

**厚生労働科学研究費補助金
長寿科学総合研究事業**

**トランスジェニックマウスを用いた
ミトコンドリア酸化ストレスの抑制による
アルツハイマー病予防・治療法の開発
に関する研究**

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 太田 成男

平成 18 年 (2006 年) 4 月

目 次

I. 総括研究報告

- トランスジェニックマウスを用いたミトコンドリア酸化ストレスの抑制によるアルツハイマー病予防・治療法の開発」に関する研究報告
太田 成男 1~3

II. 分担研究報告

1. 「ALDH2 酵素活性欠損トランスジェニックマウスの酸化ストレスに対する脆弱性」に関する研究
大澤 郁朗・太田 成男 4~6
2. 「ALDH2 酵素活性欠損トランスジェニックマウスの加齢に伴う脳変性」に関する研究
北村 伸・大澤 郁朗・太田 成男 7~9
3. 「ALDH2 酵素活性欠損トランスジェニックマウスの加齢に伴う認知障害」に関する研究
大澤 郁朗・太田 成男 10~12
4. 「ALDH2 酵素活性欠損トランスジェニックマウスと APOE4 ノックアウトマウスの掛け合わせによる認知障害の出現の加速化」に関する研究
大澤 郁朗・太田 成男 13~15
5. 「水素分子による酸化ストレスの軽減」に関する研究
大澤 郁朗・太田 成男 16~17
6. 「酸化ストレスが原因の虚血・再灌流障害を軽減する水素ガス」に関する研究
桂 研一郎・太田 成男 18~19

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 20~21

IV. 研究成果の刊行物・別刷 22~

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
総括研究報告書

「トランスジェニックマウスを用いたミトコンドリア酸化ストレスの抑制による
アルツハイマー病予防・治療法の開発」に関する研究

主任研究者 太田成男（日本医科大学大学院医学研究科 教授）

研究要旨:ミトコンドリア アルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) 酵素欠損マウス(DAL マウス)を作製した。DAL マウスは、酸化ストレスに対し脆弱で、加齢にともなって神経変性と空間認知・学習記憶能力が低下した。さらに、アルツハイマー病と動脈硬化の危険因子である APOE 欠損と ALDH2 欠損が脳の機能障害進行に相乗効果を示した。以上の結果、DAL マウスは、酸化ストレスを軽減させ加齢に伴う認知症を予防する還元剤の評価に用いることが有効であることが示唆された。この酸化ストレスを軽減させるための還元剤を探索した。水素分子は有害な活性酸素を選択的に消去し、細胞を酸化ストレスから保護することを見出した。水素分子は特に急激な酸化ストレスに対して、培養細胞と実験動物に対し、極めて有効な保護作用を示した。水素分子には、副作用がないので長期服用によってアルツハイマー病を予防する可能性が示された。

分担研究者

大澤郁朗：日本医科大学老人病研究所講師

北村 伸：日本医科大学医学部助教授

桂研一郎：日本医科大学医学部助教授

B. 研究方法

各分担研究報告書に詳述した。

A. 研究目的

アルツハイマー病は神経が死滅するために生じる疾患なので、予防あるいは進行を抑制する治療が国民生活にとって重要である。アルツハイマー病の発症と進行には酸化ストレスが大きな役割を果たしていることが明らかとなってきたので、酸化ストレスを軽減することで発症を遅らせることが予防と治療のターゲットとなりうる。本研究の目的は、(1)酸化ストレスが亢進した実験動物を作製すること。(2)その酸化ストレス亢進モデル動物が、加齢に伴って認知障害と神経変性が生じることを確認すること。(3)そのモデル動物を用いて、抗酸化物質などにより、酸化ストレスを軽減させる系を確立すること。(4)副作用がなく効果的な抗酸化物質を探索し、モデル動物に投与することによって認知障害を予防、あるいは進行を抑制することが期待される理想的な抗酸化物質を見いだすこと。(5)投与方法を工夫して酸化ストレスを軽減し、加齢に伴う認知障害の予防あるいは進行の抑制を可能にすること、である。

C. 研究成果

(1)不活性型 ALDH2 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (DAL マウス) を作製し、酸化ストレスマーカーの 4-ヒドロキシ-2-ノネナールが上昇していることを確認した。そして酸化ストレスに対し脆弱になっていることを確認した。

(2)加齢にともなって、生後1年後に神経変性と空間認知障害が認められた。さらに、APOE ノックアウトマウスと掛け合わせることで、生後半年後に認知障害を生じさせるように症状を加速させることを可能にした。

(3)ビタミン E や水素分子を投与することによって、酸化ストレスマーカーである 4-HNE を減少させることを確認した。

(4)水素の還元力を詳細に解析し、水素分子は有害な活性酸素のみを選択的に消去できること、酸化ストレスの急激な上昇による細胞障害に対して保護することを見いだした。水素ガスの吸引によって、虚血・再灌流によって生じた急激な酸化ストレスから、細胞を保護することを可

能にした。

D. 考察

脳における ALDH2 活性の低下は、加齢に伴う神経変性のみならず脳の高次機能障害も引き起こした。この結果は、ALDH2 活性の欠損が酸化ストレスの増大により脳に障害を与えた結果であり、また、この欠損がアルツハイマー病の危険因子であるという疫学レベルの研究成果を動物モデルとして裏付けている。

従来、多くの神経変性疾患は特定の分子種の異常が蓄積したものとして捕らえられてきた。アルツハイマー病においても家族性の場合、APP やプレセニリンの変異などが特定され、原因遺伝子とされている。しかし、孤発性で晩期発症型のアルツハイマー病では特定の原因を探し出すことは困難である。これは、おそらくは疾患の発症が複合的な要因によるものであり、その一つは酸化ストレスの増大によるものと考えられる。今回、DAL101 マウスが加齢に伴う神経変性と空間認知・記憶学習障害を示したことで、このマウスを従来報告されているアルツハイマー病の原因遺伝子に異常を持つマウスと組み合わせれば、より顕著な疾患の進行が認められるものと予測される。

水素ガスは、反応性が高く有害な活性酸素を選択的に還元消去すること、細胞をこれらの活性酸素から防御することが判明した。多くの抗酸化ビタミンでは、疎水性物質は膜にとどまり、親水性物質は膜を通過できない。また、脳血液関門を通過できない抗酸化ビタミンも多い。水素は気体の性質をもつので、親水性、疎水性の領域いずれにも自由に到達できる。長期にわたる水素の摂取により酸化ストレスを軽減し、脳を酸化ストレスから保護するには極めて有効な還元剤であることが示唆された。アルツハイマー病の予防、あるいは進行の抑制による治療が可能かもしれない。DAL マウスを利用することで、認知症の予防効果を評価できることが期待される。

E. 結論

DAL101 マウスは、加齢に伴う神経変性と空間認知・記憶学習障害が認められたことから、酸化ストレスの増大を病因の一つとした神経変性疾患のモデル動物として有用である。DAL101/APOE-KO マウスは、加齢に伴う神経変

性と空間認知・記憶学習障害が早期に認められたことから、酸化ストレスの増大と脂質代謝の異常を病因の一つとした神経変性疾患のモデル動物として有用である。水素分子は無害であることが証明されており、酸化ストレスを極めて有効に軽減することから、長期にわかって水素分子を体内に取り入れることで、アルツハイマー病の予防に寄与する可能性がある。

F. 健康危険情報

本研究において、健康危険情報は無い。

G. 研究発表

1. 論文発表

(1)Ohta, S., and Ohsawa, I., Dysfunction of mitochondria and oxidative stress in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Alzheimer Disease* 2006 in press

(2)太田成男：アルツハイマー病におけるミトコンドリア機能低下、酸化ストレスの役割；特集アルツハイマー病研究の最前線—基礎と臨床神経研究の進歩 2005；49(3)：357-366.

