

令和 5 年 5 月 18 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20970

研究課題名（和文）体内水素発生を惹起する経口シリコン製剤を用いた腎保護効果に関する作用機序の解明

研究課題名（英文）Elucidating the Mechanism of Renoprotective Effect of Oral Si Agent Inducing Intrinsic Hydrogen Generation

研究代表者

田中 亮（TANAKA, RYO）

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：60909654

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：慢性腎臓病が末期腎不全に移行する過程で共通してみられる病態は腎尿細管間質の線維化である。これはヒドロキシルラジカルをはじめとする細胞傷害性活性酸素種による酸化ストレスで促進されることが知られている。我々は酸化ストレスを軽減する水素に着目し、シリコン製剤の経口摂取による新たな水素投与方法を確立した。我々はシリコン製剤投与により、腎局所の酸化ストレスの軽減、腎尿細管の細胞死ならびに、線維化促進因子の発現抑制を介して、腎線維化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

シリコン製剤の経口摂取は、腸管内で多量の水素を発生させることができ、簡便で安全な画期的治療方法としての臨床応用が高く期待され、高い独自性と創造性を有する。また、腎線維化抑制を通じて慢性腎臓病の進行を抑えることができれば、臨床上極めて有効性が高い治療法となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：A common pathology in the progression from chronic kidney disease to end-stage renal failure is the development of fibrosis in the renal tubular interstitium. This fibrosis is known to be accelerated by oxidative stress caused by hydroxyl radicals and other cytotoxic reactive oxygen species. Our research focused on the potential of hydrogen to reduce oxidative stress, and we have established a novel method of hydrogen administration through oral Si agent. Our findings demonstrate that the administration of Si agent effectively suppresses renal fibrosis by reducing local oxidative stress within the kidneys, inhibiting cell death in renal tubular cells, and suppressing the expression of factors that promote fibrosis.

研究分野：腎移植

キーワード：腎線維化 酸化ストレス 腎不全 シリコン マウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病(CKD)は、全世界で約10%の有病率であると推定されている。本邦においてもCKD患者は約1300万人、CKDが増悪した末期腎不全患者数は約34万人と推定されており、今や国民病のひとつである。末期腎不全に至った場合生命予後は極めて悪く、CKDの発症および重症化を防ぐことは喫緊の課題である。CKDの原疾患は様々であるが、CKDが末期腎不全に移行する過程で共通してみられる病態は腎尿細管間質の線維化である。これはヒドロキシルラジカルをはじめとする細胞傷害性活性酸素種による酸化ストレスで促進されることが知られているが(Zhang S, et al. Nephrol Dial Transplant, 2017)、酸化ストレスから線維化に至る機序は明らかとなっていない。

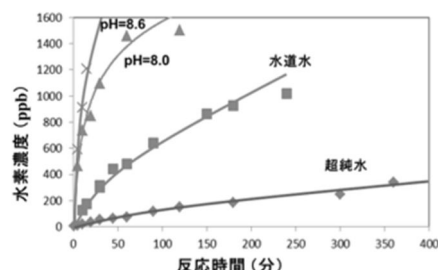


図1. シリコン粒子100mgによる水素発生量

一方、水素はアポトーシスや腎尿細管間質の線維化抑制を通じて、腎機能増悪を抑制する作用を有することが知られている。これまで水素の有効性に関しては、水素水の経口摂取または水素ガス吸入のいずれかの手法で研究がなされてきた。しかしながらいずれも簡単に体内で高い水素濃度を維持することは困難であることが確認された。これを踏まえ、我々は新たな水素投与方法を確立した。つまり、シリコンをナノレベルまで粉碎し弱アルカリ水と反応させると長時間持続的に大量の水素を発生すること(図1)、このシリコンを重合化することで安全に経口摂取できシリコンが腸管内で弱アルカリ性消化液と反応し体内で水素を発生しうること、この製剤をCKDモデルや腎虚血再灌流障害モデルに投与して腎保護効果が得られることを確認し、報告した。その実験過程で線維化を抑制する可能性が示唆されたが、水素が及ぼす作用機序については、明らかにし得なかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、我々の確立したシリコン製剤による水素投与方法が腎線維化を抑制しうるか、並びにどのように腎保護に関与するかという作用機序の解明である。シリコン製剤投与による腎線維化抑制を通じてCKDの進行を抑えうることが見込まれ、その作用機序を明確にできれば、臨床で極めて有効性が高い治療法となる可能性がある。

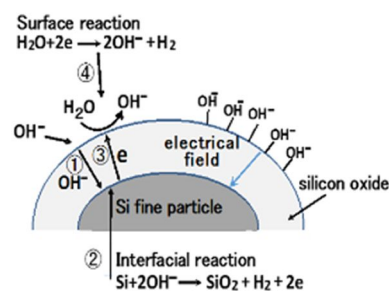


図2. シリコン粒子における水素発生機序

3. 研究の方法

8週齢のマウスの左尿管を結紮し、片側尿管結紮(UUO)モデルを作成した。また、尿管結紮を施行しないshamマウスも作成した。Shamマウス、UUOマウスをそれぞれ通常飼料を摂取させた群と、尿管結紮1週間前から予防的に1.0wt%シリコン製剤含有飼料を摂取させたシリコン製剤群に分け、4群間で比較した。手術後2週間の観察期間を経て犠牲死させた後、腎を採取し、腎線維化の評価を行った。また、腎線維化のメカニズムを解明するために、腎局所における酸化ストレス、尿細管障害、炎症性バイオマーカー、線維化促進因子について免疫組織化学染色、定量リアルタイムPCR法(qPCR)にて評価した。

