

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月13日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590084

研究課題名（和文） 水素分子による神経保護の分子基盤解明

研究課題名（英文） Molecular mechanism of neuroprotection by molecular

研究代表者

野田 百美 (NODA MAMI)

九州大学・薬学研究院・准教授

研究者番号：80127985

研究成果の概要（和文）：

我々は、微量の分子状水素（水素ガス、飲水中 0.008 ppm）が神経保護作用をもつことをパーキンソン病モデルマウスで示したが（Fujita et al., PLoS One, 2009）単にヒドロキシラジカル消去剤としての抗酸化作用だけではなく、持続性の神経保護作用を持つことが示唆された。新たな作用メカニズムとして、シャペロン分子である熱ショックタンパク(Hsp) 72 の発現や、消化管ホルモン・グレリンを介した作用が示唆された。これらの結果は、水素水の慢性摂取による予防医学の解明に大いに貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：

We showed that low concentration of molecular hydrogen (0.008 ppm) in drinking water had neuroprotective effects in Parkinson's Disease model mice (Fujita et al., 2009). However, not only acute anti-oxidative effect but also upregulation of chaperone, heat shock protein (Hsp) 72, and involvement of gastric hormone, ghrelin, was suggested. These results will contribute to a preventive medicine which may be induced by drinking hydrogen water.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：酸化ストレス、神経保護、パーキンソン病

1. 研究開始当初の背景

我々は、微量水素ガス（飲水中 0.008 ppm）が神経保護作用をもつこと、またそのメカニズムの一部をパーキンソン病モデルマウスで示し（Fujita et al., PLoS One, 2009）、また、虚血視神経モデルでは、予め水素分子を動物が摂取しておくことによって、視神経が体外に摘出された後、数時間経っても虚

血に対する抵抗性があることを突き止めた（未発表）。従って、水素分子の作用は、単にヒドロキシラジカル消去剤としての作用だけではなく、持続性の神経保護作用を持つことが示唆された。

2. 研究の目的

水素水飲用による神経保護の作用メカニズ

ムを分子レベル・遺伝子レベルで明らかにすること、水素分子による未知の作用メカニズムを明らかにすることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

- (1)パーキンソン病モデルマウスを用い、水素分子による酸化ストレス疾患抵抗性獲得のモデルを樹立する。
- (2) アストロサイトの転写促進因子 Nrf2 (NF-E2-related factor 2)および Nrf2 により誘導される抗酸化酵素群の遺伝子発現を確認する。
- (3) 水素水飲用によって、胃で産生される消化管ホルモンのうち、神経保護作用があることが報告されているグレリンの血中濃度が上がることが示唆されたため、グレリン受容体阻害剤を水素水飲用時に投与し、水素水による神経保護効果が消失するかどうか、確認する。

4. 研究成果

(1)MPTP パーキンソンモデルマウスに予め水素水を3日、5日、1週間、10日間飲水させ、MPTP 投与後は水道水に切り替え、パーキンソン病の病態を観察した。その結果、予め1週間以上、水素水飲用していたマウスにおいて、水素水による神経保護効果が観察された。また、シャペロン分子である Hsp72 の発現が、水素水飲用群の黒質において有意に増大していた。他の抗アポトーシス分子である bcl-2 も、Hsp72 同様に発現亢進していた。他の Hsp ファミリーのうち、Hsp90 は水素含有水飲水群で減少したが、Hsp27 は増減がなかった。このとき、Hsp72 発現誘導に関与する転写因子 HSF (heat shock transcription factor)-1 は核内タンパク量が顕著に増大していた。このことは、HSF-1 の核内移行を増大させ、転写を促進することによって Hsp72 および bcl-2 の発現を促進しているものと考えられた。一連の Hsp 発現量が増加する heat shock response を抑制する薬剤といわれる quercetin を投与したマウスでは、水素含有水による Hsp72 発現上昇は見られず、神経保護作用も認められなくなった。

(2) 一方、神経保護作用がすでに報告されている消化管ホルモン・グレリンの関与を証明するため、グレリン受容体阻害剤を水素水飲用と同時に投与し、水素水による神経保護作用が消失するかどうかを検討したところ、水素飽和水を7-10日間飲用したマウスでは、MPTP パーキンソン病モデルマウスにおいて、以前の結果同様、黒質・線条体において顕著なドパミン神経細胞・神経線維の脱落抑制が見られたものの、グレリン受容体与