(3)大澤郁朗・太田成男：アルツハイマー病の危険因子である酵素活性欠損型アルデヒド脱水素酵素 2 遺伝子—その分子メカニズムとモデル動物の開発— *日本認知症学会誌* 2005；19(3)(通巻 61)：284-295.

2. 学会発表

(1)Shigeo Ohta : Studies on multiple functional mitochondria from Basic aspects towards Medical applications. *FinMIT/J-Mit Joint Meeting*, 2005.11.

(2)Ikuroh Ohsawa, Kiyomi Nisimaki, Yayoi Murakami, Yuko Suzuki, Masahiro Ishikawa, Shigeo Ohta: Deficiency in a mitochondrial aldehyde dehydrogenase promotes oxidative stress and the onset of Alzheimer's disease: Its molecular mechanisms and animal models. *International Conference on Mitochondria and Life* 2005, 2005.12.

(3)Yayoi Murakami, Ikuroh Ohsawa, Yasuo Ihara², Haruyasu Yamaguchi³, Tadashi Kasahara¹, Shigeo Ohta (¹Dept. of Biochem., Kyoritsu Univ. of Pharm., ²Dept. of Neuropathol., Faculty of Med., Univ. of Tokyo, and ³Gunma Univ., Sch. Health Sci.): Somatic mutations in mitochondrial DNA of the brain from Alzheimer's disease patients. *International Conference on Mitochondria and Life* 2005, 2005.12.

(4)太田成男：アルツハイマー病の危険因子としての ALDH2 遺伝子多型、脳梗塞の危険因子としての ADH2 遺伝子多型 第 40 回日本アルコール・薬物医学会総会。特別講演 2005. 9.

(5)大澤郁朗, 西槇貴代美, 鈴木悠子, 太田成男：ミトコンドリア型アルデヒド脱水素酵素活性抑制トランスジェニックマウスにおける中枢神経系の加齢に伴う変性. 第 24 回日本痴呆学会, 2005. 9.

(6)村上弥生, 大澤郁朗, 井原康夫¹, 山口晴保², 笠原 忠³, 太田成男 (¹東大院・医・基礎神経, ²群大医・保健学・総合理学療法, ³共立薬科大学)：アルツハイマー病患者脳におけるミトコンドリア DNA の体細胞変異解析. 第 24 回日本痴呆学会, 2005. 9.

(7)大澤郁朗, 太田成男：水素分子(H₂)による酸化ストレス細胞死の抑制. 第 78 回日本生化学会学会, 2005. 10.

(8)石井徳恵, 西槇貴代美, 大澤郁朗, 太田成男：トランスジェニック DAL マウスで惹起される酸

化ストレスの飽和水素水飲用による抑制. 第 78 回日本生化学会学会, 2005. 10.

(9)福田慶一, 麻生定光, 大澤郁朗, 山本保博, 太田成男：水素ガスによる活性酸素フリーラジカルの除去—虚血再灌流傷害の軽減効果. 第 78 回日本生化学会学会, 2005. 10.

(10)Shigeo Ohta : The Hydrogen Molecule as a Scavenger against Reactive Oxygen Species. THAI ASSOCIATION OF TISSUE BANKING, 2005. 11.

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許出願

(1)太田成男, 大澤郁朗 PCT/JP2004/01797 酸化ストレスに伴う老化関連疾患を示すトランスジェニック動物

(2)太田成男・大澤郁朗：特願 2005-238572. 生体内の有害なフリーラジカル除去剤及びその吸引装置

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

「ALDH2 酵素活性欠損トランスジェニックマウスの酸化ストレスに対する脆弱性」に関する研究
(トランスジェニックマウスを用いたミトコンドリア酸化ストレスの抑制による
アルツハイマー病予防・治療法の開発の分担研究)

分担研究者 大澤郁朗（日本医科大学老人病研究所講師）
主任研究者 太田成男（日本医科大学大学院医学研究科 教授）

研究要旨：ALDH2（アルデヒド脱水素酵素 2）は疫学調査と培養細胞を用いた実験により酸化ストレスの防御機構として機能していることが示唆された。そこで、ALDH2 酵素活性の欠損が個体に及ぼす影響を直接調べることを目的に ALDH2 酵素活性欠損マウスを作製した。主に筋肉で ALDH2 活性を欠損させたマウスでは顕著な筋萎縮と異常ミトコンドリアの蓄積、酸化ストレスの増大が認められた。これは抗酸化剤であるビタミン E で一部抑制された。また、脳で ALDH2 活性を欠損させたマウスの大脳皮質初代培養細胞は、酸化ストレスによって脂質から生じる毒性の高いアルデヒド誘導体 4-ヒドロキシ-2-ノネナールに対して脆弱であった。以上の結果は、ALDH2 活性の欠損が、個体レベルで酸化ストレス増加による異常を引き起こすことを強く示唆している。

A. 研究目的

ALDH2 酵素活性の欠損は、アルツハイマー病をはじめ糖尿病、腫瘍、高血圧、心筋梗塞の危険因子であることが報告されている。しかし、そのメカニズムの解明にはまだ多くの研究が必要である。この欠損は、アジア系人種に特徴的なものであり、国民の健康維持の為には日本においてこの研究を進めることが極めて重要である。我々は疫学調査と培養細胞を用いた実験から、ALDH2 が酸化ストレスに対する防御機構の一部であることを報告してきた。そこで、ALDH2 酵素活性欠損マウスを作製し、この欠損が個体レベルで酸化ストレスに対する脆弱性を惹起するか検討した。ALDH2 のドミナント・ネガティブである ALDH2*2 を発現させた DAL (dominant-negative of ALDH2)マウスのうち、筋特異的に発現させたマウスについて、その発育過程での障害と酸化ストレス防御剤としてのビタミン E の効果について解析した。また、脳で ALDH2*2 を発現する DAL マウスを作製し、大脳皮質初代培養細胞をもちいて、酸化ストレスに対する脆弱性を調べた。

B. 研究方法

個体レベルにおいて ALDH2 活性の欠損が及ぼす影響を調べるため、アクチン・プロモータ

ー下にマウスの ALDH2*2 を挿入し、トランスジェニック (Tg) マウスを作製した。作製したマウスについては、主に骨格筋への影響を調べた。また、このマウスにビタミン E を投与したときの病態改善効果について検討した。脳で ALDH2*2 を発現させるために汎用プロモーターを用いてマウスの ALDH2*2 を発現する Tg を作製した。このマウスについて胎児大脳皮質初代培養を行い、酸化ストレスによって脂質から生じる毒性の高いアルデヒド誘導体 4-ヒドロキシ-2-ノネナール(4-HNE)に対する脆弱性を調べた。

C. 研究成果

アクチン・プロモーター下にマウスの ALDH2*2 を挿入した 3 系統の Tg マウスについて解析したところ、全系統において心臓と筋肉で ALDH2*2 が高発現しており、心臓と筋肉での ALDH2 酵素活性も低下していた。もっとも発現量の高い DAL02 マウスについてさらに解析したところ、低体重、背骨の湾曲を認め、筋肉においては加齢に伴う筋繊維の萎縮、ragged-red-fiber の増加、ミトコンドリアの凝集および 4-HNE の蓄積を認めた。

