

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 26 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500620

研究課題名(和文) 骨格筋の炎症制御による新規抗動脈硬化運動プログラムの開発

研究課題名(英文) The development of anti-atherogenic exercise program by regulating skeletal muscle inflammation

研究代表者

島田 和典 (Shimada, Kazunori)

順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60327814

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円、(間接経費) 1,110,000円

研究成果の概要(和文)：M1とM2 マクロファージは酸化LDL刺激による反応が異なり、主にM1がNF-κB経路に関連して反応した。大動脈瘤モデルの動脈瘤部および腹腔マクロファージはM1優位であった。動脈硬化モデルでは、骨格筋の炎症性細胞浸潤が確認された。動脈硬化病変は、強制的運動や自発的運動により抑制され、その機序としてマクロファージ動員や炎症の抑制が考えられた。嫌気性代謝閾値に基づいた運動処方を含む心臓リハビリテーションにより、筋量、筋力、運動耐容能は有意に改善し、運動耐容能の低下は予後と関連した。以上より、高強度運動のみならず身体活動維持の運動介入においても炎症抑制により動脈硬化病変を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：M1 macrophages, but not M0 or M2 macrophages, which characteristically respond to oxLDL, were associated with NF-κB signaling. M1 was dominant in aneurysmal lesions and peritoneal macrophages. Inflammatory cells were detected in skeletal muscles in mice with atherosclerotic formation. Voluntary exercise as well as forced exercise reduced atherosclerotic formation via inhibition of macrophage accumulation and inflammatory reaction. Cardiac rehabilitation improved muscle mass, muscle strength, and exercise tolerance. Exercise capacity was associated with clinical prognosis. These results suggested that maintaining physical activity may ameliorate the initiation and progression of atherosclerosis through anti-inflammatory effects.

研究分野：循環器病学

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：動脈硬化 マクロファージ 骨格筋

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、メタボ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、動脈硬化性疾患を増加させ、その治療と予防法の確立は社会的急務である。高血圧、脂質異常症、糖尿病に対する種々の薬物治療、カテーテルや外科治療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、動脈硬化性疾患の予防や治療に必須である。最近では、急性冠症候群発症後の心血管イベント発症の規定因子は、心臓リハビリテーションの中核をなす運動療法の有無と報告されている。しかし、実際の心臓リハビリテーションの実施率は未だ低率である。

(2) 動脈硬化性疾患に対する心臓リハビリテーションは、早期の離床や社会復帰、危険因子や QOL の改善、生命予後改善効果を有する。我々は、心臓リハビリテーションの抗動脈硬化作用の機序として運動耐容能の改善と脚筋力の改善が関連すること、高感度 CRP 値が低下することを報告した。しかし、運動療法の抗動脈硬化作用の機序は十分に解明されていない。

(3) 動脈硬化や急性冠症候群の発症や進展は単球・マクロファージ等の免疫応答により制御されている。しかし、骨格筋における炎症と運動との関連、さらには動脈硬化の発症や進展との関連は不明である。また、マクロファージは炎症惹起性の M1、炎症抑制性の M2 に分類される。運動や動脈硬化における M1/M2 の役割については十分明らかにされていない。

2. 研究の目的

動脈硬化は慢性炎症性疾患であり、血管炎症の制御は、動脈硬化の発症や進展予防に重要である。本研究の目的は、骨格筋における炎症制御という新たな視点から、マクロファージサブセットと動脈硬化との関連、骨格筋の炎症との関連を、動脈硬化モデルマウスや培養系を用いて検討することである。さらに、運動療法や心臓リハビリテーション施行症例において、骨格筋との関連、新規炎症関連マーカーとの関係を検討する。骨格筋における炎症制御の機序解明は、動脈硬化予防そして新規運動プログラムの開発にも役立つ。ひいては国民健康の維持増進、心臓リハビリテーションも含めた医療の向上にも有用であると考えられる。

3. 研究の方法

(1) 動脈硬化や骨格筋の炎症における M1 および M2 の役割を検討する。

ヒト末梢血から CD14 細胞を分離し、M-CSF 刺激により M0 に分化させる。LPS+IFN- γ または IL-4 刺激によりそれぞれ M1、M2 に分化誘導させる。M1 マーカーとして TNF- α /IL-1、M2 マーカーとして CD206 の発現を表面マーカーおよび realtime PCR に