群では、水素水飲用にも関わらず、MPTP によるドパミン神経細胞・神経線維の脱落が見られた。このことから、水素水飲用によって、主に胃からのグレリン産生が亢進することが示唆された。水素水飲用によるグレリン産生の分子メカニズムを解明する必要があるが、これらの結果は、水素水の慢性摂取により、全く新規の神経保護メカニズムが関与することを示唆し、水素による予防医学の解明に大いに貢献することが期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件) 全て査読有り

- (1) Zeidán-Chuliá F, Rybarczyk-Filho JL, Salmina AB, de Oliveira BH, Noda M, Moreira JC. Exploring the Multifactorial Nature of Autism Through Computational Systems Biology: Calcium and the Rho GTPase RAC1 Under the Spotlight. *Neuromolecular Med.* 2013 Mar 2. [Epub ahead of print] *Neuromol Med.* DOI 10.1007/s12017-013-8224-3 (2013)
- (2) Beppu K, Kosai Y, A. Kido MA, Fujita K, Okuno Y, Yamakawa Y, Shinagawa R, Nabekura J, Sprengel R and Noda M. Role of GluA2 (GluR-B) Subunit of AMPA-type of Glutamate Receptor in Microglia. *GLIA*, Jun;61(6):881-91 (2013) doi: 10.1002/glia.22481
- (3) Terazawa R, Akimoto N, Kato T, Itoh T, Fujita Y, Hamada N, Deguchi T, Iinuma M, Noda M, Nozawa Y, Ito M. A kavalactone derivative inhibits lipopolysaccharide-stimulated iNOS induction and NO production through activation of Nrf2 signaling in BV2 microglial cells. *Pharmacol Res.* May;71:34-43 (2013) doi: 10.1016/j.phrs.2013.02.002
- (4) Akimoto N, Kamiyama Y, Yamafuji M, Fujita K, Seike T, Kido MA, Yokoyama S, Higashida H, and Noda M. Immunohistochemistry of CD38 in Different Cell Types in the Hypothalamus and Pituitary of Male Mice, *Messenger* 2: 1 - 8 (2013) doi:10.1166/msr.2013.1021
- (5) Noda M, Yamakawa Y, Matsunaga N, Naoe S, Jodoi T, Yamafuji M, Akimoto

- N, Teramoto N, Fujita K, Ohdo S, Iguchi H. IL-6 Receptor Is a Possible Target against Growth of Metastasized Lung Tumor Cells in the Brain. *Int J Mol Sci.* Dec 27;14(1):515-26.(2012)doi:10.3390/ijms14010515
- (6) Ifuku M, Katafuchi T, Mawatari S, Noda M, Miake K, Sugiyama M and Fujino T. Anti-inflammatory/anti-amyloidogenic effects of plasmalogens in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in adult mice. *J Neuroinflammation*, 9:197, (2012) <http://www.jneuroinflammation.com/content/9/1/197>
- (7) Katafuchi T, Ifuku M, Mawatari S, Noda M, Miake K, Sugiyama M, Fujino T. Effects of plasmalogen on systemic lipopolysaccharide-induced glial activation and amyloid accumulation in adult mice. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1262: 85–92 (2012) doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06641.x
- (8) Eto K, Wake H, Watanabe M, Ishibashi H, Noda M, Yanagawa Y, Nabekura J. Inter-regional Contribution of Enhanced Activity of the Primary Somatosensory Cortex to the Anterior Cingulate Cortex Accelerates Chronic Pain Behavior. *J. Neurosci.* May 31:7631-7636 (2011)DOI:10.1523/JNEUROSCI.0946-11.2011
- (9) Ifuku M, Okuno Y, Yamakawa Y, Izum K, Seifert S, Kettenmann H, Noda M. Functional importance of inositol-1,4,5-triphosphate-induced intracellular Ca²⁺ mobilization in galanin-induced microglial migration. *J Neurochem.* Apr; 117(1):61-70 (2011) doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07176.x
- (10) Noda M, Seike T, Fujita K, Yamakawa Y, Kido M, Iguchi H. Role of Immune Cells in Brain Metastasis of Lung Cancer Cells and Neuron-Tumor Cell Interaction. *Neurosci Behav Physiol.* Mar;41(3):243-251 (2011)
- (11) Choi J, Ifuku M, Noda M, Guilarte TR. Translocator Protein (18kDa) (TSPO)/Peripheral Benzodiazepine Receptor (PBR) specific ligands induce microglia functions consistent with an activated state. *GLIA*, Feb;59(2):219-30 (2011)
- (12) Seike T, Fujita K, Yamakawa Y, Kido MA, Takiguchi S, Teramoto N, Iguchi H, Noda M. Interaction between lung cancer cells and astrocytes via specific inflammatory cytokines in the microenvironment of brain metastasis. *Clin Exp Metastasis.* Jan;28(1):13-25 (2011) DOI 10.1007/s10585-010-9354-8
- [総説] (計 8 件)
- (1) Noda M, Ifuku M, Mori Y, Verkhratsky A. Calcium Influx Through Reversed NCX Controls Migration of Microglia. *Adv Exp Med Biol.* 961:289-94. doi: 10.1007/978-1-4614-4756-6_24 (2013)
- (2) Verkhratsky A, Noda M, Parpura V, Kirischuk S. Sodium fluxes and astroglial function. *Adv Exp Med Biol.* 961:295-305. doi:10.1007/978-1-4614-4756-6_25 (2013)
- (3) Fujita K, Yamafuji M, Nakabeppu Y, and Noda M. Therapeutic approach to neurodegenerative diseases by medical gases: focusing of redox signaling and related antioxidant enzymes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* Volume 2012, Article ID324256,9pages,doi:10.1155/2012/324256 (2012)
- (4) Noda M, Fujita K, Chih-Hung Lee CH, Yoshioka T. The principle and the potential approach to ROS-dependent cytotoxicity by non-pharmaceutical therapies: Optimal use of medical gases with antioxidant properties. *Curr Pharm Design*, 17(22):2253-2263 (2011) DOI: 10.2174/138161211797052600
- (5) Yoshioka T, Noda M. Architecture and design of on-drug therapy for reactive oxygen species (ROS)-induced diseases. *Curr Pharm Des.* 2011; 17(22):2239-2240.
- (6) Noda M, Ifuku M, Okuno Y, Beppu K, Mori Y, Naoe S. Neuropeptides as Attractants of Immune Cells in the Brain and their Distinct Signaling. *Advances in Neuroimmune Biology*,1:53-62 (2011)
- (7) Fujita K, Nakabeppu Y, Noda M.

