

| |
|--|
| 機関番号：3 2 6 6 6 |
| 研究種目：基盤研究（B） |
| 研究期間：2 0 0 8～2 0 1 0 |
| 課題番号：2 0 3 0 0 2 3 0 |
| 研究課題名（和文）新しい概念の抗酸化物質である水素を摂取することによる生活習慣病予防への展開 |
| 研究課題名（英文）Development toward preventive application of molecular hydrogen with a novel concept for lifestyle-related diseases |
| 研究代表者 太田 成男（OHTA SHIGEO） 日本医科大学・大学院医学研究科・教授 研究者番号：0 0 1 2 5 8 3 2 |

研究成果の概要（和文）：

生活習慣病の原因のひとつは酸化ストレスであり、酸化ストレス軽減によって、生活習慣病の改善と予防が期待される。水素分子は、新しい概念の抗酸化物質であり、生活習慣病への予防効果が期待される。本研究では、認知症モデルマウス、動脈硬化モデルマウス、糖尿病・高脂血症モデル動物に水素分子を溶解した水を自由摂取させることにより、その改善効果と予防効果があることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Persistent oxidative stress is one of the major causes of most lifestyle-related diseases, cancer and the aging process. We have proposed that molecular hydrogen (H₂) has potential as a “novel” antioxidant in preventive and therapeutic applications [Ohsawa *et al.*, Nat Med. 2007: 13; 688-94]. H₂ has a number of advantages as a potential antioxidant: H₂ rapidly diffuses into tissues and cells, and it is mild enough neither to disturb metabolic redox reactions nor to affect reactive oxygen species (ROS) that function in cell signaling, thereby, there should be little adverse effects of consuming H₂. There are several methods to ingest or consume H₂, including drinking H₂-dissolved water (hydrogen water). In this study, we have shown that model mice for dementia, diabetes, and arteriosclerosis were improved by drinking hydrogen water.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|------------|--------------|-------------|--------------|
| 2 0 0 8 年度 | 5, 500, 000 | 1, 650, 000 | 7, 150, 000 |
| 2 0 0 9 年度 | 5, 000, 000 | 1, 500, 000 | 6, 500, 000 |
| 2 0 1 0 年度 | 4, 300, 000 | 1, 290, 000 | 5, 590, 000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総 計 | 14, 800, 000 | 4, 440, 000 | 19, 240, 000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：水素、抗酸化物質、酸化ストレス、ミトコンドリア、生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

酸化ストレスは、多くの生活習慣病やがんを

誘発する原因のひとつである。酸化ストレスは、強い酸化力をもつ活性酸素種やフリーラジカルが過剰に生じることにより起こる。な

かでも強力なヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) は生体に悪い影響をもたらすので、抗酸化物により消去することが重要である。一方、フリーラジカルである一酸化窒素 ($\text{NO}\cdot$) は神経伝達物質として機能し、血管の拡張に必須である。また、スーパーオキシドや過酸化水素などの活性酸素は生体防御のシグナルとして体内では用いられている。過剰な抗酸化サプリメント摂取による副作用が報告され、実際、強力な抗酸化物質を日常的に過剰に摂取してこれらの活性酸素を過剰に消去すると、むしろ死亡率は上昇することが報告されている。

これらの点を考えると、抗酸化物を摂取する場合、有害な活性酸素種のみを除去し、生理作用に必要な活性酸素種を損なわないようにしなければならない。この点から考えると水素は理想的な抗酸化物である。

酸化ストレスを軽減するためには酸化障害が生じる前に細胞内で過剰産生された活性酸素を安全かつ速やかに除去することが重要である。

水素分子はヒドロキシラジカルなどの反応性の高い活性酸素・フリーラジカルを選択的に還元し、生体に重要な活性酸素種は還元しない。また、細胞内に取り込まれやすい抗酸化物であることが必要であるが、気体である水素分子は生体膜を自由に通過することができる。よって水素分子は活性酸素を効率的に除去する新しい概念の抗酸化物質である。

