

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21700522

研究課題名(和文) リハビリテーション運動療法と AGE 抑制療法の併用の有効性の機序解明

研究課題名(英文) Effects and mechanisms of the combination of exercise training and AGE inhibitor.

研究代表者

カク キ (GUO QI)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：50509544

研究成果の概要(和文)：

近年、Advanced glycation endproducts (AGEs)が高血圧、糖尿病、腎不全など病態の中で重要な役割を果たしていることが明らかになっている。本研究の成果としては、高血圧、インスリン抵抗性、腎不全病態の改善に対する運動あるいは AGE 抑制薬単独の効果が認められ、さらにそれぞれ単独ではなく両方併用した場合に、更なる併用効果が示された。その改善作用の機序としては、少なくとも一部骨格筋毛細血管網、酸化ストレス、レニン・アンジオテンシン系を介してもたらされる可能性があることを証明した。

研究成果の概要(英文)：

Advanced glycation endproducts (AGEs) plays a pivotal role in the development of diabetes, hypertension and renal injury. Our results have demonstrated that exercise training or AGE inhibitor have effects on the hypertension, insulin resistance and renal injury, furthermore, additive effects of exercise training to AGE inhibitor were shown. The mechanisms of these effects could have involved in the rennin angiotensin system, oxidative stress, and skeletal muscle capillary network.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合 計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総 計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：運動、インスリン抵抗性、骨格筋、腎不全、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬、AGEs、Methylglyoxal

1. 研究開始当初の背景

(1) Advanced glycation endproducts (AGE) はタンパク質の糖化における後期段階で生成され、AGE レセプターに結合し、細胞内において酸化ストレスを亢進させることが明らかとなった。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る。

(2) 近年、高血圧、糖尿病、脳卒中、心・腎疾患の進行に伴って生体内で生成した AGEs が、多形核白血球(特に好中球)の活性酸素産生を促進させ、これら患者における酸化ストレスを亢進させることが報告されて

おり (Hypertension 45:1165-1172, 2005)、抗酸化剤 (AGE 形成阻害剤) がこれらの疾患の発症・進展に抑制的に働くことから、AGEs 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。

(3) 高血圧、糖尿病、脳卒中、心・腎疾患の進行に伴って生体内で生成した AGE が多形核白血球の活性酸素産生を促進させ、これら患者における酸化ストレスを亢進させることが報告されている。特に糖尿病性腎症の一つの成因として考えられているグリケーションの亢進やカルボニル・酸化ストレスにより生じた AGE の蓄積であり、糖尿病性腎症における AGE 阻害薬の有効性が注目を浴びている。

(4) 運動療法は高血圧、糖尿病、脳卒中、心・腎疾患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るのみならず、降圧作用や糖・脂質代謝の改善作用もよく認められている。しかし、運動療法と AGE 抑制薬の併用によって、運動耐容能、心・腎・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。

(5) 健常ラットでは、長期的運動は心筋や骨格筋の抗酸化酵素や抗酸化物質を増加させるだけでなく、心臓や大動脈の内皮型 NO 合成酵素 (endothelial NOS: eNOS) の発現も増加させることが報告されている (Cardiovasc Res 67:187-197, 2005)。また、慢性腎不全モデル動物では、心筋の ROS 生成が増大すると共に eNOS 発現も低下している (Circ Res 83:969-979, 1998)。さらに、慢性腎不全モデル動物では、腎臓の ROS 生成が増大し、eNOS 発現も低下している (JASN 14:2526-2533, 2003)。これらの疾患モデルに対して、長期的運動が心・腎臓機能を改善・保護することが示されているが、どのようなメニューの運動や、どのような薬物との組み合わせが酸化ストレスを抑制し、組織 AGE 形成するかは、これまで全く検討されてこなかった。

したがって、本研究は、長期的運動と AGE 形成阻害剤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した。

2. 研究の目的

運動耐容能、心・腎・末梢血管機能、糖・脂質代謝への運動療法と AGE 抑制療法の併用の有効性を検証する上で、下述項目を期間内における具体的な研究目的とした。

(1) 長期的運動と AGE 阻害薬の併用が運動耐容能に与える影響を明らかにする。

(2) 長期的運動と AGE 阻害薬の併用が心・腎臓機能や心臓肥大に与える影響を明らかにする。

(3) 長期的運動と AGE 阻害薬の併用が末梢血管拡張機能に与える影響を明らかにする。

(4) 長期的運動と AGE 阻害薬の併用がインスリン抵抗性に与える影響を明らかにする。

(5) 長期的運動と AGE 阻害薬の併用が骨格筋血流、毛細血管密度、筋線維タイプに与える影響を明らかにする。

(6) 長期的運動と AGE 阻害薬の併用が組織一酸化窒素 (nitric oxide: NO) 産生系に与える影響を明らかにする。

(7) 長期的運動と AGE 阻害薬の併用が全身や臓器酸化ストレスに与える影響を明らかにする。

(8) 長期的運動と AGE 阻害薬の併用が交感神経活性に与える影響を明らかにする。

これらの検討を、体内 AGE 生成が増多したメタボリック症候群モデル高フルクトース食投与ラット (FFR) と、腎不全モデルである 5/6 腎摘除ラットを用いて行う。このように長期的運動と降圧薬の併用について多角的に詳細な検討を行うことで、その併用効果の機序の解明を試みる

