

機関番号：32658

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20500559

研究課題名（和文） 高地肺水腫発症に対する遺伝・環境的素因の相互作用に関する研究

研究課題名（英文） Study of interaction between genetic and environmental factors for high-altitude pulmonary edema.

研究代表者

櫻村 修生（KASHIMURA Osamu）

東京農業大学・国際食料情報学部・教授

研究者番号：40161020

研究成果の概要（和文）：高地肺水腫が発症しにくい F344 としやすい WKY を用い、慢性および急性低酸素曝露による肺血管・体血管における eNOS タンパク質発現 ACE 受容体タンパク質発現、HIF1 タンパク質発現の比較をし、高地肺水腫発症との関連性を検証した。肺血管透過係数は、WKY 群に比較して F344 群で有意に低値を示した。遺伝的に高地肺水腫が発症しにくいとされる F344 ラットでは、慢性低酸素曝露時、低酸素性肺血管収縮が抑制され、右心室肥大や肺動脈の肥厚が小さく、肺動脈内皮型一酸化窒素合成酵素活性ならびにタンパク質発現が高かった。高地肺水腫の発症は、低酸素に対する肺血管の感受性に依存し、遺伝的な素因が関与することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）： We used F344 which high-altitude pulmonary edema was hard to develop and WKY which it was easy compared eNOS, ACE receptor and HIF1 protein expressions, in the pulmonary and systemic arteries by chronic and acute exposures to hypoxia, and inspected association with the high-altitude pulmonary edema onset. The coefficients of pulmonary vascular filtration were significantly shown lower in F344 group in comparison with WKY group. With the F344 rats, hypoxic pulmonary vasoconstriction was inhibited after the chronic exposure to hypoxia, and right ventricular hypertrophy and pulmonary hyperplasia were small, and the endothelial nitric oxide synthase activities and protein expressions in pulmonary arteries were high. The onsets of the high-altitude pulmonary edema depended on pulmonary vascular sensitivities to hypoxia, and the contribution of genetic factors became clear.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：運動生理学

科研費の分科・細目：健康スポーツ科学・スポーツ科学

キーワード：スポーツ環境学・肺血管

1. 研究開始当初の背景

高地肺水腫モデルラットを用いた ACE,

HIF1 および eNOS 遺伝子の発現解析, 低酸素トレーニングおよび慢性低酸素曝露によ

る ACE, HIF1 および eNOS 遺伝子の発現変化, この二つの解明により, 高地肺水腫の発症に対する遺伝子および環境の素因の関与を検討する.

2. 研究の目的

高地肺水腫が発症しにくい F344 としやすい WKY を用い, 慢性および急性低酸素曝露による肺血管・体血管における eNOS タンパク質発現, ACE 受容体タンパク質発現, HIF1 タンパク質発現の比較をし, 肺血管拡張・収縮反応と高地肺水腫発症の関連性を検証した.

3. 研究の方法

実験動物には, それぞれ 10 週齢雄 WKY と F344 ラット各 11 匹用いた. 各系統ラットを常酸素曝露群 (5 匹) と慢性低酸素曝露群 (6 匹) に分けた. 慢性低酸素曝露条件は, 常圧低酸素室を用い 11 日間で酸素濃度 10% まで漸次低下させた.

飼育終了後, 2 つのカテーテルをそれぞれ頸静脈から肺動脈へ, 総頸動脈から大動脈へ挿入手術し, 肺動脈圧および体血圧測定をした. その際, L-NMMA (eNOS 阻害剤) 投与による肺動脈および体血圧の変化も測定した. その後, 麻酔下脱血し, 採血, 心臓, 肺動脈および胸部大動脈を摘出した. また, 肺動脈と胸部大動脈は Western blot 法を用いて eNOS タンパク質発現, ACE 受容体タンパク質発現および HIF1 タンパク質発現を解析した.

4. 研究成果

慢性低酸素曝露により WKY 群は, F344 群より有意に右心室肥大の程度が大きかった (WH 群, Fig. 1). 血管内皮細胞依存型一酸化窒素合成酵素阻害剤投与による肺動脈圧上昇は, FH 群 (F344 における慢性低酸素曝露群) で大きかった (Fig. 2). 慢性低酸素曝露による肺動脈の NOS 活性は, FH 群で有意に大きかったが, 胸部大動脈では群間に差がなかった (Fig. 3). 慢性低酸素曝露による肺動脈 eNOS 合成酵素タンパク質発現は, FH 群が他群より有意に大きかったが (Fig. 4), 胸部大動脈の発現は, 群間に差がなかった (Fig. 5).

