

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23300257

研究課題名(和文)新規水素発生素材の経口投与による水素分子の老年病と生活習慣病の予防効果

研究課題名(英文)Preventive effects of geriatric and life-style related diseases by oral administration of a novel hydrogen-producing material

研究代表者

太田 成男(Ohta, Shigeo)

日本医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00125832

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円、(間接経費) 3,990,000円

研究成果の概要(和文)：MgH₂は水素吸蔵金属であり、水素分子を発生する。MgH₂をマウスに経口投与し、まず安全性を確認した。MgH₂投与により、2型糖尿病モデルマウスの血中の中性脂肪を効果的に低下させた。この原因を探るべくマイクロアレイにより網羅的に遺伝子発現の変動を調べた。すると脂質代謝、コレステロール代謝に関与する遺伝子の発現が水素によって増加し、時間的に遺伝子発現の変動を調べると、ミトコンドリアの生成制御を司るPGC-1 α が上昇して、その後にミトコンドリアの脂質代謝の関与する酵素の遺伝子発現が上昇した。以上の結果より、水素発生素材は生活習慣病の予防に効果的であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：MgH₂ produces molecular hydrogen (H₂) by reacting with water. Safety of MgH₂ was confirmed by excess oral administration in long term in mice. Hydrogen was increased in the blood in rats after oral administration of MgH₂. The oral administration of MgH₂ effectively reduced blood triglyceride in 2-type diabetic model mice. To investigate the molecular mechanism, the change in gene expression between before and after its administration was comprehensively analyzed by using microarray. As the results, following the increase in PGC-1 α expression increased expressions in genes involved in fatty acid and cholesterol metabolism. Thus, this study suggests the preventive effects of oral administration of MgH₂ in lifestyle related diseases in model mice.

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：生活習慣病 ミトコンドリア 酸化ストレス 水素

1. 研究開始当初の背景

- (1) 私たちは、水素分子(H₂)が新しい概念の抗酸化物質であることを証明し、世界に水素医学を提唱した (Nature Medicine, 2007;13:688-94)。
- (2)その後 3 年間の間に、70 報以上もの論文が発表され、H₂ の生体への抗酸化作用とその他の様々な作用が確立された。
- (3) 私たちは、H₂ の投与方法を種々検討した結果、H₂ の摂取量よりも投与経路が重要で、経口投与することが効果的であることを明らかにした。
- (4) 実際に水素医学を治療に応用しようとして臨床試験が始まった。

2. 研究の目的

- (1)本研究の大きな目的は、水素を経口的に摂取して生活習慣病と老年病の予防に貢献しようとするものである。
- (2)MgH₂は、水素吸蔵金属であり、水と反応することによって、水素 2 分子を発生する。MgH₂は空気中の酸素と反応せず安定であり、水素発生時にも熱をほとんど発生しない。本研究では、胃の中で大量にH₂を発生させることにより、水素水の経口投与と同じように大量のH₂を摂取できるようにする。
- (3)安全で安心な H₂ を胃の中で発生させる素材を利用できるようにして、従来の方法よりもさらに簡便で効果的な投与方法が開発され、酸化ストレスが関与する疾患とエネルギー代謝が関連する疾患の予防を可能にするための基礎研究とする。
- (4)水素の生活習慣病の予防効果をより明確にしようとするものである。経口投与によって大量にH₂を摂取できるようになれば、水素水の飲用よりもさらに大きな効果が期待でき、安価で安全な各種の疾患の予防を可能にする。

3. 研究の方法

- (1)安全性の検討
MgH₂をグリセロールに懸濁して経口カテーテルでマウスに投与した。水素水の水素に比べ 600 倍の過剰投与を 4 週間繰り返した。解剖学および生化学的に検討をおこない、異常が生じるかどうかを調べた。

妊娠マウスに過剰投与しても母体・胎児・出生マウスに異常が認められるかどうかを調べた。

(2)水素の体内動態

MgH₂ を投与後に時間経過をおって採血し、血液中の水素濃度を定量した。水素濃度は、一定量の血液から空気層に水素を排出させ、ガスクロマトグラフィーによって水素を定量した。

(3)水素発生素材の効果

効果としては、2 型糖尿病モデルマウスにある db/db マウスを対象とした。従来、水素水を db/db マウスに投与すると血中の中性脂肪濃度が低下することを明らかにしているため、MgH₂ 投与後の血中の中性脂肪を定量した。