Therapeutic effects of hydrogen in animal models of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 2011;2011:307875. Epub 2011 Apr 26. (Special issue: Animal Model of Parkinson's Disease, Parkinson's Disease, vol. 2011, Article ID 307875, 9 pages, 2011. doi:10.4061/2011/307875)

- (8) Kettenmann H, Hanisch UW, Noda M, Verkhratsky A. Physiology of microglia. *Physiol Rev*; 91(2):461-553 (2011) doi: 10.1152/physrev.00011.2010

[学会発表] (計 3 1 件)

【国際学会】

- (1) Mami Noda, Kyota Fujita, Margaret A. Hamner, Megumi Yamafuji, Nozomi Akimoto, Yusaku Nakabeppu, Bruce R. Ransom. Protective effects of molecular hydrogen against ischemic injury (New Orleans, USA, 2012. 10.17-18(17)) Trans-Pacific Workshop on Stroke 2012. (Invited)
- (2) Mami Noda, Toshihiro Seike, Kyota Fujita, Soichi Takiguchi, Haruo Iguchi. Interaction between lung cancer cells and glial cells in brain metastasis. (Florida, USA, 2011.4.2-6 (4)) American Association for Cancer Research, 102 nd Annual Meeting (2011) (Invited)
- (3) Mami Noda, Kyota Fujita, Megumi Yamafuji, Mizuho A. Kido, Yoshinori Tanaka, Yusaku Nakabeppu. Role of glial cells in oxidative stress resistance in neurodegenerative diseases. MNS 2012: 4th CONFERENCE OF THE MEDITERRANEAN NEUROSCIENCE SOCIETY (Istanbul, Turkey, 2012.09.30-10.2) (Invited)
- (4) Mami Noda, Kyota Fujita, Megumi Yamafuji, Mizuho A. Kido, Yoshinori Tanaka, Yusaku Nakabeppu. Hydrogen-induced resistance against oxidative stress in Parkinson's disease model mice. (Barcelona, Spain, 2012.07.14-18 (15)) 8 th FENS Forum of European Neuroscience, FENS Abstr., C1-33 (2012)
- (5) Mami Noda. Modulation of purinergic signaling and migration in microglia. Purine2012 (Fukuoka, Japan. 2012.5.31-6.02(6.01))

(Invited) (Symposium organizer)