次いで、DAL02 マウスにビタミン E を投与し、ALDH2 活性低下に伴う異常所見の改善が認められるか検討した。7 週齢の雄 DAL02 マウスに 25

週間にわたりビタミン E 添加食を自由摂取させた結果、体重の増加、筋萎縮の軽減、4-HNE 蓄積量の低下が認められた。

EF プロモーター下に *ALDH2*2* を挿入した Tg マウス DAL101 について *ALDH2* の不活性化が中枢神経系に及ぼす影響について検討するため、DAL101 胎児大脳皮質初代培養細胞に 4-HNE を添加したところ、野生型 *ALDH2* のみを発現する対照群に比べ、4-HNE の細胞内蓄積促進及び顕著な細胞死の促進が認められた。

D. 考察

DAL02 マウスでは、*ALDH2*2* により *ALDH2* 活性が抑制され、酸化ストレスによって生じる 4-HNE の解毒能が低下した結果として筋萎縮が生じたものと考えられる。*ALDH2* はミトコンドリアで酸化ストレスを除去しており、その欠損はミトコンドリア機能の損傷をもたらし、その結果として異常ミトコンドリア増加が起り、ミトコンドリア脳筋症様の症状を示したものと考えられる。

また、ビタミン E などの抗酸化ストレス物質の摂取が個体レベルにおいて *ALDH2* の活性低下による酸化ストレスの蓄積を軽減できることが示唆され、*ALDH2* 活性の欠損によりリスクの増大する種々の疾患についても日常生活における予防医学的対応が可能であることが示された。

ALDH2 活性欠損マウス大脳皮質初代培養での 4-HNE に対する脆弱性が亢進されていた結果は、*ALDH2* が酸化ストレスの除去、特に毒性の高いアルデヒド類の除去に関与していることを細胞レベルで示している。

E. 結論

ALDH2 活性の欠損が、個体レベルで酸化ストレス増加による異常を引き起こすこと、*ALDH2* 活性が欠損した DAL マウスは、酸化ストレス蓄積による病体モデル動物として有用であることを強く示唆している。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1)Ohta, S., and Ohsawa, I., Dysfunction of mitochondria and oxidative stress in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Alzheimer Disease* 2006 in press

(2)太田成男：アルツハイマー病におけるミトコ

ンドリア機能低下、酸化ストレスの役割；特集アルツハイマー病研究の最前線—基礎と臨床神経研究の進歩 2005；49(3)：357-366.

(3)大澤郁朗・太田成男：アルツハイマー病の危険因子である酵素活性欠損型アルデヒド脱水素酵素 2 遺伝子—その分子メカニズムとモデル動物の開発—日本認知症学会誌 2005；19(3)(通巻 61)：284-295.

2. 学会発表

(1)Shigeo Ohta：Studies on multiple functional mitochondria from Basic aspects towards Medical applications. FinMIT/J-Mit Joint Meeting, 2005.11.

(2)Ikuroh Ohsawa, Kiyomi Nisimaki, Yayoi Murakami, Yuko Suzuki, Masahiro Ishikawa, Shigeo Ohta: Deficiency in a mitochondrial aldehyde dehydrogenase promotes oxidative stress and the onset of Alzheimer's disease: Its molecular mechanisms and animal models. International Conference on Mitochondria and Life 2005, 2005.12.

(3)Yayoi Murakami, Ikuroh Ohsawa, Yasuo Ihara², Haruyasu Yamaguchi³, Tadashi Kasahara¹), Shigeo Ohta (¹Dept. of Biochem., Kyoritsu Univ. of Pharm., ²Dept. of Neuropathol., Faculty of Med., Univ. of Tokyo, and ³Gunma Univ., Sch. Health Sci.): Somatic mutations in mitochondrial DNA of the brain from Alzheimer's disease patients. International Conference on Mitochondria and Life 2005, 2005.12.

(4)太田成男：アルツハイマー病の危険因子としての *ALDH2* 遺伝子多型、脳梗塞の危険因子としての *ADH2* 遺伝子多型 第 40 回日本アルコール・薬物医学会総会。特別講演 2005. 9.

(5)大澤郁朗, 西槇貴代美, 鈴木悠子, 太田成男：ミトコンドリア型アルデヒド脱水素酵素活性抑制トランスジェニックマウスにおける中枢神経系の加齢に伴う変性。第 24 回日本痴呆学会, 2005. 9.

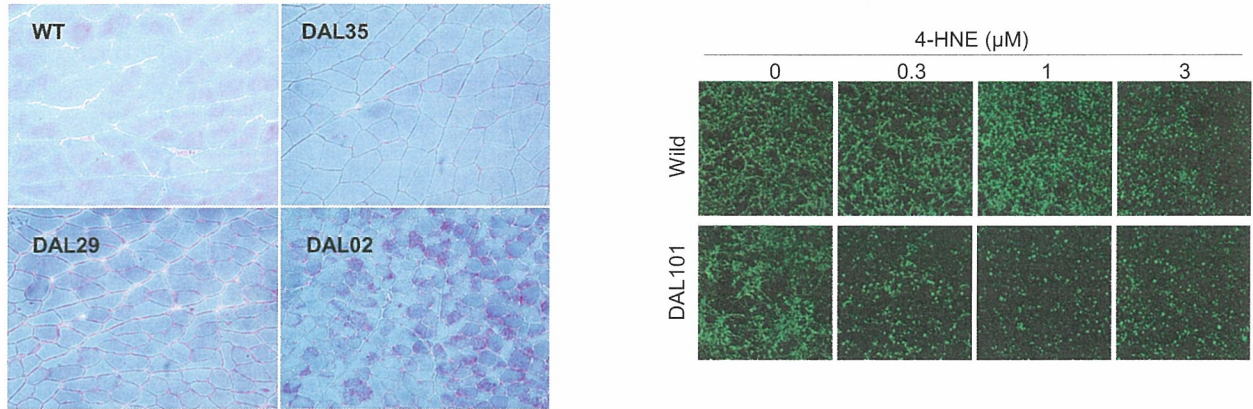
(6)村上弥生, 大澤郁朗, 井原康夫¹, 山口晴保², 笠原 忠³, 太田成男 (¹東大院・医・基礎神経, ²群大医・保健学・総合理学療法, ³共立薬科大学)：アルツハイマー病患者脳におけるミトコンドリア DNA の体細胞変異解析。第 24 回日本痴呆学会, 2005. 9.

G. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許出願

太田成男, 大澤郁朗 PCT/JP2004/01797 酸化

ストレスに伴う老化関連疾患を示すトランスジェニック動物



筋特異的に ALDH2 活性を欠損させたマウス (DAL35, 29, 02) では、筋の萎縮と異常ミトコンドリアの蓄積が見られる (左図: 下肢腓腹筋のゴモリ・トリクローム染色)。また、脳で ALDH2 活性を欠損させたマウス (DAL101) の大脳皮質初代培養細胞は酸化ストレスに脆弱である (右図: 4-HNE 添加1日後に神経特異的のマーカーである抗 TUJ-1 抗体で染色)。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

「ALDH2 酵素活性欠損トランスジェニックマウスの加齢に伴う脳変性」に関する研究
（トランスジェニックマウスを用いたミトコンドリア酸化ストレスの抑制による
アルツハイマー病予防・治療法の開発分担研究）

分担研究者 北村 伸（日本医科大学医学部 助教授）
分担研究者 大澤郁朗（日本医科大学老人病研究所 講師）
主任研究者 太田成男（日本医科大学大学院医学研究科 教授）

研究要旨：ALDH2 酵素欠損によって酸化ストレスに対する脆弱性が明らかとなった。そこで、脳で ALDH2 酵素活性が欠損したマウス(DAL101 マウス)を作製し、加齢とともに脳の変性が認められるかどうか調べた。0.5 年齢の DAL101 マウスでは同年齢のマウスの脳と違いは認められなかったが、1 年齢になると海馬領域で明らかな脳変性が認められ、1.5 年齢になると CA1 領域の神経細胞がほとんど消失した DAL101 マウスも出現した。さらに、変性神経の排除にかかわるグリオーシスの程度を免疫染色で調べると、1 年齢の DAL101 では盛んなグリオーシスが認められ、1.5 年齢では神経細胞の消失に伴って、グリオーシスも認められなかった。以上の結果より ALDH2 欠損により加齢に伴う神経変性が生じることがわかった。

A. 研究目的

ALDH2 は酸化ストレス防御機構のひとつとして機能している。この ALDH2 酵素活性の欠損は、アルツハイマー病の危険因子であることを疫学調査で明らかにしてきた。また、ALDH2 活性の欠損は酸化ストレスを増大させることも報告してきた。日本では約 40%の国民が ALDH2 不活性型の遺伝子を持つことから、ALDH2 活性の低下による神経変性疾患モデル動物を作製して、これを使った治療法の開発を進めることは高齢化社会における健全な老化の為に不可欠な課題である。そこで、脳で ALDH2 のドミナント・ネガティブである ALDH2*2 を発現する DAL マウスを作製し、加齢に伴う脳の変化を組織学的に解析した。

B. 研究方法

脳で ALDH2*2 を発現させるために汎用プロモーターを用いてマウスの ALDH2*2 を発現するトランスジェニック・マウス (DAL101) を作製した。このマウスについて、加齢に伴う脳の変化をヘマトキシリン・エオジン (H&E) 染色及びアストロサイトに特異的な抗 GFAP 抗体による染色で解析した。

C. 研究成果

DAL101 は、雄においては白髪と若干の筋力低下が認められた為、コントロールである C57BL/6 との差が認められない雌について解析を行った。まず、6ヶ月齢のマウスについて脳の剖検を試みたが、C57BL/6 の脳と違いはなかった。しかし、18ヶ月齢の DAL マウスでは海馬の萎縮とそれに伴う錯体細胞の脱落（5例中4例）や CA1 領域でのグリア細胞の活性化といった神経変性の所見が認められた。また、嗅球の萎縮も一部のマウスで認められた。こうした所見は12ヶ月齢で散見されるようになり、加齢と共に増加していた。現在、加齢に伴う 4-HNE の蓄積やタウの異常リン酸化などの酸化ストレス・マーカーの変化について解析中である。

D. 考察

脳における ALDH2 活性の低下は、加齢に伴う神経変性を引き起こした。これは脳での酸化ストレス増大が原因であるものと考えられる。

多くの疾患モデルマウスでは成長期から異常が現れて、加齢に伴う変化を解析すること

は不可能である。DAL101 マウスでは加齢に伴い、神経変性が徐々に進行した。その傾向は18ヶ月齢という高齢マウスで顕著であり、ヒトの病態に近いモデルマウスであると言える。特に記憶の中樞である海馬での変性が認められることから、DAL101 マウスにおける認知障害などの加齢に伴う進行が予見される。

E. 結論

DAL101 マウスでは加齢に伴う神経変性が認められたことから、酸化ストレスの増大を病因とした神経変性疾患についてのモデル動物として有用である可能性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1)Ohta, S., and Ohsawa, I., Dysfunction of mitochondria and oxidative stress in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Alzheimer Disease* 2006 in press

(2)太田成男：アルツハイマー病におけるミトコンドリア機能低下、酸化ストレスの役割；特集アルツハイマー病研究の最前線－基礎と臨床 神経研究の進歩 2005；49(3)：357-366.

(3)大澤郁朗・太田成男：アルツハイマー病の危険因子である酵素活性欠損型アルデヒド脱水素酵素 2 遺伝子－その分子メカニズムとモデル動物の開発－ 日本認知症学会誌 2005；19(3)(通巻 61)：284-295.

2. 学会発表

(1)Shigeo Ohta：Studies on multiple functional mitochondria from Basic aspects towards Medical applications. FinMIT/J-Mit Joint Meeting, 2005.11.

(2)Ikuroh Ohsawa, Kiyomi Nisimaki, Yayoi Murakami, Yuko Suzuki, Masahiro Ishikawa, Shigeo Ohta: Deficiency in a mitochondrial

aldehyde dehydrogenase promotes oxidative stress and the onset of Alzheimer's disease: Its molecular mechanisms and animal models. International Conference on Mitochondria and Life 2005, 2005.12.

(3)Yayoi Murakami, Ikuroh Ohsawa, Yasuo Ihara²⁾, Haruyasu Yamaguchi³⁾, Tadashi Kasahara¹⁾, Shigeo Ohta (¹Dept. of Biochem., Kyoritsu Univ. of Pharm., ²Dept. of Neuropathol., Faculty of Med., Univ. of Tokyo, and ³Gunma Univ., Sch. Health Sci.): Somatic mutations in mitochondrial DNA of the brain from Alzheimer's disease patients. International Conference on Mitochondria and Life 2005, 2005.12.

(4)太田成男：アルツハイマー病の危険因子としての ALDH2 遺伝子多型、脳梗塞の危険因子としての ADH2 遺伝子多型 第 40 回日本アルコール・薬物医学会総会。特別講演 2005. 9.

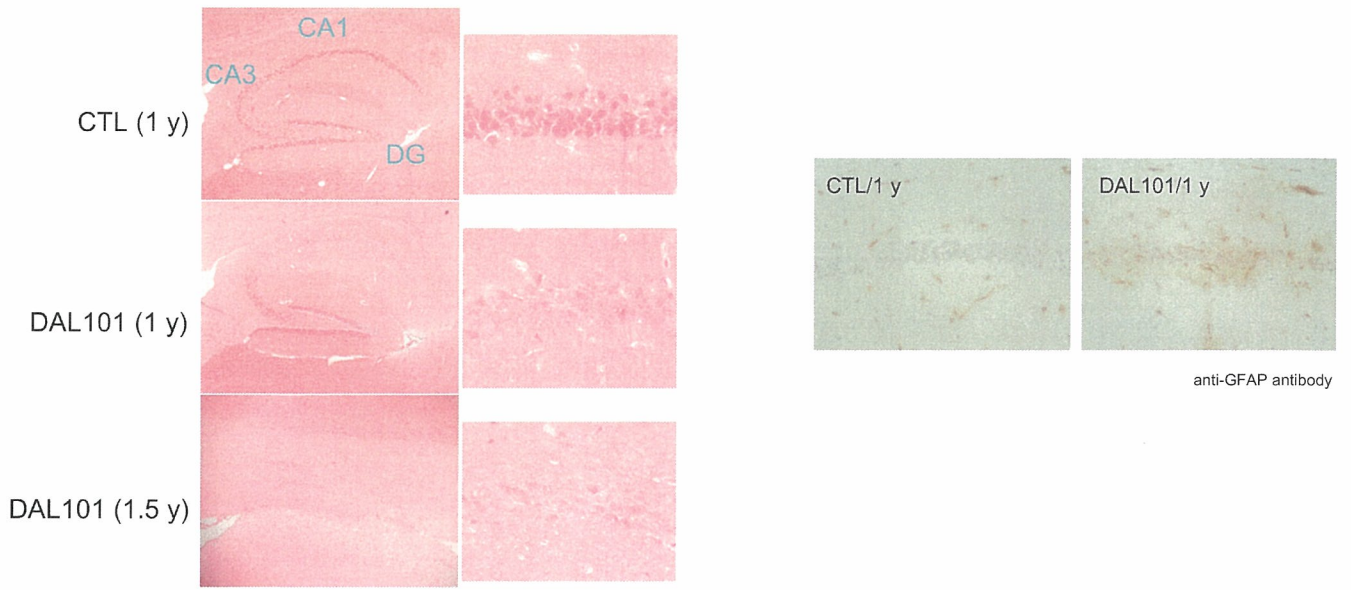
(5)大澤郁朗，西楨貴代美，鈴木悠子，太田成男：ミトコンドリア型アルデヒド脱水素酵素活性抑制トランスジェニックマウスにおける中枢神経系の加齢に伴う変性。第 24 回日本痴呆学会，2005. 9.

