

令和 4 年 4 月 28 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16401

研究課題名（和文）分子状水素を用いた新しい下肢虚血再灌流障害抑制法の開発

研究課題名（英文）Hydrogen inhalation inhibits skeletal muscle damage and ectopic adipocyte accumulation after hindlimb ischemia/reperfusion injury in mice

研究代表者

林 応典（Hayashi, Masanori）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：20793475

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：マウスの左後下肢を結束バンドで駆血し虚血状態を作成する新しい下肢虚血再灌流モデルマウスを作成した。作成したモデルに水素ガスを投与した群と、大気を投与した対照群とを比較し水素ガスの効果を検証した。水素ガス投与により、筋細胞壊死を有意に抑制することが可能であった。対照群では虚血により筋細胞壊死を生じた後、再生筋細胞及び一部は脂肪細胞へと置換されていたが、水素ガス投与群では、大部分にて正常筋細胞が保たれており、脂肪細胞の出現も抑制された。また、好中球、リンパ球、マクロファージの炎症細胞浸潤を有意に抑制し、炎症性サイトカインであるIL-6も同様に有意に抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性下肢動脈閉塞は致死率の高い疾患であるが、致死率の高い原因の一つに、血行再建後の虚血再灌流障害があげられる。今回の研究により、下肢虚血再灌流に対して水素ガスを吸引することで炎症が抑制される可能性を示した。実臨床においても、急性下肢動脈閉塞の患者様に水素ガスを吸引させることで、血行再建後の虚血再灌流障害を抑制できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：A new mouse model of lower limb ischemia-reperfusion was created in which the left hind lower limb of mice was ischemia-conditioned with a bandage. The effect of hydrogen gas on the model was verified by comparing a group that received hydrogen gas with a control group that received air.

Hydrogen gas administration significantly suppressed myocyte necrosis. In the control group, after myocyte necrosis was caused by ischemia, regenerated myocytes and some of them were replaced by adipocytes, but in the hydrogen gas group, most of the normal myocytes were maintained and the appearance of adipocytes was also suppressed. In addition, the infiltration of neutrophils, lymphocytes, and macrophages into inflammatory cells was significantly inhibited, as was IL-6, a proinflammatory cytokine.

研究分野：血管外科

キーワード：下肢虚血再灌流 水素ガス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

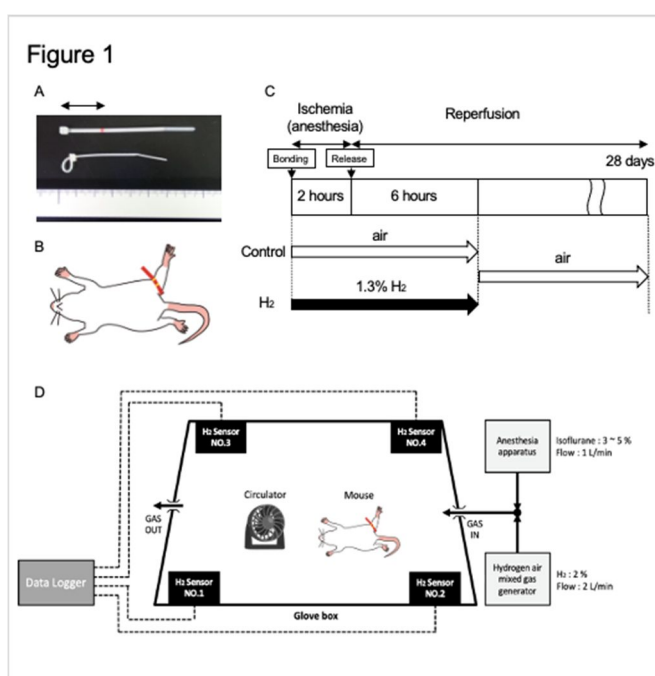
下肢急性動脈閉塞は致死率の高い疾患である。致死率が高い原因の1つとして術後合併症の虚血再灌流障害があげられる。虚血再還流障害は、虚血領域の組織に血流が再灌流することで、壊死物質や炎症制サイトカインが大量に全身へと分布し、諸臓器へと影響を及ぼし、多臓器不全へと繋がることもある。下肢急性動脈閉塞の治療において、虚血再還流障害を予防することができれば、救命率を改善することができるが、未だその治療法は確立されていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究の目的として、下肢虚血再灌流障害に対して水素ガスを吸入させることで、虚血再還流障害を抑制できるかを評価することを目的とした。前段階として、簡便で再現性のあるモデルが実在しないため、下肢虚血再灌流モデルマウスを作成し、水素ガスの効果を検証した。

