

令和元年5月30日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H03199

研究課題名(和文) 虚血性心不全モデルにおける運動療法と薬物療法の併用効果

研究課題名(英文) Effects of exercise and drug therapies in heart failure models

研究代表者

森 信芳 (Mori, Nobuyoshi)

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：50463790

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：各種心不全モデルラットにおいて心組織像、レニン-アンジオテンシン系、線維化関連物質への運動と薬物の効果を検討した。Dahl食塩感受性ラットにおいては、xanthine oxidase (XO) 阻害薬は食塩過剰摂取による心肥大、心筋細胞肥大、間質線維化を抑制し、ACE、AT1受容体、TGF- $\beta$ 1発現やERKリン酸化を抑制したが、長期的運動はそれらに影響しなかった。慢性腎不全ラットにおいては、長期的運動は慢性腎不全による心肥大、心筋細胞肥大には影響しなかったが、間質線維化を抑制し、ACEとAT1受容体発現を抑制した。以上の結果から、心不全モデルにおける長期的運動やXO阻害薬の有効性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高血圧性心不全モデルの心臓において、食塩過剰摂取は酸化ストレスの発生源の一つであるXOやレニン-アンジオテンシン系を活性化し、心筋細胞肥大や間質線維化を惹起すること、さらに、XO阻害薬がそれらの異常を抑制することが明らかになり、高血圧性心不全の治療に、運動療法と共にXO阻害薬が有効性が示唆された。また、慢性腎不全モデルの心臓において、長期的運動は心臓RA系の変化の回復を伴って間質線維化を改善するが明らかになり、長期的運動は慢性腎臓病や慢性腎不全に伴う心不全進行を抑制することが示唆された。本研究成果は、心不全への運動療法や薬物療法の有効性の機序を一部を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Effects of exercise and drugs on cardiac histology, renin-angiotensin system and fibrosis related substances were examined in various heart failure model rats. In Dahl salt-sensitive rats, the xanthine oxidase (XO) inhibitor inhibited high salt intake-induced cardiac hypertrophy, cardiomyocyte hypertrophy, and interstitial fibrosis, but inhibited ACE, AT1 receptor, TGF- $\beta$ 1 expression and ERK phosphorylation, but exercise training did not affect them. In chronic renal failure (CRF) rats, exercise training did not affect CRF-induced cardiac hypertrophy and cardiomyocyte hypertrophy, but inhibited interstitial fibrosis and ACE and AT1 receptor expressions. These results indicate beneficial effects of exercise training and XO inhibitor in heart failure models.

研究分野：リハビリテーション医学

キーワード：リハビリテーション医学 運動療法 心不全 高血圧 腎不全

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

心不全は多くの心疾患、心負荷状態の終末像として見られる症候である。慢性心不全は急性増悪期には入院を余儀なくされ、それ自体が症候を進行させることにより、急性増悪の頻度を増加させ、増悪時の回復までの期間も長くなる。身体活動の制限因子となり QOL 低下の原因ともなり、医療費上昇の一因ともなる。

リハビリテーション分野において広く取り入れられてきた治療法の一つに運動療法がある。安定した慢性心不全患者の長期的な運動療法により運動耐容能が改善することを Sullivan らが示して以来(Circulation 1988)、心不全患者の運動療法とその末梢での効果が数多く報告されている。この機序としては血管作動物質が関与していると考えられている。さらに適切な運動療法は心室リモデリングの抑制により心不全進展を抑制することが示唆されており、自律神経系の関与も示唆されている。自律神経系と血管作動物質との関係も報告されてきている。一部の血管作動物質は、線維化のメディエータとなることも報告されている。

運動療法は虚血性心疾患の一次予防および二次予防に有効であり、動脈硬化の進展抑制、退縮の可能性も注目されている。虚血性心疾患の運動療法に関しては冠危険因子の是正、生命予後の改善も得られている。心疾患では運動療法による QOL の改善も示されている。しかしながら、運動療法の有効性の機序に関しては十分な分析がなされていない。

