative Stress and Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model: A Novel Hydrogen Administration Method	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Medicine	6. 最初と最後の頁 95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmed.2020.00095	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔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	川村 正隆 (Kawamura Masataka) (00808925)	大阪大学・医学部附属病院・医員 (14401)	
研究分担者	今村 亮一 (Ryoichi Imamura) (40456976)	大阪大学・医学系研究科・准教授 (14401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	中澤 成晃 (Shigeaki Nakazawa) (80759530)	大阪大学・医学系研究科・特任助教（常勤） (14401)	

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