

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09016

研究課題名（和文）新規抗酸化剤を用いた頭部外傷後の神経機能回復に関する研究

研究課題名（英文）neuroprotective effects after traumatic brain injury by enteric hydrogen generation from Si-based agent

研究代表者

細見 早苗（Hosomi, Sanae）

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：90644005

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：新規水素療法として開発されたシリコン（Si）製剤は経口摂取後、体内の水と反応することにより、高濃度の水素を持続的に発生させることができる。本研究の目的は頭部外傷モデルのマウスを用いて、Si製剤による神経機能回復の効果を明らかにすることである。6週齢オスのマウスにSi製剤を含有する餌（Si群）もしくは対照餌（Control群）を投与した。頭部外傷後に、空間学習と記憶を評価するY字迷路を用いた行動実験と、脳組織のサイトカイン遺伝子発現をq-PCRで評価した。Si製剤による脳組織における抗酸化・抗炎症効果が確認され、空間認識と短期記憶の障害を改善した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水素シリコン製剤を使った新規抗酸化療法において、活性酸素種（ROS）シグナルを起因とした炎症性サイトカイン産生を抑制することにより、頭部外傷後の炎症反応による二次的損傷を縮小し、直接損傷を免れた神経回路が保護されることが示唆された。また、水素シリコン製剤で頭部外傷後の過剰な炎症を制御し、グリア瘢痕形成を抑制することで、神経細胞の内因性の再生を促す周囲環境を整えられ、障害された神経回路が再編成されることと考えられた。本研究で使用したシリコン製剤は、すでにヒト用サプリメントが販売されている。本研究結果を基に水素シリコン製剤を用いた頭部外傷の新たな治療法の確立することが可能となった。

研究成果の概要（英文）：A silicone (Si) preparation developed as a new hydrogen therapy can sustainably generate high concentrations of hydrogen by reacting with water in the body after oral ingestion. The purpose of this study was to clarify the effects of Si preparations on neurological function recovery using traumatic brain injury (TBI) model mice. A diet containing a Si preparation (Si group) or a control diet (Control group) was administered to 6-week-old male mice. After TBI, we conducted a behavioral experiment using a Y-maze to evaluate spatial learning and memory, and evaluated cytokine gene expression in brain tissue using q-PCR. Antioxidant and anti-inflammatory effects of Si preparations on brain tissue were confirmed, and improved spatial cognition and short-term memory disorders.

研究分野：頭部外傷

キーワード：水素 神経炎症 神経再生

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我々は「頭部外傷後の神経炎症と神経変性」をテーマとして研究をすすめ、活性型ミクログリアが惹起する遷延性の神経炎症により、頭部外傷後の神経変性・神経細胞死が生じていることを *in vivo imaging* にて証明した(NeuroImage:clinical 2018)。ミクログリアはグリア細胞の一つで、中枢神経の免疫担当細胞として知られている。神経炎症部位では、直接損傷による神経細胞死を感知したミクログリアが活性化し、活性酸素種(Reactive Oxygen Species:ROS)や炎症性サイトカインなどの神経傷害因子を産出する。この傷害因子によって、直接損傷をまぬがれた神経まで細胞死や変性が生じ、その異常を感知したミクログリアがさらに活性化して神経傷害因子を放出するという負のスパイラル(Self-Perpetuating neurotoxicity) が形成される。我々は、活性型ミクログリアから放出される活性酸素種(ROS)シグナルを起因とした炎症性サイトカイン産生を抑制することで、この負のサイクルを断ち切り、頭部外傷後の炎症によって生じる神経細胞死や変性を防ぐことができると考えた。

### 2. 研究の目的

水素は、他の抗酸化物質に比べ圧倒的に分子サイズが小さく、各種臓器の深部まで浸透する事が可能であり、脳の血液脳関門を唯一通過できる抗酸化物質として注目を浴びている。最近、大阪大学産業科学研究所で水素分子の新たな投与方法として開発されたシリコン製剤は、シリコンナノ粒子と体内の水分との反応により、体内で多量の水素を発生させることで、従来の方法に比して、濃度が高い水素を長時間にわたって脳細胞に取り入れることが可能となる。本研究では、体内で多量の水素を持続的に発生可能なシリコン製剤を用いた新規抗酸化療法によって、頭部外傷後の過剰な炎症反応を抑制し、神経機能回復へと導くことで新たな治療法の確立を目指す。

