

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：31305

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K19801

研究課題名（和文）心腎連関において長期的運動が酸化ストレスにおよぼす影響について

研究課題名（英文）Effects of exercise training on oxidative stress in the cardiorenal syndrome.

研究代表者

高橋 麻子（Takahashi, Asako）

東北医科薬科大学・医学部・講師

研究者番号：20825773

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：心腎連関という面から長期的運動の心臓への効果について検討するため、慢性腎不全モデルである5/6腎臓摘出慢性腎不全ラットを用いて検討した。運動は5/6腎臓摘出慢性腎不全ラットの心臓ではにおいて左室線維化、レニン・アンジオテンシン系構成タンパクの発現や酸化ストレスを有意に抑制した。心不全モデルとしても用いられるDahl食塩感受性ラットの腎臓におけるミトコンドリア機能に対する長期的運動の効果についても検討を行った。運動は腎機能を有意に改善し、また脂肪酸酸化酵素群、その転写因子であるPPARとPCG-1、電子伝達系複合体の腎内発現を有意に増加させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

長期的運動が腎不全モデルラットの心臓において酸化ストレスを軽減することが示された。また、長期的運動が、ミトコンドリア脂肪酸酸化や電子伝達系に関わる酵素の発現を増加させるとともに腎機能を改善させることも明らかになった。長期的運動による腎保護効果と心腎連関のメカニズムをさらに解明することで、慢性腎臓病患者や慢性腎臓病を合併する慢性心不全患者の予後改善、透析導入予防や導入時期遅延に有効な運動療法の開発および普及、薬物療法との併用の提案、ひいては医療経済的にも大きな恩恵をもたらす可能性があると考えられる。

研究成果の概要（英文）： We examined the effects of chronic exercise on the heart on cardiorenal syndrome using chronic renal failure rats with 5/6 nephrectomy rats, which are chronic renal failure model. Exercise significantly suppressed left ventricular fibrosis, reduced the expression of renin-angiotensin system proteins and oxidative stress in the hearts of chronic renal failure rats with 5/6 nephrectomy.

We also examined the effects of chronic exercise on mitochondrial function in the kidneys of Dahl salt-sensitive rats, which are also used as a heart failure model. Exercise significantly improved renal function and significantly increased the renal expression of fatty acid -oxidation enzymes, their transcription factors PPAR and PCG-1, and the electron transport chain complexes.

研究分野：リハビリテーション、内部障害

キーワード：食塩感受性高血圧 Dahl食塩感受性ラット 腎保護作用 運動 脂肪酸 酸化 ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

日本における慢性腎臓病患者数(chronic kidney disease; CKD)は1,330万人、成人人口の約13%と推測されている。また、CKDの進行に伴い心血管疾患(cardiovascular disease; CVD)の発症率が上昇すること、透析導入数よりもCVDによって死亡する患者数が多いこと、慢性心不全患者の40%以上がCKDを合併すること、慢性心不全患者において糸球体濾過量が強力な予後規定因子であることが報告されている。このように、CKDとCVDの病態はお互いに密接に関係しており、心腎連関と呼ばれる。

障害臓器においては、血管作動因子であるレニン-アンジオテンシン(RA)系の亢進およびnitric oxide(NO)系の減弱が数多く報告されている。また、この両系は交感神経系に対しては刺激・抑制と反対に作用し、互いの系に対しては抑制的に作用することが知られており、各種の臓器障害においては、RA系阻害薬が臓器保護効果を有することが臨床的にも数多く報告されている。アンジオテンシンはNADPH oxidaseを活性化し、活性酸素種(ROS)産生が惹起される。過剰なROS産生は酸化ストレス刺激になる。NADPH oxidaseは酸化ストレスを産生する酵素であるが、心腎連関の分子レベルのメカニズムの1つとして関与することも示唆されている。

