

機関番号： 32620

研究種目： 基盤研究 (C)

研究期間： 2008～2010

課題番号： 20500629

研究課題名 (和文) 水中運動による抗動脈硬化作用機序の解明－3D 管状ヒト血管モデルによる基礎的解析

研究課題名 (英文) Anti-atherogenic effects of water exercise: Analysis of the mechanism using 3D tissue-engineered vessel

研究代表者

島田 和典 (SHIMADA KAZUNORI)

順天堂大学医学部・准教授

研究者番号： 60327814

研究成果の概要 (和文)：

急性冠症候群例の樹状細胞 (DC) は、健常人や安定狭心症症例に比し CCL19, CCR7 等の活性化マーカーの発現は高値であった。自発運動は、動脈硬化巣の DC、マクロファージ、リンパ球侵潤を抑制し、動脈硬化の発症や進展を抑制した。3 次元管状ヒト血管モデルを用いた検討では、活性化 DC との共培養下で有意に血管炎症が惹起された。水中運動等の運動習慣を有する例は、運動習慣のない例に比し血中の高感度 CRP 値、CCL19 が低値であった。したがって、水中運動等の運動習慣は、DC が関連する全身および血管炎症に対し、抗炎症および免疫調整作用を有することが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

Expression of activation markers of dendritic cells (DCs), such as CCL19 and CCR7, were significantly higher in patients with acute coronary syndrome (ACS) than in patients without ACS. Voluntary exercise ameliorated the initiation and progression of atherosclerosis via inhibition of the accumulation of immune cells, such as DCs, macrophages, lymphocytes. In 3D tissue-engineered vessels, wall-embedded DCs responded to lipopolysaccharide, resulting in stimulating autologous CD4 T cells. The levels of CRP and CCL19 were lower in subjects with exercise habits, including water exercise, than those without exercise habits. Therefore, regular exercise, including water exercise, may have anti-inflammatory and immunomodulating effects.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：循環器病学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学 応用健康科学

キーワード：生活習慣病、水中運動、動脈硬化、免疫応答

1. 研究開始当初の背景

(1) わが国における急速な高齢化や、メタリックシンドローム症例の著増を特徴とす

る生活習慣の変化は、冠動脈疾患等の動脈硬化性疾患を著しく増加させ、その治療と予防法の確立は社会的急務である。高血圧、高脂

血症、糖尿病に対する種々の薬物治療、カテーテル治療や外科手術の有用性は明らかではあるが、運動習慣の実践を核とする生活習慣の改善は、メタボリックシンドロームのみならず動脈硬化性疾患の予防や治療に必須である。しかし、その実践は容易ではない。水中運動は、全身運動、有酸素運動、浮力の影響、水圧と対峙、水温の高低による影響、等の特性を有し、高齢者やメタボリックシンドローム症例における整形外科や脳神経領域の疾患を有する症例にも安全性の高い運動療法である。これまで、水中運動の二次・三次予防効果は多く報告されているが、一次予防効果、特に抗動脈硬化作用についての知見は皆無である。

(2) 動脈硬化症や急性冠症候群 (ACS) を炎症性疾患と捉えたと、その発症や進展は単球・マクロファージ・リンパ球・DC 等の免疫応答細胞群が種々の抗原により活性化する免疫応答により制御されている。免疫反応は、異物に対する生体防御反応であり、抗原特異性を持たないマクロファージや樹状細胞が担う自然免疫と、抗原特異的で T 細胞依存性の獲得免疫により成立する。ヒトの動脈硬化発症やその進展メカニズムを理解するには、ヒト細胞による動脈硬化モデルが必要である。我々は、3 次元管状ヒト血管を実験的に作成することに成功した。