2. 研究の目的

認知症モデルマウス、糖尿病モデルマウス、動脈硬化マウスなどの生活習慣病モデルマウスを用いて、水素水の飲用により改善されることを証明する。さらに、そのメカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 水素水の作製と投与

水素水は、水素ガスを4気圧にて過飽和になるまで溶解してから大気圧に保ち飽和水素溶液を作製した。マウスへの経口投与は、水素が失われないようにするために、節水口にボールベアリングを装填した用具を用いた。水素水は毎日新鮮な水素水と交換し、対照水は、水素水から水素を脱気した水を用いた。水素濃度は水素電極によって測定した。

(2) モデルマウス

認知機能低下マウスは、狭いところにマウスを一日10時間閉じ込めストレスを上昇させた。

動脈硬化モデルマウスは、APOE ノックアウトマウスを用いた。

糖尿病・高脂血症モデルマウスは、db/dbマウスを用いた。

認知症モデルマウスは、DAL101 マウスを用いた。

(3) 酸化ストレスの測定

酸化ストレスは、酸化ストレスマーカーであるマロンジアルデヒド (MDA) を化学的方法により測定した。尿の酸化ストレスマーカーは、8-オキシグアニン(8-OHdG)を抗体法により測定した。

(4) 記憶力の測定

① 新奇物質探索試験

マウスは本来、新奇物体と認識すると接近し、形を調べたり臭いをかぐなどの「探索行動」をとる。記憶している物体に対しては、「探索行動」をとらないので、探索頻度を測定することにより、記憶力を調べた。

② 受動回避試験

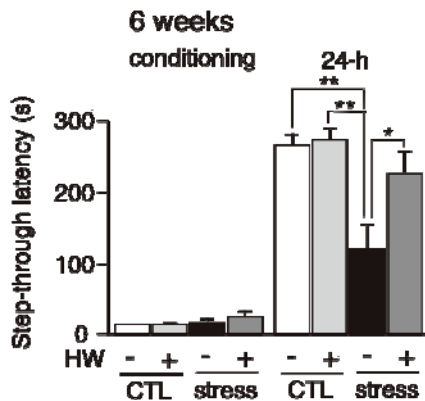
マウスは本来暗所を好む性質がある。暗室に進入した際に電気刺激を与えることにより、暗室への進入と痛みである恐怖を関連させて記憶させる。記憶力があれば暗室への進