(4)遺伝子発現調節の検討

マイクロアレイにより網羅的に遺伝子発現の変動を調べ、変動のあった遺伝子に対して、RT-PCR により遺伝子発現の変化を経時的に観察した。

4. 研究成果

- (1)MgH₂ をマウスに経口投与し、まず安全性を確認した。600 倍の過剰投与を 4 週間繰り返しても異常は認められず、妊娠マウスに過剰投与しても母体・胎児・出生マウスに何ら異常は認められなかった。そこで、MgH₂ の経口摂取の安全性が確認された。
- (2)MgH₂ 摂取後に、血液の水素濃度をモニターすると、血中に多量の水素が出現し、数時間維持された。この結果より水素が体内で発生し、血中に移行することが証明された。
- (3) 従来、水素水を db/db マウスに投与すると血中の中性脂肪濃度が低下することを明らかにしているため、血中の中性脂肪を定量した。すると、2 週間後には水素水の経口投与よりも効果的に中性脂肪を低下させた。
MgH₂ の経口投与は、水素水の自由摂取よりも顕著な結果を示した。
- (4) 水素発生素材である MgH₂ 投与後の遺伝子発現パターンの変化をマイクロアレイによって網羅的に調べた結果、PGC-1α 遺伝子の増加が先行し、そ

の後に脂質代謝とコレステロール代謝関連遺伝子の発現が増加することが明らかとなった。

- (5)以上の結果より、MgH2 の経口投与は胃の中で大量に水素を発生させることができ、水素水の飲用効果よりも大きかった。そこで、MgH2 は医薬品として、様々な生活習慣病と老年病の予防または悪化抑制用の医薬品として開発されることが期待される。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 24 件)

Wolf AM, Nishimaki K, Kamimura N, Ohta S.: Real-Time Monitoring of Oxidative Stress in Live Mouse Skin. *J Invest Dermatol.* 査読有 2014;34(6):1701-1709 . doi: 10.1038/jid.2013.428.

Lee H, Ohno M, Ohta S, Mikami T.: Regular Moderate or Intense Exercise Prevents Depression-Like Behavior without Change of Hippocampal Tryptophan Content in Chronically Tryptophan-Deficient and Stressed Mice. *PLoS One.* 査読有 2013 4;8(7):e66996. doi:10.1371/journal.pone.0066996.

Takahashi M, Wolf AM, Watari E, Norose Y, Ohta S, Takahashi H.: Pilot study of H2 therapy in Parkinson's disease: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Mov Disord.* 査読有 2013;28(6):836-839. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.06.016.

Yoritaka A, Takanashi M, Hirayama M, Nakahara T, Ohta S, Hattori N.: Pilot study of H2 therapy in Parkinson's disease: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Mov Disord* 査読有 . 2013;28(6):836-839. doi: 10.1002/mds.25375.

Nojima A, Yamashita M, Yoshida Y, Shimizu I, Ichimiya H, Kamimura N, Kobayashi Y, Ohta S, Ishii N, Minamino T.: Haploinsufficiency of akt1 prolongs the lifespan of mice. *PLoS One.* 査読有 2013;8(7):e69178. doi: 10.1371/journal.pone.0069178.

Lee H, Kiuchi T, Muto J, Ohta S, Mikami T.: Intense exercise enhances the hippocampal proliferation of progenitor cells via activating the Flk1 signaling cascade in mice.

GAZZETA MEDICA ITALIANA ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE A Journal on Internal Medicine and Pharmacology 査読有 2013 in press.

鈴木吉彦、島田朗、佐野元昭、太田成男: 3271 番位 tRNA^{Lue(UUR)}変異を有するミトコンドリア糖尿病の 15 年を超えた追跡経過観察 *糖尿病学会誌* 査読有 2013;56(3)173-8. https://www.jstage.jst.go.jp/browse/tonyoby/56/3/_contents/-char/ja/

Hayashida K, Sano M, Kamimura N, Yokota T, Suzuki M, Maekawa Y, Kawamura A, Abe T, Ohta S, Fukuda K, Hori S.: H2 gas improves functional outcome after cardiac arrest to an extent comparable to therapeutic hypothermia. *J. Am. Heart Assoc.* 査読有 2012;1(5):e003459. doi:10.1161/JAHA.112.003459.

Hoshi H, Hao W, Fujita Y, Funayama A, Miyauchi Y, Hashimoto K, Miyamoto K, (他 21 名、16 番目 Ohta S.): Aldehyde-stress resulting from Aldh2 mutation promotes osteoporosis due to impaired osteoblastogenesis. *J. Bone Miner Res.* 査読有 2012;27(9):2015-2023. doi: 10.1002/jbmr.1634.

Rikimaru M, Ohsawa Y, Wolf AM, Nishimaki K, Ichimiya H, Kamimura N, Nishimatsu S, Ohta S, Sunada Y.: Taurine ameliorates impaired mitochondrial function and prevents stroke-like episodes in patients with MELAS. *Intern. Med.* 査読有 2012;51(24):3351-3357. https://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/51/24/51_51_7529/_pdf

Koga Y, Tanaka M, Ohta S, Wei YH.: Biochemistry of mitochondria, life and intervention 2010. *Biochim Biophys Acta.* 査読有 2012;1820(5):551-552. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.01.008.

