

論文内容の要旨

Prophylactic Instillation of Hydrogen-Rich Water Decreases Corneal Inflammation and Promotes Wound Healing by Activating Antioxidant Activity in a Rat Alkali Burn Model

(訳) → 予防的水素水点眼は、ラットアルカリ角膜外傷モデルにおいて、角膜の炎症を減少させ抗酸化作用を活性化することにより創傷治癒を促進する

日本医科大学大学院医学研究科 眼科学分野
大学院生 児嶋(笠松)桃子

Internal Journal of Molecular Sciences 第23巻 17号 (2022) 掲載

水素はフリーラジカルと酸化還元反応を起こし、抗炎症作用をはじめとする様々な治療的効果をもたらす。近年、水素には抗酸化物質を介した間接的作用経路があることが分かってきた。以前我々は、水素水点眼がラットアルカリ角膜外傷モデルにおいて抗炎症作用および抗酸化作用を示すこと、水素水点眼により **superoxide dismutase enzyme 1 (SOD1)** の発現がラット角膜上皮で増加することを明らかにした。**SOD1** は抗酸化物質の一つで、スーパーオキシドと直接反応し、さらに核内転写因子としてもはたらくことで酸化ストレスを減少させる。本研究では、水素水の予防点眼が抗酸化作用、抗炎症作用、角膜創傷治癒促進作用を示すことをラットアルカリ角膜外傷モデルを用いて明らかにした。

ラット角膜に水素水または基剤を持続点眼し、抗酸化物質の活性を評価した。次に、ラット角膜に水素水または基剤を持続点眼したのち角膜アルカリ外傷を作成し、角膜創傷治癒過程における経時的な病理学的、免疫組織学的、分子生物学的評価を行った。

水素水または基剤を持続点眼した角膜では、角膜上皮の **SOD1** 陽性細胞および **peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha**

(**PGC-1 α**) 陽性細胞が水素群で多かった。PCR による評価では、**SOD1** および **PGC-1 α** の mRNA 発現は水素群でともに亢進していた。**PGC-1 α** は標的遺伝子の発現を調節する転写コアクチベーターで、**SOD1** と同様に抗酸化物質の一つである。水素水点眼は、既報と同様、正常角膜における **SOD1** を増加させ、同時に **PGC-1 α** も増加させた。予防的に水素水点眼を行ったアルカリ外傷角膜では、角膜上皮はおよそ 24 時間かけて修復された。角膜びらん面積の縮小は水素群のほうが早く、水素水予防点眼による角膜創傷治癒の促進がみられた。HE 染色では、炎症細胞が角膜周辺部から中央に向かって浸潤し、角膜実質には浮腫が生じていた。免疫染色で好中球の浸潤細胞数を調査すると、アルカリ負荷 6 時間後では水素群のほうが少なかった。免疫染色によるマクロファージの評価では、アルカリ負荷 24 時間後の角膜中央および角膜周辺における水素群の **ED-1** 陽性細胞が少なかった。**ED-2** 陽性細胞数は、水素群で増加すると予想されたが、両群間で差はみられなかった。理由としては、**M2** マクロファージは炎症発生後約 3 日後から増加するのに対して、今回の調査は外傷後 24 時間までの炎症超急性期にフォーカスしたためと考える。今後、炎症の亜急性期での評価も計画していきたい。さらに、炎症性サイトカインの評価も行った。**Nuclear factor-kappa B (NF-kB)** および **nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor alpha (IkB- α)** の mRNA 発現は、アルカリ負荷

後 6 時間において水素群で抑制されていた。これらのことから、水素水の予防点眼は抗炎症作用を示すことが分かった。さらに、抗酸化物質の活性を免疫染色および PCR にて調査した。免疫染色による評価では、アルカリ負荷後 6 時間の角膜周辺における SOD1 陽性細胞および PGC-1 α 陽性細胞の数は水素群で多く、アルカリ負荷 24 時間後の角膜中央および角膜周辺における SOD1 陽性細胞の数も水素群が多かった。PCR による評価では、SOD1 の mRNA 発現はアルカリ負荷 6 時間後および 24 時間後で水素群のほうがともに亢進していた。水素水予防点眼の機序には SOD1 が関与することが示唆され、さらに PGC-1 α も関わっている可能性が示唆された。前述の通り、水素水点眼の作用経路には直接経路と間接経路が存在する。予防的な使用では、このうち間接的経路のみが関与していると考えられる。

水素水をアルカリ傷害角膜に予防的に点眼すると、創傷治癒促進、抗炎症作用、抗酸化作用を示すことが分かった。水素は治療効果のみならず予防的効果を有し、予定された侵襲等への臨床的応用が期待される。今後、水素水予防点眼のさらなる研究が期待される。