ミトコンドリアもまたROS産生源の1つである。ミトコンドリアDNAは酸化ストレスによる障害を受けやすいため、過剰なROS生成はミトコンドリア機能不全を引き起こし、ミトコンドリア由来のROS生成をさらに亢進させる。運動は心臓や骨格筋で多量の酸素を消費し、その過程で大量のROSが生成されるのだが、適切な運動療法はROS生成系の減弱およびROS消去系の増強により酸化ストレス耐性を増加させる。しかし、進行性臓器障害では酸化ストレスや炎症反応が亢進しており、血管内皮機能や組織ミトコンドリア機能も高度に障害されている。したがって、炎症や酸化ストレスの亢進した進行性臓器障害では、運動療法による臓器保護効果の機序も健常や軽症の場合とは異なっていることが推測される。実際、重症心不全や腎不全患者における血管内皮機能障害について、運動療法が何故効果を呈するのかについては未だ不明な点が多い。

これまで我々は、慢性腎不全モデルである5/6腎臓摘出慢性腎不全ラットとDahl食塩感受性ラットにおいて長期的運動が腎臓の酸化ストレスを抑制すること、糸球体硬化や間質線維化を抑制することを明らかにしてきたが、いずれのラットにおいても長期的運動の心臓への影響については明らかになっていない。

また、心不全モデルとしても用いられるDahl食塩感受性ラットの腎臓においては、cytochrome p450(CYP)4A発現と20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE)産生が減少しており、CYP4A/20-HETE系は食塩感受性高血圧に関与する因子の1つと言われている。peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) と PPAR-coactivator-1 (PGC-1) は CYP4A の転写因子であると同時にミトコンドリア脂肪酸酸化に関与する酵素の転写因子でもあり、腎臓において抗酸化作用を持つこともいくつか報告されているが、長期的運動によるDahl食塩感受性ラットの腎臓における脂肪酸代謝への影響については未だ不明である。

2. 研究の目的

長期的運動による心保護作用、腎保護作用のメカニズムを解明するため、腎不全モデルラットに

において長期的運動が心臓の RA 系や酸化ストレスに及ぼす影響、また、腎臓のミトコンドリア脂肪酸 酸化に及ぼす影響について分子レベルで解析することを目的とする。

3 . 研究の方法

(1)Sprague-Dawley(SD)ラットを用い、6~7 週齢 に 5/6 腎臓摘出腎不全モデルラットおよび偽手術群を作成した。5/6 腎臓摘出腎不全モデルラットは 10 週齢時に無作為に 1) 非運動群、2) 運動群の 2 群に分け、さらに 3) 偽手術群を加えて、運動群には 12 週間にわたってラット用トレッドミルを用いた走行運動を施行した(1 回/日、60 分/回、5 日/週)。12 週間後、左室重量測定、心臓の組織学的評価(左室間質線維化面積)、心臓のアンジオテンシン変換酵素(ACE)、アンジオテンシン 1 型(AT1)受容体、AT1 受容体と拮抗した作用を持つアンジオテンシン 2 型(AT2)受容体、コラーゲン発現、 繊維化に關与するトランスフォーミング増殖因子(TGF- 1)発現についての検討、活性酸素種産生の産生源である NADPH oxidase 活性と xanthine oxidase 活性の測定、酸化ストレスマーカーであるマロンジアルデヒド(MDA)の測定を行った。

(2)Dahl 食塩感受性ラットを、無作為に 1)通常食塩食群(0.6%NaCl) 2)高食塩食群(8%NaCl) 3)高食塩食+運動群の 3 群に分け、8 週齢より 8 週間にわたって介入を行った。運動群では、ラット用トレッドミルを用いた走行運動を施行した(1 回/日、60 分/回、5 日/週)。介入最終週にエコーによる心機能評価、血圧測定を行い、8 週間後に心臓の組織学的評価(左室心筋細胞サイズ、左室間質線維化面積)、心臓の xanthine oxidase 活性について検討を行った。また、8 週間後に尿タンパク排泄量とクレアチンクリアランスの測定および、PPAR、PGC-1、脂肪酸 酸化酵素である極長鎖アシル CoA 脱水素酵素(VLCAD)、長鎖アシル CoA 脱水素酵素(LCAD)、中鎖アシル CoA 脱水素酵素(MCAD)、短鎖アシル CoA 脱水素酵素(SCAD)、 酸化の律速酵素である carnitine palmitoyltransferase type I (CPTI)、電子伝達系複合体(CVI-MTC01、CII-SDHB、CI-NDUFB8)の腎内発現についても検討を行った。

