

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K19338

研究課題名（和文）遺伝性嚢胞性腎・肝疾患への運動療法の効果の機序解明

研究課題名（英文）mechanism elucidation of exercise effects to hereditary cystic kidney and liver desease

研究代表者

三浦 平寛 (Miura, Takahiro)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：30845805

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：遺伝性嚢胞性腎・肝疾患に対する運動療法の嚢胞抑制効果や臓器保護効果、そしてその機序解明のため、常染色体優性多発性嚢胞腎モデルであるPCKラットを用いて長期的運動の検討を行った。その結果、腎・肝嚢胞の抑制、肝・腎線維化の抑制、糸球体障害や尿細管障害の抑制が明らかとなった。その機序としてcAMP/B-Raf/ERK経路とmTOR/S6経路といった細胞増殖因子の抑制、肝ではAMPKの活性化が関与している可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、腎・肝嚢胞疾患に対する運動療法の効果として、PCKラットへの長期的運動の腎・肝嚢胞抑制効果を世界で初めて報告した。その機序としてcAMP/B-Raf/ERK経路とmTOR/S6経路の抑制、肝ではAMPKの活性化が関与している可能性が考えられた。今後、腎・肝嚢胞疾患に対する運動療法のさらなる機序を解明することや運動療法と薬剤併用効果の検討により、遺伝性嚢胞性腎・肝疾患患者の臓器保護やそれに伴うQOLの維持、また新規治療への発展に役立つ可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The cyst-suppressive and organ-protective effects of chronic exercise on hereditary cystic kidney/liver disease and the mechanism were investigated long-term exercise in PCK rats: autosomal dominant polycystic kidney disease model rats. As a result, inhibition of renal and hepatic cysts, hepatic and renal fibrosis, glomerular injury and renal tubular injury was clarified. Suppression of cell growth factors such as cAMP/B-Raf/ERK pathway and mTOR/S6 pathway, and activation of AMPK in the liver may be involved in the mechanism.

研究分野：リハビリテーション医学

キーワード：リハビリテーション 多発性嚢胞腎 多発肝嚢胞

## 1. 研究開始当初の背景

常染色体優性多発性嚢胞腎 (autosomal dominant polycystic kidney disease: ADPKD) は加齢に伴い嚢胞が両腎に増加、進行性に腎機能が低下し、60 歳までに約半数が末期腎不全に至る難病である。合併する肝嚢胞は腹腔内臓器を圧迫し、腹部不快感や背部痛、胃食道逆流、呼吸困難といった症状を惹起し、QOL を低下させる。本邦では透析導入患者の第 4 位の原因疾患でもあることから、その腎障害進展抑制は社会的にも重要な課題である。

ADPKD の発症機序として、尿細管や胆管上皮の細胞内カルシウム濃度低下が細胞増殖を刺激し、腎集合管ではバソプレシン V2 受容体刺激による cAMP 過剰産生が嚢胞形成を促進する。V2 受容体拮抗薬であるトルバプタンは、腎容積の増加と腎障害進行を抑制することが明らかになり保険収載されたが、肝嚢胞に対する効果はなく、むしろ肝障害を起こすリスクも報告されている。また、その薬剤にかかる年間医療費は血液透析療法と同額の 500 万円以上となる上に、約 7.5L/日の尿量を来すため、口渇、頻尿、多尿の副作用頻度は高く、患者の QOL を低下し、治療の脱落率も高い。安全で低コスト、かつ患者の QOL を損なわない治療法が求められているが、ADPKD への運動療法の有効性についての報告は皆無である。