- (6) Mami Noda. Mechanism of protective effects of molecular hydrogen against oxidative damage. Symposium "Physical Aspect of Medical Science" (Kaohsiung, Taiwan, 2012.5.18) (Invited)
- (7) Mami Noda, Yuki Mori, Satoko Naoe, Nozomi Akimoto, Masataka Ifuku. Distinct signaling of GPCRs in microglial migration. The 10 th Japan-Korea Joint Symposium on Brain, Cardiac and Smooth Muscles. (Gyeongju, Korea. 2012.2.17-19(18)) S-06 (Invited)
- (8) Mami Noda, Yuki Mori, Satoko Naoe, Nozomi Akimoto, Masataka Ifuku. Expression and function of GPCRs in microglia. International Workshop in UOEH 2012: "Physiopathology of calcium signaling" (Kitakyushu, Japan, 2012.01.20) (Invited)
- (9) Kyota Fujita, Fumiko Inoue, Megumi Yamafuji, Kaoru Beppu, Mizuho A. Kido, Yoshinori Tanaka, Yusaku Nakabeppu, and Mami Noda. Hydrogen confers resistance to neuronal loss on dopaminergic neurons in mice model of Parkinson's disease. (Washington DC. USA. 2011.11.12-16(12)) Society for Neuroscience, 41st Annual Meeting, 52.17 (2011)
- (10) Mami Noda. The functional role of neuropeptides and their signaling cascades in microglial migration. (Eilat, Israel, 2011.12.11-13(12)) The Israel Society for Neuroscience 20 the Annual meeting: Israel-Japan Joint Symposium (Invited)
- (11) Mami Noda, Ifuku M. Bradykinin-, but not ATP- and galanin-induced microglial migration, depends on calcium influx through NCX. (Ischia, Italy, 2011.10.1-5(4)) The 6th International Conference on Sodium Calcium Exchange (Abstract p28) (Invited)
- (12) Mami Noda, Kyota Fujita, Mizuho A. Kido, Yusaku Nakabeppu. The molecular neurobiology of anti-oxidative stress induced by hydrogen. (Taipei, Taiwan, 2011.9.10-14(12)) 7 th FAOPS (Federation of the Asian and Oceanian

- Physiological Society) Congress 2011 (Symposium organizer) (Abstract p28) (Invited)
- (13) Mami Noda, Yuko Okuno, Masataka Ifuku. Neurotransmitter regulation of microglial motility and phagocytosis (Istanbul (Yeditepe University), Turkey, 2011.9.3-7(6)) Turkish FEPS (Federation of European Physiological Societies) Physiology Congress 2011. (Invited)
- (14) Mami Noda. Neuropeptide Receptors in Microglia and their Function. (Bilbao, Spain, 2011.6.13-14(13)) Reflections in Neuroscience: Integration and disintegration in the brain (RINIDOB 2011) (Invited)
- (15) Mami Noda., Seike T., Fujita K. Iguchi H. Microenvironment of metastasized tumor cells in the brain. (St. Petersburg, Russia, 2011.6.7-10 (8)) III International Symposium "Interaction of nervous and immune systems in health and disease" (Invited)
- (16) Mami Noda, Role of GluR2 Subunit of AMPA-type of Glutamate Receptor in Microglia (Dalian, China, 2011.5.22-25 (24)), NeuroTalk 2011. (Invited)
- (17) Mami Noda, Brain metastasis of lung cancer and microenvironment in the brain. (Shenzhen, China, 2011.5.18-20 (20)), China-Japan symposium on cancer research. (Invited)
- 【国内】
- (18) 第90回日本生理学会大会 (東京) 2013年3月27-29日、野田百美、藤田慶大、ハマー・マーガレット、山藤芽実、秋元望、中別府雄作、ランソム・ブルース、水素ガスによる酸化ストレス耐性獲得のメカニズム、(シンポジウム企画: 新規メディカルガスの抗酸化・酸化ストレス耐性作用の分子メカニズム)
- (19) 第3回分子状水素医学シンポジウム (東京) 2013年2月9-10日 (9日)、野田百美、藤田慶大、Margaret A. Hamner、山藤芽実、城戸瑞穂、田中義典、中別府雄作、Bruce R. Ransom、水素水による視神経虚血障害保護効果
- (20) 第3回福岡薬理・生理学会 (福岡・九州大学) 2012年12月21日、野田百美、藤田慶大、Margaret A. Hamner、山藤芽実、城戸瑞穂、田中義典、中別府雄作、Bruce Ransom、新規メディカルス・分子状水素による神経保護作用
- (21) 第62回西日本生理学会 (大分) 2012年10月19-20日(19日)、山藤芽実、藤田慶大、小島佑一郎、中別府雄作、野田百美、パーキンソン病モデルマウスにおける水素水の作用機序
- (22) 第62回西日本生理学会 (大分) 2012年10月19-20日(19日)、直江智子、山藤芽実、上土井太志、藤田慶大、秋元望、毛利優希、井口東郎、野田百美、肺がん脳転移におけるがん細胞・グリア細胞連関の解明
- (23) APSN-JNS 合同神経化学会 (神戸) 2012年9月29日-10月1日、Satoko Naoe, Megumi Yamafuji, Haruo Iguchi, Mami Noda、Metastatic lung cancer cells promote microglial phagocytosis and proliferation
- (24) Kyushu University-Pusan University Joint Seminar・第11回システム創薬リサーチコア研究会・第10回薬学研究院若手研究者セミナー (福岡・九州大学) 2012年9月7日、Satoko Naoe, Megumi Yamafuji, Kyota Fujita, Yuki Mori, Nozomi Akimoto, Taishi Jodoi, Haruo Iguchi, Mami Noda, Interaction between glial cells and metastatic lung cancer cells in the brain
- (25) 第14回応用薬理シンポジウム (山梨・甲府) 2012年9月3-4日(3日)、山藤芽実、藤田慶大、小島佑一郎、中別府雄作、野田百美、パーキンソン病モデルマウスにおける水素水の作用機序
- (26) 第12回ブレインサイエンス研究会 (鹿児島・霧島) 2012年6月2-3日(2日)、山藤芽実、私の研究アピール
- (27) 第2回分子状水素医学シンポジウム (東京・北里大学) 2012年2月11日、野田百美、藤田慶大、山藤芽実、城戸瑞穂、中別府雄作、視神経の虚血・再灌流モデルおよびパーキンソン病モデルにおける事前の水素水飲用の効果
- (28) 千葉大ワークショップ「Slow-aging 工学の展開」(千葉) 2012年1月6日、野田百美、Medical Gas を用いたオキシダントダメージの修復 (invited)
- (29) 生理学会 (岡崎) 2011年10月21-22日(21日)、野田百美、奥野祐子、井福正隆、直江智子、ミクログリアにおける ATP の作用に対する抑制効果とそのメカニズム

