

ネコの慢性腎臓病に対する電子水投与の抗酸化能への影響

櫻井 玲奈¹⁾ 金野 好伸¹⁾ 小沼 政弘²⁾ 羽生 奈々¹⁾ 日比 孝嘉¹⁾

Reina SAKURAI Yoshinobu KONNO Masahiro KONUMA Nana HANYU Takayoshi HIBI

内田 直宏¹⁾ 井口 愛子¹⁾ 山崎 真大¹⁾ 佐藤 れえ子¹⁾

Naohiro UCHIDA Aiko IGUCHI Masahiro YAMASAKI Reeko SATO

1. はじめに

ヒトの慢性腎臓病（chronic kidney disease：CKD）では生体内での活性酸素種（reactive oxygen species：ROS）の産生増加による酸化障害と、これに対抗する生体の抗酸化能が低下することが知られている。とりわけ尿毒性物質の長期的蓄積は、ROSの増加と抗酸化能の低下を引き起こす。同様に、ネコのCKDでも腎組織内のROSによる酸化障害が尿細管と間質の線維化に繋がることが報告されている。上記の研究結果から、近年CKDのステージが進んでいるネコに対して、高濃度水素含有水（H₂O）を給与することで、酸化ストレス度の低下および抗酸化能の増強を試みるケースが見られるようになった。さらに、臨床の現場で酸化ストレス度・抗酸化能を評価する汎用測定機器が普及してきたことにより、イヌやネコの小動物においても基準値を設定する試みがみられるようになり、小動物獣医療においても酸化ストレス度および抗酸化能測定の意義が注目されるようになってきた。

医学領域では、電子水を継続的に摂取することで慢性腎臓病の腎線維化に対する抑制効果が期待されている。電子水とは酸化反応の過程で物質に不足した電子を補うことで、水素水と同様にROSを消去することができる状態の水のことを指す。水素水と異なる点としては、水分子がより小さく、そのために熱に強く、また長期保存が可能であるという

点、電子を補うことでROSによる傷害を受けた細胞を正常な状態に戻すことができること、ミトコンドリアを増やすことを可能にするという点である。以上のように電子水は、長期保存ができる点や、水素水よりもより大きな効果が期待できる点が優れていると思われる。特に慢性的な疾患で代謝性アシドーシスが進行するCKDのような病態に、どのような効果をもたらすのか興味深い。そこで今回は、電子水の給与が慢性疾患を有する小動物にどのような効果を及ぼすのか探るための基礎試験として、ネコのCKDに焦点を絞り、まだ高窒素血症を示していない段階の初期のCKDネコと、健常なネコに電子水を飲水として与え、血中酸化度マーカーと抗酸化能マーカーの変化を観察し、初期のCKDネコに対する電子水の効果について検討した。

2. 材料および方法

<供試動物>

対照群：臨床的に健康な日本ネコ系雑種ネコ3頭（4歳～8歳、雄1頭、雌2頭）を供した。

CKD群：まだ高窒素血症を呈していないエキゾチック・ショートヘアの多発性嚢胞腎ネコ4頭（1歳～7歳、雄1頭、雌3頭）を供した。CKDのステージは、IRIS分類ではステージ1に相当。これらのネコは、いずれも

PKD1 遺伝子変異陽性であり、左右の腎臓に複数の嚢胞を有していた。

<電子水>

高純度電子水装置（サイクリオン、クリスタル研究所製）にて産生した製品（トリエスガイド社）を使用。電子水の pH は、7.4 であった。

<試験デザイン>

各群の供試ネコは、試験中は定温・定湿度に環境設定された実験室内で、それぞれ個別のケージ内飼育とした。給餌はドライキャットフードを 1 日 2 回給与し、電子水は自由飲水とした。試験期間前は、水道水を同様に給与した。

電子水給与開始前に各種検査を実施し（Pre 値）、電子水を給与して 1 か月後に同様の検査を実施した。電子水の給与は 2 か月まで継続した。

<検査項目>

身体検査：連日健康状態を確認し、電子水の摂取状況をチェックした。

酸化ストレス度：d-ROM 法（FRAS4 フリーラジカル分析システム、ウイスマー社、東京）

抗酸化能：BAP 法（FRAS4 フリーラジカル分析システム、ウイスマー社、東京）

血液検査：CBC（RBC、WBC、Hb、Ht、血小板数；動物用自動血球計数器）、血清化学検査（Glu、BUN、Cre、TP、Alb、Glo、A/G、T-Cho、TG、T-Bil、ALT、AST、ALP、Na、K、Cl、Ca、iP、Mg；生化学自動分析装置）、血清浸透圧（蒸気圧法）。

