

機関番号：11301
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20500437
 研究課題名（和文） リハビリテーション運動療法と酸化ストレス抑制療法の併用の有効性の機序解明
 研究課題名（英文） Mechanism of beneficial effects of combination therapy with exercise training and antioxidant
 研究代表者
 伊藤 修 (ITO OSAMU)
 東北大学・大学院医学系研究科・准教授
 研究者番号：00361072

研究成果の概要（和文）：活性酸素種の中で、 H_2O_2 が高血圧自然発症ラット (SHR) の腎 nitric oxide (NO) 産生や NO 合成酵素 (NOS) 発現を増強し、さらに糸球体濾過量も調節していることを明らかにした。EX は NOS 発現と NO 産生を増強させ、この EX による NOS 発現の増強効果には H_2O_2 が関与していることを明らかにした。SOD 類似薬 tempol は EX による降圧や糸球体濾過量増加、NOS 発現増強効果を促進する薬剤であることを示した。

研究成果の概要（英文）： H_2O_2 , among reactive oxygen species, upregulates the nitric oxide (NO) production and NO synthase (NOS) expression and controls glomerular filtration rate (GFR) in the kidney of spontaneously hypertensive rats (SHR). Exercise training (EX) upregulates the NO production and NOS expression in the kidney of SHR, and H_2O_2 mediates these effects of EX. Superoxide dismutase mimetic, tempol enhances these effects of EX in SHR, such as antihypertension, increase of GFR and upregulation of the NO production and NOS expression in the kidney.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：リハビリテーション医学

1. 研究開始当初の背景

酸化ストレスとは活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) 生成と消去系のバランスが破綻し、ROS を生体が十分処理できないため生じる状態であり、高血圧、高脂血症、糖尿病、心疾患、脳卒中、腎疾患等では、酸化ストレスが増大している。抗酸化薬がこれらの疾患の発症・進展に抑制的に働くことから、酸化ストレスが病態の中で重要な役割を果たしていることが近年明らかになっている。

運動療法は心疾患、脳卒中、廃用症候群等の疾患へのリハビリテーションとして広く行われており、心室リモデリングの抑制、冠循環や換気機能の改善、末梢循環の改善、骨格筋の適応等の機序によって運動耐容能を向上させ、ひいては糖・脂質代謝の改善にも寄与している。しかし、運動療法と抗酸化薬の併用によって、運動耐容能、心臓や末梢血管機能がどのように影響されるか、糖・脂質代謝にどのような相乗効果が現れるのかについては

未だ明らかにされていない。

2. 研究の目的

長期的運動(EX)と抗酸化薬の併用の有効性を検証し、さらに、その有効性の機序を解明することを目的とする。

(1) 酸化ストレスと nitric oxide (NO) 合成酵素 (NOS) 発現の関連を明らかにするため、高血圧自然発症ラット(SHR)と Wistar-Kyoto ラット(WKY)において抗酸化薬による大動脈と腎 NOS 発現への影響を明らかにする。

(2) SHR と WKY において EX による腎内酸化ストレスと NO 産生系への効果、および EX と抗酸化薬との併用効果を明らかにする。

(3) 肥満モデルである Zucker fatty ラットの肝脂肪化への長期的運動の効果を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 5週齢の雄SHRとWKYを対照群、superoxide dismutase (SOD) 類似薬であるtempol群、NADPH oxidase阻害薬であるapocynin群の3群にそれぞれ分け、両治療群には飲水中にtempol (2 mmol/l) もしくはapocynin (2 mmol/l)を溶解し、8週間投与した。腎NADPH oxidase活性、血漿と尿中H₂O₂、NO₂+NO₃ (NO_x)量を測定し、胸部大動脈と腎における内皮型と神経型NOS (eNOS, nNOS)の蛋白発現をウェスタンブロット法で検討した。

(2) 5週齢の雄SHRとWKYを対照群、EX群、Tempol群、併用群にそれぞれ分け、EX群と併用群にはトレッドミル運動(20m/分、60分/回、6回/週)を実施し、Tempol群と併用群には飲水中にtempol (2 mmol/L)を溶解し、投与した。8週後、腎NADPH oxidase活性を測定し、血漿と尿中のH₂O₂、NO₂+NO₃ (NO_x)量、胸部大動脈と腎におけるeNOS、nNOSの蛋白発現をウェスタンブロット法で検討した。