て確認する。酸化 LDL 刺激による M0/M1/M2 の変化を超高感度 DNA チップにより解析する。

アポ E 欠損マウスに対して高脂肪食負荷により動脈硬化モデルを作成し、前脛骨筋、腓腹筋を摘出する。マクロファージや樹状細胞の特異的マーカーにより免疫組織染色を行う。アポ E 欠損マウスを用いた動脈瘤モデルにおいて炎症マーカーや M1/M2 の発現を検討する。さらに、腹腔マクロファージにおいても M1/M2 の発現を検討する。

(2) 動脈硬化モデルマウスを用いた運動療法の抗動脈硬化作用を検討する。

生後 8 週雄のアポ E 欠損マウスに高脂肪食負荷を行い、動脈硬化モデルマウスを作製する。普通食群、高脂肪食群、高脂肪食 + 自発的運動療法群、高脂肪食 + 強制運動群、高脂肪食 + 薬剤 (アンジオテンシン受容体拮抗薬: ARB) 投与群、高脂肪食 + 薬剤 (直接的レニン阻害薬: DRI) 投与群、高脂肪食 + ARB 投与 + 自発的運動群、高脂肪食 + DRI 投与 + 自発的運動群を作成する。大動脈分輪部および胸腹部大動脈展開組織を用いて大動脈硬化病変の定量評価を行う。realtime PCR による遺伝子発現、大動脈血管リングを用いた血管内皮機能を測定する。

(3) 運動療法や嫌気性代謝閾値に基づいた運動処方を中心とした心臓リハビリテーション施行症例において、骨格筋との関連、新規炎症関連マーカーとの関係を検討する。

(4) 研究成果の発表・意見交換

研究成果について、国内外の研究者と意見交換を行う。

4. 研究成果

(1) 酸化 LDL 刺激前後で、発現上昇の強い遺伝子は M0 と M2 で類似していた。分子ネットワーク解析では、刺激前後で最も変動するネットワーク群が M1 で認められ、そこに含まれる分子すべてが直接または間接的に TGF- β による細胞応答に関与していた。階層的クラスター解析では、M1 においてのみ強く上昇する遺伝子には NF- κ B のシグナル伝達経路に関与する遺伝子が含まれていた。RT-PCR 解析では、M2 における酸化 LDL 刺激後の IL-8 発現が M0 や M1 に比較して有意に低値であった。以上より、酸化 LDL 刺激下で、M1 マクロファージは M2 に比べ、より特徴的な反応を示す可能性が示唆された。高脂肪食群の骨格筋において CD11c 陽性細胞を確認した。アポ E 欠損マウスを用いた大動脈瘤モデルにおいて、大動脈瘤部の TNF- α 、TGF- β 、MCP-1、VCAM-1、MMP-2 の発現は亢進し、M1/M2 マクロファージバランスは M1 にシフトしていることを確認した。腹腔マクロファージにおいても同様に、M1 の発現亢進を認めた。

(2) 動脈硬化病変は、高脂肪食群と比較して、高脂肪食 + 自発的運動療法群、高脂肪食 + 強制運動群、高脂肪食 + ARB 投与群、高脂

肪食 + DRI 投与群、高脂肪食 + ARB 投与 + 自発的運動群、高脂肪食 + DRI 投与 + 自発的運動群の全ての群で抑制された。高脂肪食 + 自発的運動療法群の大動脈におけるマクロファージ発現は、高脂肪食群と比較して抑制された。大動脈血管リングによる内皮依存性血管弛反応は、高脂肪食群と比較して、高脂肪食 + 自発的運動療法群、高脂肪食 + ARB 投与群、高脂肪食 + DRI 投与群、高脂肪食 + ARB 投与 + 自発的運動群、高脂肪食 + DRI 投与 + 自発的運動群において抑制された。大動脈における IL-6 発現は、高脂肪食群と比較して有意に抑制された。

(3) 嫌気性代謝閾値に基づいた心臓リハビリテーション施行例に対し、骨格筋量、筋力、運動耐容能の変化を検討した。その結果、心臓リハビリテーションにより筋量、筋力、運動耐容能は有意に改善したが、糖尿病例では筋肉量の有意な改善は認めなかった。また、糖尿病例における運動耐容能の低下は、臨床的予後と関連した。

(4) 国内(日本循環器学会、日本心臓病学会、日本動脈硬化学会、日本心臓リハビリテーション学会等)、海外の学会(American Heart Association、EuroPREVENT等)に参加して、国内外の研究者と意見交換を行った。

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7件)