申請者が所属する教室では、種々の腎障害モデルラットを用いて、長期的運動や各種薬剤による腎障害進展抑制効果、その機序に関する研究を行ってきた (Physic Med Rehabi Res 2(5):1-4, 2017)。5/6 腎摘除腎不全ラットにおいてトレッドミルによる長期的運動が降圧および腎保護効果を有することを世界で初めて明らかにし (J Hypertens 19:1877-1882, 2001)、腎保護効果を有する降圧薬と長期的運動の併用が降圧、腎組織改善、運動耐容能および持久力改善に相加効果を有することを報告した (Am J Hypertens 19:80-86, 2006, Am J Hypertens 22:1101-1106, 2009)。また、糖尿病性腎症や心不全モデルラットにおいて長期的運動が腎保護効果を有することも明らかにした (J Hypertens 26:312-321, 2008, Clin Exp Pharma Physiol 40:617-625, 2013, PLoS One 10:e0138037, 2015)。長期的運動の腎保護作用の機序として、糸球体障害の抑制、腎内酸化ストレスの軽減、尿細管 eNOS や nNOS 発現の増加 (Clin Exp Pharma Physiol 40:74-82, 2013, Clin Exp Pharma Physiol 40:617-625, 2013) を明らかにした。一連の研究を通じ、長期的運動が糸球体障害以上に腎間質線維化を抑制すること (Am J Hypertens 19:80-86, 2006, J Hypertens 26: 312-321, 2008) を認め、嚢胞が増大し、腎間質病変が進行する多発性嚢胞腎への運動療法の効果を検討することに至った。

## 2. 研究の目的

ADPKD モデル動物である polycystic kidney (PCK) ラットの嚢胞増大や腎不全進行への長期的運動の効果を検討し、PKD への運動療法の有効性・安全性を検証する。さらに、その長期的運動の腎・肝保護効果の機序を解明すると共に、その効果を高めることが可能な併用薬剤についても検討を進め、運動療法のエビデンスが皆無である遺伝性嚢胞性腎・肝疾患モデルで運動療法の有効性を確立させることを本研究の目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 多発性肝嚢胞モデルラットに対する長期的運動と Metformin の効果

5 週齢の雄性 Sprague-Dawley (SD) ラットを対照群とし、PCK ラットを非運動群と運動群に分け、運動群には中強度トレッドミル運動 (速度 28m/分、60 分間/日、週 5 日) を 12 週間実施した。また、同週齢の雄性 PCK ラットを Metformin 群と対照群に分け、Metformin

群には Metformin ( 300 mg/kg/day ) を 12 週間経口投与した。介入前後で心肺運動負荷試験を実施し、介入終了後に肝組織像と細胞増殖・囊胞液分泌・線維化の調節因子を検討した。

#### ( 2 ) 多発性囊胞腎モデルラットにおける長期的運動の腎保護効果の検討

5 週齢の雄性 SD ラットを対照群とし、PCK ラットを非運動群と運動群に分け、運動群には中強度トレッドミル運動(速度 28m/分、60 分間/日、週 5 日)を 12 週間実施した。介入前後で運動負荷試験を実施、介入後に血液と腎を採取した。囊胞指数を算出し、尿中 AVP、尿蛋白、尿中 L-FABP、腎 cAMP を測定した。

### 4 . 研究成果

#### ( 1 ) 多発性肝囊胞モデルラットに対する長期的運動とメトホルミンの効果 ( Med Sci Sports Exerc 52:1272-1279, 2020 )

SD ラットと比較して、PCK ラットの運動耐容能は低下していたが、長期的運動により向上した。長期的運動は、肝重量(5.7±0.4 vs.4.3±0.3 g/kg)、囊胞指数 ( 24.6±1.6 vs.17.0±1.0 % ) 線維化指数( 17.0±0.8 vs.9.8±0.9 % )を抑制した。長期的運動は、AMPK のリン酸化を増加し、肝囊胞周囲の Ki-67、mTOR、ERK リン酸化、CFTR、AQP1、TGF- $\beta$ 、COL1 の発現を低下させた。また、Metformin は、長期的運動と同様に肝囊胞と肝線維化を抑制し、細胞増殖・囊胞液分泌・線維化の調節因子を低下させた。PLD モデルである PCK ラットにおいて、長期的運動と Metformin は共に AMPK をリン酸化し、細胞増殖や線維化マーカー、囊胞液分泌因子を低下させ、肝囊胞増大や肝線維化を抑制する可能性が示された。