(3) 5週齢の雄Zucker fattyラットを対照群とEX群に分け、運動群にはトレッドミル運動(18m/分、60分/回、7回/週)を実施した。10週後、体重、血漿脂質・グルコース、肝トリグリセライド含有量を測定し、肝組織を脂肪染色した。肝臓の脂肪酸合成系酵素と脂肪酸酸化系酵素の発現をウェスタンブロット法で検討した。

4. 研究成果

(1) SHR では、対照群に比べて、収縮期血圧は両治療群で有意に低下し、血漿クレアチンは tempol 群でのみ有意に低下した。腎 NADPH oxidase 活性は両治療群で低下したが、血漿と尿中 H₂O₂、NO_x 量は apocynin 群で減少した一方、tempol 群では増加した。胸部大動脈と腎における eNOS と nNOS 発現は apocynin 群で減弱した一方、tempol 群では増強した。一方、WKY では、SHR で見られたパラメータ

一の変化は認められなかった。以上の結果から、酸化ストレス、特に H₂O₂ が SHR の腎 NOS 発現を増強し、さらに糸球体濾過量も調節していると考えられた。

(2) SHR では、EX により収縮期血圧と血漿クレアチンは低下したが、WKY では影響されなかった。EX により腎 NADPH oxidase 活性は SHR で低下したが、WKY では増加した。EX により血漿と尿中 H₂O₂ と NO_x、胸部大動脈と腎における eNOS と nNOS 発現は両系ラットで増加した。EX と tempol 併用は、血漿と尿中 H₂O₂ と NO_x、eNOS と nNOS 発現の増加に SHR では相加効果を認めたが、WKY では Ex 単独効果と比べて有意な差を認めなかった。以上の結果から、SHR と WKY において、EX は NOS 発現と NO 産生を増強させ、この EX による NOS 発現の増強効果には H₂O₂ が関与していることが明らかになり、SHR では、SOD 類似薬は EX による降圧や糸球体濾過量増加、NOS 発現増強効果を促進する薬剤であることが示唆された。

(3) 対照群に比べて、運動群では摂食量は有意な差がなかったが、体重、血漿脂質・グルコース、肝トリグリセライド含有量は有意に低下し、肝組織の脂肪染色も減弱していた。運動群の肝臓では脂肪酸合成系酵素である fatty acid synthase (FAS) と acetyl CoA carboxylase (ACC) 発現が低下していたが、脂肪酸酸化系酵素の発現には有意な変化は認められなかった。以上から、長期的運動は肝脂肪化を抑制し、その機序として、長期的運動が脂肪酸酸化系酵素の発現を低下させることなく、脂肪酸合成系酵素の発現のみを低下させることが関与していることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

1. Cao P, Ito O, Guo Q, Ito D, Muroya Y, Rong R, Mori T, Ito S, Kohzuki M. Endogenous hydrogen peroxide upregulates the expression of nitric oxide synthases in the kidney of spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 29: 1167-1174, 2011 (査読有)
2. Ito D, Ito O, Mori N, Muroya Y, Cao P, Takashima K, Kanazawa M, Kohzuki M. Atorvastatin upregulates the expression of nitric oxide synthases with Rho-kinase inhibition and Akt activation in the kidney of spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 28: 2278-2288, 2010 (査読有)
3. Guo Q, Minami N, Mori N, Nagasaka M, Ito O, Kurosawa H, Kanazawa M, Kohzuki M. Effects of estradiol, angiotensin-converting enzyme inhibitor and exercise training on