1. Miyazaki T, Hiki M, Shimada K, Kume A, Kiyonagi T, Sumiyoshi K, Daida H. High molecular weight adiponectin level is associated with atherogenic lipoprotein profiles in healthy Japanese males. *J Atheroscler Thromb*. 2014 in press. (査読有)
2. Nishitani M, Shimada K, Sunayama S, Masaki Y, Kume A, Fukao K, Sai E, Yamashita H, Ohmura H, Onishi T, Shioya M, Sato H, Shimada A, Yamamoto T, Amano A, Daida H. Effect of cardiac rehabilitation on muscle mass, muscle strength, and exercise tolerance in diabetic patients after coronary artery bypass grafting. *J Cardiol*. 61:216-221;2013. (査読有) doi: 10.1016/j.jjcc.2012.11.004
3. Shimada K. Diversity and plasticity of monocyte subsets: Tipping the delicate balance involved in pathogenesis of atherosclerosis. *Circ J*. 76:2331-2332; 2012. (査読有) <http://dx.doi.org/10.1253/circj.CJ-12-1052>
4. Fukao K, Shimada K, Naito H, Sumiyoshi K, Inoue N, Iesaki T, Yasue T, Toyoda S, Yoshihara T, Kume A, Kiyonagi T, Hiki M, Hirose K, Matsumori R, Ohsaka H, Sai

E, Yamashita H, Miyazaki T, Itoh S, Tada N, Daida H. Effects of voluntary exercise on the progression of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice: Protective role against vascular inflammation. *Inaugural International Academy of Sportology Proceeding*. 105-110;2012. (査読無)

5. Nishitani M, Shimada K, Sunayama S, Masaki Y, Kume A, Fukao K, Sai E, Yamashita H, Ohmura H, Onishi T, Shioya M, Sato H, Shimada A, Yamamoto T, Amano A, Daida H. Impact of diabetes on muscle mass, muscle strength, and exercise tolerance in patients after coronary artery bypass grafting. *J Cardiol*. 58:173-180;2011. (査読有) <http://dx.doi.org/10.1016/j.jjcc.2011.05.001>,
6. Hirose K, Iwabuchi K, Shimada K, Kiyonagi T, Iwahara C, Nakayama H, Daida H. Different responses to oxidized low-density lipoproteins in human polarized macrophages. *Lipids Health Dis*. 10:1;2011. (査読有) doi:10.1186/1476-511X-10-1
7. 島田和典, 大西朋, 正木克由規, 西谷美帆, 深尾宏祐, 久米淳美, 代田浩之. 高齢冠動脈疾患患者における維持期心臓リハビリテーションの臨床的有用性. *Ther Res* 32:704-709;2011. (査読有)

[学会発表](計21件)

1. Yokoyama M, Shimada K, Kume A, Masaki Y, Fukao K, Sai E, Yoshihara T, Tsuruta R, Yamamoto T, Amano A, Daida H. Prognostic impact of exercise tolerance and muscle strength in diabetic patients after offpump coronary artery bypass grafting. 78th Annual Meeting of JCS, Tokyo, 2014.3.
2. Yoshihara T, Shimada K, Fukao K, Sai E, Alshahi H, Miyazaki T, Daida H. Omega-3 polyunsaturated fatty acids suppresses development of abdominal aortic aneurysm in apoE-deficient mice by shifting the balance of macrophages from M1 to M2. American Heart Association Scientific Session 2013. 16-20 11, 2013. Dallas.
3. 吉原琢磨, 島田和典, 深尾宏祐, 蔡榮龍, 大坂裕通, 宮崎哲郎, 代田浩之. 動脈硬化モデルマウスにおける自発的運動とレニンアンジオテンシン系阻害薬の併用効果. 第45回日本動脈硬化学会総会プログラム・抄録集. Page96 (2013.07.19) 新宿東京
4. Shahi HA, Shimada K, Sai E, Yoshihara T, Miyazaki T, Miyauchi K, Daida H. The