このような結果から, 遺伝的に高地肺水腫が発症しにくいとされる F344 ラットでは, 慢性的に低酸素曝露刺激を与えた場合, 低位酸素性肺血管収縮が抑制され, 右心室肥大や肺動脈の肥厚が小さく, 特に肺動脈内皮型一酸化窒素合成酵素活性ならびにタンパク質発現が高く, 低酸素に対する遺伝的感受性に差異がみられることがわかった. さらに, 高地肺水腫に指標となる肺血管透過係数は, 慢性低酸素曝露前後とも, WKY 群に比較して F344 群で有意に低値を示し, 高地肺水腫の発症が抑制されることが確認された. つまり, 高地肺水腫の発症 (高山病の罹患) は, 低酸

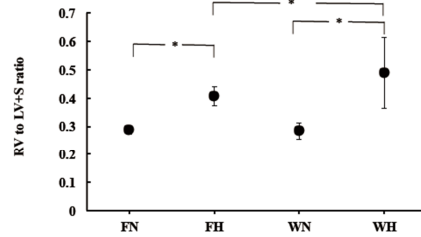


Fig. 1 Comparison between right ventricular hypertrophies in Fischer 344 (F344) rats and Wistar Kyoto (WKY) rats after chronic exposure to normoxia and hypoxia. * p<0.05

FN, F344 rats after exposure to normoxia; FH, F344 rats after chronic exposure to hypoxia; WN, WKY rats after exposure to normoxia; WH, WKY rats after chronic exposure to hypoxia

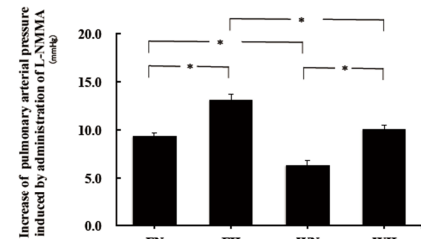


Fig. 2 Comparison between mean pulmonary arterial pressures at rest in Fischer and Wistar Kyoto (WKY) rats after chronic exposures to normoxia and hypoxia. * p<0.05

FN, Fischer rats after exposure to normoxia; FH, Fischer rats after chronic exposure to hypoxia; WN, WKY rats after exposure to normoxia; WH, WKY rats after chronic exposure to hypoxia

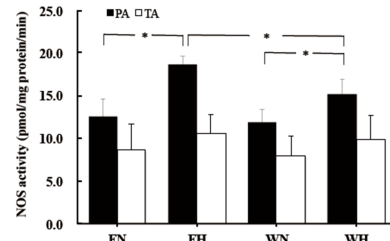


Fig. 3 Comparisons between nitric oxide synthase activities of pulmonary arteries (PA) and thoracic arteries (TA) in Fischer 344 (F344) rats and Wistar Kyoto (WKY) rats after chronic exposures to normoxia and hypoxia. * p<0.05

FN, F343 rats after exposure to normoxia; FH, F344 rats after chronic exposure to hypoxia; WN, WKY rats after exposure to normoxia; WH, WKY rats after chronic exposure to hypoxia

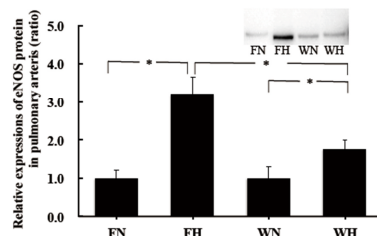


Fig. 4 Western blot analysis of endothelial nitric oxide synthase protein levels in pulmonary arteries of Fischer 344 (F344) and Wistar Kyoto (WKY) rats after chronic exposures to normoxia and hypoxia. * p<0.05

Ratios are constructed using individual optical density average in same strain groups at exposure to normoxia (value are 1). FN, F344 rats after exposure to normoxia; FH, F344 rats after chronic exposure to hypoxia; WN, WKY rats after exposure to normoxia; WH, WKY rats after chronic exposure to hypoxia

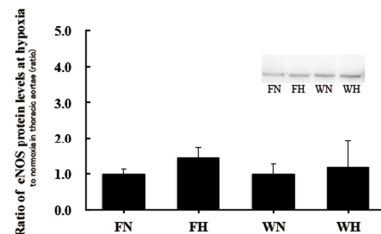


Fig. 5 Western blot analysis of endothelial nitric oxide synthase protein levels in thoracic aortae of Fischer 344 (F344) and Wistar Kyoto (WKY) rats after chronic exposures to normoxia and hypoxia. * p<0.05

Ratios are constructed using individual optical density average in same strain groups at exposure to normoxia (value are 1). FN, F344 rats after exposure to normoxia; FH, F344 rats after chronic exposure to hypoxia; WN, WKY rats after exposure to normoxia; WH, WKY rats after chronic exposure to hypoxia

素に対する肺血管の感受性に依存し, 遺伝的な素因が関与することが明らかとなった. さらに, この遺伝的な素因 (低酸素性肺血管収縮など) は, 慢性低酸素の刺激によりあきら

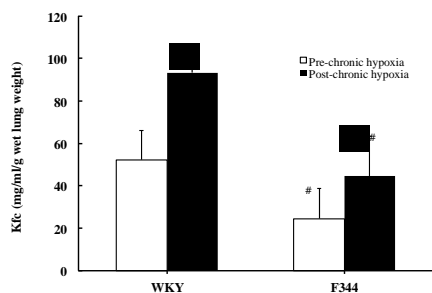


Fig.6 Pulmonary filtration coefficients (Kf) after normoxic and chronic hypoxic conditions in Fischer 344 and Wistar Kyoto rats.

