慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	保存期腎不全における分子状水素による血圧制御機構の解明
Sub Title	Mechanism of blood pressure regulation by molecular hydrogen in chronic kiney disease
Author	鈴木, 昌(Suzuki, Masaru) 佐野, 元昭(Sano, Motoaki) 多村, 知剛(Tamura, Tomoyoshi)
Publisher	
Publication year	2019
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	腎部分切除直後からの水素ガス吸入によっても腎機能の改善と急性期の血圧上昇とを予防する効果は認められなかった。しかし水素ガスの反復間欠的吸入によって亜急性期に血圧が低下する傾向が認められた。周波数解析の結果から水素ガスの降圧効果は交感神経活性の抑制とは独立した機序であることが示唆された。腎部分切除後亜急性期からの水素ガス吸入によっても血圧が低下する傾向が確認され、レニン・アンギオテンシン・アルドステロン、尿中ノルアドレナリンが水素群で低下し尿中ナトリウム排泄が増加する傾向が明らかとなった。保存期腎不全において水素ガスの間欠的反復吸入が神経液性因子を介して降圧効果を呈する可能性が示唆された。 Hydrogen gas inhalation initiated immediately after partial nephrectomy was not effective in improving renal function or preventing an elevation in blood pressure in the acute phase. However, blood pressure showed a tendency to be lowered with repeated intermittent inhalation of the hydrogen gas in subacute phase. The result of the frequency analysis indicated that hydrogen gas exerted an antihypertensive effect independent of the control of the sympathetic nerve activity. A tendency of lowered blood pressure was observed even when hydrogen gas inhalation was initiated 3 weeks after the partial nephrectomy. In the hydrogen group, plasma renin activity, angiotensin II, aldosterone, and urinary norepinephrine tended to decrease and urinary sodium excretion tended to increase. It was suggested that intermittent repeated inhalation of hydrogen gas shows an antihypertensive effect through the inhibition of neurohumoral factors in a remnant kidney model.
Notes	研究種目：基盤研究(C)(一般) 研究期間：2016～2018 課題番号：16K11420 研究分野：集中治療
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_16K11420seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

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　元 年　 ５ 月 １７ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2018
課題番号：１６Ｋ１１４２０

研究課題名（和文）保存期腎不全における分子状水素による血圧制御機構の解明

研究課題名（英文）Mechanism of blood pressure regulation by molecular hydrogen in chronic kiney disease

研究代表者
鈴木　昌（Suzuki, Masaru）

慶應義塾大学・先導研究センター・特任教授

研究者番号：７０２６５９１６

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,600,000円

研究成果の概要（和文）：腎部分切除直後からの水素ガス吸入によっても腎機能の改善と急性期の血圧上昇とを予防する効果は認められなかった。しかし水素ガスの反復間欠的吸入によって亜急性期に血圧が低下する傾向が認められた。周波数解析の結果から水素ガスの降圧効果は交感神経活性の抑制とは独立した機序であることが示唆された。腎部分切除後亜急性期からの水素ガス吸入によっても血圧が低下する傾向が確認され、レニン・アンギオテンシン・アルドステロン、尿中ノルアドレナリンが水素群で低下し尿中ナトリウム排泄が増加する傾向が明らかとなった。保存期腎不全において水素ガスの間欠的反復吸入が神経液性因子を介して降圧効果を呈する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
腎機能悪化の懸念からアンギオテンシン変換酵素阻害薬やアンギオテンシンⅡ阻害薬が使用し難い保存機腎不全患者において腎機能に影響せず降圧効果を有するため、水素ガス吸入療法が腎性高血圧の新規治療となる可能性がある。高血圧自然発症ラットを用いた検討では保存期腎不全と比較して降圧効果は弱く、水素ガスの効果は高血圧の病態に依存する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Hydrogen gas inhalation initiated immediately after partial nephrectomy was not effective in improving renal function or preventing an elevation in blood pressure in the acute phase. However, blood pressure showed a tendency to be lowered with repeated intermittent inhalation of the hydrogen gas in subacute phase. The result of the frequency analysis indicated that hydrogen gas exerted an antihypertensive effect independent of the control of the sympathetic nerve activity. A tendency of lowered blood pressure was observed even when hydrogen gas inhalation was initiated 3 weeks after the partial nephrectomy. In the hydrogen group, plasma renin activity, angiotensin II, aldosterone, and urinary norepinephrine tended to decrease and urinary sodium excretion tended to increase. It was suggested that intermittent repeated inhalation of hydrogen gas shows an antihypertensive effect through the inhibition of neurohumoral factors in a remnant kidney model.