入が躊躇されるので、暗室へ進入するまでの時間を測定すると記憶力を測定した。

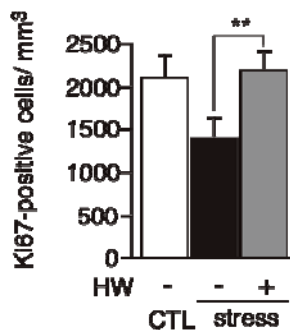
4. 研究成果

(1) 身体拘束による認知機能低下モデルマウスに対して水素水を飲用させた効果

下図のように受動回避試験において、水素水を飲用することによって認知機能の低下が抑制された。HW は水素水投与群。CTL はストレスを与えなかった群である。

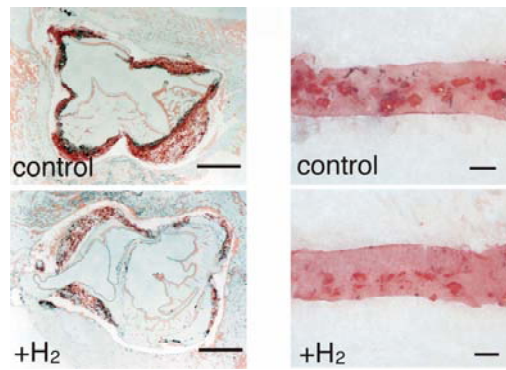


さらに Ki67 抗体で海馬領域の歯状回領域の増殖性神経細胞を観察すると、身体拘束ストレスにより神経再生が抑制され、水素水の飲用により回復することがわかった、



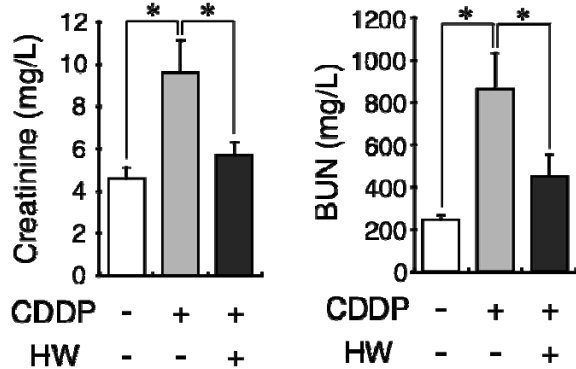
(2) 動脈硬化モデルマウスに対して水素水を飲用させた結果

APOE ノックアウトマウスにより自然動脈硬化を発生させた。右上図のように水素水飲用群 (+H₂) では、対照 (control) に比べ動脈硬化の形成が抑制された。

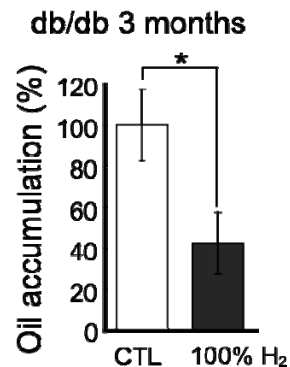


(3) 抗がん剤シスプラチン (CDDP) の腎機能低下の抑制

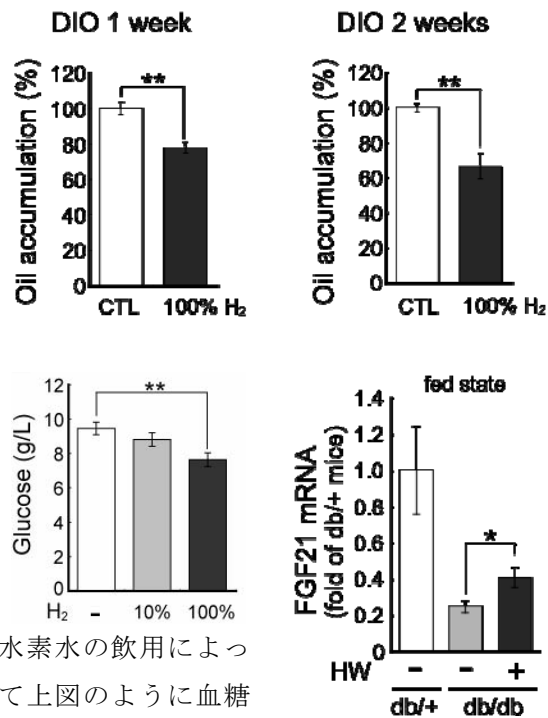
水素水 (HW) を飲用させると CDDP の副作用による腎機能低下が抑制された。腎機能のマーカーとしてクレアチニンと血液尿素窒素 (BUN) を測定した。



(3) 高脂血症モデルマウスに水素水を長期飲用すると脂肪肝の形成が抑制された。



野生型マウスにコレステロール食によって脂肪肝を形成された時に、水素水を飲用させると脂肪肝は減少した。



水素水の飲用によって上図のように血糖値が低下した。

さらに、脂質代謝や糖代謝を促進する FGF21 の発現が水素水の投与によって上昇した。FGF21 の上昇によって、エネルギー代謝が改善し、生活習慣病の予防になることが期待された。

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 31 件)

