

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20700422

研究課題名（和文）心臓リハビリテーションにおける組織 NO 系の役割の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the role of nitric oxide system in cardiac rehabilitation

研究代表者

伊藤 大亮（ITO DAISUKE）

東北大学・病院・理学療法士

研究者番号：50466570

研究成果の概要（和文）：心筋梗塞モデルラットを用いて、長期的運動が主に心臓、腎臓の Nitric Oxide (NO) 系へ与える影響を検討した。心筋梗塞モデルラットにトレッドミル運動を4週間施行した。運動は、心機能、腎機能を改善させた。また、左室、胸部大動脈、肺、腎の各組織において NO 合成酵素(Nitric Oxide Synthase;NOS)である内皮型 NOS;eNOS、神経型 NOS;nNOS を増強させた。心筋梗塞モデルにおける腎の NOS への影響はこれまで一切報告がなく、本研究で初めて明らかとなり、心臓リハビリテーションの有効性の機序の一部が解明された。本内容を各学会で発表し、論文は現在投稿中である。

研究成果の概要（英文）：

I examine the effects of the exercise training on nitric oxide (NO) system in chronic heart failure (CHF) model of rats. Exercise improved cardiac and renal function, and increased the expression of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and neuronal NOS (nNOS) in left ventricle and kidney of CHF rats. These findings suggest that the upregulation of the renal NO system may be a novel mechanism that could explain the beneficial effects of exercise training.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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、心臓リハビリテーション

## 1. 研究開始当初の背景

運動療法は心疾患や脳卒中に対するリハビリテーションとして広く行われており、それ

らの疾患の一次予防や二次予防においてもその有効性が明らかになっている。心臓リハビリテーション領域では、心筋梗塞後の運動

療法が推奨されている。運動療法は、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、骨格筋の適応等によって運動耐容能を向上させ、臓器機能の改善にも寄与している。

一酸化窒素 (NO) は L-arginine から NO 合成酵素 (NOS) によって生成される。NOS には、Ca<sup>2+</sup>/カルモジュリン濃度依存性で常在型 NOS に属する神経型 NOS (nNOS) と内皮型 NOS (eNOS)、各種サイトカインに誘導される誘導型 NOS (iNOS) の 3 種類がある。NO は血管内皮由来弛緩因子として血管のトーン調節に関わる他、神経間の情報伝達や免疫調節など生体内で広範な作用を示す。

運動療法の効果の機序には、NO の関与が示唆され、健常ラットの心臓や胸部大動脈において、eNOS, nNOS 発現が運動によって増加することが報告されている (Biochim Biophys Acta 1587:75-82, 2002)。NO は心臓において血管弛緩因子として冠血管弛緩に関与する他、血小板凝集抑制、血管平滑筋増殖抑制、レニン産生抑制などの作用を有するとされ、NOS 阻害薬の投与は冠動脈内膜肥厚などリモデリングを誘発する (Cardiovasc Drug Ther 14: 533-542, 2000)。また、心筋梗塞モデルラットでは NO が低下している (Hypertension 38: 1367-1371, 2001)。

腎臓において NO は、腎血管トーンズの減少に加えて、尿細管や集合管における水・ナトリウム再吸収の阻害や尿細管糸球体フィードバックの減弱などの作用を有し、NOS 阻害薬の投与は、糸球体硬化など腎障害を引き起こす (J Clin Invest 90: 278-281, 1992)。また、腎不全モデルラットでは eNOS, nNOS および尿 NO<sub>x</sub> が低下している (J Am Soc Nephrol 13: 2278-2287, 2002)。短時間もし

くは一回のみの急性運動により、腎 eNOS mRNA や蛋白発現はむしろ減少し、これが腎血流量、糸球体濾過量低下につながるとされている (J Appl Physiol 94: 60-68, 2003)。

高血圧自然発症ラット (SHR) において、長期的運動 (トレッドミルにて 20m/分、60 分/回、6 回/週、8 週間) により腎組織の NOS 蛋白が増強することをすでに明らかにしている (Arch Phys Med Rehabil 88: E14, 2007, Proceeding)。心筋梗塞後の心不全モデルラットで長期的運動は、腎 Na 排泄能を増強させることが最近報告されており (Am J Physiol Renal Physiol 291: F1148-F1156, 2006)、心臓リハビリテーションにおいて運動療法が、心臓、骨格筋機能のみならず腎臓機能も改善することが示唆されている。