* p<0.05 vs. Normoxic condition in same strain rats. # p<0.05 vs. F344 rats at same condition.

かに影響を及ぼすことから、遺伝的素因も環境的（後天的）影響をうけることが確認された。この研究から、今後、高所登山に対する高地肺水腫の発症、NOS 遺伝子が関与を検討することで、予防の一助となることが期待される。

なお、現在、ACE 受容体および HIF1 タンパク質発現については現在解析中であり、解析後、論文の執筆に移る予定である。

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 12 件）

酒井秋男，金子佐和，櫻村修生，高地適応と右心室肥大，日本生気象学雑誌，査読有，47(2)，2010，69-76.

Cuii S, Shibamoto T, Zhang W, Kurata Y, Kashimura O, Miyamae S, Exercise training attenuates anaphylactic venoconstriction in rat perfused liver, but does not affect anaphylactic hypotension in conscious rats, Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 査読有，37, 2010, 889-893.

桜井智野風，櫻村修生，喜多清，柴田茂喜，青木健，下井岳，伊藤雅夫，岩崎賢一，短時間の過重力負荷が骨格筋に及ぼす影響，宇宙航空環境医学雑誌，査読有，47(1)，2010，3-9.

南和広，寄本明，櫻村修生，運動時生体負担に低圧低酸素環境が及ぼす影響，ウォーキング研究，査読有，13，2009，181-185.

柏木朋也，桜井智野風，鈴木健太，櫻村修生，ラットにおける高所滞在・平地トレーニングが肺循環動態および肺動脈の血管内皮型合成酵素タンパク質発現に与える影響，体力科学，査読有，58(2)，2009，285-294.

櫻村修生，島崎あかね，高橋弘彦，伊藤孝，長期持久的運動トレーニングがノルエピネフリン誘発性肺動脈圧上昇に及ぼす影響，体力・栄養・免疫学雑誌，査読

有，18(1)，2008，39-44.

柏木朋也，南和広，櫻村修生，ラットにおける高所滞在・平地トレーニングが肺循環動態に与える影響，日本生気象学雑誌，査読有，45，2008，85-93.

南和広，櫻村修生，ラットにおける低酸素性肺血管収縮に流量および粘性が与える影響，日本生気象学雑誌，査読有，44(4)，2008，89-96.

Minami K, Kashimura O, Effects of nitric oxide induced by flow and viscosity in the pulmonary artery, Japanese Journal of Clinical Physiology, 査読有，38(2),2008, 31-37.

南和広，酒井秋男，櫻村修生，短期間持久的トレーニングが流量および粘性に対するラット肺動脈圧変化に与える影響，日本臨床生理学雑誌，査読有，38(2)，2008,131-139.

櫻村修生，酒井秋男，低酸素換気と肺流量増加による肺血管透過性亢進，日本臨床生理学雑誌，査読有，38(1)，2008，47-53.

櫻村修生，菊地潤，高橋弘彦，伊藤孝，大学女子陸上長距離選手における運動時の発汗がヘモグロビン濃度に与える影響，学校保健研究，査読有，50(3)，2008，196-202.

〔学会発表〕（計 7 件）

桜井智野風，柏木朋也，鈴木健太，菊地順，島崎あかね，南和広，櫻村修生，低酸素曝露による骨格筋内 eNOS タンパク発現はラット系統間により異なるか，第 64 回日本体力医学会 2010 年 9 月 17 日，千葉商科大学。

柏木朋也，桜井智野風，鈴木健太，菊地潤，島崎あかね，南和広，櫻村修生，異なる系統ラットにおける肺循環動態の比較，第 64 回日本体力医学会，2010 年 9 月 17 日，千葉商科大学。

原健太，鈴木英悟，櫻村修生，標高 2000m 相当の低酸素環境下における持久的トレーニングが呼吸循環機能に及ぼす影響，第 20 回体力・栄養・免疫学会，2010 年 8 月 28 日，弘前大学。

南和広，寄本明，櫻村修生，運動時の生体負担に低圧低酸素環境が及ぼす影響，第 13 回日本ウォーキング学会，2009 年 6 月 27 日，東京代々木研修センター。

柏木朋也，桜井智野風，南和広，鈴木健太，櫻村修生，第 63 回日本体力医学会，高所滞在・平地トレーニングが肺循環動態および eNOS タンパク質発現に与える影響，2008 年 9 月 19 日，別府。

桜井智野風，鈴木健太，南和広，柏木朋

也，狩野豊，櫻村修生，第 63 回日本体力医学会，損傷骨格筋における NO と発痛関連物質の関連，2008 年 9 月 19 日，別府。
桜井智野風，狩野豊，櫻村修生，第 63 回日本体力医学会，損傷骨格筋における発痛関連物質動態，第 10 回日本体力医学会北海道地方会，2008 年 4 月 20 日。

6 . 研究組織

(1)研究代表者

櫻村 修生 (KASHIMURA Osamu)
東京農業大学・国際食料情報学部・教授
研究者番号：40161020

(2)研究分担者

桜井 智野風 (SAKURAI Tomonobu)
東京農業大学・生物産業学部・准教授
研究者番号：30235220

(3)連携研究者

無