尿検査：試験紙法、尿比重（イヌネコ用尿比重屈折計）、尿浸透圧（蒸気圧法）、UPC。

<統計処理>

CKD 群、対照群ともに測定値は平均値±標準偏差で示し、その群間の有意差を評価した。

それぞれの群内における Pre 値と 1 か月後の測定値間の評価は対応のある Student' *t* 検定によって解析し、 $P<0.05$ を有意差ありとした。Pre 値ならびに 1 か月後の測定値における群間の有意性については、Student' *t* 検定で評価し、 $P<0.05$ を有意差ありとした。また、酸化ストレス度と抗酸化能の変化率については Mann-Whitney U 検定を用いて統計処理を行い、同様に $P<0.05$ を有意差ありとした。

3. 結果

<身体検査所見と飲水状態>

対照群と CKD 群の両群で、試験期間中各供試ネコの身体検査所見には大きな変化は認められなかった。

また、電子水の給水に対しても、水道水の時と同様に抵抗なく飲水していた。試験期間中の飲水量は、両群とも 1 日当たり 16.2ml/kg から 34.1ml/kg で推移した。

<血液検査所見>

対象群および CKD 群の CBC については、1 か月の電子水給与によって有意な変化は認められなかったが、RBC、Ht、Hb が各群ともに増加して血液濃縮の傾向が認められた。

血液化学検査については、CKD 群で Glu、TP 値の有意な上昇（ $P<0.05$ ）と Cl 値の有意な低下（ $P<0.05$ ）が認められた。

<酸化ストレス度と抗酸化能>

d-ROM 法、BAP 法による検査結果については、表 1、2 に示した。酸化ストレス度を示す d-ROM は、電子水投与前の値は対照群で 124 ± 31.4 (U.CARR)、CKD 群は 109.5 ± 24.7 (U.CARR) であり、両群間に有意差は認められなかった。電子水給与 1 か月の d-ROM 値は、それぞれ対照群が 115.7 ± 35.8 (U.CARR)、CKD 群が 107 ± 24.7 (U.CARR) と、低下傾向を示した。

抗酸化能の指標である BAP 値は、電子水

投与前の値は対照群で $2500.4 \pm 113.41 (\mu M)$ 、CKD 群は $2743.13 \pm 463.27 (\mu M)$ であり、CKD 群の方が高値を示したが、両群間に有意差は認められなかった。電子水給与1か月のBAP値は、それぞれ対照群が $2643.28 \pm 134.94 (\mu M)$ 、CKD 群が $2923.53 \pm 215.50 (\mu M)$ であり、両群ともに電子水給与後増加し、対照群ではPre値との間に有意差が認められた ($P < 0.05$)。

<血清浸透圧>

血清浸透圧について、電子水投与前の値は対照群で 304.00 ± 3.27 、CKD 群で 309.75 ± 2.49 であり両群間に有意差は認められなかったが、CKD 群で高い傾向を示した。電子水給与1か月の血清浸透圧は、それぞれ対照群が 305.3 ± 9.81 、CKD 群が 301.25 ± 5.02 であり、CKD 群では有意に ($P < 0.05$) 低下した (表3)。

<尿検査所見>

尿検査項目については、電子水投与前と投与1か月後の間に著変は認められなかった。

表1 d-ROM値の変化 (U.CARR)