Kashio A, Sakamoto T, Kakigi A, Suzuki M, Suzukawa K, Kondo K, Sato Y, Asoh S, Ohta S, Yamasoba T. Topical application of the antiapoptotic TAT-FNK protein prevents aminoglycoside-induced ototoxicity. *Gene Ther.* 査読有 2012;19(12):1141-1149. doi: 10.1038/gt.2011.204.

Sakurazawa M, Katsura K, Saito M, Asoh S, Ohta S, Katayama Y.: Mild hypothermia enhanced the protective effect of protein therapy with

transductive anti-death FNK protein using a rat focal transient cerebral ischemia model. *Brain Res.* 査読有 2012;1430:86-92.
doi: 10.1016/j.brainres.2011.10.041.

Shimokawa K, Oshiro R, Yamanaka K, Ashizawa K, Ohta S, Tatemoto H.: Improvement of the post-thaw qualities of Okinawan native Agu pig sperm frozen in an extender supplemented with antiapoptotic PTD-FNK protein. *Theriogenology.* 査読有 2012;78(7):1446-1455.
doi: 10.1016/j.theriogenology.2012.06.005.

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;19(7):1396-1403.
doi: 10.1038/oby.2011.6.

Terasaki Y, Ohsawa I, Terasaki M, Takahashi M, Kunugi S, Dedong K, Urushiyama H, (他7名, 5番目 Kamimura N, 6番目 Ohta S.): Hydrogen Therapy Attenuates Irradiation-induced Lung Damage by Reducing Oxidative Stress. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 査読有 2011;301(4):L415-L426.
doi: 10.1152/ajplung.00008.2011.

Shinmura K, Tamaki K, Sano M, Nakashima-Kamimura N, Wolf AM, Amo T, Ohta S, (他5名): Caloric restriction primes mitochondria for ischemic stress by deacetylating specific mitochondrial proteins of the electron transport chain. *Circ Res.* 査読有 2011;109(4):396-406.
doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.243097.

Hanaoka T, Kamimura N, Yokota T, Takai S, Ohta S.: Molecular hydrogen protects chondrocytes from oxidative stress and indirectly alters gene expressions through reducing peroxynitrite derived from nitric oxide. *Med. Gas Res.* 査読有 2011;1(1):18.
doi:10.1186/2045-9912-1-18.

Nagare T, Sakaue H, Matsumoto M, Cao Y, Inagaki K, Sakai M, Takashima Y, (他11名, 8番目 Kamimura N, 9番目 Ohta S.): Overexpression of KLF15 transcription factor in adipocytes of mice results in down-regulation of SCD1 protein expression in adipocytes and consequent enhancement of glucose-induced insulin secretion. *J Biol Chem.* 査読有

2011;286(43):37458-37469.
doi: 10.1074/jbc.M111.242651.

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;41(1):111-118.
doi: 10.1016/j.nbd.2010.08.027.

②① Chihara N, Amo T, Tokunaga A, Yuzuriha R, Wolf AM, Asoh S, Suzuki H, Uchida E, Ohta S.: Mitochondrial DNA alterations in colorectal cancer cell lines. *J Nippon Med. Sch.* 査読有 2011;78(1):13-21.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21389643>

②② Ohta S.: Molecular hydrogen is a novel antioxidant to efficiently reduce oxidative stress with potential for the improvement of mitochondrial diseases. *Biochim Biophys Acta.* 査読有 2012;1820(5):586-594.
doi: 10.1016/j.bbagen.2011.05.006.

②③ Ohta S., Nakao A., Ohno K.: The 2011 Medical Molecular Hydrogen Symposium: An Inaugural Symposium of the Journal Medical Gas Research. 査読有 *Med. Gas Res.* 2011; 1(1):10.
doi: 10.1186/2045-9912-1-10.

②④ Ohta S.: Recent Progress Toward Hydrogen Medicine: Potential of Molecular Hydrogen for Preventive and Therapeutic Applications. *Curr. Pharm. Des.* 査読有 2011;17(22): 2241-2252.
doi: 10.2174/138161211797052664

[学会発表](計 20 件)

Shigeo Ohta: Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: Initiation, development and potential of hydrogen medicine. 1th academic exchange and inaugural meeting on Hydrogen Molecule Biomedicine of the Hydrogen Molecular Biomedicine Professional Committee of Chinese Healthcare International Exchange Promotion Association. Chinese 2014.3.19.

太田成男: 水素医学研究 update:2013 第4回分子状水素医学シンポジウム 東京 2014.2.1

太田成男: ミトコンドリアと生物活性物質との相互作用 京都-NPO 法人国際

医科学研究会第7回フォーラム
2013.12.1.