### 3. 研究の方法

#### 頭部外傷動物モデル

動物実験に関しては、大阪大学医学部附属動物実験施設運営委員会の承認を得て、大阪大学動物実験規定に準じて行った。C57/BL6J マウス(6週齢・雄)の左側大脳皮質を *impactor* で損傷させ鈍的頭部外傷モデルとした。CCI モデルは確立された focal brain injury モデルです。麻酔下、プレグマの左側で頭蓋骨を開頭した後、窒素圧で動くピストンで大脳皮質に直径 3mm、深さ 1mm の挫傷を作成した。

#### Si 製剤による水素療法の効果判定

6週齢オスのマウスに Si 製剤を含有する餌(Si 群)もしくは対照餌(Control 群)を投与した。投与開始 1 週間後に両群に CCI を行なった。CCI 1 週間後に、空間学習と記憶を評価する Y 字迷路を用いた行動実験と、脳組織のサイトカイン遺伝子発現を q-PCR で評価した。

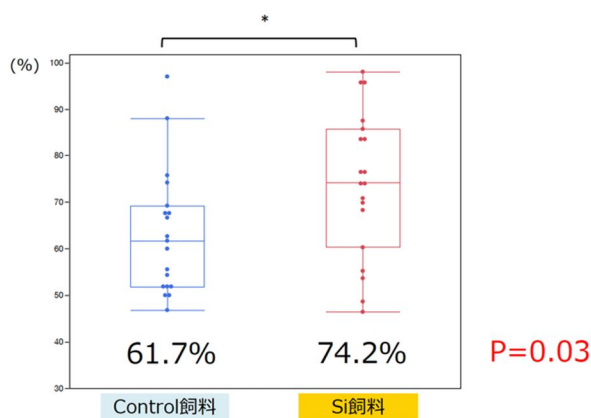
### 4. 研究成果

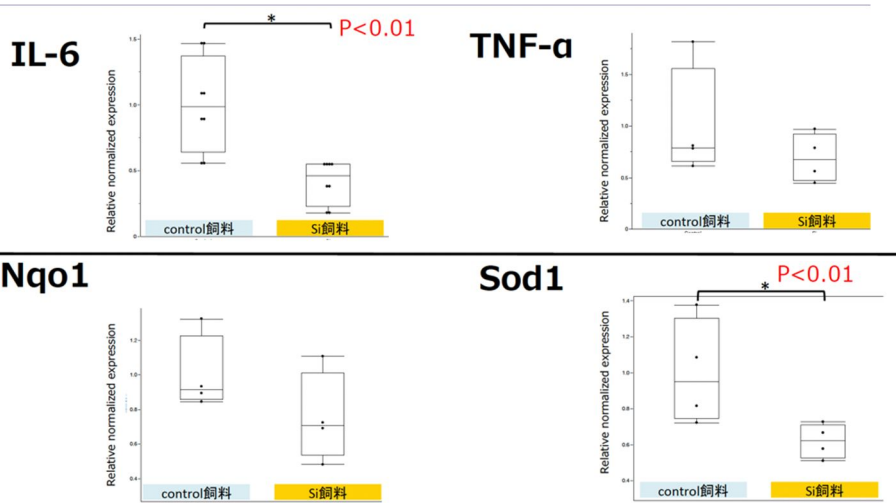
Si 群(n=19)は Control 群(n=19)と比較して、自発的交替行動は増加した(74.2% vs 61.7%,  $p=0.03$ )。q-PCR では Si 群(n=4)は Control 群(n=4)と比較して、損傷部周囲の皮質において IL-6 の RNA 発現量が減少し(0.46 vs 0.99,  $p<0.01$ ; 右図)、酸化ストレスにより発現する SOD1 も同様に減少した(0.62 vs 0.95,  $p=0.04$ ; 下図)。