(6)村上弥生，大澤郁朗，井原康夫¹⁾，山口晴保²⁾，笠原 忠³⁾，太田成男 (¹東大院・医・基礎神経，²群大医・保健学・総合理学療法，³ 共立薬科大学)：アルツハイマー病患者脳におけるミトコンドリア DNA の体細胞変異解析。第 24 回日本痴呆学会，2005. 9.

G. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許出願

太田成男、大澤郁朗 PCT/JP2004/01797 酸化ストレスに伴う老化関連疾患を示すトランスジェニック動物



DAL101 マウスでは加齢に伴い神経変性が進行する。H&E 染色（左図）で示すように海馬錐体細胞の変性が進行し、1.5 年齢では極度の萎縮が観察される。また、これに伴ってグリオシスが認められる（右図）。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

「ALDH2 酵素活性欠損トランスジェニックマウスの加齢に伴う認知障害」に関する研究
（トランスジェニックマウスを用いたミトコンドリア酸化ストレスの抑制による
アルツハイマー病予防・治療法の開発分担研究）

分担研究者 大澤郁朗（日本医科大学老人病研究所 講師）
主任研究者 太田成男（日本医科大学大学院医学研究科 教授）

研究要旨：脳で ALDH2 活性が低下したマウス(DAL101)では、剖検により加齢に伴う神経変性が海馬で認められた。運動機能や感覚機能については DAL101 マウスと C57BL/6 との間に雌では顕著な差はなかった。そこで、海馬が関与する空間認知・学習記憶能力の試験として多用されている水迷路学習の課題を試みた。その結果、DAL マウス6ヶ月齢では空間認知・学習記憶能力の低下は認められないが、12ヶ月齢以降では顕著な低下が見られた。こうした脳の変性と空間認知・学習記憶能力の低下は、酸化ストレスに対する抵抗性の低下によるものと考えられる。

A. 研究目的

神経変性疾患の進行に伴う記憶障害や認知障害は、患者本人のみならずその周囲の人々にとっても多大な負担となる。アルツハイマー病などの疾患において、この進行を抑制することは、社会的に極めて重要な課題である。現在までのところ、加齢に伴い緩やかに神経変性が進行し、記憶・認知障害を発症する有効な神経変性疾患モデル動物はほとんど無い。脳における ALDH2 活性欠損マウス (DAL101) は、剖検により加齢に伴う神経変性が海馬で認められた。DAL101 が、神経変性疾患モデル動物として適しているか、高次機能低下の有無を海馬が関与する空間認知能力の試験として多用されている水迷路学習の課題で解析した。

B. 研究方法

水迷路実験には、6、12、18ヶ月齢 DAL101 マウス（雌）と同齢の C57BL/6 マウス（雌）1群6匹以上を用いた。直径120 cm の白濁させたプールに直径10 cm のプラットフォームを水面下に置き、シュード・ランダムなスタート地点から60秒間プラットフォームを探索させた。プラットフォームまでたどり着いた時間と距離を計測した。これを30分の間隔を置いて一日4回、5日間試行した後、プラットフォームを取り除いて60秒間自由に泳がせるロープテストを行った。さらに翌日、プラットフ

ォームを水面上に見えるように設置し、視覚障害や動機付けの低下などが無いかを検証した。

C. 研究成果

DAL101 マウスは学習曲線もプローブテストでも、6ヶ月齢では C57BL/6 と差が認められなかった。しかし、12ヶ月齢ではいずれの試験でも DAL101 マウスで障害が認められた。この時、水面上に設置したプラットフォームによる試験では差が無かった。18ヶ月齢でも同様の障害が見られた。剖検では海馬の異常が12ヶ月齢以降で認められることから、DAL101 マウスの空間認知・記憶学習障害は海馬の変性に依存したものであると考えることができる。

D. 考察

脳における ALDH2 活性の低下は、加齢に伴う神経変性のみならず脳の高次機能障害も引き起こした。この結果は、ALDH2 活性の欠損が酸化ストレスの増大により脳に障害を与えた結果であり、また、この欠損がアルツハイマー病の危険因子であるという疫学レベルの研究成果を動物モデルとして裏付けている。

従来、多くの神経変性疾患は特定の分子種の異常が蓄積したものとして捕らえられてきた。アルツハイマー病においても家族性の場合、APP やプレセニリンの変異などが特定され、原因遺伝子とされている。しかし、孤発性で晩

期発症型のアルツハイマー病では特定の原因を探し出すことは困難である。これは、おそらくは疾患の発症が複合的な要因によるものであり、その一つは酸化ストレスの増大によるものと考えられる。今回、DAL101 マウスが加齢に伴う神経変性と空間認知・記憶学習障害を示したことで、このマウスを従来報告されているアルツハイマー病の原因遺伝子に異常を持つマウスと組み合わせれば、より顕著な疾患の進行が認められるものと予測される。

E. 結論

DAL101 マウスは、加齢に伴う神経変性と空間認知・記憶学習障害が認められたことから、酸化ストレスの増大を病因の一つとした神経変性疾患のモデル動物として有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1)Ohta, S., and Ohsawa, I., Dysfunction of mitochondria and oxidative stress in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Alzheimer Disease* 2006 in press

(2)太田成男：アルツハイマー病におけるミトコンドリア機能低下、酸化ストレスの役割；特集アルツハイマー病研究の最前線－基礎と臨床神経研究の進歩 2005；49(3)：357-366.

(3)大澤郁朗・太田成男：アルツハイマー病の危険因子である酵素活性欠損型アルデヒド脱水素酵素 2 遺伝子—その分子メカニズムとモデル動物の開発— *日本認知症学会誌* 2005；19(3)(通巻61)：284-295.

2. 学会発表

(1)Shigeo Ohta：Studies on multiple functional mitochondria from Basic aspects towards Medical applications. *FinMIT/J-Mit Joint Meeting*, 2005.11.

(2)Ikuroh Ohsawa, Kiyomi Nisimaki, Yayoi Murakami, Yuko Suzuki, Masahiro Ishikawa, Shigeo Ohta: Deficiency in a mitochondrial aldehyde dehydrogenase promotes oxidative stress and the onset of Alzheimer's disease: Its molecular mechanisms and animal models. *International Conference on Mitochondria and Life* 2005, 2005.12.