4. 研究成果

シリコン製剤による腎線維化抑制効果の検討

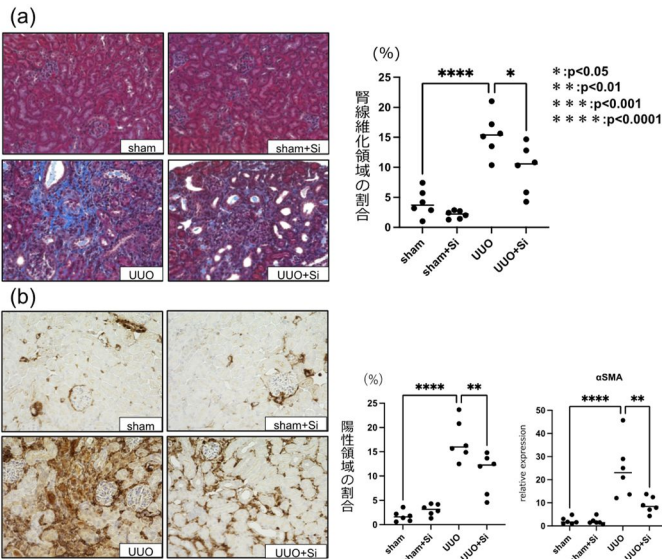


図3.シリコン製剤による腎線維化抑制効果
(a) Masson Trichrome染色による腎線維化の評価
(b) αSMAの腎間質における発現量の評価

まず、我々は片側尿管結紮モデルにおける、シリコン製剤投与による腎線維化に対する治療効果を検討した。腎組織における Masson Trichrome 染色にて通常飼料投与群と比較し、シリコン製剤投与群は有意に腎線維化領域の縮小することを確認した。(図 3a)また、腎組織の qPCR、免疫組織染色を用いて、腎尿管間質において筋線維芽細胞に特異的な α -smooth muscle actin(α SMA)の発現がシリコン製剤投与により減少することを示した。(図 3b)

尿管障害(尿管細胞死)についての評価

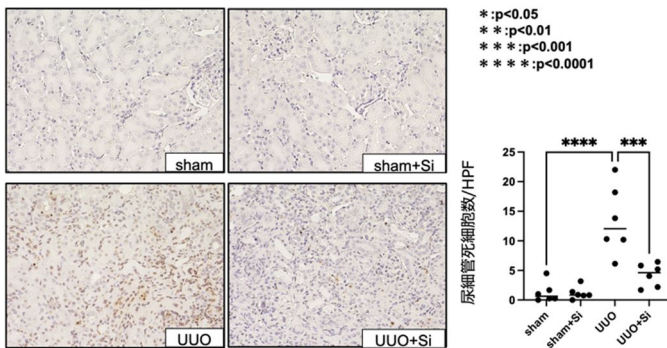


図4.シリコン製剤による尿管細胞死抑制効果

我々は、TUNEL 法を用いてシリコン製剤の尿管細胞死に及ぼす影響について評価した。尿管死細胞数はシリコン製剤投与により減少していることを確認した。(図 4)

腎局所における線維化促進因子の評価

我々は qPCR を用いて線維化促進因子である Transforming Growth Factor- β (TGF- β) がシリコン製剤投与により低下していることを確認した。

腎局所の酸化ストレスの評価

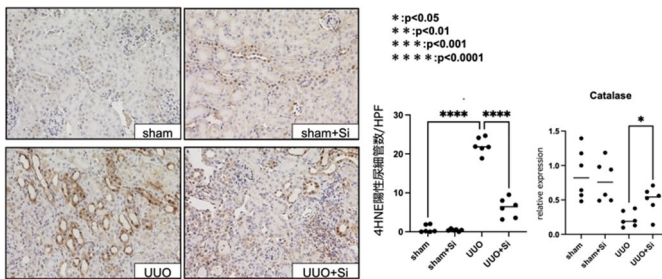


図5.シリコン製剤による腎局所における酸化ストレスの評価

我々は免疫組織染色により、過酸化脂質の最終代謝産物である 4-hydroxy-2-nonenal (4HNE)の尿管細胞における発現がシリコン製剤投与により軽減されることを確認した。また、qPCR を用いて抗酸化酵素である Catalase の低下がシリコン製剤投与により軽減することを確認した。

以上より、シリコン製剤投与により、腎局所の酸化ストレスを軽減し、尿管細胞死ならびに、線維化促進因子の発現を抑制することにより、腎線維化を抑制することを示した。

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

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