2. 研究の目的

水中運動の抗メタボリックシンドローム・抗動脈硬化作用を臨床的に明らかにするとともに、その機序を 3 次元管状ヒト血管モデルにより免疫学的視点から解明する。

3. 研究の方法

(1) 動脈硬化症の発症や進展における免疫応答細胞群の役割を検討する：

ヒト末梢血から CD14 細胞を MACS により分離し GM-CSF/IL-4 刺激により myeloid DC に分化させる。ACS 症例、安定狭心症症例、健康人それぞれの DC における活性化表面マーカー、遺伝子発現を比較検討する。

(2) 3 次元管状ヒト血管により免疫応答細胞群の役割を検討する：

研究代表者らが開発したプロトコールにより 3 次元管状ヒト血管モデルを作製する。具体的には、管状シリコンチューブ周囲にヒト血管平滑筋細胞およびコラーゲンの混合ゲルを巻き付け、細胞外マトリクスの産生と平滑筋細胞の整配列により緻密化した 3 次元管状血管を用いる。3 次元管状ヒト血管モデルと DC・マクロファージ・CD4 陽性リンパ球との共培養を行う。

(3) 水中運動を含む運動習慣と種々の臨床

指標・免疫応答との関連を検討する：

水中運動を含む運動習慣を参加者からインフォームドコンセント取得後に血液サンプルを採取し、種々の臨床指標（体力測定、身体計測、血液・尿のバイオマーカー測定等）・炎症免疫応答との関連を検討する。

4. 研究成果

(1) 動脈硬化症の発症や進展における免疫応答細胞群の役割：

急性冠症候群の患者より分化誘導した DC は、安定狭心症の患者より分化誘導した DC に比し、CD83/CD86 の発現、CCL19、CCR7、TLR2、TLR4、TLR9 の遺伝子発現は高値であった。また、IL-6、TNF- α の産生は高値であり、それぞれの DC の活性化マーカーとは有意な正相関を認めた。動脈硬化モデルマウスでの検討では、自発運動により動脈硬化の発症や進展が有意に抑制され、運動量とは有意な負の相関を認めた。大動脈における DC、マクロファージ、リンパ球の浸潤は、自発運動により有意に抑制された。一方、マクロファージは、酸化 LDL 刺激により IL-8 を含む種々の活性化マーカーの発現亢進を認めた。DNA マイクロアレイによりマクロファージサブセットの検討を行ったところ、酸化 LDL 刺激により活性化されるマクロファージは、主に MI であり、TGF- β を介する経路が重要で有ることが明らかとなった。

(2) 3 次元管状ヒト血管を用いた免疫応答細胞群の血管炎症における役割の検討：

管状ヒト血管において、DC の活性化マーカーである CD83 や CD86、CCL19 や CCR7 の発現は、LPS 刺激により増加した。TCR、CD40L、IFN- γ の発現は、DC との共培養下、特に LPS 刺激により増加した。また、CD4 陽性細胞の組織内への浸潤は、DC との共培養下、特に LPS 刺激により増加した。マクロファージに比し DC との共培養により有意に活性化した。すなわち、DC の活性化が先行することが血管炎症に重要であることが示唆された。

(3) 水中運動を含む運動習慣と種々の臨床指標・免疫応答との関連：

水中運動等の運動習慣を有する例は、運動習慣のない例に比し体脂肪量、血清脂質、血中の高感度 CRP 値、CCL19 が低値であった。運動、脂肪蓄積、慢性炎症、DC の活性化がそれぞれ関連す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 11 件)