本研究において、シリコン製剤による頭部

外傷後の脳組織における抗酸化・抗炎症効果が確認され、空間認識と短期記憶の障害を改善することが示唆された。

外傷において頭部外傷の占める割合は大きく、なかでも頭部外傷は運動障害や高次脳機能





障害をきたすため、患者のQOLを著しく下げ、社会復帰を妨げる。その社会的損失は甚大であるにも関わらず、その機能を回復させる効果的な治療法は現

在のところ存在しない。本研究結果により、水素シリコン製剤を使った新規抗酸化療法において、活性酸素種(ROS)シグナルを起因とした炎症性サイトカイン産生を抑制することにより、1 頭部外傷後の炎症反応による二次的損傷を縮小し、直接損傷を免れた神経回路が保護されること、2 過剰な炎症を制御し、グリア瘢痕形成を抑制することにより、神経細胞の内因性の再生を促す周囲環境を整えられ、障害された神経回路が再編成されることが考えられた。本研究で使用したシリコン製剤は、すでにヒト用サプリメントが販売されている。本研究結果を基に、今後は頭部外傷患者において水素シリコン製剤投与の効果を多角的に評価する。

#### 参考文献

Inflammation after Trauma: Microglial Activation and Traumatic Brain Injury. Anil F. Ramlackhansingh, et al. ANN NEUROL 2011;70:374–383

Inflammatory projections after focal brain injury trigger neuronal network disruption: An 18FDPA714PET study in mice. Hosomi S, Watabe T, Mori Y, Koyama Y, Adachi S, Hoshi N, Ohnishi M, Ogura H, Yoshioka Y, Hatazawa J, Yamashita T, Shimazu T. Neuroimage: Clinical. 2018; 20:946-954.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Hosomi Sanae, Kitamura Tetsuhisa, Sobue Tomotaka, Zha Ling, Kiyohara Kosuke, Matsuyama Tasuku, Oda Jun	4. 巻 11
2. 論文標題 Association between Timing of Epinephrine Administration and Outcomes of Traumatic Out-of-Hospital Cardiac Arrest following Traffic Collisions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 3564 ~ 3564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm11123564	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 -
1. 著者名 Hosomi Sanae, Sobue Tomotaka, Kitamura Tetsuhisa, Ogura Hiroshi, Shimazu Takeshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Nationwide improvements in geriatric mortality due to traumatic brain injury in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Emergency Medicine	6. 最初と最後の頁 (1):24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12873-022-00577-w	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 -
1. 著者名 Ito Hiroshi, Hosomi Sanae, Koyama Yoshihisa, Matsumoto Hisatake, Imamura Yukio, Ogura Hiroshi, Oda Jun	4. 巻 14
2. 論文標題 Sepsis-Associated Encephalopathy: A Mini-Review of Inflammation in the Brain and Body	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Aging Neuroscience	6. 最初と最後の頁 eCollection2022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnagi.2022.912866	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 -
1. 著者名 Hosomi Sanae, Zha Ling, Kiyohara Kosuke, Kitamura Tetsuhisa, Irisawa Taro, Ogura Hiroshi, Oda Jun	4. 巻 9
2. 論文標題 Survival following an out of hospital cardiac arrest in Japan in 2020 versus 2019 according to the cause	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acute Medicine & Surgery	6. 最初と最後の頁 eCollection2022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ams2.777	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 -

1. 著者名 Zha Ling, Hosomi Sanae, Kiyohara Kosuke, Sobue Tomotaka, Kitamura Tetsuhisa	4. 巻 5
2. 論文標題 Association of the COVID-19 Pandemic With Prehospital Characteristics and Outcomes of Pediatric Patients With Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Japan, 2005-2020	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JAMA Network Open	6. 最初と最後の頁 e2235401
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1001/jamanetworkopen.2022.35401	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 -

1. 著者名 Hosomi Sanae, Zha Ling, Kiyohara Kosuke, Kitamura Tetsuhisa, Komukai Sho, Sobue Tomotaka, Oda Jun	4. 巻 12
2. 論文標題 Impact of the COVID-19 pandemic on out-of-hospital cardiac arrest outcomes in older adults in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Resuscitation Plus	6. 最初と最後の頁 100299 ~ 100299
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.resplu.2022.100299	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 -

1. 著者名 Hosomi Sanae, Zha Ling, Kiyohara Kosuke, Kitamura Tetsuhisa, Irisawa Taro, Ogura Hiroshi, Oda Jun	4. 巻 64
2. 論文標題 Sex disparities in prehospital advanced cardiac life support in out-of-hospital cardiac arrests in Japan	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The American Journal of Emergency Medicine	6. 最初と最後の頁 67 ~ 73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajem.2022.11.025	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 -