- levels of Inflammatory Cytokines in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Patients with Acute Coronary Syndrome. The 45th Annual Scientific Meeting of the Japan Atherosclerosis Society. Page89 (2013.07.19) Shinjyuku Tokyo.
5. 横山美帆、島田和典、砂山聡、正木克由規、久米淳美、深尾宏祐、蔡榮龍、吉原琢磨、大村寛敏、塩谷みき、北田友治、佐藤裕之、鶴田亮、山本平、天野篤、代田浩之。オフポンプ冠動脈バイパス術後患者における心臓リハビリテーション開始時の運動耐容能と長期予後との関連。第19回日本心臓リハビリテーション学会学術総会。平成25年7月14日 仙台 宮城。
 6. 塩谷みき、島田和典、横山美帆、正木克由規、久米淳美、深尾宏祐、蔡榮龍、吉原琢磨、北田友治、佐藤裕之、天野篤、河合祥雄、代田浩之。外来心臓リハビリテーション継続における当院でのグループプログラムの実績と結果。第19回日本心臓リハビリテーション学会学術総会。平成25年7月14日 仙台 宮城。
 7. 深尾宏祐、島田和典、内藤久土、河合祥雄、形本静夫、宮崎哲朗、久米淳美、横山美帆、比企誠、蔡榮龍、大坂裕通、吉原琢磨、代田浩之。持久的運動の種目による運動耐容能と循環器系バイオマーカーとの関連。第19回日本心臓リハビリテーション学会学術総会。平成25年7月14日 仙台 宮城。
 8. Shimada K, Yokoyama M, Masaki M, Kume A, Fukao K, Sai E, Yoshihara T, Sato H, Sunayama S, Tsuruta R, Yamamoto T, Amano A, Daida H. Cardiac Rehabilitation in Post CABG Patients with Coronary Risk Factors. *Circ J.* 77(Suppl. 1):I-222;2013
 9. 島田和典、西谷美帆、正木克由規、久米淳美、深尾宏祐、蔡榮龍、吉原琢磨、大村寛敏、塩谷みき、砂山聡、佐藤裕之、山本平、天野篤、代田浩之。CABG術後患者における心臓リハビリテーション：筋量・筋力・運動耐容能に対する糖尿病の影響。第26回日本冠疾患学会学術集会 合同パネルディスカッション2。CABG/PCI後の心臓リハビリとOptimal Medical Therapy (OMT) (2012.12)
 10. 西谷美帆、島田和典、砂山聡、正木克由規、久米淳美、深尾宏祐、蔡榮龍、吉原琢磨、大村寛敏、塩谷みき、佐藤裕之、山本平、天野篤、代田浩之。高齢冠動脈バイパス術後患者における糖尿病の影響：心臓リハビリテーション前後の運動耐容能・筋力・筋肉量の比較。日本心臓病学会誌7巻Suppl.1 Page281 (2012.08)
 11. 西谷美帆、島田和典、深尾宏祐、正木克由規、久米淳美、蔡榮龍、吉原琢磨、大西朋、塩谷みき、砂山聡、天野篤、代田浩之。糖尿病とメタボリックシンドローム症例における心臓リハビリテーション。第18回日本心臓リハビリテーション学会学術総会。平成24年7月14日 大宮 埼玉。
 12. 西谷美帆、島田和典、砂山聡、正木克由規、久米淳美、深尾宏祐、蔡榮龍、吉原琢磨、大村寛敏、大西朋、塩谷みき、佐藤裕之、山本平、天野篤、代田浩之。高齢冠動脈バイパス術後患者における心臓リハビリテーション開始時の運動耐容能、下肢筋力への糖尿病の影響。第18回日本心臓リハビリテーション学会学術総会。平成24年7月14日 大宮 埼玉。
 13. Nishitani M, Shimada K, Sunayama S, Masaki Y, Kume A, Fukao F, Sai E, Ohmura H, Sato H, Yamamoto T, Amano A, Daida H. Effects of cardiac rehabilitation on muscle mass, muscle strength and exercise tolerance, in diabetic patients after coronary artery bypass grafting. 76th Annual Meeting of JCS, Fukuoka, 2012.3.
 14. Fukao K, Shimada K, Yoshihara T, Sai E, Inoue N, Toyoda S, Iesaki T, Miyazaki T, Kume A, Kiyonagi T, Hiki M, Hirose K, Matsumori R, Ohsaka H, Masuda H, Daida H. Combination therapy of voluntary exercise with aliskiren had additive effects on atherosclerotic lesion formation in apolipoprotein E-deficient mice. 76th Annual Meeting of JCS, Fukuoka, 2012.3.
 15. Nishitani M, Shimada K, Kume A, Fukao K, Sai E, Ohmura H, Onishi T, Shioya M, Sato H, Amano A, Daida H. Impact of diabetes on muscle mass, muscle strength, and exercise tolerance in elderly patients after coronary artery bypass grafting. EuroPREVENT 2012. Dublin. Ireland.
 16. Shimada K, Sai E, Miyauchi K, Masaki Y, Kojima T, Yoshihara T, Ohsaka H, Fukao K, Hirose K, Miyazaki T, Ohsaka A, Daida H. Predictive values of C-reactive protein and polyunsaturated fatty acids for cardiocerebrovascular events and mortality after elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting stents. ISHR. 2011. Tokyo.
 17. Hirose K, Shimada K, Iwabuchi K, Kiyonagi T, Iwahara C, Nakayama H, Yamashita H, Miyazaki T, Kume A, Hiki M, Fukao K, Matsumori R, Ohsaka H, Masuda H, Sai E, Daida H. M1, but Not M2 macrophages, characteristically respond to oxidized low-density lipoprotein: Transcriptional analysis in human polarized macrophages. *Circulation.* 2011;124:A12930.
 18. Nishitani M, Shimada K, Sunayama S,