1. Kiyonagi T, Iwabuchi K, Shimada K, et

- al. Involvement of Cholesterol-enriched Microdomains in Class A Scavenger Receptor-mediated Responses in Human Macrophages. *Atherosclerosis*. 215:60-69;2011.
2. Hirose K, Iwabuchi K, Shimada K, et al. Different responses to oxidized low-density lipoproteins in human polarized macrophages. *Lipids Health Dis*. 10:1;2011.
 3. Fukao K, Shimada K, et al. Voluntary Exercise Ameliorates the Progression of Atherosclerotic Lesion Formation via Anti-inflammatory Effects in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *J Atheroscler Tromb*. 17:1226-1236;2010.
 4. Onishi T, Shimada K, et al. Effects of phase III cardiac rehabilitation on mortality and cardiovascular events in elderly patients with stable coronary artery disease. *Circ J*. 74:709-714;2010.
 5. Kajimoto K, Miyauchi K, Kasai T, Shimada K, et al. Short-term 20-mg atorvastatin therapy reduces key inflammatory factors including c-Jun N-terminal kinase and dendritic cells and matrix metalloproteinase expression in human abdominal aortic aneurysmal wall. *Atherosclerosis*. 206:505-11;2009.
 6. Sumide T, Shimada K, et al. Relationship between exercise tolerance and muscle strength following cardiac rehabilitation: Comparison of patients after cardiac surgery and patients with myocardial infarction. *J. Cardiol*. 54:273-281;2009.
 7. Shimada K. Immune System and Atherosclerotic Disease: Heterogeneity of leukocyte subsets participating in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ J*. 73:994-1001; 2009.
 8. Onishi T, Shimada K, et al. Effects of a cardiac rehabilitation in patients with metabolic syndrome after coronary artery bypass grafting. *J. Cardiol*. 53:381-387;2009.
 9. Yanagisawa N, Shimada K, et al. Enhanced Production of Nitric Oxide, Reactive Oxygen Species, and Pro-Inflammatory Cytokines in Very Long Chain Saturated Fatty Acid-Accumulated Macrophages. *Lipids Health Dis*. 7:48;2008.
 10. Seki E, Watanabe Y, Shimada K, et al. Effects of a phase III cardiac rehabilitation program on physical status and lipid profiles in elderly patients with coronary artery disease: Juntendo cardiac rehabilitation program (J-CARP). *Circ J*. 72:1230-1234;2008.
 11. Han JW, Shimada K, et al. Vessel Wall-Embedded Dendritic Cells Induce T-Cell Autoreactivity and Initiate Vascular Inflammation. *Circ Res*. 102:546-553;2008.
- [学会発表] (計 16 件)
1. Nishitani M, Shimada K, et al. Impact of Diabetes on Muscle Mass, Muscle Strength, and Exercise Tolerance in Patients after Coronary Artery Bypass Grafting. 75th Annual Meeting of JCS. 2011.3.19 (postponed) Yokohama
 2. Kiyonagi T, Shimada K, et al. Cholesterol-enriched Microdomains on Class A Scavenger Receptor-mediated Modified LDL Uptake in Human Macrophages. 75th Annual Meeting of JCS. 2011.3.19 (postponed) Yokohama.
 3. Hirose K, Shimada K, et al. Transcriptional Analysis of Human Polarized Macrophages in Oxidized Low-density Lipoprotein Uptake. 75th Annual Meeting of JCS. 2011.3.20 (postponed) Yokohama.
 4. Sai E, Shimada K, et al. Circulating Oxidized LDL Level and LDL-cholesterol/HDL-cholesterol Ratio in the Assessment of Future Cardiac Events in Patients with Coronary Artery Disease. 75th Annual Meeting of JCS. 2011.3.20 (postponed) Yokohama.
 5. 稲葉裕, 鈴木大地, 島田和典, ほか. 水中運動と健康関連指標に関する疫学研究. 順天堂医学 2010年8月 東京
 6. 河盛隆造, 田村好史, 代田浩之, 島田和典, ほか. 運動とメタボリックシンドローム. 順天堂医学 2010年8月 東京
 7. 代田浩之, 島田和典, ほか. 心血管疾患に対する運動トレーニングを含めた包括的介入の効果. 順天堂医学 2010年8月 東京
 8. 深尾宏祐, 島田和典, ほか. 自発的運動は動脈硬化の発症および進展を抑制する. 日本心臓病学会. 2010年9月 東京
 9. Fukao K, Shimada K, et al. Effect of Voluntary Exercise for Prevention of Atherosclerotic Lesion Development in Apolipoprotein E-Deficient Mice. 74th Annual Meeting of JCS. 2010.3.5. Kyoto