コラーゲンの分解に関与するマトリックスメタロプロテアーゼは、その発現量だけではコラーゲンの蓄積を説明できず、更なる調整系の探索、評価が必要である。心不全など臓器障害で変化する新規の血管作動物質が線維化に関連していることが示唆されており、運動やレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系の阻害等が臓器保護に働くことが示されている。このことから運動が血管作動物質を介して臓器の線維化軽減に役立つ機序が考えられる。アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬、アンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)、ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬、レニン阻害薬、遮断薬、カルシウム拮抗薬、運動療法などの臓器保護作用の可能性が示されているが、まだ十分な解明がなされていない。

### 2. 研究の目的

心不全モデルの心臓への運動療法による影響を分子生物学的な手法を用いて評価・検討することにより、運動療法の有効性の機序を解明し、明確な根拠を見出すことを目的とした。心筋梗塞後、高血圧性及び慢性腎不全に伴う各種心不全モデルラットにおける運動療法、薬物療法の有効性の機序として、血管作動物質、線維化関連物質の関与を仮定し、その調節機構を検討した。運動療法により心不全の進展が抑制され、同時に血管作動物質発現の変化が影響を受けることが明らかになることで、根拠に基づいた心不全の進展抑制を目的とした運動療法の臨床応用を期待した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 病態モデルラットの作成

心筋梗塞後、高血圧性及び慢性腎不全に伴う各種心不全ラットを手術や 8%高食塩食摂取により作成した。コントロールとしては偽手術ラットや通常食塩食摂取ラットを用いた。経過中に心エコー法による評価、動物実験終了時には心重量/体重比を測定し、採血を行い、重症の程度を総合的に判断した。心エコー法は Toshiba 製超音波診断装置を使用した。

#### (2) 運動療法・薬物療法

ラットの運動療法にはラット用トレッドミル装置(夏目製作所製)を用いた。運動強度の測定には、呼気ガス分析試験を行った。運動量、嫌気性代謝域値レベル程度、あるいは弱い強度にて、60 分間/回、1 回/日、5 日間/週。8~12 週間の設定で行う。薬物は確実な内服のために、水に溶解、あるいは懸濁して強制的に経口ゾンデにて内服させた。運動終了後 48 時間以上の時間をあけて、運動の急性効果が弱くなってから、ラットの心臓を採取した。それら組織中から、蛋白を抽出し、ウェスタンブロット法により解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) 高血圧性心不全モデルラットの心臓における長期的運動と xanthine oxidase 阻害薬の効果の検討

心不全の発症・進展にも酸化ストレスが関与するという報告が数多くあり、その発生源の一つである xanthine oxidase (XO) の関与については未だ不明な点が多い。高血圧性心不全における長期的運動(Ex)と XO 阻害の効果을明らかにするため、高血圧性心不全を発症する Dahl 食塩感受性(Dahl-S)ラットにおける食塩過剰摂取による心肥大に対する Ex と XO 阻害薬 febuxostat の効果について検討した。

8 週齢の雄性 Dahl-S ラットを無作為に 正常食塩食(NS:0.6% NaCl)群、高食塩食(HS:8% NaCl)群、HS+ Ex 群、HS+febuxostat 群の 4 群に分けた。Ex はトレッドミル運動(60 分間/回、1 回/日、5 日間/週)を実施し、febuxostat は 3mg/kg 体重/day で経口投与した。8 週間後に断頭し、心臓を摘出し、組織像の検討や各種測定を行なった。

NS 摂取に比べて、HS 摂取は収縮期血圧、心重量、左室重量を有意に増加させ、Ex はこ

れらを有意に変化させなかったが、febuxostat は有意に低下させた。HS 摂取は左室の心筋 cross sectional area を 129%に、間質線維化面積を 173%に増加させ、Ex はこれらを変化させなかったが、febuxostat 投与はこれらを 110%に、135%に減少させた。HS 摂取は左室の ACE とアンジオテンシン II 1 型受容体 (AT1) 受容体発現、extracellular signal-regulated kinase (ERK) リン酸化を増加させ、Ex はこれらを有意に変化させなかったが、Fx は ACE と AT1 受容体発現と ERK リン酸化を抑制した。