(invited)

- (30) 第54回日本神経化学会(金沢・山代温泉) 2011年9月25-28日(26日)、公開シンポジウム、藤田慶大、田中喜典、城戸瑞穂、片渕俊彦、中別府雄作、野田 百美、パーキンソン病モデルマウスに対する水素含有飲用水の神経保護作用
- (31) 第13回ブレインサイエンス研究会(私の研究アピール) 2011年5月24-25日(24日)(阿蘇、熊本)、井上芙美子、藤田 慶大、山藤 芽実、野田 百美、MPTP 誘発性パーキンソン病モデルにおける水素含有水飲水による神経保護作用

[図書] (計7件)

【欧文】

- (1) Mami Noda, Alexej Verkhratsky, Physiology of microglia, Helmut Kettenmann & Bruce Ransom (ed), Oxford University Press, p223-237 (2012)
- (2) Mami Noda. 3. The Brain Microenvironment. Brain and Central Nervous System Metasitasis, the Biological Basis and Clinical Considerations. Diane Palmieri (ed), Springer, p195-206 (2012)
- (3) Mami Noda. Transporter Current Measurements. Modern Patch Clamp Techniques, Yasunobu Okada (ed), Springer, p195-206 (2012)
- (4) Mami Noda. Chapter 6. Kallikrein-kinin system in the brain. Kinin book, Michael Bader (ed), Elsevier, p85-102 (2011)

【和文】

- (5) 野田 百美・吉岡 亨、精油の薬理作用 (連載:スローエイジング工学と香りのサイエンスで創る新しい生命科学像 1)、AROMA RESEARCH,
- (6) 野田 百美・吉岡 亨、毒を薬に変える Elkind 回復則 (連載:スローエイジング工学と香りのサイエンスで創る新しい生命科学像 1)、AROMA RESEARCH No.50 (Vol.13/No.2) (2012) p174-178
- (7) 野田 百美: 13章 トランスポータ電流記録・解析法、最新パッチクランプ実験技術法、岡田泰伸 編、吉岡書店 p129-135 (2011)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

研究室 ホームページ :

<http://seiri.phar.kyushu-u.ac.jp/>

Discover Magazine 掲載記事 :

<http://discovermagazine.com/2013/march/6-water-cure-stroke>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野田 百美 (NODA MAMI)

九州大学・薬学研究院・准教授

研究者番号 : 80127985

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし