様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　７ 年　 ６ 月 １１ 日現在

機関番号：１６２０１
研究種目：若手研究
研究期間：2022～2024
課題番号：２２Ｋ１５８９９

研究課題名（和文）水素ガス吸入療法による新生児仮死に伴う腎障害への腎保護治療の開発

研究課題名（英文）Development of renal protection therapy for renal damage associated with neonatal asphyxia by hydrogen gas inhalation therapy

研究代表者

若林　誉幸（Wakabayashi, Takayuki）

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：２０６４４７３５

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,500,000円

研究成果の概要（和文）：生後24時間以内の新生仔豚20頭を、コントロール群（C, n=6）、低酸素虚血負荷群：（HI, 無治療24時間、n=8）、低酸素負荷＋水素吸入療法群（HI-H2, 2.2-2.7%水素ガス吸入24時間、n=6）の3群に分け、蘇生終了後24時間治療後、HI負荷後5日目に臓器還流後、腎皮質領域の病理学的評価を行った。HI群は、細胞増殖を伴った糸球体腫大と、尿細管上皮細胞の腫大を伴った近位尿細管内腔の狭窄を認めた。一方、HI-H2群は、それら糸球体腫大と近位尿細管内腔狭窄の有意な軽減を認めた。HIによる尿細管内腔狭小化でおきた尿細管内圧上昇による糸球体細胞増殖を伴う腫大を水素ガスは軽減した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究により、水素ガス吸入療法が新生児仮死後の急性腎障害を軽減する可能性が示された。今後は、長期的な腎予後や慢性腎疾患（CKD）への進展抑制効果を検証し、病態ごとの至適投与条件や作用機序の解明を進める必要がある。また、水素ガスは脳、肺、心臓など多臓器にも保護効果を示す可能性があり、新生児仮死児に対して、低体温療法と組み合わせた「集学的多臓器保護戦略」の中核的治療としての将来性が期待される。

研究成果の概要（英文）：We examined how renal cortex show histopathological injuries at day 5 after HI insult and, H2 gas can alleviate kidney injuries in HIE piglet model.
Twenty piglets were divided into three groups: no-insult (Control, n=6), HI insult with (HI, n=8), HI insult with H2 gas ventilation (HI-H2, 2.1-2.7% for 24h, n=6). At day 5 after HI insult, we evaluated histopathological injuries in renal cortex. Total glomerular cell count was significantly more in the HI group than in the other groups, while the HI-H2 group did not differ from the control group. Narrowed proximal tubular lumens had a significant increase in HI group over control, but not in HI-H2 group. In this neonatal asphyxiated piglet model, glomerular enlargement with increase of glomerular cells due to narrowed tubular lumen were observed at day 5 after HI insult. H2 gas inhalation had an efficacy in suppressing this increase of glomerular cells and narrowed tubular lumen.

研究分野：新生児

キーワード：新生仔豚　水素ガス吸入療法　急性腎障害

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　C－１９、F－１９－１（共通）

１．研究開始当初の背景

新生児低酸素性虚血性脳症（HIE）は、出生時の仮死や重篤な酸素欠乏により引き起こされ、脳のみならず腎臓や肺など多臓器に障害を及ぼす疾患である。HIE を呈する新生児のうち 30～70%に急性腎障害（AKI）が発生するとされ、神経学的予後や死亡率の悪化と関連することが報告されている。現在、HIE に対しては低体温療法（therapeutic hypothermia, TH）が標準治療として用いられているが、AKI に対する有効性は乏しく、臓器障害の軽減には新たな治療手段の開発が求められている。水素ガス（H_2）は、選択的な抗酸化作用や抗炎症作用、抗アポトーシス効果を持つことが報告されており、近年、新生児医療における注目が高まっている。しかし、水素ガスが AKI を軽減する可能性についての研究は限られており、特に出生直後の臓器が急速に発達する周産期のモデルにおいては未解明な点が多い。本研究では、ヒト新生児に近い発達段階を有する新生仔豚を用い、水素ガス吸入療法が HI 負荷後の腎障害に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

２．研究の目的

本研究の目的は、新生児仮死後に生じる急性腎障害（AKI）に対して、水素ガス吸入療法がどのような保護効果を持つかを明らかにすることである。特に、我々が開発した新生仔豚の低酸素性虚血（HI）モデルを用い、腎皮質の糸球体および近位尿細管における組織学的変化に焦点を当てた。