- Int. Conf. Center.
10. Fukao K, Shimada K, *et al.* Powerful Impact of Combination Therapy of Voluntary Exercise with Valsartan or Fluvastatin on Atherosclerotic Lesion Formation in Apolipoprotein E-Deficient Mice. 74th Annual Meeting of JCS. 2010.3.7. Kyoto Int. Conf. Center.
 11. Shimada K. Voluntary Exercise for the Prevention of Atherosclerotic Lesion Development in Apolipoprotein E-Deficient Mice. Expert Meeting of Hypertension and Metabolic Syndrome. 2009.11.27. Takanawa, Tokyo.
 12. Fukao K, Shimada K, *et al.* Combination Therapy of Voluntary Exercise with Valsartan or Fluvastatin for Prevention of Atherosclerotic Lesion Development in Apolipoprotein E-Deficient Mice. American Heart Association Scientific Session 2009. 2009.11.18. Orlando, FL.
 13. Sumiyoshi K, Shimada K, *et al.* Clinical Evidence of Activation of Monocyte-derived Dendritic Cells in Patients with Acute Coronary Syndrome. 73th Annual Meeting of JCS. 2009. 3. 20. Ohsaka.
 14. 稲葉裕, 鈴木大地, 島田和典, ほか. 水中運動と健康関連指標に関する疫学研究. 順天堂医学. 2009年9月. 東京
 15. Sumiyoshi K, Shimada K, *et al.* Deletion of Fc Receptor Ameliorates Progression of Atherosclerotic Lesions in LDL Receptor Knockout Mice: Protective Role against Vascular Inflammation and Oxidative Stress. American Heart Association, Scientific Session. 2008/11/11 New Orleans, USA
 16. Onishi T, Shimada K, Sumide T, Ohmura H, Kume A, Masaki Y, Fukao K, Sato H, Sunayama S, Naito H, Amano A, Daida H. Impact of phase III cardiac rehabilitation program on mortality in elderly patients with stable coronary artery disease. 13th Annual congress of the European College of Sport Science (Portugal2008/7/9-12)

〔図書〕(計9件)

1. 西谷美帆, 島田和典, ほか. 心臓リハビリテーション・運動療法のプラーク安定化作用と血管保護効果. 呼吸と循環 59巻:227-232;2011.

2. 島田和典, ほか. 動脈硬化と心臓リハビリテーション. 心臓リハビリテーション 16:40-43;2011.
3. 島田和典, ほか. 心大血管リハビリテーションにおける栄養指導. 日本臨床栄養学会雑誌. 32:126-132;2011.
4. 蔡榮龍, 島田和典. 冠動脈硬化の一次予防. 循環 plus. 11:10-12;2010.
5. 大坂裕通, 島田和典. 心血管系への対策. 保健の科学 51: 593-598;2009.
6. 松森理枝, 島田和典, ほか. 虚血性心疾患. 臨床栄養療法スタッフマニュアル. 編集 清野裕ほか. 医学書院, 東京, :420-425;2009.
7. 松森理枝, 島田和典, ほか. 血糖コントロールにより大血管症は抑えられるかどうか. 分子糖尿病学の進歩. 監修 矢崎義雄. 金原出版, 東京, :106-113;2009.
8. 西谷美帆, 島田和典, ほか. 虚血性心疾患診療の新時代 リスクファクター. 総合臨床 57巻:227-232;2008.
9. 松森理枝, 島田和典, ほか. 心血管病の治療最前線. Current Therapy. 26巻:55-59;2008.

6. 研究組織

(1)研究代表者

島田 和典 (SHIMADA KAZUNORI)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号: 60327814

(2)研究分担者

鈴木 大地 (SUZUKI DAICHI)

順天堂大学・健康スポーツ科学部・准教授

研究者番号: 80255653