研究分野：集中治療

キーワード：分子状水素　水素ガス　保存期腎不全　腎性高血圧　高血圧

１．研究開始当初の背景

分子状水素（以下、水素）は、2007 年に抗酸化物質として有用性が報告されて以来、抗酸化、抗炎症、抗アポトーシス効果を含む多面的効果を有する有望な物質として様々なモデルで有用性が報告され、多分野で注目されている （Ohta S. Pharmacol Ther. 2014）。水素ガスの吸入では 1.3 ～3.0%の水素濃度が有効であると報告されている。水素の分子量は全ての物質の中で最小であるため、拡散によって吸入後速やかに全身に移行することがわかっている。また水素には他の一酸化窒素や硫化水素などのガス伝達物質と異なって、明らかな副作用がなく安全であるという重要な特徴がある。慢性腎不全患者の維持透析に、電気分解で生じた水素を含有する透析液を用いたところ、透析後に血圧が有意に降下したと報告されている(Nakayama M, et al. Nephrol Dial Transplant. 2010）が、水素がどのように作用しているかは解明されていない。また水素が透析患者だけでなく、保存期の慢性腎臓病（CKD）患者の高血圧治療に有効であるかは明らかではない。保存期の CKD 患者の血圧コントロールは、腎機能の悪化や高カリウム血症を起こす懸念からアンギオテンシン変換酵素阻害薬やアンギオテンシン II 受容体拮抗薬が使いにくく、管理が困難である。結果として透析患者は増え続けている。高血圧の発症機序は多元的とされるが、中枢神経（頭側延髄腹外側野;RVLM）の交感神経の活性化が重要な成因と考えられている。腎の求心性交感神経の活性化に続く中枢性交感神経の活性化や、レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系(RAAS)と中枢性交感神経系の活性との相互影響(Kishi T. Front Physiol. 2012）によって血圧の上昇が誘導されることが報告され、交感神経の活性化がとりわけ注目されている。中枢神経系の交感神経活性の制御を目的として一部の治療抵抗性高血圧患者に対する植え込み式圧受容体刺激装置による頸動脈洞刺激（Scheffers IJ, et al. J Am Coll Cardiol. 2010）や腎動脈アブレーション（Bhatt DL, et al. N Engl J Med. 2014）が臨床研究段階にある。非侵襲的な水素が保存期の CKD 患者の高血圧治療に有効であれば、新たな治療の選択肢となるため、我々は保存期 CKD の血圧コントロ ールへの水素の有用性とその分子メカニズムを交感神経活性に着目して検討することとした。

２．研究の目的

水素ガスの吸入が保存期の慢性腎臓病の高血圧治療にも有効であるか、またその分子メカニズムを明らかにすること、さらに水素による高血圧治療効果が他の高血圧モデルにおいても普遍的であるかを検証することを目的とする。

３．研究の方法

実験(1)腎切除後急性期の水素ガス吸入の血圧および腎機能に対する効果を検討した。8 週齢 Lewis 雄性ラットに対して microsurgery の技術を用いて一期的に 5/6 腎摘モデルを作成した。腎切除直後からラットに対して水素ガス（1.3% H_2 + 21% O_2 + 77.7% N_2）もしくはコントロールガス（21% O_2 + 79% N_2）の吸入を毎日 1 時間、28 日間行った。1 週間毎に腎機能、尿量を計測し 28 日後に観血的動脈圧および左腎重量を測定した。

実験(2)腎切除術の 1 週間前にテレメトリー発信器の植込術を施行し、テレメトリーシステム（Ponemah Ver. 6.3, Data Science International, Minnesota, USA）を用いて実験(1)と同様

