

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16697

研究課題名(和文) シリコンパウダー経口摂取による水素生成とラット腎虚血再灌流傷害に対する保護効果

研究課題名(英文) Hydrogen production by oral ingestion of silicon particles and its protective effect against renal ischemia-reperfusion injury in rats

研究代表者

川村 正隆 (Kawamura, Masataka)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：00808925

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は新規の水素投与方法であるシリコン成分剤の経口投与により、腎虚血再灌流傷害が抑制されるかを明らかにすることである。6週齢の雄性SDラットに微細粒子のシリコンを含有した飼料を投与し、1週間後に左腎動脈を60分間遮断して再灌流し、同時に右腎摘除を施行した。シリコン投与群において、血清クレアチニン値と尿蛋白値の有意な低下を認めた。酸化ストレスマーカーはシリコン群で有意に低下していた。新規の水素投与方法であるシリコン成分剤の経口投与により、ラット腎虚血再灌流傷害の抑制が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体腎移植において虚血再灌流傷害は回避することができず、拒絶反応を惹起し長期の腎生着率低下と関連する。近年活性酸素種による傷害に対する治療方法の一つとして、水素投与が注目を浴びている。しかし飽和水素水の経口摂取と水素ガスの吸入では広く臨床応用することが困難である。我々はシリコンをナノレベルまで粉碎し水と反応させることにより多量の水素を発生させることに成功した。経口投与することにより腸管内で多量の水素分子を生成して抗酸化作用をもたらす。我々はこのシリコンナノ粒子の経口投与というこれまでにない革新的な方法で酸化ストレスを抑制し、虚血再灌流傷害の軽減効果が得られることをラットモデルにおいて示した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to determine whether a novel method of hydrogen administration, oral administration of a silicon component, suppresses renal ischemia-reperfusion injury. Six-week-old male SD rats were fed a diet containing fine-grained silicon, and one week later, the left renal artery was blocked for 60 minutes for reperfusion and the right nephrectomy was performed simultaneously. A significant decrease in serum creatinine and urinary protein levels was observed in the silicon group. Oxidative stress markers were significantly decreased in the silicon group. A novel method of hydrogen administration, oral administration of silicon component agents, inhibited renal ischemia-reperfusion injury in rats.

研究分野：腎移植

キーワード：虚血再灌流傷害 シリコン成分剤 活性酸素種 酸化ストレス ラット 腎

## 1. 研究開始当初の背景

生体腎移植において虚血再灌流傷害は回避することができず、拒絶反応を惹起し長期の腎生着率低下と関連する。臓器が虚血状態に陥った時、活性酸素種であるヒドロキシラジカルが発生し細胞傷害を惹起する。近年この活性酸素種による傷害に対する治療方法の一つとして、水素投与が注目を浴びている。水素はヒドロキシラジカルを選択的に還元し細胞を保護する一方で、生理学的役割を有する活性酸素種は阻害しないことが証明されている。しかし従来の水素分子の投与方法である飽和水素水の経口摂取と水素ガスの吸入では効率面や汎用性に問題があり、広く臨床応用することが困難である。我々はシリコンをナノレベルまで粉碎し水と反応させることにより、多量の水素を発生させることに成功した。

## 2. 研究の目的

新規の水素投与方法であるシリコン成分剤の経口投与により、腎虚血再灌流傷害が抑制され得るかを明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

6週齢の雄性SDラットに微細あるいは粗大粒子のシリコンを含有した飼料を投与し、1週間後に左腎動脈を60分間遮断して再灌流し、同時に右腎摘除を施行した。本グループをそれぞれIRI+small Si、IRI+large Si群とし、通常飼料を投与して同様の手術を施行するIRI群と右腎摘除のみを施行するsham群を作成し、手術72時間後に犠牲死の上比較検討を行った。

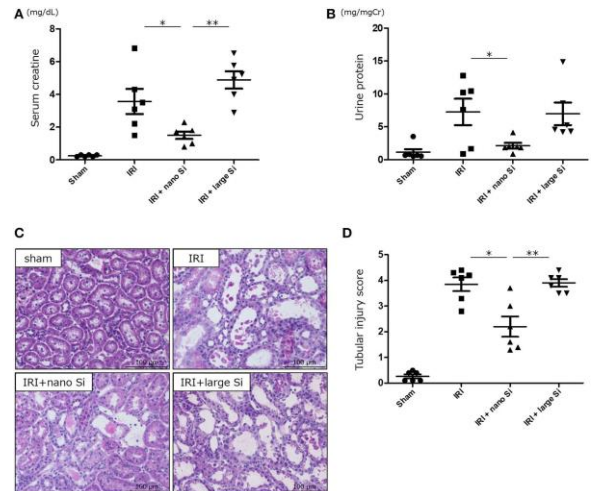
## 4. 研究成果

(1)ラットにおいてシリコン微細粒子を経口投与すると水素が発生することをガスクロマトグラフィーで確認した。通常の食餌で飼育した場合と比較して、全血サンプルから拡散した水素濃度は、粗大粒子ではなく微細粒子を含む食餌を投与した場合に有意に増加した。