３．研究の方法

新生仔豚（生後 24 時間以内）20 頭を対象に、①コントロール群、②HI 群（虚血負荷のみ）、③HI-H_2群（虚血負荷後に水素ガス吸入：2.1-2.7%、24 時間）の 3 群に無作為割り付けした。虚血負荷 5 日後に安楽死させ、腎臓の組織学的評価（PAS、H&E、αSMA、CD31 染色）を実施。糸球体細胞数、Bowman 腔の消失を伴う糸球体腫大、近位尿細管の内径・外径比（Di/Do）などを定量評価し、統計解析には一元配置分散分析および Pearson 相関を用いた。

４．研究成果

本研究では、新生仔豚に 30 分間の低酸素性虚血（HI）負荷を加え、その後 24 時間にわたり 2.1-2.7%の水素ガス（H_2）を吸入させた HI-H_2群を設け、虚血単独群（HI 群）およびコントロール群と比較した。5 日後に摘出した腎組織を用い、糸球体細胞数、糸球体腫大、Bowman 腔の消失、近位尿細管内腔径の狭小化（Di/Do 比）を定量的に評価した。その結果、病理写真（Fig.1）では、HI 群において糸球体の腫大と Bowman 腔の消失、近位尿細管内腔の狭小化が顕著に認められた。これらは水素ガス吸入により明らかに軽減されていた。HI 群では糸球体細胞数と腫大率(Fig.2b，c，d)、近位尿細管の狭小化が有意に増加しており(Fig.2f)、急性期の腎障害像が明瞭に認められた。一方、HI-H_2群ではこれらの変化が抑制され、コントロール群と同程度であった。また、糸球体細胞数と腫大率、Di/Do 比と糸球体腫大率との間に有意な相関が認められた。

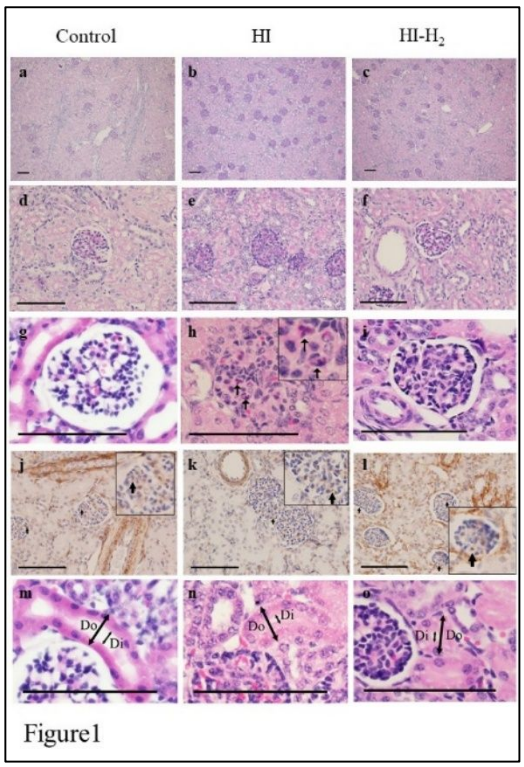

Figure1

Fig.3 は、球体腫大率と糸球体細胞数との関係を示した散布図であるが、HI 群および HI-H_2群のデータを対象に解析した結果、糸球体腫大率と糸球体細胞数の間に有意な正の相関が認められた（$p<0.05$）。これは、糸球体内の細胞数の増加が腫大の主要因であることを示しており、水素ガス吸入がこの細胞数の増加を抑制する