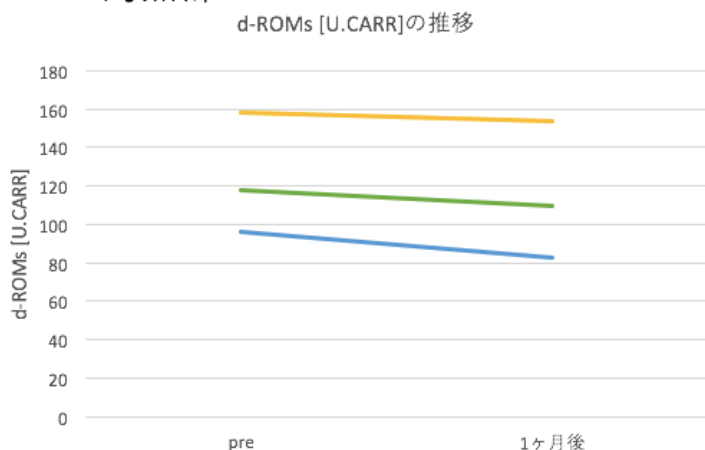
供試ネコ	Pre	1か月後
対照群		
No.1	118.0	110.0
No.2	96.0	83.0
No.3	158.0	154.0
平均±SD	124 ± 31.4	115.7 ± 35.8
CKD群		
No.4	92.0	79.0
No.5	122.0	132.0
No.6	138.0	123.0
No.7	86.0	94.0
平均±SD	109.5 ± 24.7	107 ± 24.7

表2 BAP値の変化 (μM)

供試ネコ	Pre	1か月後
対照群		
No.1	2428.2	2575.26
No.2	2441.88	2555.88
No.3	2631.12	2798.7
平均±SD	2500.4 ± 113.41	$2643.28 \pm 134.94 *$
CKD群		
No.4	2660.76	2681.28
No.5	3272.94	3133.86
No.6	2877.36	3073.44
No.7	2161.44	2805.54
平均±SD	2743.13 ± 463.27	2923.53 ± 215.50

(*対照群でPreと1か月後の間でBAP値に有意あり。 $P < 0.05$)

A : 対照群



B : CKD群

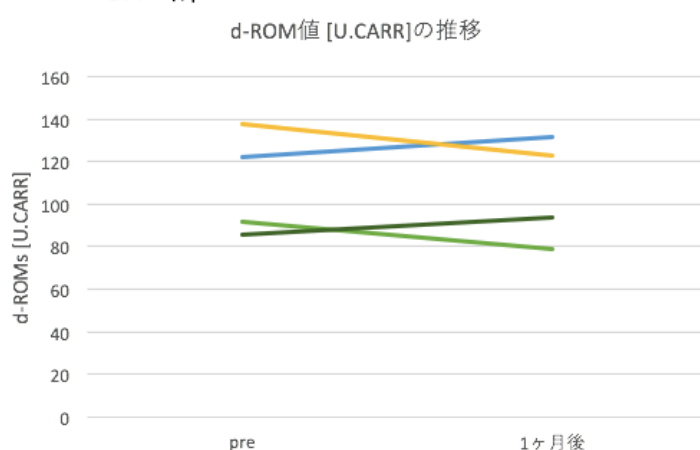
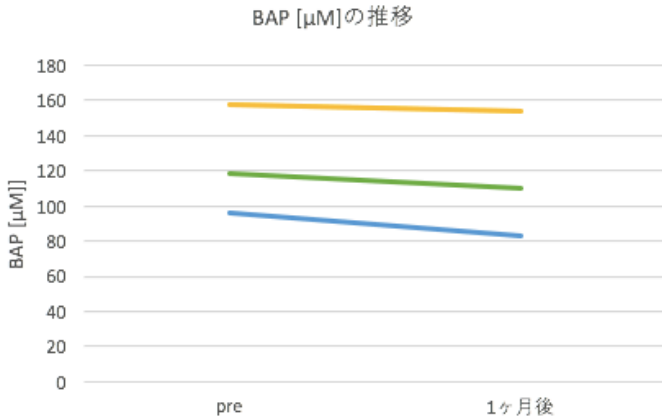