の実験を行い毎日ガス吸入前に自由行動下血圧を測定した。ガス吸入開始前と 28 日目に心拍変動解析を行った。

実験(3)慢性期腎不全に対する水素ガス吸入の血圧及び腎機能に対する効果を検討した。5/6 腎摘術施行後 3 週間後に血圧が十分上昇している個体を選び、水素群/コントロール群にランダムに割り付け、前実験同様に水素ガスもしくはコントロールガスの吸入を 4 週間行った。
Tail-cuff 法を用いて 1 週間毎にガス吸入前に血圧および心拍数を測定した。ガス吸入 1 週間後に血漿神経液性因子（レニン・アンギオテンシンⅡ・アルドステロン）、尿中ナトリウム排泄量、尿中ノルアドレナリンを測定した。

実験(4)水素の降圧効果を 12 週齢の高血圧自然発症ラットで検証した。テレメトリー発信器を SHR/Izumo ラットに植え込み、1 週間回復させた後に前実験同様に毎日 1 時間、2 週間のガス吸入を行った。ガス吸入中は毎日、ガス吸入後約 6 時間後に、吸入終了後は同時間帯に隔日で、吸入開始から 3 週間テレメトリーシステムを用いて自由行動下血圧を測定した。ガス吸入開始前、2 週間後、3 週間後に心拍変動解析を行った。

４．研究成果

腎切除直後から毎日 1 時間の 1.3%水素ガスの吸入（水素吸入群）によって、術後 4 週間時点で水素吸入群の血圧（平均動脈圧 94.2±17.8 mmHg）は、対照群（窒素吸入群）(MAP 134.1±5.7 mmHg）と比較して有意に低下していることが明らかになった（P = 0.02）(Figure 1A-C)。一方で尿量 (Figure 1E)、クレアチニンクリアランス (Figure 1F)、血清尿素窒素濃度 (Figure 1G)、血清クレアチニン濃度（Figure 1H)、腎重量（Figure 1I）には両群で差を認めなかった。第 28 日後には水素吸入群と窒素吸入群では体重に有意差を認めないものの、水素群の方が術後の体重減少が軽度であり、術前体重までの回復が早かった（Figure 1D)。

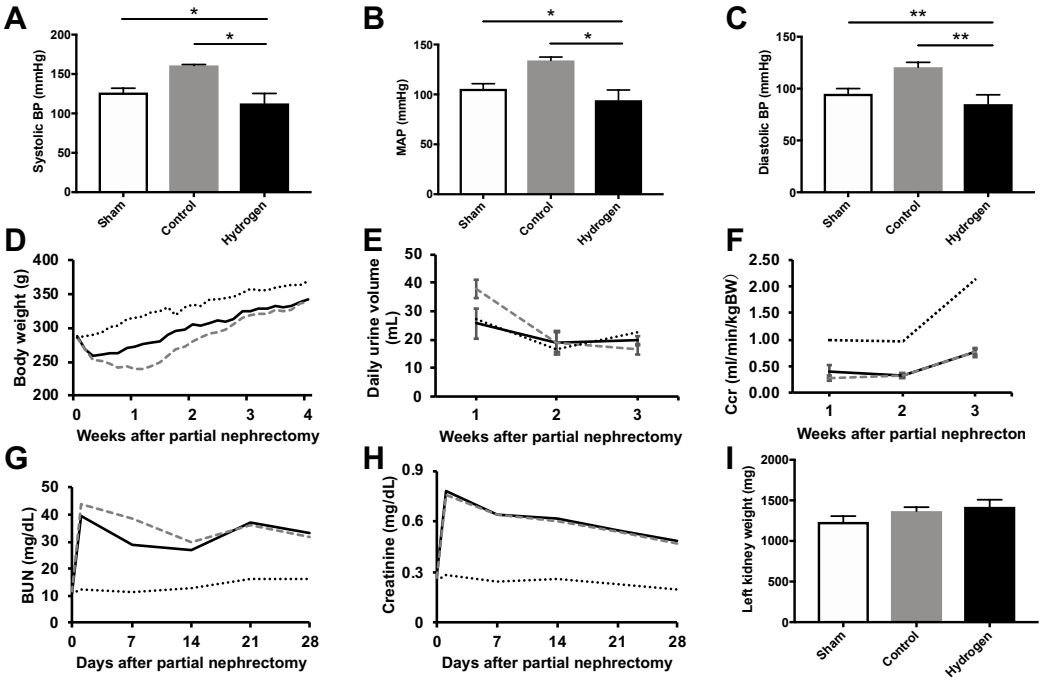

Figure 1. Effect of H_2 early after partial nephrectomy (Experiment 1)