(3)Yayoi Murakami, Ikuroh Ohsawa, Yasuo Ihara², Haruyasu Yamaguchi³, Tadashi Kasahara¹, Shigeo Ohta (¹Dept. of Biochem., Kyoritsu Univ. of Pharm., ²Dept. of Neuropathol., Faculty of Med., Univ. of Tokyo, and ³Gunma Univ., Sch. Health Sci.): Somatic mutations in mitochondrial DNA of the brain from Alzheimer's disease patients. *International Conference on Mitochondria and Life* 2005, 2005.12.

(4)太田成男：アルツハイマー病の危険因子としての ALDH2 遺伝子多型、脳梗塞の危険因子としての ADH2 遺伝子多型 第 40 回日本アルコール・薬物医学会総会。特別講演 2005. 9.

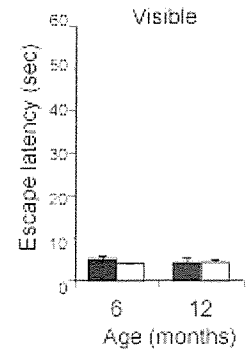
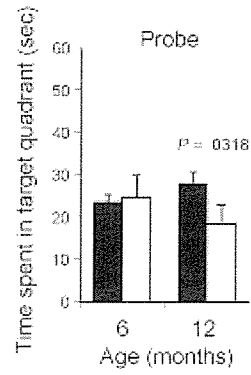
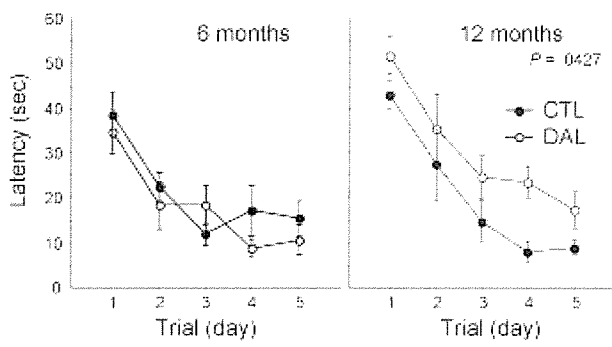
(5)大澤郁朗, 西槇貴代美, 鈴木悠子, 太田成男：ミトコンドリア型アルデヒド脱水素酵素活性抑制トランスジェニックマウスにおける中枢神経系の加齢に伴う変性. 第 24 回日本痴呆学会, 2005. 9.

(6)村上弥生, 大澤郁朗, 井原康夫¹, 山口晴保², 笠原 忠³, 太田成男 (¹東大院・医・基礎神経, ²群大医・保健学・総合理学療法, ³共立薬科大学)：アルツハイマー病患者脳におけるミトコンドリア DNA の体細胞変異解析. 第 24 回日本痴呆学会, 2005. 9.

G. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許出願

太田成男, 大澤郁朗 PCT/JP2004/01797 酸化ストレスに伴う老化関連疾患を示すトランスジェニック動物



DALI01 マウスは12ヶ月齢以上で学習曲線（左図）でもプローブテスト（中央図）でも空間認知・記憶学習障害を示した。しかし、プレートが見える状態（右図）ではコントロールと差が無い。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

「ALDH2 酵素活性欠損トランスジェニックマウスと APOE4 ノックアウトマウスの掛け合わせによる認知障害の出現の加速化」に関する研究
(トランスジェニックマウスを用いたミトコンドリア酸化ストレスの抑制によるアルツハイマー病予防・治療法の開発分担研究)

分担研究者 大澤郁朗（日本医科大学老人病研究所講師）
主任研究者 太田成男（日本医科大学大学院医学研究科 教授）

研究要旨：ALDH2 酵素欠損（DAL101）マウスは加齢によって中枢の神経変性と空間認知障害が現れることを報告者らは明らかにした。そこで、アルツハイマー病と動脈硬化の危険因子である APOE のノックアウト・マウス(APOE-KO) と DAL101 を掛け合わせることで、ALDH2 と APOE の相乗効果を調べた。DAL101/APOE-KO マウスでは、6ヶ月で空間認知・学習記憶障害が表れた。この時、APOE-KO と DAL101 単独では、空間認知・学習記憶能力の低下は認められなかった。この結果は、ALDH2 と APOE が脳の機能障害進行に相乗効果を示すことをモデル動物レベルで示している。

A. 研究目的

アポリポ蛋白質 E の4型(APOE4)の遺伝子多型はアルツハイマー病と動脈硬化の危険因子であることは確立されている。また、報告者らは、疫学レベルでの解析結果から ALDH2 の酵素欠損型遺伝子多型をもつ人はAPOE4 と相乗的にアルツハイマー病の頻度が高くなり、発症年齢も早くなることを示した。ALDH2 酵素欠損マウス(DAL101 マウス)では、加齢に伴って神経変性と空間認知・学習記憶能力障害がでることを本年示した。そこで、DAL101 ホモマウスと APOE ノックアウトマウスを掛け合わせて、APOE 欠損と ALDH2 欠損の効果が相乗的に現れるかどうかを調べた。

B. 研究方法

APOE ノックアウトマウスはタコニック社より購入した。DAL101 ホモマウスと掛け合わせることで、DAL101(+/-)で APOE(-/-)となる DAL101/APOE-KO マウスを作製した。対象としては、APOE(-/-)マウス、DAL101 マウス、野生型マウスを用いた。

水迷路実験には、全て雌の6ヶ月齢のマウスを1群6匹以上を用いた。直径120 cm の白濁させたプールに直径10 cm のプラットフォームを水面下に置き、シュード・ランダムなスタート地点から60秒間プラットフォームを探

索させた。プラットフォームまでたどり着いた時間と距離を計測した。これを30分の間隔を置いて一日4回、5日間試行した後、プラットフォームを取り除いて60秒間自由に泳がせるプローブテストを行った。さらに翌日、プラットフォームを水面上に見えるように設置し、視覚障害や動機付けの低下などがいないかを検証した。

C. 研究成果

6ヶ月齢で DAL101/APOE-KO マウスでは学習曲線もプローブテストでも空間認知・学習記憶能力の低下が認められた。DAL101 と APOE ノックアウトマウスでは、いずれも障害は認められなかった。この結果は、ALDH2 欠損と APOE 欠損が相乗効果を発揮して、空間認知・学習記憶能力の低下をもたらしたものと考えられる。

D. 考察

APOE4 がアルツハイマー病の危険因子であることについては、この多型が他の多型に比較して、4-HNE などの酸化ストレス除去機能が低いことが指摘されている。従って、APOE のノックアウトマウスはAPOE4 の多型を持つ人に近い表現形となる。実際、APOE のノックアウトマウスは、高脂質で動脈硬化症などのモデル動物でもある。これに酸化ストレスの蓄積が亢進し

ている DAL101 を組み合わせた結果、空間認知・学習記憶能力の低下が促進されたことは、脂質代謝の低下と酸化ストレスの増大が神経変性を促進する可能性を強く示唆している。

今回の結果は、ALDH2 の酵素欠損型遺伝子多型をもつ人は APOE4 と相乗的にアルツハイマー病の頻度が高くなっていた疫学レベルの結果をモデル動物で再現したものであり、この動物を用いた治療法の開発は、人での加齢に伴う神経変性疾患発症阻止、進行抑制にむけた有効な手段となる。

E. 結論

DAL101/APOE-KO マウスは、加齢に伴う神経変性と空間認知・記憶学習障害が早期に認められたことから、酸化ストレスの増大と脂質代謝の異常を病因の一つとした神経変性疾患のモデル動物として有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1)Ohta, S., and Ohsawa, I., Dysfunction of mitochondria and oxidative stress in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Alzheimer Disease* 2006 in press

(2)太田成男：アルツハイマー病におけるミトコンドリア機能低下、酸化ストレスの役割；特集アルツハイマー病研究の最前線—基礎と臨床神経研究の進歩 2005；49(3)：357-366.