3. 研究の方法

実験 1: 6 週齢の雄 Sprague-Dawley ラットを普通食群、60% 高フルクトース食群 (F 群)、F+運動群、F+ AGE 抑制薬である N-アセチルシス테인 (NAC) (800mg/kg/day) 投与群、F+ピリドキサミン B6 (60mg/kg/day) 投与群 (B6 群)、F+運動+NAC 併用群、F+運動+B6 併用群の 7 群に分け、8 週間治療した。運動群では速度 20m/分の連続走行を 1 回 60 分間、1 週間に 5 回行った。8 週間の処置期間終了前に、7 群のラットに対して多階段トレッドミル運動負荷試験により運動耐容能を評価した。絶食後尾動脈血中インスリン濃度と血糖によって計算した HOMA-R によりインスリン感受性を評価した。DPPIV-AP 染色を行い長趾伸筋の毛細血管密度を検討した。また、24 時間尿中 H₂O₂ 排泄量により酸化ストレスを評価した。

実験 2: Wistar-Kyoto ラットに 5/6 腎摘を行い、5/6 腎摘除腎不全モデルを作製した。コントロール群、運動群、運動+アンジオテンシン II 受容体拮抗薬 olmesartan (10mg/kg/day) 群と偽手術 sham 群の 4 群に分け、12 週間観察した。運動群では速度 20m/分の連続走行を 1 回 60 分間、1 週間に 5 回行った。2 週間毎に収縮期血圧、尿蛋白排泄量を測定し、最終日に断頭採血し、血清クレアチニン及び AGEs の主な前駆体である Methylglyoxal の血漿濃度を測定した。また、残存腎の糸球体硬化指数 (IGS) を算出した。

4. 研究成果

成果1：高フルクトース食非肥満メタボリック症候群モデルにおいて、運動耐容能とインスリン感受性の低下が認められた。運動、AGE抑制薬である N-アセチルシステイン(NAC)とピリドキサミン (B6)による持久力増強作用及びインスリン抵抗性改善作用が明らかになった。また、AGE 抑制薬と運動併用による介入が運動耐容能、ならびにインスリン感受性の改善の観点からそれぞれ単独より優れている可能性が示唆された。さらに、NAC、B6 と運動の各々単独並びに併用した場合の持久力増強作用及びインスリン抵抗性改善作用は少なくとも一部骨格筋毛細血管密度の増加を介してもたらされることが示唆された。

成果2：解糖系から産生されるカルボニル物質の Methylglyoxal は、慢性腎臓病において血中濃度が上昇し病態進展に関わる。5/6 腎摘除腎不全モデルにおいて運動単独の腎保護効果と、olmesartan、運動併用による腎保護効果の増強作用が示唆された。Olmesartan と運動の各々単独並びに併用した場合の腎保護作用は血漿 MGO 濃度とよく関連し、少なくとも一部カルボニルストレスを介してもたらされることが示唆された。

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 2 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 no synthase in the kidney and aorta of SHR. J Hypertens. 査読有, 2011; 29(6): 1167-74.
2. Qi Guo, Takefumi Mori, Yue Jiang, Chunyan Hu, Yusuke Osaki, Yoshimi Yoneki, Ying Sun, Takuma Hosoya, Akihiro Kawamata, Susumu Ogawa, Masaaki Nakayama, Toshio Miyata, Sadayoshi Ito. Methylglyoxal Contributes to the Development of Insulin Resistance and Salt Sensitivity in Sprague Dawley Rats. J Hypertens. 査読有, 2009; 27(8): 1664-71,

[学会発表] (計 17 件)

1. カク キ、森 建文、江 悦、胡 春艶、芦 毅、大崎 雄介、中道 崇、小川 晋、宮田 敏男、伊藤 貞嘉 高フルクトース食ラットの腎機能に対するサイアザイド利尿剤とアンジオテンシンⅡ受容