次にテレメトリーシステムを用いて腎切除急性期の血圧および腎機能への影響を検討した。術前の血圧には両群間で差がなかった（水素群 MAP 95.7.4±4.1 mmHg, コントロール群 MAP 98.8±5.4 mmHg, P=0.47）が、術直後に水素ガス吸入を吸入することによって水素群の血圧上昇は、吸入開始直後からコントロール群よりも抑制された（水素群 117.4±1.8 mmHg, コントロール群 125.6±4.7mmHg , P=0.04）（Figure 2A）。この効果は水素ガス吸入中の 60 分間にわたり維持される傾向を認めた。ただし水素ガス吸入を終了すると水素群においても血圧の上昇が生じた。翌日以降１週間までのガス吸入直前の血圧は両群ともに上昇し、術直後からの水素ガスの間欠的反復吸入では腎摘出後の血圧上昇を抑制する効果は認められなかった。一方で２週間目以降はコントロール群は MAP が横ばいないし上昇したが、水素群では MAP が低下し、術後 28 日後には MAP は水素群で低い傾向を認めた（水素群 132.9±2.7 mmHg, コントロール群 150.7.8±17.8 mmHg, P=0.25）（Figure 2B)。ガス吸入４週間後の周波数解析で交感神経活動の指標である LF/HF 比はガス吸入開始前と比較してコントロール群では上昇する傾向を認めたが、水素群では低下する傾向を認めた（Figure 2C, 2E）。一方副交感神経活動指標である HFnu や HF/(LF+HF)の変化は両群で同様であった（Figure 2D, 2F）。腎機能には両群で差を認めなかった（Figure 2G, 2H）。