- 1) Kamimura, N., Nishimaki, K., Ohsawa, I., Ohta, S.: Molecular Hydrogen Improves Obesity and Diabetes by Inducing Hepatic FGF21 and Stimulating Energy Metabolism in db/db Mice. *Obesity* (Silver Spring). 査読有 2011 Feb 3. [Epub ahead of print]
- 2) Amo, T., Sato, S., Saiki, S., Wolf, AM., Toyomizu, M., Gautier, CA., Shen, J., Ohta, S., Hattori, N.: Mitochondrial membrane potential decrease caused by loss of PINK1 is not due to proton leak, but to respiratory chain defects. *Neurobiol. Dis.* 査読有 2011 Jan;41(1):111-118.
- 3) Wolf, AM., Asoh, S., Hiranuma, H., Ohsawa, I., Iio, K., Satou, A., Ishikura, M., Ohta, S.: Astaxanthin protects mitochondrial redox state and functional integrity against oxidative stress. *J. Nutr. Biochem.* 査読有 2010;21(5):381-389.
- 4) Oharasawa, H., Igarashi, T., Yokota, T., Fujii, H.,

Suzuki, H., Machide, M., Takahashi, H., Ohta, S., Ohsawa, I.: Protection of the retina by rapid diffusion of hydrogen: administration of hydrogen-loaded eye drops in retinal ischemia-reperfusion injury. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 査読有 2010; 51(1): 487-492.

- 5) Nakajima, S., Ohsawa, I., Ohta, S., Ohno, M., Mikami, T.: Regular voluntary exercise cures stress-induced impairment of cognitive function and cell proliferation accompanied by increases in cerebral IGF-1 and GST activity in mice. *Behav. Brain Res.* 査読有 2010;211(2):178-184.
- 6) Endo, J., Sano, M., Katayama, T., Hishiki, T., Shinmura, K., Morizane, S., Matsubashi, T., Katsumata, Y., Zhang, Y., Ito, H., Nagahata, Y., Marchitti, S., Nishimaki, K., Wolf, AM., Nakanishi, H., Hattori, F., Vasilou, V., Adachi, T., Ohsawa, I., Taguchi, R., Hirabayashi, Y., Ohta, S., Suematsu, M., Ogawa, S., Fukuda, K.: Metabolic Remodeling Induced by Mitochondrial Aldehyde Stress Stimulates Tolerance to Oxidative Stress in the Heart. *Circ Res.* 査読有 2009; 105(11):1118-1127.
- 7) Nakashima, Y., Ohsawa, I., Konishi, F., Hasegawa, T., Kumamoto, S., Suzuki, Y., Ohta, S.: Preventive effects of Chlorella on cognitive decline in age-dependent dementia model mice. *Neurosci. Lett.* 査読有 2009; 464(3): 193-198.
- 8) Nakajima, S., Ohsawa, I., Nagata, K., Ohta, S., Ohno, M., Ijichi, T., Mikami, T.: Oral supplementation with melon superoxide dismutase extract promotes antioxidant defences in the brain and prevnts stress-induced impairment of spatial memory. *Behav. Brain Res.* 査読有 2009; 200(1):15-21.
- 9) Suzuki, Y., Sano, M., Hayashida, K., Ohsawa, I., Ohta, S., Fukuda, K.: Are the effects of alpha-glucosidase inhibitors on cardiovascular events related to elevated levels of hydrogen gas in the gastrointestinal tract? *FEBS Lett.* 査読有 2009; 583(13): 2157-2159.
- 11) Nakashima-Kamimura, N., Mori, T., Ohsawa, I., Asoh, S., Ohta, S.: Molecular hydrogen alleviates nephrotoxicity induced by an anti-cancer drug cisplatin without compromising anti-tumor activity in mice. *Cancer Chemother Pharmacol.* 査読有 2009; 64(4): 753-761.