(2)次に、術後72時間後の血清クレアチニン値と尿蛋白値を測定して腎機能の評価した。図1 A-Bに示すように、IRI+nano-Si群ではIRI群に比べて血清クレアチニンと尿蛋白が有意に低下したのに対し、IRI+large-Si群ではIRI群に比べていずれのパラメータも有意な低下は見られなかった。さらに、IRIの結果、上皮壊死、核の消失、などの尿細管障害が認められた。腎機能の変化と一致して、IRI+nano-Si群の腎臓では、尿細管損傷スコアで示されるように、IRI群およびIRI+large-Si群の腎臓に比べて尿細管損傷が有意に少なかった(図1 C-D)。

(3)続いて、酸化ストレスを評価するために、尿中の8-OHdGと血清中のマロンジアルデヒド濃度を測定した。術後72時間後に尿中8-OHdGで評価した酸化的DNA損傷は、IRI+nano-Si群で有意に減少していた。さらに、IRI+nano-Si群では、IRI+large-Si群に比べて、血清のマロンジアルデヒドレベルが有意に低下した。有意ではないが、IRI群とIRI+nano-Si群の間には過酸化脂質の差が見られた。

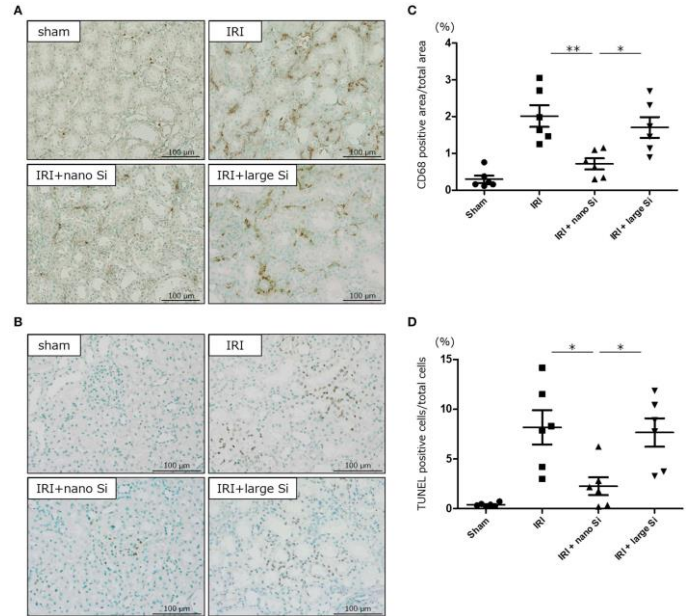
(4)腎RNAマイクロアレイを施行し、IRI群とIRI+nano-Si群を比較し、nano-Siを投与したIRIラットの腎トランスクリプトーム解析を行った。666個のダウンレギュレーション遺伝子と703個のアップレギュレーション遺伝子を同定した。まず、666個のダウンレギュレーション遺伝子について、gene ontology解析を行った。サイトカイン産生や食食などの免疫反応に関連する経路や、外因性アポトーシス経路に関する遺伝子群が上位に含まれていた。上昇した703個の遺伝子についても同様に解析を行ったところ、上位には主に脂肪酸などの何らかのアミノ酸代謝に関連するプロセスが含まれていた。また、ペルオキシソームに関わる生物学的プロセスも、ランクインしていた。



(5) 最後に、シリコン微細粒子を投与したIRIラットの腎臓で、マクロファージの間質への浸潤と尿細管上皮細胞のアポトーシスを評価した(図2 A-B)。免疫組織化学的な解析により、シリコン微細粒子を投与することで、IRI後の間質へのCD68陽性のマクロファージの浸潤が、control群およびIRI+Large-Si群に比べて有意に減少することが示された(図2 C)。さらに、IRI群およびIRI+large-Si群で観察された尿細管上皮細胞のアポトーシスは、シリコン微細粒子の経口投与によって有意に抑制された(図2 D)。

<引用文献>

①. Kawamura M, Imamura R, Nonomura N, et al. Oral Administration of Si-Based Agent Attenuates Oxidative Stress and Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model: A Novel Hydrogen Administration Method. *Front Med* 20;7:95. 2020



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

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 -

〔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 川村 正隆
2. 発表標題 シリコン成分剤の経口投与は水素分子の発生によりラット腎虚血再灌流障害を抑制する
3. 学会等名 第55回日本移植学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川村 正隆
2. 発表標題 シリコン成分剤の経口投与は水素の発生によりラット腎虚血再灌流傷害を抑制する
3. 学会等名 第107回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2018年～2019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
---------	---------