3. 研究の方法

雄 BALBc マウス(10-12 週)の左後下肢を結束バンドで結紮し、下肢虚血状態を作成した(Figure1A,B)。虚血時間と結束バンド長を調整し、最適な下肢虚血再灌流モデルマウスを作成した。作成したモデルマウスに対して、対照群と水素群の2群にわけ、プロトコル図のごとく水素吸引の効果を検証した(Figure1C)。水素吸引は密閉式チャンバーにて行い、麻酔ガスと水素ガスを混合し、チャンバー内の水素濃度を 1.3%に調整した(Figure1D)。経時的に、血清学的評価と病理組織学的評価を行い、水素ガスの効果を検証した。

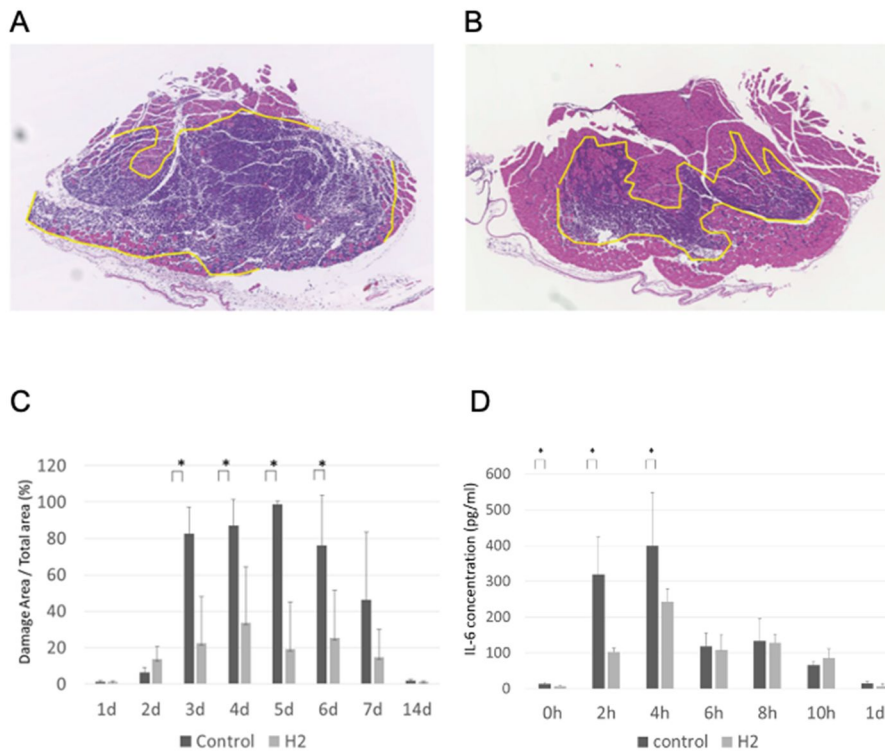


4. 研究成果

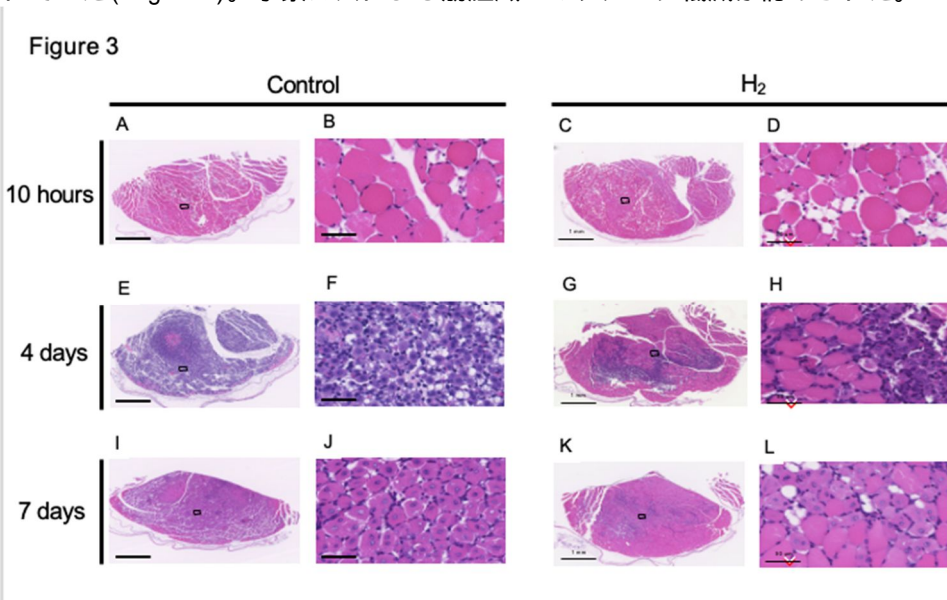
本研究における最適な虚血時間と結束バンド長は、下肢の血流量および、病理学的検査より2時間2mmと決定した。