図1 d-ROM値 [U.CARR]の推移

A：対照群



B：CKD群

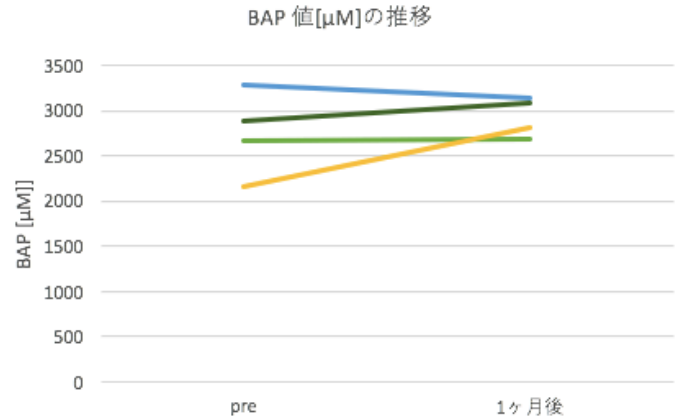


図2 BAP値 [μM]の推移

表3 血清浸透圧の変化

供試ネコ	pre	1か月後
対照群		
No. 1	304	293
No. 2	300	317
No. 3	308	306
平均±SD	304.00±3.27	305.3±9.81
CKD群		
NO. 4	313	309
NO. 5	306	301
NO. 6	310	300
NO. 7	310	295
平均±SD	309.75±2.49	301.25±5.02*

(*CKD群でPreと1か月後の間で血清浸透圧に有意あり。P<0.05)

4. 考察

生体内における酸化ストレスは、様々な病態に深く関与して、その悪化要因となっている。慢性的な変化を続ける進行性のCKDにおいても、腎臓の線維化や血管障害、骨代謝異常などの進展に関係し、ヒトではCKD患者の生命予後にも影響を与える要因として認識されている。生体内におけるROSの反応性は極めて早く、ROSそのものを正確に補足して測定することは難しい。今回の研究では、ROSによって体内に生じた活性酸素代謝物（ROM）を測定し、酸化ストレス度のマーカーとした。その結果、

電子水投与前のd-ROM値は2群間で有意な差を示さなかった。これは、今回研究に供したCKDネコが、まだ高窒素血症を示していない極初期の個体であったためと考えられる。また、同時に評価した抗酸化能の指標であるBAP値は、Pre値を比較すると有意差はないもののCKD群の方が僅かながら高値を示していた。

一方、今回給与した電子水はネオジム永久磁石によって作られた磁力線中に水を通して得られたもので、電子を多く含みpHは約7.4前後の弱アルカリ性である。電子水の水分子は固有振動数が高く高エネルギーであるとされており、その豊富な電子が生体内での酸化ストレスを緩和することを期待して、酸化ストレスに深く関与した癌や糖尿病などの疾患で応用され始めている。今回の研究では、電子水を1か月間給与したことで、有意差は認められなかったものの酸化ストレス度のマーカーであるd-ROM値は両群で低下傾向を示した。一方、抗酸化能の指標であるBAP値は両群ともに電子水給与後増加し、対照群ではPre値に対して有意の差が認められた。したがって、電子水の給与はネコにおいてもヒトと同様に、生体内における酸化ストレスの緩和と抗酸化能の活性化に寄与する可能性があると考えら

れた。また、血清浸透圧は電子水給与後に CKD 群で有意に低下した。この理由については、今回は特定出来なかった。

以上のように、電子水の給与により対照群と CKD 群のネコに僅かではあるが酸化ストレス度の低下と、抗酸化能の増加が観察された。これは、ヒトにおける癌や糖尿病患者での報告と一致している。今後は給与期間を延長した時の変化や、CKD ステージの進んだ症例に給与した場合の効果について検討が必要であると考えられた。

5. 参考文献

- 1) 小沼政弘、若槻貞次郎、藤木龍輔：酸化ストレス関連疾患と電子水適応の可能性. *Pharma Medica*, 35(8)(2017)
- 2) Mcousker, K., Hoidal, J.: Selective increase of antioxidant enzyme activity

in the alveolar macrophages from cigarette smoker and smoke-exposed hamsters. *Am. Rev. Respir. Dis.* **141**:678-682. (1990)

- 3) Hirokazu TSUBONE, et al : Effect of treadmill exercise and hydrogen-rich water intake on serum oxidative and anti-oxidative metabolites in serum of thoroughbred horses. *J. Equine Sci*, Vol. 24, No. 1, pp.1-8. (2013)
- 4) A. Pasquini, et al: Analytical performances of d-ROMs test and BAP test in canine plasma. Definition of normal range in healthy Labrador dogs. *Vet Res Commun*, 32:137-143 (2008)

¹⁾岩手大学農学部附属動物病院：〒020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

²⁾トリエスガイド株式会社：〒108-0075 東京都港区港南 2-16-1 品川イーストワンタワー4階