

引用元 URL	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38855154/		
学 術 雑 誌	World Journal of Gastroenterology	掲 載 年	2024
研 究 施 設	南京中医薬大学附属病院	研 究 国	中国
題 名	Hydrogen-rich water alleviates constipation by attenuating oxidative stress through the sirtuin1/nuclear factor-erythroid-2-related factor 2/heme oxygenase-1 signaling pathway		

1分で読める研究のポイント

水素の便秘改善効果

- 👉 便秘ラットモデルに水素水を14日間飲ませ、水素投与前後の状態を比較し、便秘に対する水素の効果を評価した。
- 👉 水素により腸の酸化ストレスが軽減し、腸内細菌叢のバランスが整い、腸管運動と便秘症状が改善した。
- 👉 メカニズムとして、水素によって増加した血清代謝物が、SIRT1（SIRT1/Nrf2/HO-1 シグナル経路）を活性化することで、腸の酸化ストレスを軽減することが確認された。

Abstract（原文と翻訳）

Background: Constipation, a highly prevalent functional gastrointestinal disorder, induces a significant burden on the quality of patients' life and is associated with substantial healthcare expenditures. Therefore, identifying efficient therapeutic modalities for constipation is of paramount importance. Oxidative stress is a pivotal contributor to colonic dysmotility and is the underlying pathology responsible for constipation symptoms. Consequently, we postulate that hydrogen therapy, an emerging and promising intervention, can serve as a safe and efficacious treatment for constipation.

【背景】便秘は非常に一般的な機能的消化管疾患であり、患者の生活の質に大きな負担を与えるだけでなく、医療費の増大にもつながるため、効果的な治療法の確立が極めて重要である。酸化ストレスは大腸の運動障害（腸管運動の低下）の主要要因であり、便秘症状の根本的な病態であるため、新しい治療法として期待される「水素療法」が、安全で有効な便秘治療法となり得ると考えられる。

Aim: To determine whether hydrogen-rich water (HRW) alleviates constipation and its potential mechanism.

【目的】水素水（HRW）が便秘を改善するかどうか、またその作用メカニズムを解明すること。

Methods: Constipation models were established by orally loperamide to Sprague-Dawley rats. Rats freely consumed HRW, and were recorded their 24 h total stool weight, fecal water content, and charcoal propulsion rate. Fecal samples were subjected to 16S rDNA gene sequencing. Serum non-targeted metabolomic analysis, malondialdehyde, and superoxide dismutase levels were determined. Colonic tissues were stained with hematoxylin and eosin, Alcian blue-periodic acid-Schiff, reactive oxygen species (ROS) immunofluorescence, and immunohistochemistry for cell growth factor receptor kit (c-kit), PGP 9.5, sirtuin1 (SIRT1), nuclear factor-erythroid-2-related factor 2 (Nrf2), and heme oxygenase-1 (HO-1). Quantitative real-time PCR and western blot analysis were conducted to determine the expression level of SIRT1, Nrf2 and HO-1. A rescue experiment was conducted by intraperitoneally injecting the SIRT1 inhibitor, EX527, into constipated rats. NCM460 cells were induced with H₂O₂ and treated with the metabolites to evaluate ROS and SIRT1 expression.

【方法】Sprague-Dawley ラットにロペラミドを経口投与して便秘モデルを確立した。ラットは自由に HRW を摂取し、24 時間の総便重量、糞便含水率、炭素標識物質の推進率を記録した。糞便サンプルは 16S rDNA 遺伝子シーケンシングにかけた。血清のノンターゲットメタボローム解析、MDA、SOD の値を測定した。大腸組織は H&E 染色、AB-PAS 染色、活性酸素（ROS）の免疫蛍光染色、細胞増殖因子受容体キット（c-kit）、PGP9.5、SIRT1、Nrf2、HO-1 の免疫組織化学染色を行った。定量リアルタイム PCR とウェスタンブロット解析を実施し、SIRT1、Nrf2、HO-1 の発現レベルを測定した。また、SIRT1 阻害剤 EX527 を便秘ラットに腹腔内注射し、レスキュー実験を実施した。NCM460 細胞は H₂O₂ 処理を行い、HRW 関連代謝物で処理し、ROS と SIRT1 の発現を評価した。

Results: HRW alleviated constipation symptoms by improving the total amount of stool over 24 h, fecal water content, charcoal propulsion rate, thickness of the intestinal mucus layer, c-kit expression, and the number of intestinal neurons. HRW modulated intestinal microbiota imbalance and abnormalities in serum metabolism. HRW could also reduce intestinal oxidative stress through the SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway. This regulatory effect on oxidative stress was confirmed via an intraperitoneal injection of a SIRT1 inhibitor to constipated rats. The serum metabolites, β -leucine (β -Leu) and traumatic acid, were also found to attenuate H₂O₂-induced oxidative stress in NCM460 cells by up-regulating SIRT1.