太田成男:水素療法の神経系疾患に対する
効果:基礎医学から治療および予防への臨
床適用へ向かって 第31回日本神経治療
学会総会 東京 2013.11.22.

Shigeo Ohta: Molecular Hydrogen is an
Efficient Antioxidant Accompanied with
Anti-inflammatory and Energy
Metabolism-enhancing Roles.
International Drug Discovery Science &
Technology, Therapy and EXPO Hainan
International Convention and
Exhibition Center, IDDST Part of WGC
China 2013.11.15.

Shigeo Ohta: Molecular Hydrogen has
Potential for Preventive and
Therapeutic Applications for
Neurological Diseases. International
Drug Discovery Science & Technology,
Therapy and EXPO Hainan International
Convention and Exhibition Center,
MolMed Part of WGC China 2013.11.15.

太田成男:水素医学の展開:基礎医学から
臨床実施へ 第41回日本救急医学会総会
東京国際フォーラム 2013.10.21.

太田成男:ミトコンドリア機能と老化・疾
患制御 第13回抗加齢医学会総会 横浜
パシフィコ横浜 2013.6.28.

太田成男:水素医学の発展と健康への貢献
第86回日本薬理学会年会 福岡
2013.3.22.

Shigeo Ohta: Hydrogen Medicine Group:
Molecular Hydrogen Prevents Learning-
and Memory-deficits Declined by
Physical Restraint Stress. AD/PD2013
(The 11th International Conference On
Alzheimer's & Parkinson's Diseases)
Florence Italy, 2013.3.9.

Shigeo Ohta: Recent progress toward
hydrogen medicine. International
symposium of Mitochondrial biomedicine
China, 2012.4.8.

太田成男:水素医学の展開 日本N0学会
学術集会 神戸. 2012.6.29

太田成男:水素医学の発展と健康への貢献
日本アンチエイジング歯科学会 名古屋.
2012.5.19.

太田成男:ミトコンドリアを維持し、増や
すための生活の知恵 東洋はり医学会
東京. 2012.5.13.

太田成男:健康・老化へのミトコンド
リアの関与 第8回日本加圧トレーニ
ング学会 東京 2012.1.29.

太田成男:ミトコンドリアが制御する
健康・老化 第153回日本体力医学会
関東会 川崎 2011.12.16.

太田成男:ミトコンドリアに起因する
酸化ストレス 第39回日本肝臓学会
西部会 岡山 2011.12.10.

太田成男:ミトコンドリアと酸化スト
レス 第23回分子糖尿病シンポジウム
熊本 2011.11.26.

太田成男:水素医学の進展:酸化スト
レス軽減によるアポトーシス抑制のメ
カニズム 第20回日本Cell Death学
会シンポジウム 東京 2011.7.30.

Shigeo Ohta: Molecular hydrogen is a
novel antioxidant to efficiently
reduce oxidative stress for the
therapeutic and preventive potential
in lifestyle-related and
mitochondrial diseases. The eighth
European Meeting on Mitochondrial
Pathology (Euromit 8) Spain スペイン
2011.6.20-23. (22)

[図書](計2件)

太田成男:水素水とサビない身体、小
学館 2013、186.

太田成男:NHKサイエンスZERO-ミトコ
ンドリアの新常識、NHK出版、2011、128

[産業財産権]

出願状況(計1件)

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・麻生定光・上村尚美

権利者:同上

種類:特許

番号:PCT/JP2006/305326

出願年月日:2006年3月13日

国内外の別:国際出願

取得状況(計2件)

名称:生体内の有害な活性酸素及び/また
はフリーラジカル除去剤

発明者:太田成男 室田渉

権利者:同上

種類:特許

番号:5106110

取得年月日:2012年10月12日

国内外の別:国内

名称:ミトコンドリア病の予防又は治療薬

発明者：太田成男
権利者：同上
種類：特許
番号：5028639
取得年月日：2012.7.6
国内外の別：国内

〔その他〕

<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) 連携研究者

上村 尚美 (Kamimura Naomi)
日本医科大学・老人病研究所生化学部門
准教授
研究者番号：60283800

ウォルフ アレクサンダー (Wolf Alexander)
日本医科大学・老人病研究所生化学部門・
講師
研究者番号：20434136

西槇 貴代美 (Nishimaki Kiyomi)
日本医科大学・老人病研究所生化学部門・
マネジメントスタッフ
研究者番号：00465345

一宮 治美 (Ichimiya Harumi)
日本医科大学・老人病研究所生化学部門・
アシスタントサポートスタッフ
研究者番号：40553251

横田 隆 (Yokota Takashi)
日本医科大学・老人病研究所分子生物学部
門・マネジメントスタッフ
研究者番号：30445829