(3)大澤郁朗・太田成男：アルツハイマー病の危険因子である酵素活性欠損型アルデヒド脱水素酵素 2 遺伝子—その分子メカニズムとモデル動物の開発— *日本認知症学会誌* 2005；19(3)(通巻 61)：284-295.

2. 学会発表

(1)Shigeo Ohta：Studies on multiple functional mitochondria from Basic aspects towards Medical

applications. FinMIT/J-Mit Joint Meeting, 2005.11.

(2)Ikuroh Ohsawa, Kiyomi Nisimaki, Yayoi Murakami, Yuko Suzuki, Masahiro Ishikawa, Shigeo Ohta: Deficiency in a mitochondrial aldehyde dehydrogenase promotes oxidative stress and the onset of Alzheimer's disease: Its molecular mechanisms and animal models. *International Conference on Mitochondria and Life* 2005, 2005.12.

(3)Yayoi Murakami, Ikuroh Ohsawa, Yasuo Ihara², Haruyasu Yamaguchi³, Tadashi Kasahara¹, Shigeo Ohta (¹Dept. of Biochem., Kyoritsu Univ. of Pharm., ²Dept. of Neuropathol., Faculty of Med., Univ. of Tokyo, and ³Gunma Univ., Sch. Health Sci.): Somatic mutations in mitochondrial DNA of the brain from Alzheimer's disease patients. *International Conference on Mitochondria and Life* 2005, 2005.12.

(4)太田成男：アルツハイマー病の危険因子としての ALDH2 遺伝子多型、脳梗塞の危険因子としての ADH2 遺伝子多型 第 40 回日本アルコール・薬物医学会総会。特別講演 2005. 9.

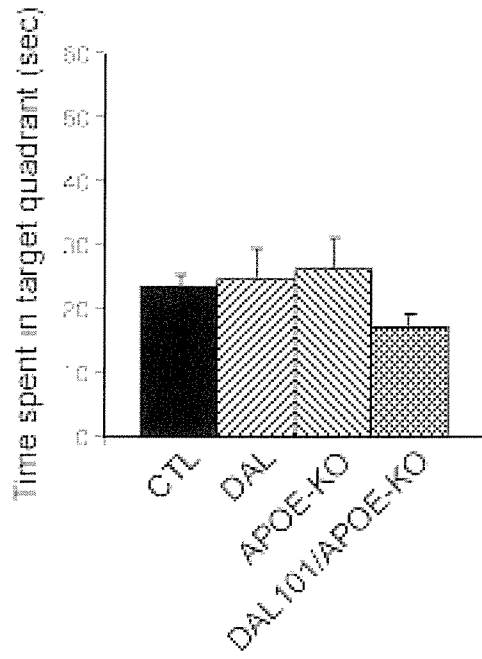
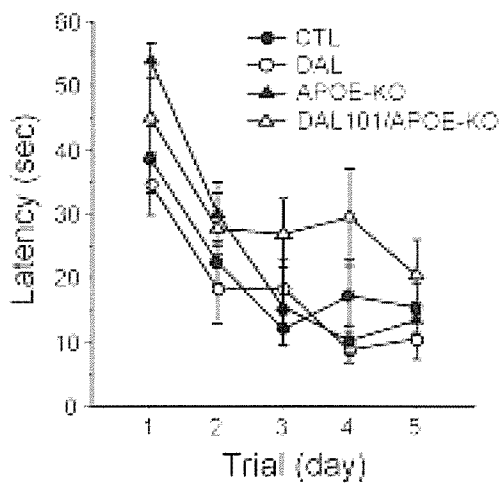
(5)大澤郁朗，西槇貴代美，鈴木悠子，太田成男：ミトコンドリア型アルデヒド脱水素酵素活性抑制トランスジェニックマウスにおける中枢神経系の加齢に伴う変性。第 24 回日本痴呆学会，2005. 9.

(6)村上弥生，大澤郁朗，井原康夫¹，山口晴保²，笠原 忠³，太田成男（¹東大院・医・基礎神経，²群大医・保健学・総合理学療法，³共立薬科大学）：アルツハイマー病患者脳におけるミトコンドリア DNA の体細胞変異解析。第 24 回日本痴呆学会，2005. 9.

G. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許出願

太田成男、大澤郁朗 PCT/JP2004/01797 酸化ストレスに伴う老化関連疾患を示すトランスジェニック動物



DAL101/APOE-KO マウス（6ヶ月齢雌）は学習曲線（左図）でも、プローブテスト（右図）でも空間認知・記憶学習障害を示した。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

「水素分子による酸化ストレスの軽減」に関する研究
（トランスジェニックマウスを用いたミトコンドリア酸化ストレスの抑制による
アルツハイマー病予防・治療法の開発の分担研究）

分担研究者 大澤郁朗（日本医科大学老人病研究所 講師）
主任研究者 太田成男（日本医科大学大学院医学研究科 教授）

研究要旨：酸化ストレスから生体を防御することはアルツハイマー病をはじめとする各疾患から身体を護ることは重要であることが認識されるようになった。いっぽう、活性酸素の中には重要な役割をもつ活性酸素もあることが明らかとなってきた。そこで、反応性が高く有害な活性酸素のみを選択的に消去する還元剤を探索することが重要となってきている。水素分子（水素ガス）が、有害な活性酸素のみを選択的に消去し、活性酸素から細胞を保護する効果があることを見いだした。

A. 研究目的

アルツハイマー病を予防するには酸化ストレスを軽減することが有効であると考えられ、酸化ストレスから防御する方法を確立することは国民の健康維持の観点から極めて重要である。酸化ストレスの元凶と考えられてきた活性酸素には、神経伝達物質、血管再生、血管拡張、生体防御反応など重要な役割を果たすことがわかってきた。そこで、有益な役割を果たす活性酸素は消去せず、生体に有害な活性酸素（ヒドロキシルラジカル、ペルオキシナイトライト、脂質ラジカル）のみを選択的に還元する還元剤が望まれている。ここでは、反応性が高く有害な活性酸素のみを還元する還元剤を探索した。そして、水素は、反応性が高く有害な活性酸素種のみを選択的に還元消去することを見いだした。

B. 研究方法

試験管内で各々の活性酸素種を別々に発生させ、それぞれに特異的な蛍光試薬でそれぞれの活性酸素種を測定した。水素溶存溶液内で同様の反応を行わせ、溶存するその還元力を調べた。

細胞内で活性酸素を発生させるために、ミトコンドリア呼吸鎖酵素阻害剤アンチマイシン A で強制的にスーパーオキシドを発生させ、ついでヒドロキシルラジカルに変換させた。一日後生存細胞の数を数えた。また、細胞内のヒドロキシルラジカルを蛍光試薬で選択的に染色し、共焦点顕微鏡で観察した。

水素が溶けた水を飲むと体内に吸収されるかどうかは、呼気の水素をガスクロマトで定量して判断した。

水素が溶けた水を飲んだ時の還元力は、DALマウスを用いて効果を検定した。すなわち、DALマウスでは過酸化脂質から生じた4-ヒドロキシル-2-ノネナール(4-HNE)の蓄積程度を測定した。