体拮抗薬の併用効果、第 33 回日本高血圧学会総会、2010 年 10 月 16 日、福岡

2. カク キ、森 建文、芦 毅、江 悦、胡 春艶、米城 淑美、中道 崇、小川 晋、中山 昌明、須山 享三、宮田 敏男、伊藤 貞嘉 高尿酸血症に伴った腎障害に対するカルボニルストレスの役割、第 53 回日本腎臓学会、2010 年 6 月 17 日、神戸
3. カク キ、森 建文、金澤 雅之、須田 千尋、伊藤 修、伊藤 貞嘉、上月 正博 慢性腎不全ラットのインスリン感受性、交感神経活性と腎障害に対する cilnidipine と長期的運動の併用効果、第 53 回日本腎臓学会、2010 年 6 月 16 日、神戸
4. Qi Guo, Takefumi Mori, Ying Sun, Chunyan Hu, Yue Jiang, Yusuke Osaki, Kyoze Suyama, Toshio Miyata, Sadayoshi Ito., The protective effects of pyridoxamine on methylglyoxal- and melamine-induced renal injury; The 12th Asian Pacific Congress of Nephrology; 2010/06/05-08 Seoul, Korea.
5. Qi Guo, Takefumi Mori, Chunyan Hu, Yue Jiang, Yusuke Osaki, Yoshimi Yoneki, Takashi Nakamichi, Takuma Hosoya, Hiroshi Sato, Sadayoshi Ito., Effects of losartan and thiazide diuretic on insulin resistance and muscular circulation in fructose-fed rats. ;The 12th Asian Pacific Congress of Nephrology; 2010/06/05-08, Seoul, Korea
6. Qi Guo, Takefumi Mori, Yue Jiang, Yusuke Osaki, Yoshimi Yoneki, Takashi Nakamichi, Hiroshi Sato, Sadayoshi Ito., Losartan reverses thiazide diuretic-exacerbated insulin resistance through modulation of muscular capillary density in fructose-fed rats; ISN nexus 4/15-4/18, 2010 Kyoto, Japan.
7. Qi Guo, Takefumi Mori, Yue Jiang, Yusuke Osaki, Yoshimi Yoneki, Takashi Nakamichi, Hiroshi Sato, Sadayoshi Ito., Losartan reverses thiazide diuretic-exacerbated insulin resistance through modulation of muscular capillary density in fructose-fed rats. International Symposium on Cardiovascular Endocrinology and Metabolism in 2010; 2010/3/31-4/1; Nara Japan.
8. Qi Guo, Takefumi Mori, Xianguang Chen, Chunyan Hu Yusuke Ohsaki, Yoshimi

- Yoneki, Toshio Miyata, Sadayoshi Ito., Carbonyl stress mediated cardio-renal connection in Dahl salt sensitive rats. 14th International Congress of Endocrinology. 2010/3/28, Kyoto.
9. Qi Guo, Takefumi Mori, Yue Jiang, Osamu Ito, Chihiro Suda, Masayuki Kanazawa, Masahiro Kohzuki, Sadayoshi Ito., Role of carbonyl stress on renoprotective effects of olmesartan and exercise. 14th International Congress of Endocrinology 2010/3/28, Kyoto
 10. カク キ、森 建文、孫 穎、胡 春艶、大崎 雄介、胡 春艶、須山 享三、宮田 敏男、伊藤貞嘉 アミンとカルボニル科学反応による急性腎不全の進展と新たな腎臓病メカニズムの可能性、第 7 回腎と高血圧、2009 年 12 月 5 日、東京
 11. カク キ、森 建文、江 悦、胡 春艶、大崎 雄介、中道 崇、小川 晋、伊藤貞嘉 アミンとカルボニル化学反応による腎不全の進展と新たな腎臓病メカニズムの可能性、第 19 回日本メイラー学会、2009 年 11 月 20 日、金沢
 12. Qi Guo. Losartan Reverse Thiazide Diuretics-Exacerbated Insulin Resistance Through Modulation Of Muscular Capillary Density In Fructose-Fed Rats, World Hypertension Congress 2009, 2009/10/29, Beijing China.
 13. カク キ、森 建文、江 悦、胡 春艶、大崎 雄介、中道 崇、小川 晋、伊藤 貞嘉 高フルクトース食ラットの腎障害に対するサイアザイド利尿剤とアンジオテンシン II 受容体拮抗薬の併用効果、第 32 回日本高血圧学会総会、2009 年 10 月 3 日、大津
 14. カク キ、森 建文、金澤 雅之、須田千尋、伊藤 修、宮田 敏男、伊藤 貞嘉、上月 正博 5/6 腎摘除慢性腎不全モデルラットにおける運動と olmesartan の腎保護作用に対するカルボニルストレスの役割、第 32 回日本高血圧学会総会、2009 年 10 月 2 日、大津
 15. カク キ、金澤 雅之、森 建文、張 文博、須田 千尋、伊藤 修、伊藤 貞嘉、上月 正博 5/6 腎摘慢性腎不全ラットの高血圧、インスリン感受性、交感神経活性と腎障害に対する cilnidipine と長期的運動の併用効果、第 32 回日本高血圧学会総会、2009 年 10 月 2 日、大津
 16. Qi Guo, T Mori, Y Sun, Y Osaki, C Hu, K Suyama, T Miyata, S Ito., Possible Role of Amine Carbonyl Reactions in Melamine-Induced Renal Injury. 10th International Symposium on the Maillard Reaction. 2009/8/29-31, Australia.
 17. Qi Guo, Takefumi Mori, Xianguang Chen, Chunyan Hu, Yusuke Ohsaki, Yoshimi Yoneki, Toshio Miyata, Masayuki Nakazawa, Masahiro Kohzuki, Sadayoshi Ito., Carbonyl Stress Mediated Myocardial Fibrosis and Renal Injury in Dahl Salt Sensitive Rats. Satellite Symposium of the 36th Congress of the International Union of physiological Sciences, Tokyo, 2009/7/24-25 (Poster)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

カク キ (GUO QI)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：50509544