

## 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 8月26日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591735

研究課題名：希少糖の経口摂取による侵襲抑制効果の検討

研究課題名：Effects of the rare sugar oral administration for inflammatory organ dysfunction

研究代表者：

浅賀 健彦 (ASAGA TAKEHIKO)

香川大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30359921

研究成果の概要（和文）：シスプラチン 20mg/kg の投与による急性腎障害は D-allose の投与により軽減した。D-allose 200mg/kg の腹腔内投与では認められなかった効果が 400mg/kg で確認できたことから用量依存的であることが示された。その効果は血清クレアチニンの上昇で 38.7%、血清 BUN の上昇で 33.9% 低減した。シスプラチンの投与により認められた血清中の TNF- $\alpha$  の上昇や腎組織中の TNF- $\alpha$  や MCP-1 の上昇を有意に抑制することから抗炎症作用が機序の一つとして考えられる。投与経路や方法に関しては今後の課題である。

研究成果の概要（英文）：D-allose attenuated cisplatin-induced TNF- $\alpha$  and MCP-1 production, neutrophil infiltration, and kidney dysfunction. However, further studies are needed to determine the effect of differences between the routes of administration.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
24年度	100000		100000
23年度	500000		500000
22年度	500000		500000
年度			
年度			
総計	1100000		1100000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：麻酔学

キーワード：シスプラチン D-allose 急性腎障害

## 1. 研究開始当初の背景

自然界に存在する糖類には生理活性を持たないと思われてきたが、近年希少糖に生理活性を有することがわかってきた。我々はこれまで希少糖の一種である D-allose が敗血症による急性腎障害を軽減することを報告してきた。様々な機序が可能性として考えられるが、機序の一つの可能性として TNF- $\alpha$  の産生を引き金とする炎症カスケードの修飾が有力である。

これまでの実験系は病態の中心が虚血再

灌流に伴う多臓器障害の一部としての腎障害であったが、直接的な腎傷害性のある物質での検討は行っていない。希少糖の新たな可能性を探るために、これまでとは違う侵襲モデルでの検討が必要である。

## 2. 研究の目的

これまで行ってきた急性腎障害モデルは病態の中心が虚血再灌流傷害に伴う、腎臓の炎症であった。腎臓に特異的な傷害作用のある薬剤等の病態での検討はなされてこなか

ったため臨床で使用している薬剤で検討を行うこととした。

候補となる薬剤は抗がん剤、抗生剤、造影剤、NSAIDS 等が上げられ今回はまず予備実験として抗がん剤であるシスプラチンによる腎障害モデルで希少糖の効果を検討することとした

- ① シスプラチン腎障害における希少糖の効果の検討

シスプラチン腎傷害モデルにおいて希少糖の効果が判明した場合

- ② 投与経路の違いによる効果の違いの検討 (経口投与の効果について)

### 3. 研究の方法

#### -予備実験モデル作成-

対象 : 8-9 週 C57BL/6 マウス (雄)

薬剤 : シスプラチン

生食で 2mg/ml に希釈

希少糖 : D-allose

50mg/ml に希釈

マウスを 3 群に分類

シスプラチン群

腹腔内シスプラチン 20mg/kg

希少糖群

腹腔内シスプラチン 20mg/kg+

D-allose 400mg/kg

コントロール群

腹腔内生理食塩水+

D-allose 400mg/kg

\*シスプラチンによる重度腎障害モデル

(Megyesi et al. 1998; Ramesh and Reeves 2002)

#### -臓器摘出-

シスプラチン処置 72 時間後ペントバルビタール (50mg/kg) の腹腔内投与による全身麻酔下に 1%キシロカイン局所麻酔を行い腎臓を摘出

\*腎障害はシスプラチン投与 72 時間後に最大

(Ramesh and Reeves 2004; Kang et al. 2009)

#### -測定-

ELISA (血清 TNF- $\alpha$  腎 TNF- $\alpha$  腎 MCP-1)

腎機能投与 72 時間後 血清 BUN、Cr

腎組織

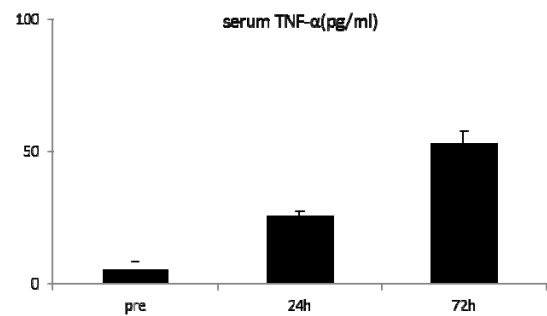
HE 染色

Tubular injury score

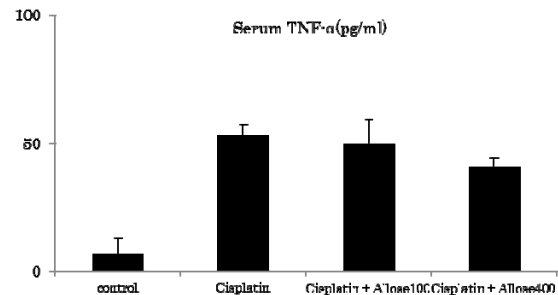
(Ramesh and Reeves 2004; Lui et al. 2006)