HE染色で青紫色に染色される範囲をダメージエリア(Figure2A,B)と定義すると、水素群においてダメージエリアは有意に減少していた(Figure2C)。また炎症性サイトカインであるIL-6も水素群において有意に減少していた。

Figure 2

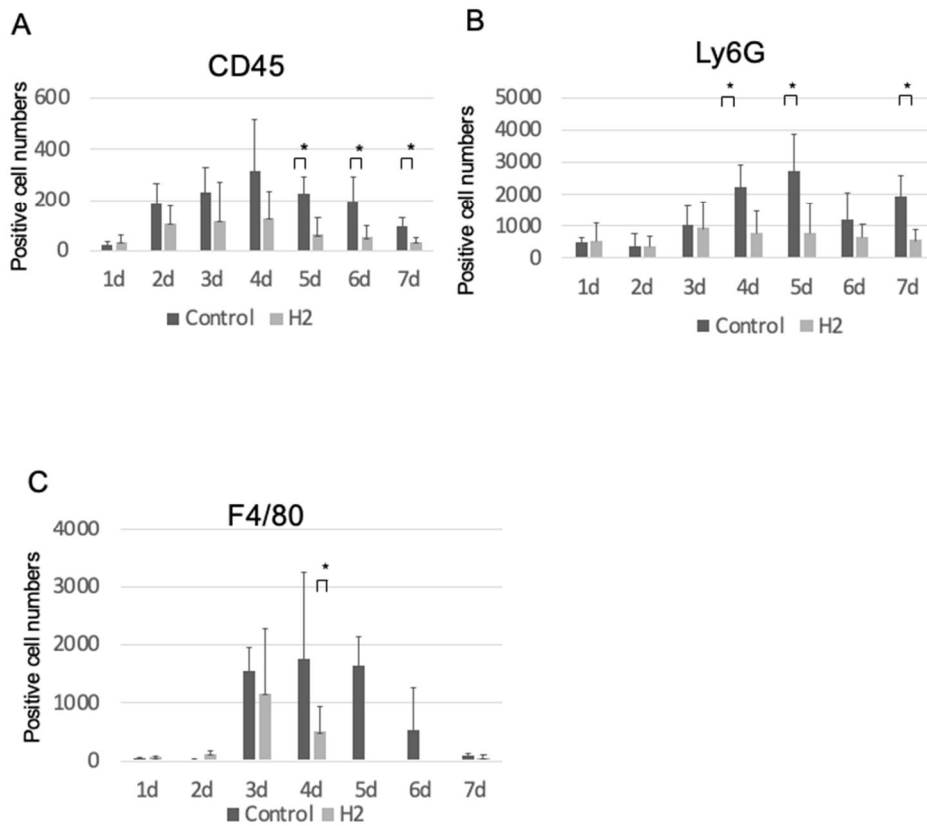


また、経時的な病理学的評価では、再灌流後7日目にはダメージエリアの部分に再生筋細胞が出現していた。コントロール群ではダメージエリアの範囲を反映し、ほぼ全ての視野で再生筋細胞が観察されるが、水素群では再生筋細胞は限局しており、それ以外では正常の筋細胞構造が保たれていた(Figure3)。水素ガスによる筋組織へのダメージ低減が認められた。



水素群では各免疫染色 (CD45, Ly6G, F4/80) で、染色陽性細胞数が有意に減少しており、水素による炎症細胞浸潤の抑制が示唆された (Figure 4)

Figure 4



以上より、本研究により下肢虚血再灌流モデルマウスに水素ガスを吸引させることで、炎症細胞浸潤や、サイトカインの抑制による、下肢筋組織のダメージを軽減しうることが示唆された。今後は水素ガスの効果のメカニズムの追求ならびに実臨床における応用を検討している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 林 応典
2. 発表標題 下肢虚血再灌流モデルマウスの確立
3. 学会等名 第47回日本血管外科学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 応典
2. 発表標題 下肢虚血再灌流モデルマウスの確立 -水素ガスによる急性下肢動脈閉塞に対する新たな治療法の開発に向けて-
3. 学会等名 日本脈管学会
4. 発表年 2018年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------