- 12) Fu, Y., Ito, M., Fujita, Y., Ito, M., Ichihara, M., Masuda, A., Suzuki, Y., Maesawa, S., Kajita, Y., Hirayama, M., Ohsawa, I., Ohta, S., Ohno, K.: Molecular hydrogen is protective against 6-hydroxydopamine-induced nigrostriatal degeneration in a rat model of Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.* 査読有 2009; 453(2): 81-85.
- 13) Harita, Y., Kurihara, H., Kosako, H., Tezuka, T., Sekine, T., Igarashi, T., Ohsawa, I., Ohta, S., Hattori, S.: Phosphorylation of nephrin triggers Ca²⁺ signaling by recruitment and activation of phospholipase C-gamma 1. *J Biol. Chem.* 査読有 2009;284(13):8951-8962.
- 14) Nagata, K., Nakashima-Kamimura, N., Mikami, T., Ohsawa, I., Ohta, S.: Consumption of molecular hydrogen prevents the stress-induced impairments in hippocampus-dependent learning tasks during chronic physical restraint in mice. *Neuropsychopharmacology.* 査読有 2009;34(2):501-508.
- 15) Murakami, Y., Ohsawa, I., Kasahara, T., Ohta, S.: Cytoprotective role of mitochondrial amyloid beta peptide-binding alcohol dehydrogenase against a cytotoxic aldehyde. *Neurobiol Aging.* 査読有 2009;30(2):325-329.
- 16) Ohsawa, I., Nishimaki, K., Yamagata, K., Ishikawa, M., Ohta, S.: Consumption of hydrogen water prevents atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 査読有2008 ;377(4):1195-1198.
- 17) Cai, J., Kang, Z., Liu, WW., Luo, X., Qiang, S., Zhang, JH., Ohta, S., Sun, X., Xu, W., Tao, H., Li, R.: Hydrogen therapy reduces apoptosis in neonatal hypoxia-ischemia rat model. *Neurosci. Lett.* 査読有 2008;441(2):167-172.
- 18) Ohsawa, I., Nishimaki, K., Murakami, Y., Suzuki Y., Ishikawa, M., Ohta, S.: Age-Dependent Neurodegeneration Accompanying Memory Loss in Transgenic Mice Defective in Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenase 2 Activity. *J. Neurosci.* 査読有 2008;28(24):6239-6249.
- 19) Hayashida, K., Sano, M., Ohsawa, I., Shinmura, K., Tamaki, K., Kimura, K., Endo, J., Katayama, T., Kawamura, A., Kohsaka, S., Makino, S., Ohta, S., Ogawa, S., Fukuda, K.: Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 査読有 2008;373(1):30-35.
- [学会発表] (計 20 件)
- 1) 太田成男: 水素医学への展開と研究の現状. 分子状水素医学シンポジウム. 名古屋 2011.2.18~19
- 2) Shigeo Ohta: Molecular Hydrogen is a Novel Antioxidant to Efficiently Reduce Oxidative Stress With Potential for the improvement of Mitochondrial Diseases. 7th ASMRM (Asian symposium of Mitochondrial Research and Medicine) and 10th J-mit (Japanese Mitochondrial Research and Medicine) 2010.12.16. Special Lecture 福岡.
- 3) Shigeo Ohta: 生命を紡ぐミトコンドリア. 7th ASMRM (Asian symposium of Mitochondrial Research and Medicine) and 10th J-mit (Japanese Mitochondrial Research and Medicine) 福岡. 2010.12.16-18.
- 4) 太田成男: 水素医学の展開への概観、第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会. 神戸 2010.12.7~10.ワークショップ
- 5) Shigeo Ohta: Recent Progress towards hydrogen medicine. 2010 Traditional Chinese Medicine International Forum(Shanghai). Shanghai Univ. Chinese Trad. Med. 2010.11.4.
- 6) 太田成男: 脳はグルコース以外にも使える! 第10回抗加齢医学の実際ザ・バトル講演 2010.9.20東京
- 7) 太田成男: 水素水の抗酸化作用 第 63 回日本温泉学会 長野 2010.9.15
- 8) Shigeo Ohta: Protection against mitochondrial oxidative stress. The First Asia-Pacific Symposium on Mitochondrial Medicine and Genetic Diagnosis Taipei 2010.6.13
- 9) 太田成男: 水素医学: この一年の発展, 第二回水素研究会, 東京. 2010.2.12
- 10) 太田成男: 水素水の経口投与によるシスプラチンの副作用軽減、第 41 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会 (シンポジウム)、神戸. 2009.9.4.
- 12) 太田成男: 水素分子による抗酸化治療・予防医学への可能性、第 28 回分子病理学研究会 神戸. 2009.7.19.

