

腎疾患に対する新たな治療手段としての水素ガスの可能性

吉田 理

慶應義塾大学医学部血液浄化・透析センター

key words : 造影剤腎症, 虚血再灌流障害, 水素ガス, 酸化ストレス

要 旨

近年、水素ガスが注目されている。1~2%といった低濃度の水素ガスを吸入することで、脳や肝臓の虚血再灌流障害を軽減したり、心停止後の蘇生に良好な結果を示すことが、動物モデルで報告されている。このような水素ガスの効果は、主として水素ガスが活性酸素の生成を抑制することによってもたらされると考えられている。腎疾患においても、病態形成に活性酸素による障害が影響している場合、水素ガスによる治療が有効である可能性がある。そこで、本研究では造影剤腎症モデルと両側腎臓の虚血再灌流障害モデルとで水素ガスの効果を検討した。とくに、後者は腎移植におけるドナー腎の虚血再灌流障害モデルでもあり、今後のドナー腎の新たなコンディショニング方法となる可能性がある。造影剤腎症を引き起こしたラットに水素ガスを投与しておいたところ、腎障害が軽減するという結果が得られた。詳細な解析では、水素ガス吸入によって酸化ストレスマーカーの発現が低下し、尿細管のアポトーシスも減少するというメカニズムが明らかになった。一方、両側腎臓の虚血再灌流障害モデルでは、まだ水素ガスの効果が不透明である。今後、さらに検討を重ねる予定である。

1 研究目的

近年、水素ガスが注目されている。1~2%といった低濃度の水素ガスを吸入することで、脳や肝臓ある

いは心臓の虚血再灌流障害を軽減したり^{1~4}、心停止後の蘇生に良好な結果⁵を示すことが動物モデルで報告されている。これまでの研究によれば、このような水素ガスの効果は、主として水素ガスが活性酸素の生成を抑制することによってもたらされるものと考えられており、活性酸素による障害が病態形成に働く疾患では有効な治療法となりうる。

一方で、腎疾患に対する治療法は限られている。慢性腎臓病のみならず、急性腎障害に罹患する患者も増加しており、新たな治療戦略の開発が望まれている。そこで今回、我々は、水素ガスの吸入が腎障害を軽減させるかどうか二つの動物モデルを用いて検討することとした。ヨード系造影剤を用いた造影剤腎症の動物モデルと、両側腎臓の虚血再灌流障害モデルである。特に後者は、腎移植におけるドナー腎の虚血再灌流障害のモデルでもあり、今後のドナー腎に新たなコンディショニング方法をもたらす可能性がある。これらの腎障害モデルに水素ガスを投与し、その有効性を検討した。

2 研究方法

2-1 実験 1

水素ガス投与が、造影剤腎症を軽減するかどうか検討した。

7週齢の雄性 Sprague-Dawley ラット (n=5~6) を麻酔し、水素ガスを吸入させた (図 1)。その後、露出した大腿静脈からインドメタシン、L-NAME (N-w-

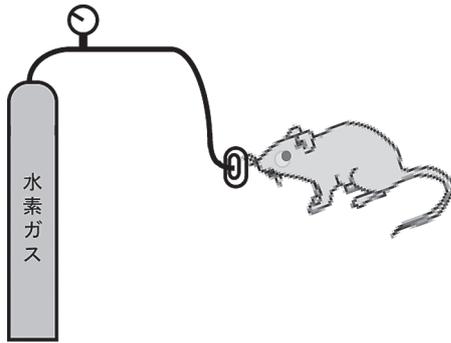


図1 ラットに対する水素ガスの吸入

麻酔したラットに1.29%水素ガスを経鼻・経口により吸入させた。その後、薬剤を静脈投与して造影剤腎症を発症させた。

nitro-L-arginine methyl ester), ヨード造影剤を順に注入し、造影剤腎症を引き起こした。水素ガスは40分間の吸入後に中止し、大腿静脈部を閉鎖した。対照群5例では、コントロールガスを吸入させて、同じ処置を行った。覚醒後、代謝ケージで蓄尿し、24時間後に採血・解剖した。血清クレアチニン、尿素窒素値を測定するとともに、蓄尿サンプルを用いてクレアチニンクリアランスを算出した。腎組織切片を作成し、形態学的な検討を加えた。酸化ストレスマーカー発現の評価、TUNEL染色によるアポトーシスの評価も行った。腎組織からは蛋白抽出も行い、カスパーゼ等の発現を検討した。