そこで、心臓リハビリテーションにおける運動療法の有効性の機序を明らかにするため、心筋梗塞モデルにおける組織 NO 系への長期的運動の影響を解明することを着想するに至ったものである。

## 2. 研究の目的

心筋梗塞モデルにおける組織 NOS 系、運動耐容能、心臓・腎臓・血管への長期的運動の有効性を検証する上で、以下に述べる項目を研究目的とする。1) 心筋梗塞モデルにおいて長期的運動が、心臓と腎臓の NOS 系および心機能、腎機能に与える影響を明らかにする。また、健常モデルの結果との比較検討も行う。2) 心筋梗塞モデルにおいて運動療法が、大動脈と下肢骨格筋毛細血管の NOS 系および運動耐容能に与える影響を明らかにする。また、健常モデルの結果との比較検討も行う。

## 3. 研究の方法

心筋梗塞モデルラットを用いて、心臓と腎臓の NOS 系および心機能、腎機能、運動耐用

能に与える運動の影響を検討する。

8週齢の雄 Sprague-Dawley ラットを用いて、冠動脈結紮による CHF モデルを作製し、4週間後、偽手術 (Sham) ラットと CHF ラットをそれぞれ非運動群と運動群に分け、トレッドミル運動 (速度 25 m/分、60 分間/日、週 5 日) を 4 週間行わせる。(計 4 群: 非運動/Sham 群、運動/Sham 群、非運動/CHF 群、運動/CHF 群) 実験終了時に心エコー検査、尿採取、最高酸素摂取量測定を行った後、各臓器重量および各種血漿・尿パラメータを測定する。また、胸部大動脈、左室、腎皮質、髄質外層、髄質内層における eNOS、nNOS 蛋白発現をウェスタンブロット法で検討する。

#### 4. 研究成果

心および肺重量は、非運動/Sham 群に比べ非運動/CHF 群で有意に増加し、非運動/CHF 群に比べ運動/CHF 群で有意に減弱した。非運動/CHF 群は Sham 群と比較して、血漿 BNP 値は有意に高値を示し、左室駆出率は有意に低値を示した。一方、運動/CHF 群は非運動/CHF 群と比較して、血漿 BNP 値は有意に低値を、左室駆出率および最高酸素摂取量はそれぞれ有意に高値を示した。また、クレアチニンクリアランスは、運動/CHF 群が非運動/CHF 群と比較して有意に高値であった。eNOS と nNOS 蛋白発現は、大動脈、左室、腎臓において非運動/Sham 群に比べ非運動/CHF 群で有意に減弱し、非運動/CHF 群に比べ運動/CHF 群で有意に増強した。以上の結果から、CHF ラットにおいて、長期

的運動は心機能および腎機能を改善し、その機序の一つとして、心血管系および腎 eNOS と nNOS 蛋白発現増強の関与が示唆された。

心筋梗塞モデルにおける腎の NOS への影響はこれまで一切報告がなく、本研究で初めて明らかとなり、心臓リハビリテーションの有効性の機序の一部が解明された点でインパクトが非常に大きい。本内容を各学会で発表し、高い評価を得ており、第 6 回国際 NO 学会 (The 6th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide 2010 Kyoto, 2010 年 6 月) では、Travel Award を受賞した。なお、本内容の論文は執筆済みで、現在投稿中である。

(*Circulation*)

#### 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)

[学会発表] (計 5 件)

1. 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. 慢性心不全ラットにおける心・腎 nitric oxide 合成酵素に対する長期的運動の影響. 第 40 回日本心脈管作動物質学会 (高松), 2011.2.4
2. 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. 慢性心不全ラットの血圧と心・腎 nitric oxide 合成酵素に対する長期的運動の影響. 第 33 回日本高血圧学会 (福岡), 2010.10.16
3. Ito D, Ito O, Mori N, Suda C, Hao K, Cao

P, Muroya Y, Takashima K, Shimokawa H, Kohzuki M. Effects of exercise training on nitric oxide synthases in rats with chronic heart failure. 23rd Scientific Meeting of International Society of Hypertension (Vancouver), 2010.9.28

4. **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 NO 合成酵素に対する長期的運動の影響. 第35回日本運動療法学会(仙台), 2010.7.3

5. **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. The 6th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications on Nitric Oxide (Kyoto), 2010.6.18

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 大亮 (ITO DAISUKE)  
東北大学・病院・理学療法士

研究者番号 : 50466570

(2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

(3) 連携研究者

( )

研究者番号 :