- Masaki M, Kume A, Fukao K, Sai E, Yamashita H, Ohmura H, Onishi T, Shioya M, Sato H, Shimada A, Yamamoto T, Amano A, Daida H. Associations between muscle mass, muscle strength, and exercise tolerance in patients with or without diabetes after coronary artery bypass grafting. EuroPREVENT 2011. Geneva. Switzerland.
19. Nishitani M, Shimada K, Sunayama S, Kume A, Onishi T, Sato H, Amano A, Daida H. Effects of cardiac rehabilitation on muscle mass, muscle strength and exercise tolerance in diabetic patients after coronary artery bypass grafting. ICCAD 2011. Venice. Italy.
 20. 西谷美帆, 島田和典, 砂山聡, 正木克由規, 久米淳美, 深尾宏祐, 蔡榮龍, 山下晴世, 大村寛敏, 大西朋, 塩谷みき, 佐藤裕之, 嶋田晶江, 山本平, 天野篤, 代田浩之. 心臓バイパス術後患者における急性期心臓リハビリテーション開始時の運動耐容能・下肢筋力への糖尿病の影響. 日本心臓リハビリテーション学会プログラム・抄録集第17回 (2011.07.)
 21. 西谷美帆, 島田和典, 砂山聡, 正木克由規, 久米淳美, 深尾宏祐, 蔡榮龍, 大村寛敏, 大西朋, 塩谷みき, 佐藤裕之, 嶋田晶江, 山本平, 天野篤, 代田浩之. 冠動脈バイパス術後患者における糖尿病の影響 心臓リハビリテーション前後の運動耐容能, 筋力, 筋肉量の比較. 日本心臓病学会誌 6 巻 Suppl. I Page245(2011.08)
- [図書](計11件)
1. 島田和典, 高橋修平. 冠動脈疾患を予防します. そうだったんだ脂肪酸. 文光堂. 東京. 98-103; 2013.
 2. 比企誠, 島田和典, 代田浩之. 新たな血管内皮機能評価法 Endo-PAT 2000 の有用性. Diabetes Journal: 糖尿病と代謝. 41: 39-44; 2013
 3. Hirose K, Kiyonagai T, Shimada K, Daida H, Iwabuchi K. Macrophages: Life Cycle, Functions and Participation in the Pathogenesis of Atherosclerosis. Handbook of Macrophages: Life Cycle, Functions and Diseases. 423-434. Nova Science Publishers, Inc. 2012.
 4. 島田和典, 高橋修平, 恩田俊仁. Th1/Th2 バランス. Heart View 循環器のバイオマーカー メジカルビュー社. 東京. 192-195; 2012.
 5. 島田和典. 動脈硬化症. 新臨床栄養学 第2版 医学書院. 東京. 381-387; 2012.
 6. 島田和典, 高橋秀平, 恩田俊仁. 各種バイオマーカーの循環器疾患における意義 Th1/Th2 バランス. Heart View. 16: 192-195; 2012.
 7. 正木克由規, 島田和典, 代田浩之. 虚血

- 性心疾患の栄養管理 心臓リハビリテーションとは. 臨床栄養. 121:38-43;2012.
8. 吉原琢磨, 島田和典, 代田浩之. 動脈硬化関連バイオマーカー最新の知見 炎症関連分子. 循環器内科 70:177-181;2011.
 9. 蔡榮龍, 島田和典, 代田浩之. 炎症と理学療法 慢性炎症と生活習慣病. 理学療法ジャーナル. 45:419-426;2011.
 10. 西谷美帆, 島田和典, 代田浩之. 心臓リハビリテーション・運動療法のプラク安定化作用と血管保護効果. 呼吸と循環 59 巻:227-232;2011.
 11. 島田和典, 深尾宏祐, 大西朋, 西谷美帆, 正木克由規, 井上奈穂, 住吉克彦, 豊田佐織, 高橋康恵, 角出貴宏, 久米淳美, 山下晴世, 大坂裕通, 蔡榮龍, 家崎貴文, 多田昇弘, 内藤久土, 代田浩之. 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.

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)連携研究者

内藤 久土 (NAITO, HISASHI)
順天堂大学スポーツ健康科学研究科
教授
研究者番号: 70188861

岩淵 和久 (IWABUCHI, KAZUHISA)
順天堂大学・医療看護学研究科・教授
研究者番号: 10184897