13) 太田成男: 水素医学の発展: 水素分子の抗酸化作用と臨床応用の可能性 第 42 回東京カルデアックセミナー 東京, 2009.7.10

14) 太田成男: 水素分子による抗酸化治療法・抗酸化予防法の開発、第 51 回日本基礎老化学会、横浜, 2009.6.19~20.

15) 太田成男: : ミトコンドリアから発せられる酸化ストレスと水素分子による抗加齢治療・予防. 第 9 回日本抗加齢医学会総会 東京, 2009.5.28.

16) 太田成男: 水素分子による新しい概念の抗酸化治療・予防医学、第 14 回再生医療談話会、東京, 2009.4.13

17) 太田成男: ミトコンドリア病のエネルギー代謝異常の分子機構-ミトコンドリア病におけるタウリンの役割-. 川崎医科大学 川崎医学会, 岡山, 2009.2.25

18) 太田成男: 水素水の基礎と臨床応用の可能性. 日本抗加齢学会, 東京, 2009.1.25.

19) Shigeo Ohta: Hydrogen acts as a therapeutic and preventive antioxidant. Euromit 7/The seventh European Meeting on Mitochondrial Pathology. Stockholm Sweden. 2008.6.11~14.

〔図書〕(計 3 件)

1) 太田成男、NHK出版 ミトコンドリアの非常識 2011. 107

2) 太田成男・他、医歯薬出版、ここまでわかったミトコンドリア研究の新展開 2011、134

3) 太田成男、サンマーク出版、体が若くなる技術、2010、223

〔産業財産権〕

○取得状況 (計 5 件)

1) 名称: 細胞死抑制活性強化タンパク質 FNK を用いた脱毛の防止

発明者: 太田成男、上村尚美、麻生定光

権利者: 日本医科大学

種類: 特許

番号: 4686780

取得年月日: 平成 23 年 2 月 25 日

国内外の別: 国内

2) 名称: 血管障害性が関与する疾患の易罹患性の判定方法

発明者: 太田成男、鈴木吉彦、下方浩史、安藤富士子

権利者: 太田成男、鈴木吉彦、東洋紡績

種類: 特許

番号: 4586120

取得年月日: 平成 22 年 9 月 17 日

国内外の別: 国内

3) 名称: ラット bcl-x 遺伝子の改変型 cDNA と改変型タンパク質

発明者: 太田成男、麻生定光

権利者: 太田成男、麻生定光

種類: 特許

番号: 4544715

取得年月日: 平成 22 年 7 月 9 日

国内外の別: 国内

4) 名称: 癌に特異的に作用する細胞死融合遺伝子及びその遺伝子産物

発明者: 太田成男、麻生定光

権利者: 日本医科大学

種類: 特許

番号: 4524359 (USA: US7507805)

取得年月日: 平成 22 年 6 月 11 日

(USA 平成 21 年 3 月 24 日)

国内外の別: 国内・アメリカ

5) 名称: 抗癌剤の効果を判定するミトコンドリア DNA の体細胞変異の検出

発明者: 太田成男、水谷聡、設楽雄二郎

権利者: 日本医科大学

種類: 特許

番号: 4496362

取得年月日: 平成 22 年 4 月 23 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://home.nms.ac.jp/ig/saiboseibutsu/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

太田 成男 (OHTA SHIGEO)

日本医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 00125832

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

大澤 郁朗 (OHSAWA IKUROH)

東京都健康長寿医療センター研究所・老

化制御研究チーム・研究副部長

研究者番号: 30343586

上村 尚美 (KAMIMURA NAOMI)

日本医科大学・老人病研究所・講師

研究者番号: 60283800