以上の結果から、Dahl-S ラットにおいて、食塩過剰摂取は血圧を上昇させ、X0、レニン-アンジオテンシン系、ERK の活性化を伴う心筋細胞肥大や間質線維化を惹起する。febuxostat 投与が血圧上昇や心障害を抑制することから、X0 が高血圧性心不全における心障害に関与していること、また高血圧性心不全の治療に X0 阻害薬が有効であることが示唆された。

(2)高血圧性心不全モデルラット心臓における xanthine oxidase 阻害薬の効果の機序解明  
心不全の発症・進展にも酸化ストレスが関与するという報告が数多くあるが、その発生源の一つである X0 の関与については未だ不明な点が多い。高血圧性心不全における X0 の関与を明らかにするため、Dahl-S ラットにおける食塩過剰摂取による左室 X0 活性の変化と X0 阻害薬 febuxostat の心保護効果について検討した。

8 週齢の雄性 Dahl-S ラットを無作為に NS 群、HS 群、HS+febuxostat 群の 3 群に分け、febuxostat は 3mg/kg 体重/day で経口投与した。8 週間後に断頭し、心臓を摘出し、組織像の検討や各種測定を行なった。

HS 摂取は収縮期血圧、心重量、左室重量を有意に増加させ、febuxostat 投与はこれらを有意に低下させた。心臓超音波検査で、左室短縮率は 3 群間で有意差を認めなかったが、HS 群で左室後壁厚の有意な増加と E/A 比の有意な低下を認め、febuxostat 投与群では後壁厚は減少傾向であり E/A 比は有意に改善していた。HS 摂取は左室の心筋細胞サイズ、間質線維化面積を有意に増加させ、febuxostat 投与はこれらを有意に減少させた。HS 摂取は左室 X0 活性と NADPH oxidase 活性を有意に亢進し、febuxostat 投与はこれらを有意に低下させた。また、HS 摂取は左室の ERK リン酸化、TGF- $\beta$ 1 発現、ACE 発現、アンジオテンシン II 1 型受容体 (AT1) 受容体発現を有意に増加させ、febuxostat 投与はこれらを有意に抑制した。

以上の結果から、X0 の活性化が高血圧性心不全における心障害に関与していること、また高血圧性心不全の治療に、運動療法と共に X0 阻害薬が有効であることが示唆された。

(3)慢性腎不全に伴う心不全モデルラット心臓における長期的運動の効果の検討

長期的運動 (Ex) の心血管イベント減少効果や心保護効果の報告は多いが、慢性腎臓病に伴う心疾患への Ex の効果についての報告はほとんどない。そこで、慢性腎不全ラットにおいて心臓の組織像やレニン - アンジオテンシン (RA) 系への Ex の影響について検討した。

6 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットに 5/6 腎摘除もしくは偽手術を行い、10 週齢時に無作為に 1) 非運動 (Nephrectomy Sedentary; NxS) 群、2) 運動群 (Nephrectomy Exercise; NxEx) に分け、さらに 3) 偽手術 (Sham) 群を加えた計 3 群に実験を行った。NxEx 群には 10 週齢時からトレッドミル運動 (傾斜角 0 $^{\circ}$ 、20m/分、60 分間/日、5 回/週) を実施した。12 週間後に断頭し、心臓を摘出し、組織像の検討や各種測定を行なった。

Sham 群と比べ、NxS は体重と総走行距離を有意に低下させ、収縮期血圧を有意に増加させた。長期的運動は総走行距離を有意に延長させ、収縮期血圧を有意に減少させた。また、NxS は高血圧、左室肥大、心筋細胞肥大、間質線維化を惹起し、長期的運動は左室肥大、心筋細胞肥大には影響しなかったが、高血圧と左室間質線維化を改善させた。NxS は左室のコラーゲン、TGF- $\beta$ 1 発現、ACE 発現、AT1 受容体発現を増加させ、長期的運動はそれらを低下させた。また、NxS はアンジオテンシン II 2 型受容体 (AT2) 発現を低下させ、Ex はそれを増加させた。

表. 5/6 腎摘除ラットの血圧、心重量、左室肥大、左室線維化への長期的運動の効果

	Sham	NxS	NxEx
収縮期血圧 (mmHg)	122 $\pm$ 2	208 $\pm$ 7*	160 $\pm$ 1*
体重 (g)	495 $\pm$ 8	402 $\pm$ 25*	443 $\pm$ 25*
心臓/体重 (mg/g)	2.69 $\pm$ 0.05	3.44 $\pm$ 0.27*	3.49 $\pm$ 0.11*
左室/体重 (mg/g)	2.01 $\pm$ 0.05	2.71 $\pm$ 0.24*	2.75 $\pm$ 0.11*
左室断面積 ( $\mu$ m $^2$ )	205 $\pm$ 3	216 $\pm$ 8	211 $\pm$ 5
左室線維化 (%)	0.83 $\pm$ 0.24	2.28 $\pm$ 0.80*	1.03 $\pm$ 0.26*#

平均値 $\pm$ 標準誤差 \*p<0.05 vs Sham #p<0.05 vs NxS

以上の結果から、慢性腎不全ラットにおいて長期的運動は心臓 RA 系の変化の回復を伴って左室間質線維化を改善するが明らかになり、長期的運動は慢性腎不全に伴う心不全進行を抑制することが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 7 件)

1. 高橋淳太, 小川佳子, 作山晃裕, 室谷嘉一, 森 信芳, 上月正博, 伊藤 修. Dahl 食塩感受性ラットの腎障害に対する長期的運動の効果 ~ CYP4A / 20-HETE 系に関する検討 ~ . 運動器リハビリテーション. 2019 (印刷中) (査読あり)
2. Namai-Takahashi A, Sakuyama A, Nakamura T, Miura T, Takahashi J, Kurosawa R, Kohzuki M, Ito O. Xanthine oxidase inhibitor, febuxostat ameliorates the high salt intake-induced cardiac hypertrophy and fibrosis in Dahl salt-sensitive rats. *Am J Hypertens* 32: 26-33, 2019 (査読あり)  
DOI: 10.1093/ajh/hpy143
3. Kohzuki M, Ito O. Chronic Kidney Disease is a New Target of Cardiac Rehabilitation. *Cardiovascular Innovations and Applications* 2: 387-393, 2017 (査読あり)  
DOI: 10.15212/CVIA.2017.0006
4. 高橋麻子, 伊藤 修, 作山晃裕, 中村貴裕, 三浦平寛, 上月正博. Dahl 食塩感受性ラットの心障害における xanthine oxidase 活性化と febuxostat による心保護効果. *痛風と核酸代謝* 41: 153-154, 2017 (査読なし)  
<https://doi.org/10.6032/gnam.41.153>
5. 上月正博. 心不全の病態の理解と医学的治療の概要. *理学療法* 33: 292-299, 2016 (査読なし)
6. 上月正博. 内部障害リハビリテーションの現状と展望. *Jpn J Rehabil Med* 53: 818-822, 2016 (査読なし)  
[https://member.jarm.or.jp/mypage/journal/download\\_pdf.php?aid=306](https://member.jarm.or.jp/mypage/journal/download_pdf.php?aid=306)
7. 伊藤 修. 内部障害リハビリテーションの最近の知見と課題. *Monthly Book Medical Rehabilitation* 200: 834-838, 2016 (査読なし)

### 〔学会発表〕(計 22 件)

1. 山越聖子, 伊藤 修, 戎 栄, 大崎雄介, 中村貴裕, 高橋和広, 森 建文, 伊藤貞嘉, 戸恒和人, 上月正博. Dahl 食塩感受性ラットの腎ネフロンセグメントにおける高食塩食摂取による(プロ)レニン受容体発現とキサンチンオキシダーゼ活性の変化. 第 52 回日本痛風・核酸代謝学会, 2019 年
2. 中村貴裕, 山越聖子, 須田千尋, 森 信芳, 上月正博, 伊藤 修. 長期的運動と olmesartan の併用が 5/6 腎摘除慢性腎不全モデルラットの腎レニン- アンジオテンシン系に与える影響. 第 2 回日本リハビリテーション医学会秋季大会, 2018 年
3. 高橋淳太, 小川佳子, 作山晃裕, 室谷嘉一, 森 信芳, 上月正博, 伊藤 修. Dahl 食塩感受性ラットの腎障害に対する長期的運動の効果 ~ CYP4A / 20-HETE 系に関する検討 ~ . 第 43 回日本運動療法学会, 2018 年
4. 山越聖子, 伊藤 修, 戎 栄, 大崎雄介, 中村貴裕, 高橋和広, 室谷嘉一, 森 建文, 伊藤貞嘉, 戸恒和人, 上月正博. Dahl 食塩感受性ラットの近位尿細管における高食塩食摂取による(プロ)レニン受容体発現調節. 第 61 回日本腎臓学会, 2018 年
5. 伊藤 修, 高橋淳太, 小川佳子, 作山晃裕, 室谷嘉一, 森 信芳, 上月正博. Dahl 食塩感受性ラットの腎障害と腎 CYP4A/20-HETE 系に対する長期的運動の効果. 第 61 回日本腎臓学会, 2018 年
6. 中村貴裕, 山越聖子, 須田千尋, 森 信芳, 上月正博, 伊藤 修. 5/6 腎摘除慢性腎不全ラットへの長期的運動が運動耐容能や腎線維化に与える影響. 第 8 回日本腎臓リハビリテーション学会, 2018 年
7. 高橋淳太, 小川佳子, 作山晃裕, 室谷嘉一, 森 信芳, 上月正博, 伊藤 修. Dahl 食塩感受性ラットの腎障害に対する長期的運動の効果 ~ CYP4A / 20-HETE 系に関する検討 ~ . 第 8 回日本腎臓リハビリテーション学会, 2018 年
8. Takahashi J, Ogawa Y, Sakuyama A, Muroya M, Mori N, Kohzuki M, Ito O. Effects of chronic exercise training on CYP4A/20-HETE system in the kidney of Dahl salt-sensitive rats. *International Society of Nephrology Frontiers* (国際学会), 2018 年
9. Yamakoshi S, Ito O, Rong R, Ohsaki Y, Nakamura T, Muroya Y, Mori T, Ito S, Takahashi K, Totsune K, Kohzuki M. (Pro)renin receptor expression in the kidney of Dahl salt-sensitive rats by high salt intake. *International Society of Nephrology Frontiers* (国際学会), 2018 年
10. 高橋麻子, 伊藤 修, 作山晃裕, 中村貴裕, 三浦平寛, 上月正博. Dahl 食塩感受性ラットの高血圧心不全におけるキサンチンオキシダーゼの役割. 第 21 回日本心不全学会, 2017

- 年
11. 伊藤 修, 上月正博. 腎臓リハビリの運動療法: 動物モデルでの知見から. 第 23 回日本心臓リハビリテーション学会, 2017 年 (招待講演)
  12. 中村貴裕, 伊藤 修, 山越聖子, 須田千尋, 森 信芳, 上月正博. 長期的運動療法が 5/6 腎摘出腎不全モデルラットの腎線維化と腎レニン-アンジオテンシン系に与える影響. 第 60 回日本腎臓学会, 2017 年
  13. 山越聖子, 伊藤 修, 戎 栄, 大崎雄介, 中村貴裕, 室谷嘉一, 森 建文, 伊藤貞嘉, 高橋和広, 戸恒和人, 上月正博. Dahl 食塩感受性ラットの腎における高食塩食摂取による (プロ)レニン受容体発現調節. 第 60 回日本腎臓学会, 2017 年
  14. 高橋麻子, 伊藤 修, 作山晃裕, 中村貴裕, 三浦平寛, 上月正博. Dahl 食塩感受性ラットの心障害における xanthine oxidase 活性化と febuxostat による心保護効果. 第 50 回日本痛風・核酸代謝学会, 2017 年
  15. 三浦平寛, 作山晃裕, 室谷嘉一, 小川佳子, 上月正博, 伊藤 修. Dahl 食塩感受性ラットにおける高食塩食摂取による xanthine oxidase 活性化と febuxostat による降圧・腎保護効果. 第 50 回日本痛風・核酸代謝学, 2016 年
  16. 中村貴裕, 伊藤 修, 山越聖子, 須田千尋, 森 信芳, 上月正博. 5/6 腎摘除慢性腎不全ラットにおける長期的運動の降圧・腎線維化抑制効果. 第 39 回日本高血圧学会, 2016 年
  17. 山越聖子, 伊藤 修, 戎 栄, 大崎雄介, 室谷嘉一, 森 建文, 伊藤貞嘉, 高橋和広, 戸恒和人, 上月正博. Dahl 食塩感受性ラットの腎における高食塩食摂取による (プロ)レニン受容体発現調節異常. 第 39 回日本高血圧学会, 2016 年
  18. 三浦平寛, 作山晃裕, 室谷嘉一, 小川佳子, 上月正博, 伊藤 修. Dahl 食塩感受性ラットにおける高食塩食摂取による xanthine oxidase 活性化と febuxostat による降圧・腎保護効果. 第 39 回日本高血圧学会, 2016 年
  19. Nakamura T, Ito O, Yamakoshi S, Suda C, Mori N, Kohzuki M. Effects of exercise training on renal damage and renin-angiotensin system in rats with chronic renal failure. ISH 2016 satellite symposium, Renin-angiotensinaldosterone system (RAAS) (国際学会), 2016 年
  20. 中村貴裕, 伊藤 修, 山越聖子, 須田千尋, 森 信芳, 上月正博. 5/6 腎摘除慢性腎不全ラットへの長期的運動が腎レニン・アンジオテンシン系に与える影響. 第 40 回日本リハビリテーション医学会東北地方会, 2016 年
  21. 作山晃裕, 伊藤 修, 三浦平寛, 小川佳子, 上月正博. Dahl 食塩感受性ラットにおける febuxostat の降圧および腎保護効果. 第 59 回日本腎臓学会, 2016 年
  22. 山越聖子, 伊藤 修, 戎 栄, 大崎雄介, 森 建文, 伊藤貞嘉, 高橋和広, 戸恒和人, 上月正博. Dahl 食塩感受性ラットの腎における高食塩食摂取による (プロ)レニン受容体発現の増加. 第 32 回日本内分泌学会東北地方会. 2016 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:  
 発明者:  
 権利者:  
 種類:  
 番号:  
 出願年:  
 国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:  
 発明者:  
 権利者:  
 種類:  
 番号:  
 取得年:  
 国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

(1)研究分担者

研究分担者氏名：上月 正博  
ローマ字氏名：(KOHZUKI, masahiro)  
所属研究機関名：東北大学  
部局名：医学系研究科  
職名：教授  
研究者番号(8桁)：70234698

研究分担者氏名：伊藤 修  
ローマ字氏名：(ITO, osamu)  
所属研究機関名：東北大学  
部局名：医学系研究科  
職名：非常勤講師  
研究者番号(8桁)：00361072

研究分担者氏名：高橋 和広  
ローマ字氏名：(TAKAHASHI, kazuhiko)  
所属研究機関名：東北大学  
部局名：医学系研究科  
職名：教授  
研究者番号(8桁)：80241628

研究分担者氏名：戸恒 和人  
ローマ字氏名：(TOTSUNE Kazuhito)  
所属研究機関名：東北大学  
部局名：薬学研究科  
職名：教授  
研究者番号(8桁)：10217515

(2)研究協力者

研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

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。