- exercise capacity and skeletal muscle in old female rats. Clin Exp Hypertens 32: 1-8, 2010 (査読有)
4. Mori N, Hirose T, Nakayama T, Ito O, Kanazawa M, Imai Y, Kohzuki M, Takahashi K, Totsune K. Increased expression of urotensin II-related peptide and its receptor in kidney with hypertension or renal failure. Peptides 30: 400-408, 2009 (査読有)
 5. Lu H, Kanazawa M, Ishida A, Tufescu A, Sasaki Y, Ito O, Kurosawa H, Sato T, Ootaka T, Kohzuki M. Combination of chronic exercise and antihypertensive therapy enhances renoprotective effects in rats with renal ablation. Am J Hypertens 22: 1101-1106, 2009 (査読有)
 6. Cao P, Ito O, Guo Q, Chang Y, Ito D, Muroya Y, Takashima K, Kanazawa M, Kohzuki M. Disability prevention of cardiovascular and chronic kidney diseases: Effect of a combination therapy with exercise training and superoxide dismutase mimetic on blood pressure and nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. Proceedings of the 5th World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine: 13-14, 2009 (査読無)
 7. Chang Y, Ito O, Cao P, Tan L, Takashima K, Muroya Y, Ito D, Kanazawa M, Kohzuki M. Disability prevention of metabolic syndrome: Effects of exercise training on steatosis and fatty acid metabolisms in the liver of Zucker fatty rats. Proceedings of the 5th World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine: 18-19, 2009 (査読無)
 8. 伊藤大亮, 伊藤 修, 曹 鵬宇, 室谷嘉一, 高島健太, 金澤雅之, 上月正博. 高血圧自然発症ラットの腎 Rho-キナーゼへの Atorvastatin の効果. Therapeutic Research 30: 1427-1428, 2009 (査読有)
- [学会発表] (計 33 件)
1. Cao P, Ito O, Guo Q, Ito D, Muroya Y, Mori T, Ito S, Kohzuki M. Endogenous hydrogen peroxide upregulates nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. 12th China-Japan Joint Symposium on Hypertension 2010, 2010.10.15, Fukuoka
 2. 室谷嘉一, 郭 琪, 森 建文, 伊藤貞嘉, 上月正博. SHR および WKY の腎内酸化ストレスと組織 NO 産生系への長期的運動の効果. 第 33 回日本高血圧学会, 2010.10.15, 福岡
 3. 伊藤大亮, 伊藤 修, 森 信芳, 須田千尋, 羽尾清貴, 曹 鵬宇, 戎 栄, 下川宏明, 上月正博. 慢性心不全モデルラットの心・腎 nitric oxide 合成酵素発現への長期的運動の効果. 第 33 回日本高血圧学会, 2010.10.15, 福岡
 4. Cao P, Ito O, Ito D, Muroya Y, Guo Q, Ron R, Mori T, Ito S, Kohzuki M. Effect of exercise training on renal oxidative stress and renal NO production system in SHR. 23rd Scientific Meeting of International Society of Hypertension, 2010.9.27, Vancouver
 5. Ito D, Ito O, Mori N, Suda C, Hao K, Cao P, Muroya Y, Takashima K, Shimokawa H, Kohzuki M. Effect of exercise training on nitric oxide synthases in rats with chronic heart failure. 23rd Scientific Meeting of International Society of Hypertension, 2010.9.27, Vancouver
 6. 伊藤大亮, 伊藤 修, 森 信芳, 須田千尋, 羽尾清貴, 曹 鵬宇, 戎 栄, 下川宏明, 上月正博. 慢性心不全モデルラットの心・腎 nitric oxide 合成酵素発現への長期的運動の効果. 第 35 回日本運動療法学会, 2010.7.3, 仙台
 7. Ito D, Ito O, Mori N, Suda C, Hao K, Cao P, Muroya Y, Takashima K, Kohzuki M. Exercise training upregulates nitric oxide synthases in the kidney of rats with chronic heart failure. 6th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, 2010.6.18, Kyoto
 8. 伊藤 修, 曹 鵬宇, 伊藤大亮, 室谷嘉一, 郭 琪, 森 建文, 伊藤貞嘉, 上月正博. 高血圧自然発症ラットの腎における酸化ストレスと NO 産生系への長期的運動の効果. 第 53 回日本腎臓学会, 2010.6.17, 神戸
 9. Cao P, Ito O, Guo Q, Ito D, Muroya Y, Mori T, Ito S, Kohzuki M. Effect of apocynin and tempol on the expression of nitric oxide synthase and oxidative stress in the kidney of spontaneously hypertensive rats. 6th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, 2010.6.16, Kyoto
 10. 伊藤 修, 室谷嘉一, 坂田佳子, 伊藤大亮, 須田千尋, 森 信芳, 長坂 誠, 海老原覚, 上月正博. Zucker fatty ラットの肝脂肪化への長期的運動の効果. 第 47 回日本リハビリテーション医学会, 2010.5.21, 鹿児島
 11. 伊藤 修, 伊藤大亮, 須田千尋, 室谷嘉一, 坂田佳子, 森 信芳, 長坂 誠, 海老原覚, 上月正博. 長期的運動による nitric oxide 合成酵素への影響(その 3)-酸化ストレスおよび H2O2 の関与. 第 47 回日本リハビリテーション医学会,