2-2 実験2

水素ガス投与が、腎臓の虚血再灌流障害を改善するかどうか検討した。

8週齢の雄性Sprague-Dawleyラット(対照群7例、水素ガス投与群7例)を麻酔し、背側より両側腎臓を露出した。両側腎動脈の血流を血管クリップを用いて45分間遮断した。血流の遮断は腎臓の色調の黒色化によって確認した。45分後にクリップを外し、腎臓の色調の赤色化を確認した後に閉鎖した。水素ガス投与群では処置の間、水素ガスを投与した。対照群では、処置の間、コントロールガスを投与した。覚醒後、代謝ケージで蓄尿するとともに、1日後、3日後にラットを解剖し、採血も行った。実験1と同様のパラメータを測定した。

3 結果と考察

実験1で、ラットに造影剤腎症を引き起こしたとこ

ろ、血清の尿素窒素は、腎症発症前の 14.9 ± 0.9 mg/dlから 36.0 ± 7.3 mg/dlへと上昇が認められた。この造影剤腎症ラットに水素ガスを吸入させたところ、尿素窒素値は 17.6 ± 2.3 mg/dlまでの上昇にとどまった⁶⁾。血清クレアチニン値でも同様の傾向が認められた。また、クレアチニンクリアランスでも、造影剤腎症によるクレアチニンクリアランスの低下が水素ガス吸入によって抑制された。腎組織の検討を行ったところ、造影剤腎症では尿管管内に円柱形成が出現したり尿管壊死が認められたりしたが、これらの障害も水素ガス投与で改善することが判明した⁶⁾。詳細な検討では、これらの変化はアポトーシスの抑制、酸化ストレスマーカーである8-hydroxy-deoxyguanosineの発現低下を伴っていることが明らかとなり⁶⁾、造影剤による酸化ストレス亢進が水素ガスにより低減し、腎障害を軽減しているというメカニズムが考えられた。

一方、実験2において、ラットの両側腎臓虚血再灌流モデルで水素ガスの影響を検討している。しかしながら、現在のところ水素ガス吸入の有無で腎機能障害に有意差を認めていない。現在ラットの匹数を増やして検討するとともに、障害後7日目などの長期効果に差がないかどうかなど、検討を重ねている。

このように、ラットの造影剤腎症モデルを用いた検討において、水素ガスの吸入が造影剤腎症に保護的に働くことが示された。水素ガスは燃焼・爆発の危険性がいわれるが、空気中に4.6%未満の場合、安全とされる⁷⁾。今回の水素ガスは1.29%であり臨床応用が可能な濃度である。今後、ラットの両側腎臓虚血再灌流モデルにおいても、水素ガスの影響を明らかにしていく予定である。これら二つのモデルで、水素ガスの有用性が認められれば、さらなる腎移植モデルで検討を行い、最終的には実際の臨床研究への橋渡しをしたいと考えている。

平成26年度日本透析医会公募研究助成により得られた成果の一部は、原著論文として『Nephron Experimental Nephrology』に投稿したため、二重投稿となることを避け、本報告書ではその概要を総論的に記載した。なお、原著論文は平成26年12月に下記論文として公表された⁶⁾。

文 献

- 1) Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. : Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med* 2007; 13 : 688-694.
- 2) Nagatani K, Wada K, Takeuchi S, et al. : Effect of hydrogen gas on the survival rate of mice following global cerebral ischemia. *Shock* 2012; 37 : 645-652.
- 3) Fukuda K, Asoh S, Ishikawa M, et al. : Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 361 : 670-674.
- 4) Hayashida K, Sano M, Ohsawa I, et al. : Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 373 : 30-35.
- 5) Hayashida K, Sano M, Kamimura N, et al. : H₂ gas improves functional outcome after cardiac arrest to an extent comparable to therapeutic hypothermia in a rat model. *J Am Heart Assoc* 2012; 1 : e003459.
- 6) Homma K, Yoshida T, Yamashita M, et al. : Inhalation of hydrogen gas is beneficial for preventing contrast-induced acute kidney injury in rats. *Nephron Exp Nephrol* 2014; 128 : 116-122.
- 7) Huang CS, Kawamura T, Toyoda Y, et al. : Recent advances in hydrogen research as a therapeutic medical gas. *Free Radic Res* 2010; 44 : 971-982.