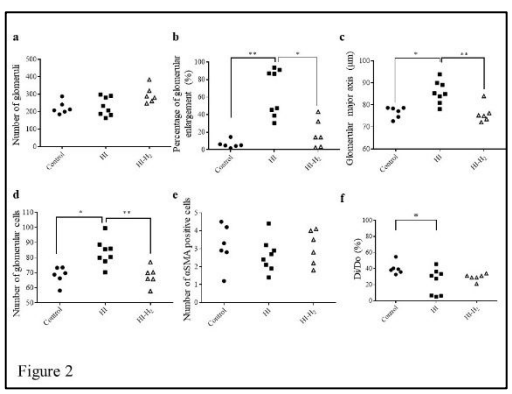
Figure 2

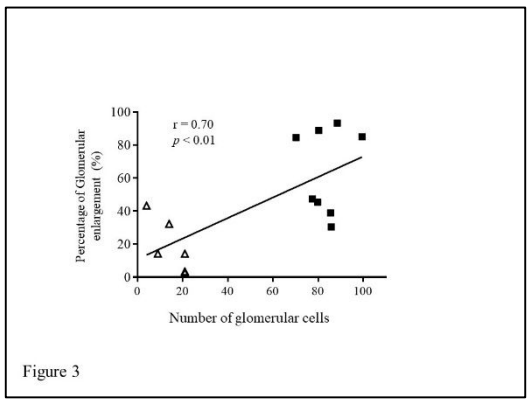

Figure 3

ことで腫大を軽減した可能性を示唆している。

本研究は、水素ガス吸入療法が低酸素性虚血負荷後の急性腎障害、とりわけ糸球体の細胞増殖や近位尿細管の狭小化を抑制することを初めて新生仔豚モデルで示したものである。糸球体腫大の原因として、メサンギウム細胞や内皮細胞の増殖、炎症細胞の浸潤が考えられるが、本研究ではαSMA陽性細胞に変化はなく、CD31陽性細胞の変化も不明瞭であったことから、炎症細胞、とくに好中球などの関与が示唆される。

また、近位尿細管の狭小化は上流の糸球体圧上昇を引き起こし、腫大や細胞増加と関連する可能性がある。これらの所見は、ヒト新生児でも見られるAKIの初期変化に類似しており、水素ガスの抗酸化・抗炎症作用がこれを抑制していると考えられる。

本研究により、水素ガス吸入療法が新生児仮死後の急性腎障害を軽減する可能性が示された。今後は、長期的な腎予後や慢性腎疾患（CKD）への進展抑制効果を検証し、病態ごとの至適投与条件や作用機序の解明を進める必要がある。また、水素ガスは脳、肺、心臓など多臓器にも保護効果を示す可能性があり、新生児仮死児に対して、低体温療法と組み合わせた「集学的多臓器保護戦略」の中核的治療としての将来性が期待される。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計2件（うち査読付論文　2件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　1件）

１．著者名 Tsuchiya Toui、Nakamura Shinji、Sugiyama Yuichiro、Nakao Yasuhiro、Mitsuie Tsutomu、Inoue Kota、Inoue Eri、Htun Yinmon、Arioka Makoto、Ohta Kenichi、Morita Hirosuke、Fuke Noriko、Kondo Sonoko、Koyano Kosuke、Miki Takanori、Ueno Masaki、Kusaka Takashi	４．巻 -
２．論文標題 Hydrogen gas can ameliorate seizure burden during therapeutic hypothermia in asphyxiated newborn piglets	５．発行年 2024年
３．雑誌名 Pediatric Research	６．最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41390-024-03041-6	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 Iwaki Takuma、Nakamura Shinji、Wakabayashi Takayuki、Nakao Yasuhiro、Htun Yinmon、Tsuchiya Toui、Mitsuie Tsutomu、Koyano Kosuke、Morimoto Aya、Fuke Noriko、Yokota Takayuki、Kondo Sonoko、Konishi Yukihiko、Miki Takanori、Ueno Masaki、Iwase Takashi、Kusaka Takashi	４．巻 15
２．論文標題 Hydrogen gas inhalation ameliorates glomerular enlargement after hypoxic-ischemic insult in asphyxiated piglet model	５．発行年 2025年
３．雑誌名 Scientific Reports	６．最初と最後の頁 1677
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-025-85231-8	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 －

〔学会発表〕　計3件（うち招待講演　1件／うち国際学会　0件）

１．発表者名 岩城拓磨
２．発表標題 新生仔豚仮死モデルの病理組織的腎傷害の特徴と水素ガス吸入療法による腎保護効果について
３．学会等名 第127回日本小児科学会学術集会（福岡）
４．発表年 2024年

１．発表者名 中村　信嗣
２．発表標題 新生児領域における水素ガス吸入療法の可能性　―水素ガスは本当に効くのか？―.
３．学会等名 第67回日本新生児成育医学会学術集会（横浜）（招待講演）
４．発表年 2023年

１．発表者名 若林誉幸、横田崇之、中尾泰浩、森本絢、小谷野耕佑、中村信嗣、安田真之、日下隆
２．発表標題 新生仔豚仮死モデルの腎皮質における低体温療法の病理組織学的影響
３．学会等名 第125回日本小児科学会学術集会
４．発表年 2022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

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