### 4. 研究成果

#### Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

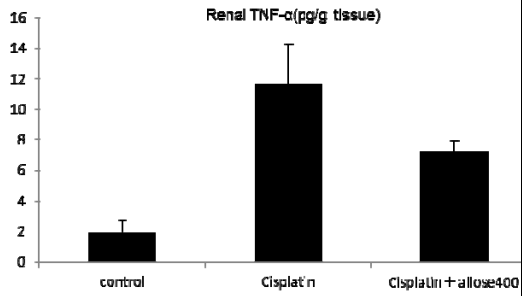


血清 TNF- $\alpha$  はシスプラチン投与 72 時間後に最高値を示した

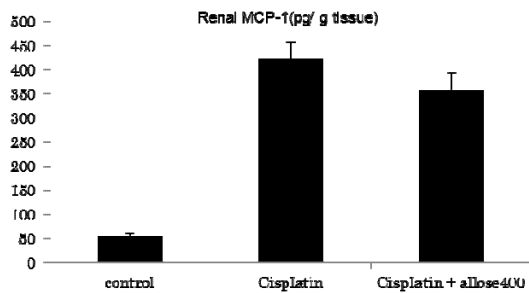


シスプラチン投与 72 時間後の血清 TNF- $\alpha$  は D-allose (100mg/kg) では効果が認められなかったが、D-allose (400mg/kg) の投与によりシスプラチン群に比し有意に低減した。

上記より D-allose の投与量は 400mg/kg とした。



腎臓における TNF- $\alpha$  産生は D-allose (400mg/kg) の投与により有意に低減した



腎組織における MCP-1 の産生は D-allose (400mg/kg) の投与により有意に低減した。

### 腎機能

#### 血清 BUN

コントロール 23.7mg/dl  
 シスプラチン 84.3mg/dl  
 D-allose 55.7mg/dl

33.9%低減

#### 血清 Cr

コントロール 0.06mg/dl  
 シスプラチン 0.31mg/dl  
 D-allose 0.19mg/dl

38.7%低減

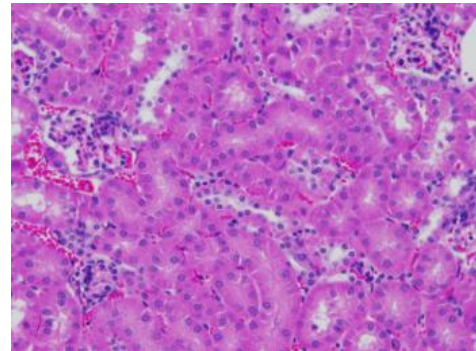
#### 血清 TNF- $\alpha$

コントロール 6.6pg/dl  
 シスプラチン 52.9pg/dl  
 D-allose 41.0pg/dl

22.5%低減

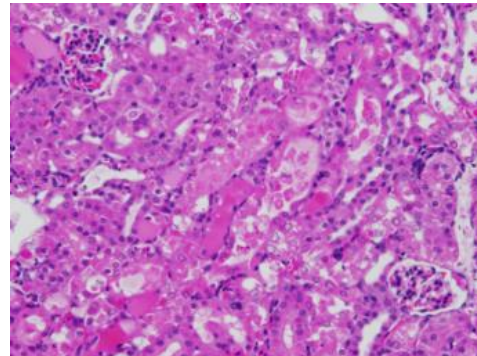
### 組織学的変化 (72 時間後)

#### コントロール群



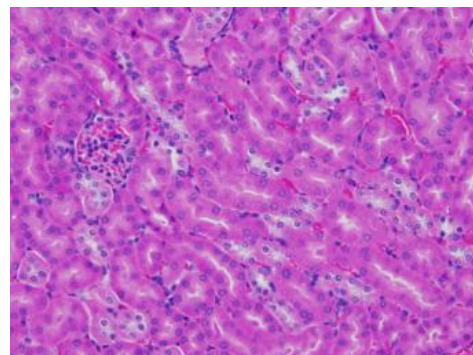
腎障害なし

#### シスプラチン群



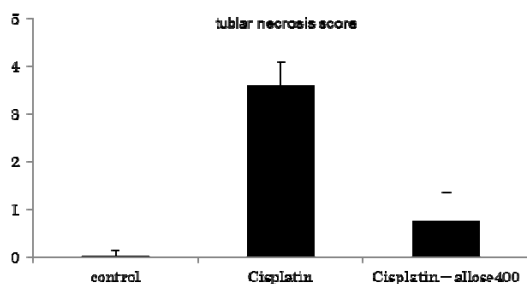
尿細管壊死 (+)  
 刷子縁の喪失 (+)  
 尿細管の拡張 (+)  
 炎症細胞の浸潤 (+)

#### シスプラチン+D-allose400mg/kg 群



シスプラチン群に比し軽度

## Tubular necrosis score



D-allose400mg/kg の投与により尿細管傷害は有意に軽減した (75%低減)

## 好中球の浸潤

(平均好中球数/1 視野)

コントロール	0
シスプラチン	0.58±0.75
D-allose	0

好中球の浸潤は D-allose の投与により有意に減少した。

これらのことから、D-allose は炎症を抑制し臓器障害を抑制する可能性があると思われる。

予備実験では D-allose100mg/kg 投与群も検討しているが、有意な効果は認められなかったことから D-allose の効果は濃度依存であると思われる。

経口投与群において有意な結果は認められなかった。原因としては D-allose が有効な血中濃度に達していなかった可能性があること、また投与時期に問題があった可能性が考えられた。

D-allose は抗炎症作用を有しシスプラチンによる腎障害を低減できたが、投与経路や時期に関してはさらなる検討が必要である

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

1, [Yuki Miyawaki](#), Masaaki Ueki, Masaaki Ueno, [Takehiko Asaga](#), Masaaki Tokuda, Gotaro Shirakami: D-allose Ameliorates Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Mice, THE TOHOKU JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE、査読有、228巻、2012、215-221

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

浅賀健彦 (ASAGA TAKEHIKO)  
香川大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：30359921

### (2) 研究分担者

宮脇有紀 (MIYAWAKI YUKI)  
香川大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：10423427