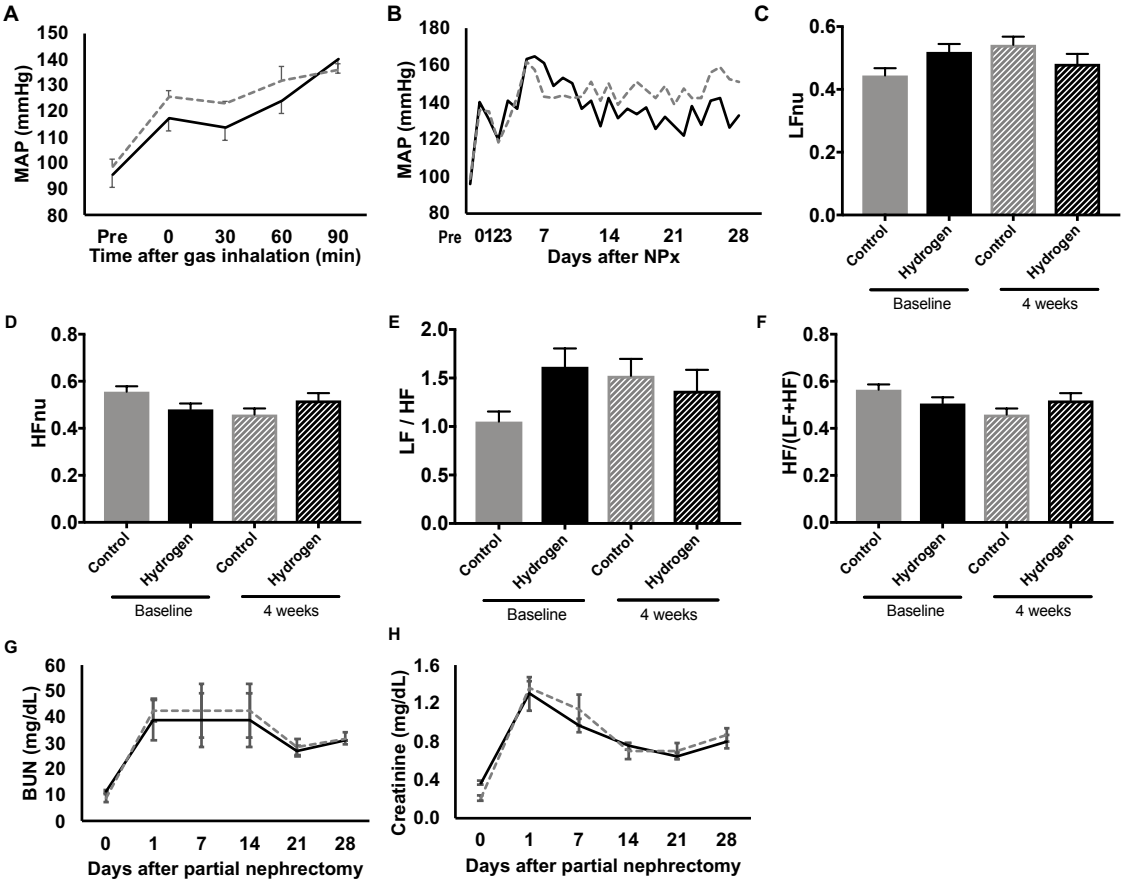

Figure 2. Effect of H_2 early after partial nephrectomy (Experiment 2)

5/6 腎摘モデル作成３週間後には血圧は両群ともに上昇した（水素群 124.9±3.7 mmHg, コントロール群 122±2.5mmHg, P=0.64）（Figure 3A-3C）。水素吸入群は１週間以降はコントロール群と比較して、血圧と心拍数が低下傾向を示した（Figure 3A-3D）。血清ノルアドレナリンは低下傾向を認めた(P=0.37)。吸入開始１週間後の血清レニン活性、アンギオテンシンⅡ、ア

ルドステロン、および尿中ノルアドレナリンは水素群において低下する傾向を認めた(Figure 3E-3H)。水素群において尿中ナトリウム排泄が増加し、尿中タンパク量が減少する傾向を認めた(Figure 3I-3J)。

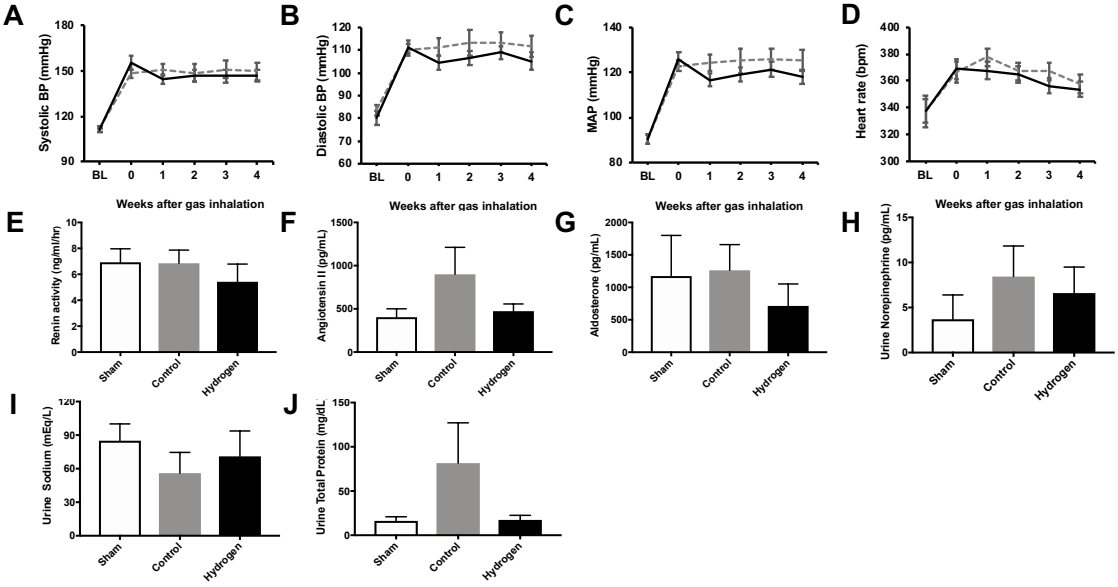

Figure 3. Effect of H_2 on partial nephrectomy in subacute phase (Experiment 3)

水素ガス吸入により、SHR ラットにおいて吸入開始 1 週間後から平均動脈圧と心拍数が低下する傾向を認め、吸入終了 1 週間後まで吸入効果の遺残を認めた（Figure 4A,4B）。ただし、交感神経および副交感神経活動の指標には一定の傾向が認められなかった（Figure 4C-4F）。