【結果】HRW は、24 時間の総便量、糞便含水率、炭素推進率、腸粘液層の厚さ、c-kit の発現、腸神経細胞数を改善することで、便

秘症状を軽減した。HRW は、腸内細菌叢の不均衡および血清代謝異常を調節した。また、HRW は SIRT1/Nrf2/HO-1 シグナル伝達経路を介して腸の酸化ストレスを軽減した。この酸化ストレスに対する調節効果は、SIRT1 阻害剤を便秘ラットに腹腔内投与することで確認した。さらに、血清代謝物である β -ロイシン (β -Leu) とトラウマ酸が、NCM460 細胞において SIRT1 の発現を増加させ、 H_2O_2 誘導性酸化ストレスを軽減することが明らかとなった。

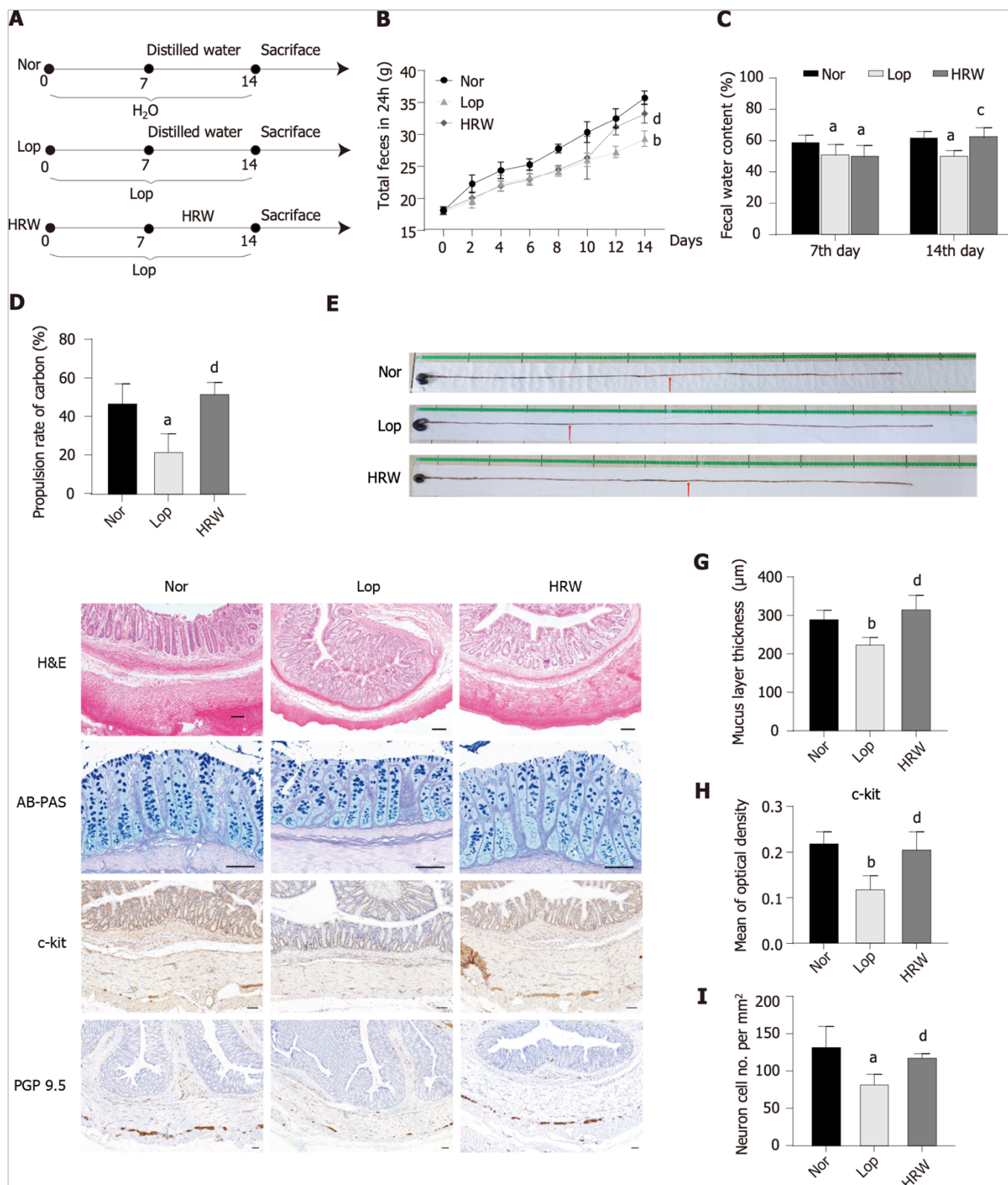
Conclusion: HRW attenuates constipation-associated intestinal oxidative stress via SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway, modulating gut microbiota and serum metabolites. β -Leu and traumatic acid are potential metabolites that upregulate SIRT1 expression and reduce oxidative stress.