#### ( 2 ) 多発性囊胞腎モデルラットにおける長期的運動の腎保護効果の検討 ( Med Sci Sports Exerc 53:2485-2494, 2021 )

SD ラットと比較して、PCK ラットの総走行距離と peak VO<sub>2</sub> は著明に低下していたが、長期的運動により増加した。長期的運動は、尿中 AVP を上昇させたが、尿蛋白(253.5±21.8 vs.57.5±9.8mg/日)、血清 Cr(0.35±0.02 vs.0.30±0.01mg/dL)、囊胞指数(30.2±3.4 vs.17.3±1.3%)、尿中 L-FABP(4.9±1.6 vs.0.8±0.5 $\mu$ g/日)を低下させ、糸球体硬化や上皮障害を抑制した。また、長期的運動は、腎 cAMP に影響を与えず、腎内 Ki67、B-Raf 発現を低下させ、ERK、mTOR、S6 のリン酸化を抑制した。PCK ラットにおいて、長期的運動は尿中 AVP を上昇させたにもかかわらず細胞増殖マーカーを低下させ、囊胞形成や糸球体障害、尿細管障害を抑制する。ADPKD 患者への運動療法が、腎保護効果をもたらす可能性が示唆された。

( 3 ) 上記の研究結果により、腎・肝囊胞疾患に対する運動療法の効果として、PCK ラットへの長期的運動の腎・肝囊胞抑制効果を世界で初めて報告した。その機序として cAMP/B-Raf/ERK 経路と mTOR/S6 経路の抑制、肝では AMPK の活性化が関与している可能性が考えられた。今後、腎・肝囊胞疾患に対する運動療法のさらなる機序を解明することや運動療法と薬剤併用効果の検討により、遺伝性囊胞性腎・肝疾患患者の臓器保護やそれに伴う QOL の維持、また新規治療への発展に役立つ可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Qiu Jiahe, Sato Yoichi, Xu Lusi, Miura Takahiro, Kohzuki Masahiro, Ito Osamu	4. 巻 53
2. 論文標題 Chronic Exercise Protects against the Progression of Renal Cyst Growth and Dysfunction in Rats with Polycystic Kidney Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 MEDICINE & SCIENCE IN SPORTS & EXERCISE	6. 最初と最後の頁 2485 ~ 2494
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1249/MSS.0000000000002737	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miura Takahiro, Sakuyama Akihiro, Xu Lusi, Qiu Jiahe, Namai-Takahashi Asako, Ogawa Yoshiko, Kohzuki Masahiro, Ito Osamu	4. 巻 40
2. 論文標題 Febuxostat ameliorates high salt intake-induced hypertension and renal damage in Dahl salt-sensitive rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 327 ~ 337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/HJH.0000000000003012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato Yoichi, Qiu Jiahe, Hirose Takuo, Miura Takahiro, Sato Yasunori, Kohzuki Masahiro, Ito Osamu	4. 巻 320
2. 論文標題 Metformin slows liver cyst formation and fibrosis in experimental model of polycystic liver disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology	6. 最初と最後の頁 G464 ~ G473
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpgi.00120.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三浦平寛、上月正博、伊藤修
2. 発表標題 多発性嚢胞腎モデルラットにおける長期的運動の腎保護効果の検討
3. 学会等名 第59回日本リハビリテーション医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三浦平寛、作山晃裕、徐口思、仇嘉禾、高橋麻子、小川佳子、上月正博、伊藤修
2. 発表標題 Dahl食塩感受性ラットにおける高食塩食摂取による腎内xanthine oxidase活性化とfebuxostatの効果
3. 学会等名 第34回腎と脂質研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三浦平寛、上月正博、伊藤修
2. 発表標題 多発性肝嚢胞モデルラットに対する長期的運動とメトホルミンの効果
3. 学会等名 第58回日本リハビリテーション医学会学術集会
4. 発表年 2021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
---------	---------