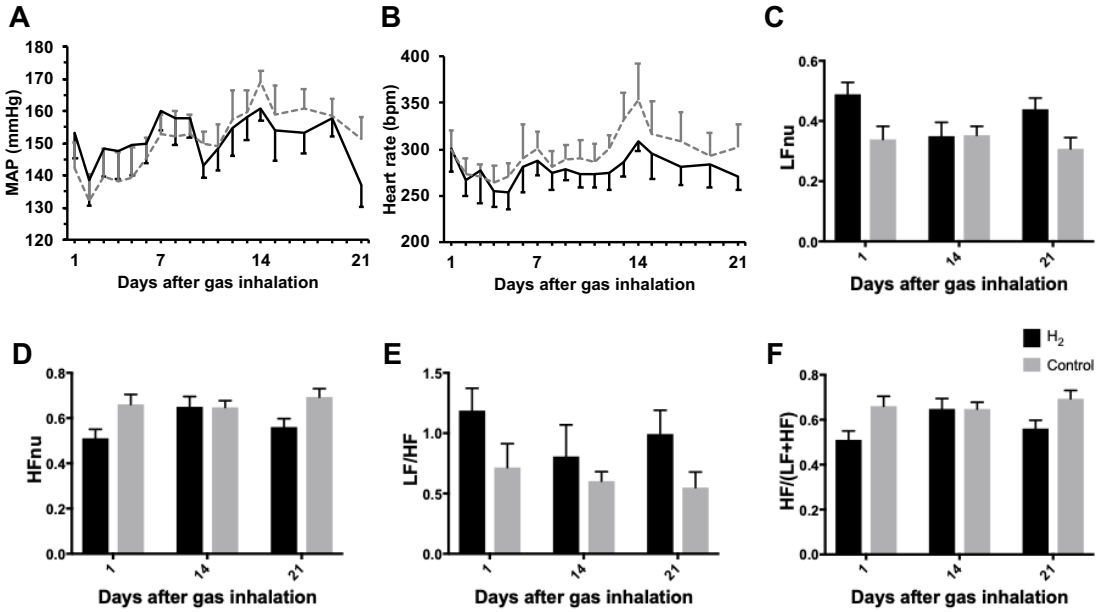

Figure 4. Effect of H_2 on spontaneous hypertension rats (Experiment 4)

腎血流量が約 1/6 になる腎切除直後からの水素ガス吸入によっても腎機能の改善効果は認められず、腎切除後急性期の血圧上昇を予防する効果は認められなかった。しかし水素ガスの反復間欠的吸入によって亜急性期に血圧が低下する傾向が認められた。周波数解析では水素群において交感神経活動の抑制あるいは副交感神経活動の亢進は認められず、水素ガスの降圧効果が交感神経活性の抑制とは独立した機序であることが示唆された。腎切除後 3 週間が経過し、腎

機能が固定し血圧が上昇した保存機腎不全に対しても水素ガスを吸入することで血圧が低下する傾向が確認された。神経液性因子のうちレニン・アンギオテンシン・アルドステロン、尿中ノルアドレナリンが水素群で低下し尿中ナトリウム排泄が増加する傾向が明らかとなった。保存期腎不全において水素ガスの間欠的反復吸入が降圧神経液性因子を介して降圧効果を呈する可能性が示唆された。腎機能悪化の懸念からアンギオテンシン変換酵素阻害薬やアンギオテンシンⅡ阻害薬が使用し難い保存機腎不全患者において、腎機能に影響せず神経液性因子を低下させる可能性があり、水素ガスの吸入療法が有望な治療となる可能性がある。高血圧自然発症ラットを用いた検討では保存期腎不全と比較して降圧効果は弱く、水素ガスの効果は高血圧の病態に依存することが示唆された。

５．主な発表論文等
なし

〔雑誌論文〕（計　0　件）

〔学会発表〕（計　0　件）

〔図書〕（計　0　件）

〔産業財産権〕
○出願状況（計　0　件）

○取得状況（計　0　件）

〔その他〕
ホームページ等
なし

６．研究組織
（1）研究分担者
研究分担者氏名：佐野　元昭

ローマ字氏名：SANO, Motoaki

所属研究機関名：慶應義塾大学

部局名：医学部

職名：准教授
研究者番号（8 桁）：30265798

（2）研究協力者
研究協力者氏名：多村　知剛
ローマ字氏名：TAMURA, Tomoyoshi

※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、研究者個人に帰属されます。