C. 研究成果

溶存水素は、試験管内実験でヒドロキシルラジカル、ペルオキシナイトライト、脂質ラジカルを還元した。一方、スーパーオキシド、過酸化水素、一酸化窒素は還元しなかった。また、生体内で酸化還元反応を司る補酵素であるNAD⁺やFADH、ヘム鉄は還元しなかった。

細胞内でヒドロキシルラジカルを大量に発生させると細胞は死滅したが、溶存水素は細胞死から細胞を保護した。ヒドロキシルラジカルを大量に発生させると核まで達したが、溶存水素が存在するとヒドロキシルラジカルは核には検出されず、水素は核をヒドロキシルラジカルから護ることが示された。また、水素存在下では、ヒドロキシルラジカルからミトコンドリアも保護した。

水素が溶けた水を飲むと10分程度で体内に速やかに吸収された。

水素を含む水をDALマウスに2週間自然摂取させると、4-HNEが水素を摂取したいDALマウスに比べて有意に減少したので、酸化ストレ

スを減少させる効果があることが示唆された。

D. 考察

水素ガスは、反応性が高く有害な活性酸素を選択的に還元消去すること、細胞をこれらの活性酸素から防御することが判明した。多くの抗酸化ビタミンでは、疎水性物質は膜にとどまり、親水性物質は膜を通過できない。また、脳血液関門を通過できない抗酸化ビタミンも多い。水素は気体の性質をもつので、親水性、疎水性の領域いずれにも自由に到達できるはずである。実際、細胞内で核とミトコンドリアを防御し細胞を酸化ストレスから防御することがわかった。

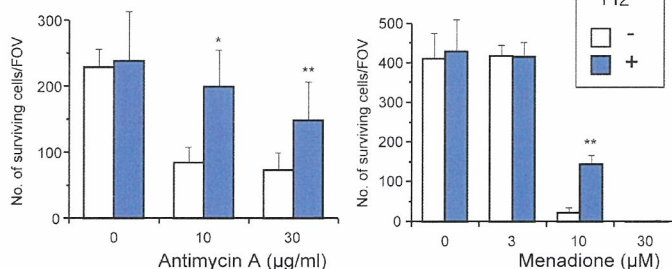
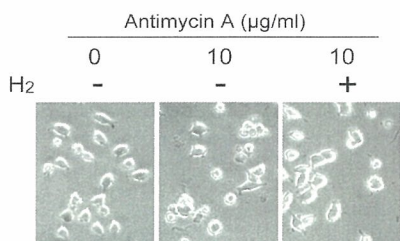
また、水素は体内に速やかに吸収される。

E. 結論

水素は無害であることが証明されており、酸化ストレスを極めて有効に軽減することから、長期にわかって水素分子を体内に取り入れることは、アルツハイマー病の予防に寄与する可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表 執筆中



アンチマイシン処理して酸化ストレスを加えたときの培養細胞(PC12)。水素溶存培地では、酸化ストレス処理後 1 日後で死細胞が少なくなっている。この結果は、水素が細胞を酸化ストレスから防御できることを示している。

2. 学会発表

(1)大澤郁朗, 太田成男: 水素分子(H₂)による酸化ストレス細胞死の抑制. 第 78 回日本生化学会学会, 2005. 10.

(2)石井徳恵, 西槇貴代美, 大澤郁朗, 太田成男: トランスジェニック DAL マウスで惹起される酸化ストレスの飽和水素水飲用による抑制. 第 78 回日本生化学会学会, 2005. 10.

(3)福田慶一, 麻生定光, 大澤郁朗, 山本保博, 太田成男: 水素ガスによる活性酸素フリーラジカルの除去—虚血再灌流傷害の軽減効果. 第 78 回日本生化学会学会, 2005. 10.

(4)Shigeo Ohta: The Hydrogen Molecule as a Scavenger against Reactive Oxygen Species. THAI ASSOCIATION OF TISSUE BANKING, 2005. 11.

G. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許出願

太田成男・大澤郁朗: 特願 2005-238572. 生体内の有害なフリーラジカル除去剤及びその吸引装置

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

「酸化ストレスが原因の虚血・再灌流障害を軽減する水素ガス」に関する研究
（トランスジェニックマウスを用いたミトコンドリア酸化ストレスの抑制による
アルツハイマー病予防・治療法の開発の分担研究）

分担研究者 桂 研一郎（日本医科大学医学部 助教授）

主任研究者 太田 成男（日本医科大学大学院医学研究科 教授）

研究要旨：酸化ストレスを軽減させる方法として水素ガスを実験動物に吸引させた。虚血・再灌流によって活性酸素が急激に発生する。肝臓の動脈あるいは脳の中大動脈を梗塞させ、虚血状態を90分間保った後、再灌流させた。この間、水素ガスを吸引させると虚血・再灌流障害が著しく軽減された。以上の結果は、水素は酸化ストレスを軽減させるのに有効であることを示す。

A. 研究目的

アルツハイマー病を予防するには酸化ストレスを軽減することが有効であると考えられる。酸化ストレスから防御する方法を確立することは国民の健康維持の観点から極めて重要である。水素は、ヒドロキシルラジカル、ペルオキシナイトライトを消去することがわかったので、体内において、水素ガスがこれらの活性酸素を有効に消去し、酸化ストレス障害を軽減するかどうかを調べる。

B. 研究方法

体内での活性酸素の消去効果を明確にするために体内でヒドロキシルラジカルとペロオキシナイトライトを多量に発生させる。ここでは、虚血・再灌流によって活性酸素を発生させた。ラット脳の中大動脈にナイロン糸を挿入し、左脳のみを脳梗塞を生じさせ、90分後に再灌流させた。その間、水素ガスと空気と笑気ガスの混合ガスを吸引させた。24時間後にミトコンドリア活性を測定する TTC 染色により生細胞と死細胞を区別して、梗塞巣体積を測定した。さらに1週間後の脳をH&E染色により脳梗塞巣の体積を測定した。

また、肝臓における虚血・再灌流の障害を水素ガスが軽減するかどうかを動脈を90分梗塞して再灌流させ活性酸素を発生させた。この間、水素と空気と笑気ガスを吸引させた。その直後、肝臓組織を固定しH&E染色と血液中の逸脱酵素活性を調べた。量して判断した。

C. 研究成果

脳梗塞モデルにおいて、水素を吸引させると脳梗塞巣は半分以下に軽減した。また、酸化ストレスマーカーである8-オキシグアニンの量も軽減されたので、水素が酸化ストレスを軽減して、脳梗塞巣を小さくしたことが示された。

この効果は従来の脳梗塞治療薬をしのいだ。同様に、肝臓の虚血・再灌流においても、水素を吸引させると障害が著しく低下した。

D. 考察

水素ガスは、反応性が高いヒドロキシルラジカルとペルオキシナイトライトを還元し消去する。この活性酸素を消去し、細胞死を十分抑制した。以上の結果は、水素ガスは酸化ストレスを十分軽減させることを示している。しかも、一酸化窒素、スーパーオキシド、過酸化水素など時には生体に必要な活性酸素は還元しないので、水素の害はほとんどないと思われる。

さらに、水素は脳血液関門を通過して神経細胞を保護した。そのため、脳を酸化ストレスから護るには水素は理想的な還元剤であることが示唆された。

E. 結論

水素は無害であることが証明されており、酸化ストレスを極めて有効に軽減することから、長期にわかって水素分子を体内に取り入れることは、アルツハイマー病の予防に寄与する可能性がある。