4 . 研究成果

(1)5/6 腎臓摘出慢性腎不全ラットにおける検討

5/6 腎摘除は高血圧、左室重量増加、左室間質線維化を惹起し、心臓の NADPH oxidase 活性と尿中 MDA 排泄量を有意に上昇させた。また、5/6 腎摘除は心臓の ACE、AT1 受容体、 型コラーゲン、TGF- 1 発現を有意に増加し、AT2 受容体発現を有意に低下させた。長期的運動は血圧を低下させた。長期的運動は左室重量を変化させなかったが、左室の間質繊維化を軽減した。左室のレニン・アンジオテンシン系構成タンパクの発現については、非運動群と比較して運動群で ACE、AT1 受容体、 型コラーゲン、TGF- 1 の発現が有意に低下、AT2 受容体発現が有意に上昇した。心臓の NADPH oxidase 活性と尿中 MDA 排泄量は非運動群と比較して運動群で有意に低下した。これらの結果から、長期的運動は腎臓のみならず心臓においても RA 系や酸化ストレスの亢進を抑制し、心保護効果を示すことが示唆された。

(2)Dahl 食塩感受性ラットにおける検討

高食塩食摂取は高血圧を惹起した。心臓においては左室壁厚増加、左室内径短縮率低下、心筋細胞肥大、左室間質繊維化、xanthine oxidase 活性上昇を惹起した。心臓におけるこれらの項目は高食塩食群に比べて高食塩食 + 運動群で有意差を認めなかった。

腎臓において、高食塩食摂取は尿タンパク排泄量、クレアチンクリアランスを増悪させ、腎内 PPAR- α 、PPAR γ 、PGC-1、CPT1、脂肪酸酸化酵素、電子伝達系複合体の発現を有意に低下させた。長期的運動は高食塩食による尿タンパク排泄量増加、クレアチンクリアランス上昇を有意に改善し、腎内 PPAR- α 、PPAR γ 、PGC-1、CPT1、脂肪酸酸化酵素、電子伝達系複合体の発現を有意に増加させた。この結果から、長期的運動が脂肪酸酸化酵素およびその転写因子の腎内発現を増加させ、ミトコンドリア機能を維持し腎保護効果を発揮する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Namai-Takahashi Asako, Takahashi Junta, Ogawa Yoshiko, Sakuyama Akihiro, Xu Lusi, Miura Takahiro, Kohzuki Masahiro, Ito Osamu	4. 巻 24
2. 論文標題 Effects of Exercise Training on Mitochondrial Fatty Acid β -Oxidation in the Kidneys of Dahl Salt-Sensitive Rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 15601 ~ 15601
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms242115601	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Namai-Takahashi Asako, Takahashi Junta, Xu Lusi, Miura Takahiro, Kohzuki Masahiro, Ito Osamu.
2. 発表標題 Exercise training upregulates fatty acid β -oxidation with increasing PGC-1 α and PPAR α in the kidney of Dahl salt-sensitive rats.
3. 学会等名 第29回 国際高血圧学会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 2高橋麻子, 小川佳子, 三浦平寛, 上月正博, 伊藤修
2. 発表標題 Dahl食塩感受性ラットの腎ミトコンドリア脂肪酸代謝における長期的運動の役割
3. 学会等名 第61回日本リハビリテーション医学会学術集会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------