2010. 5. 21, 鹿児島
12. 伊藤 修, 伊藤大亮, 須田千尋, 室谷嘉一, 坂田佳子, 森 信芳, 長坂 誠, 海老原寛, 上月正博. 長期的運動による nitric oxide 合成酵素への影響(その 2)-高血圧自然発症ラットと Wistar-Kyoto ラットの比較. 第 47 回日本リハビリテーション医学会, 2010. 5. 21, 鹿児島
 13. Cao P, Ito O, Guo Q, Ito D, Muroya Y, Takashima K, Chang Y, Mori T, Kanazawa M, Ito S, Kohzuki M. Effect of NADPH oxidase and superoxide dismutase mimetic on the expression of nitric oxide synthase in the kidney of spontaneously hypertensive rats. 11th China-Japan Joint Symposium on Hypertension 2009, 2009.11.1, Beijing
 14. Cao P, Ito O, Guo Q, Chang Y, Ito D, Muroya Y, Takashima K, Kanazawa M, Kohzuki M. Effects of combination therapy of exercise training and superoxide dismutase mimetic on blood pressure and the nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. World Hypertension Congress 2009, 2009.10.30, Beijing
 15. 伊藤 修, 曹 鵬宇, 郭 琪, 室谷嘉一, 伊藤大亮, 森 建文, 伊藤貞嘉, 上月正博. 高血圧自然発症ラットの NO 合成酵素発現における酸化ストレスの役割. 第 32 回日本高血圧学会, 2009. 10. 3, 大津
 16. Cao P, Ito O, Guo Q, Ito D, Muroya Y, Takashima K, Mori T, Ito S, Kohzuki M. Effect of apocynin and tempol on the production of nitric oxide and the expression of nitric oxide synthase in the kidney of spontaneously hypertensive rats. 63rd Annual Fall Conference and Scientific Session of the Council for High Blood Pressure Research, 2009.9.25, Chicago
 17. 伊藤 修, 常 躍楠, 曹 鵬宇, 高島健太, 室谷嘉一, 伊藤大亮, 上月正博. Zucker fatty ラットの肝脂肪化への長期的運動の効果. 第 34 回日本運動療法学会, 2009. 6. 21, 東京
 18. Chang Y, Ito O, Cao P, Tan L, Takashima K, Muroya Y, Ito D, Kanazawa M, Kohzuki M. Disability prevention of metabolic syndrome: Effects of exercise training on steatosis and fatty acid metabolisms in the liver of Zucker fatty rats. 5th World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine, 2009.6.15, Istanbul
 19. Cao P, Ito O, Guo Q, Chang Y, Ito D, Muroya Y, Takashima K, Kanazawa M, Kohzuki M. Disability prevention of cardiovascular and chronic kidney diseases: Effects of a combination therapy with exercise training and superoxide dismutase mimetic on blood pressure and nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. 5th World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine, 2009.6.15, Istanbul
 20. Ito D, Ito O, Cao P, Muroya Y, Takashima K, Kanazawa M, Kohzuki M. Disability prevention of cardiovascular and chronic kidney diseases: Effect of a combination therapy with exercise training and atorvastatin on blood pressure and nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. 5th World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine, 2009.6.15, Istanbul
 21. 伊藤 修, 伊藤大亮, 室谷嘉一, 森信芳, 長坂 誠, 金澤雅之, 上月正博. 長期的運動とスタチンの併用効果(その 6)-高血圧自然発症ラットへの併用効果. 第 46 回日本リハビリテーション医学会, 2009. 6. 5, 静岡
 22. 伊藤 修, 伊藤大亮, 室谷嘉一, 森信芳, 長坂 誠, 金澤雅之, 上月正博. 長期的運動とスタチンの併用効果(その 5)-高血圧自然発症ラットへのスタチン単独効果. 第 46 回日本リハビリテーション医学会, 2009. 6. 5, 静岡
 23. 伊藤 修, 曹 鵬宇, 室谷嘉一, 森建文, 金澤雅之, 伊藤貞嘉, 上月正博. 高血圧自然発症ラットの腎 NO 合成酵素に対する apocynin と tempol の長期投与の効果. 第 52 回日本腎臓学会, 2009. 6. 4, 横浜
 24. Cao P, Ito O, Guo Q, Ito D, Muroya Y, Takashima K, Chang Y, Mori T, Kanazawa M, Ito S, Kohzuki M. Effect of of NADPH oxidase inhibitor and superoxide dismutase mimetic on the expression of nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. 10th International Symposium on Mechanisms of Vasodilation, 2009.6.2, Matsushima
 25. Cao P, Ito O, Guo Q, Ito D, Muroya Y, Takashima K, Chang Y, Mori T, Kanazawa M, Ito S, Kohzuki M. Effect of NADPH oxidase inhibitor apocynin and superoxide dismutase mimetic tempol on the expression of nitric oxide synthase in the kidney of spontaneously hypertensive rats. 5th World Congress of Nephrology, 2009.5.24, Milano
 26. 伊藤大亮, 伊藤 修, 森 信芳, 室谷嘉一, 曹 鵬宇, 高島健太, 金澤雅之, 上月正博. 高血圧自然発症ラットの血圧と Nitric Oxide 合成酵素に対する長期的運動と atorvastatin の併用の効果. 第 9 回日本 NO 学会, 2009. 5. 9, 静岡