【結論】HRW は SIRT1/Nrf2/HO-1 シグナル経路を介して便秘に関連する腸の酸化ストレスを抑制し、腸内細菌叢や血清代謝物を調節する。 β -Leu とトラウマ酸は SIRT1 の発現を促進し、酸化ストレスを軽減する可能性がある。

©The Author(s) 2024. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Conflict of interest statement: All the authors report no relevant conflicts of interest for this article. 【利益相反】なし

英語	日本名	説明
Constipation	便秘	腸の運動機能が低下し、排便が困難になる状態。
Gut microbiota	腸内細菌叢	腸内に生息する多様な細菌の集まりで、消化・免疫・代謝に関与する。
loperamide	ロペラミド	腸の運動を抑制し便秘を引き起こす薬剤。便秘モデル作成に使われる。
16S rDNA gene sequencing	16S rDNA 遺伝子シーケンシング	腸内細菌叢の構成を解析する手法。
Serum non-targeted metabolomic analysis	血清ノンターゲットメタボローム解析	血清中の代謝物を網羅的に分析し、生理的变化を調べる手法。
malondialdehyde	マロンジアルデヒド (MDA)	細胞膜の脂質が酸化されることで生成される物質で、酸化ストレスの指標。
superoxide dismutase	スーパーオキシドジスムターゼ (SOD)	活性酸素を分解し、酸化ストレスを抑える酵素。
reactive oxygen species (ROS)	活性酸素	細胞に酸化ダメージを与える不安定な分子。
immunofluorescenc	免疫蛍光染色	抗体を用いて特定のタンパク質を可視化する手法。
cell growth factor receptor kit (c-kit)	細胞増殖因子受容体キット	腸のペースメーカー細胞 (カハール間質細胞) に発現し、腸の運動調節に関与するタンパク質。
PGP 9.5	PGP 9.5	腸神経細胞のマーカーで、神経系の機能を評価する指標。
sirtuin1 (SIRT1)	サーチュイン 1	細胞のストレス応答や老化抑制に関与する酵素。本研究では腸の酸化ストレス軽減に関与。
nuclear factor-erythroid-2-related factor 2 (Nrf2)	核因子赤血球 2 関連因子 2	抗酸化遺伝子の発現を調節する転写因子。
heme oxygenase-1 (HO-1)	ヘムオキシゲナーゼ-1	細胞の酸化ストレス防御機構に関与する酵素。
SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway	SIRT1/Nrf2/HO-1 シグナル伝達経路	SIRT1 を介して Nrf2 と HO-1 が活性化されることで、酸化ストレスを抑制するメカニズム
NCM460 cells	NCM460 細胞	正常なヒト大腸上皮細胞株。本研究では酸化ストレス応答の評価に使用。
Quantitative real-time PCR	定量リアルタイム PCR	遺伝子の発現量を正確に測定する手法。
western blot analysis	ウエスタンブロット解析	タンパク質の発現レベルを測定する手法。
Serum metabolites	血清代謝物	血液に含まれる代謝産物で、体の機能調整に関与する。
β -leucine (β -Leu)	β -ロイシン	体内で合成されるアミノ酸の一種で、SIRT1 の発現を促進し、酸化ストレスを軽減する可能性がある。
traumatic acid	トラウマ酸	植物や動物の代謝産物で、抗酸化作用を持ち、SIRT1 を介した酸化ストレス抑制に関与する可能性がある。



A: ラットモデル確立(薬剤投与フローチャート) B: 4 時間以内に排出された総糞便量 C: 7 日目と 14 日目の糞便含水率
D, E: ラットの小腸内の炭素推進率 (腸内容物の移動速度)
F: H&E 染色、AB-PAS 染色、細胞増殖因子受容体キット (c-kit) と PGP 9.5 の免疫組織化学染色
G: 粘液層の厚さ H: c-kit の平均光学密度 I: 腸神経細胞の数

統計的有意性: aP < 0.05: 正常群 (Nor) との比較、bP < 0.01: 正常群 (Nor) との比較

cP < 0.05: ロペラミド誘発便秘群 (Lop) との比較

dP < 0.01: ロペラミド誘発便秘群 (Lop) との比較

スケールバー: 100 μm

グループ略称: Nor:正常群、Lop:ロペラミド誘発便秘群、HRW:水素水投与群、H&E:ヘマトキシリン・エオジン染色、
AB-PAS:アルシアンブルー・過ヨウ素酸シッフ染色、c-kit:細胞増殖因子受容体キット