1. 著者名 Hosomi S, Kitamura T, Sobue T, Ogura H, Shimazu T.	4. 巻 21(1)
2. 論文標題 Sex and age differences in isolated traumatic brain injury: a retrospective observational study.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Neurol.	6. 最初と最後の頁 261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12883-021-02305-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hosomi S, Kitamura T, Sobue T, Ogura H, Shimazu T.	4. 巻 11(1)
2. 論文標題 Survival outcomes after traumatic brain injury during national academic meeting days in Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 15206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-94759-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hosomi S, Sobue T, Kitamura T, Hirayama A, Ogura H, Shimazu T.	4. 巻 8(1)
2. 論文標題 Association between vasopressor use and mortality in patients with severe traumatic brain injury: a nationwide retrospective cohort study in Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acute Med Surg.	6. 最初と最後の頁 e695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ams2.695.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hosomi S, Kitamura T, Sobue T, Nakagawa Y, Ogura H, Shimazu T.	4. 巻 39(1-2)
2. 論文標題 Association of Pre-Hospital Helicopter Transport with Reduced Mortality in Traumatic Brain Injury in Japan: A Nationwide Retrospective Cohort Study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Neurotrauma.	6. 最初と最後の頁 76-85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/neu.2021.0181.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hosomi S, Kitamura T, Sobue T, Zha L, Kiyohara K, Oda J.	4. 巻 11(3)
2. 論文標題 Survival Trends in Adults with Out-of-Hospital Cardiac Arrests after Traffic Collisions in Japan: A Population-Based Study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Clin Med.	6. 最初と最後の頁 745
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm11030745	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hosomi S, Kitamura T, Sobue T, Zha L, Kiyohara K, Oda J.	4. 巻 11(3)
2. 論文標題 Epidemiology and Outcome of Pediatric Out-of-Hospital Cardiac Arrest after Traffic Collision in Japan: A Population-Based Study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Clin Med.	6. 最初と最後の頁 831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm11030831.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 細見早苗 北村哲久 入澤太郎 小倉裕司 織田順
2. 発表標題 COVID-19流行前後における目撃のある院外心停止の原因別生存率の変化
3. 学会等名 第50回 日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 細見早苗、北村哲久、小倉裕司、祖父江友孝、嶋津岳士
2. 発表標題 日本の単独頭部外傷の死亡リスクは改善している：JTDBを使った大規模コホート研究
3. 学会等名 日本外傷学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 細見早苗、北村哲久、小倉裕司、祖父江友孝、織田順
2. 発表標題 頭部外傷患者における死亡率低下とドクターヘリ搬送の関連：後ろ向きコホート研究
3. 学会等名 日本神経外傷学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sanae Hosomi, Hiroshi Ito, Yoshihisa Koyama, Yuki Kobayashi, Hiroshi Ogura, Hikaru Kobayashi, Shoichi Shimada, Jun Oda
2. 発表標題 Neuroprotective effects after TBI of enteric hydrogen generation from Si-based agent in mice model
3. 学会等名 The North American Brain Injury Society 's 17th Annual Conference on Brain Injury (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 伊藤弘、細見早苗、小山佳久、小林悠揮、小林光、小倉裕司、織田順
2. 発表標題 水素シリコン製剤を用いた脳損傷マウスモデルでの神経機能回復効果
3. 学会等名 第47回脳神経外傷学会
4. 発表年 2024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
研究分担者	島田 昌一  (Shimada Shouishi)  (20216063)	大阪大学・大学院医学系研究科・教授   (14401)	
研究分担者	小山 佳久  (Koyama Yoshihisa)  (40397667)	大阪大学・大学院医学系研究科・助教   (14401)	
研究分担者	小林 悠輝  (Kobayashi Yuki)  (40723557)	大阪大学・産業科学研究所・特任准教授   (14401)	



6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	小倉 裕司  (Ogura Hiroshi)  (70301265)	大阪大学・大学院医学系研究科・准教授    (14401)	
研究分担者	伊藤 弘  (Ito Hiroshi)  (80836594)	大阪大学・医学部附属病院・医員    (14401)	
研究分担者	小林 光  (Kobayashi Hikaru)  (90195800)	大阪大学・産業科学研究所・特任教授（常勤）    (14401)	

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