27. 曹 鵬宇, 伊藤 修, 郭 琪, 室谷嘉一, 伊藤大亮, 森 建文, 伊藤貞嘉, 上月正博. 高血圧自然発症ラットの血圧と腎 NO 合成酵素に対する apocynin と tempol の長期投与の効果. 第18回日本内分泌学会東北地方会, 2009. 3. 7, 仙台
28. 伊藤大亮, 伊藤 修, 森 信芳, 室谷嘉一, 高島健太, 金澤雅之, 上月正博. 高血圧自然発症ラットの血圧と Nitric Oxide 合成酵素に対する長期的運動と atorvastatin の併用の効果. 第25回日本リハビリテーション医学会東北地方会, 2009. 2. 28, 山形
29. 曹 鵬宇, 伊藤 修, 伊藤大亮, 室谷嘉一, 金澤雅之, 上月正博. 高血圧自然発症ラットの腎 NO 合成酵素発現への tempol と apocynin の長期投与の効果. 第31回日本高血圧学会, 2008. 10. 20, 札幌
30. 伊藤大亮, 伊藤 修, 森 信芳, 室谷嘉一, 金澤雅之, 上月正博. 高血圧自然発症ラットの血圧と NO 合成酵素に対する長期的運動の影響. 第31回日本高血圧学会, 2008. 10. 20, 札幌
31. Cao P, Ito O, Ito D, Muroya Y, Takashima K, Chang Y, Kanazawa M, Kohzuki M. Effect of exercise training and superoxide dismutase mimetic tempol on blood pressure and the expression of nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. 10th China-Japan Joint Symposium on Hypertension 2008, 2008.10.9, Sapporo
32. Ito D, Ito O, Takashima K, Kohzuki M. Chronic exercise prevents development of hypertension with upregulation of nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats. 10th International Congress of the Asian Confederation for Physical Therapy, 2008.8.31, Chiba
33. 伊藤 修, 伊藤大亮, 室谷嘉一, 森信芳, 長坂 誠, 金澤雅之, 上月正博. 長期的運動による腎 nitric oxide 合成酵素への影響-高血圧自然発症ラットにおける検討. 第45回日本リハビリテーション医学会, 2008. 6. 5, 横浜

〔図書〕(計1件)

伊藤 修, 他, 医歯薬出版, 内部障害のリハビリテーション (上月正博編), 2009, 1-466

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称 :
 発明者 :
 権利者 :
 種類 :

番号 :
 出願年月日 :
 国内外の別 :

○取得状況 (計0件)

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

〔その他〕
 ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 修 (ITO OSAMU)
 東北大学・大学院医学系研究科・准教授
 研究者番号 : 00361072

(2) 研究分担者

金澤 雅之 (KANAZAWA MASAYUKI)
 東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師
 研究者番号 : 60282050

上月 正博 (KOHZUKI MASAHIRO)
 東北大学・大学院医学系研究科・教授
 研究者番号 : 70234698

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :