

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月10日現在

機関番号：11301
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23700593
 研究課題名（和文）メタボリックシンドロームへのリハビリテーションにおける組織一酸化窒素系の解明
 研究課題名（英文）Elucidation of the rehabilitation effects on nitric oxide factors in metabolic syndrome model
 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）：メタボリックシンドロームモデルラットを用いて、長期的運動が主に心臓、腎臓、大動脈、下肢骨格筋のNitric Oxide(NO)系へ与える影響を検討した。Zucker obese ラットにトレッドミル運動を8週間施行した。ブドウ糖負荷試験において、obese ラットにおいて、運動群がコントロール群と比較して有意に改善がみられた。左室、胸部大動脈、下肢骨格筋、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が増強する傾向であった。

研究成果の概要（英文）：I examine the effects of the exercise training on nitric oxide (NO) system in metabolic syndrome model of rats. Exercise improved insulin resistance, and tended to increase the expression of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and neuronal NOS (nNOS) in left ventricle and kidney of 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
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

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、メタボリックシンドローム、一酸化窒素

1. 研究開始当初の背景

近年、メタボリックシンドローム(以下、

MS)である高血圧、肥満、高脂血症、糖尿病を有する患者が増加し、社会的に問題となっ

ている。運動療法は、冠動脈疾患、脳血管疾患、高血圧症、肥満、高脂血症改善に有効である (Hypertension 46: 667-675, 2005、Am J Cardiol 14: 753-760)。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、Zucker obese ラットの骨格筋や腎臓では NO が低下している (Biochem J 329: 73-79, 1998、Kidney Int 68: 2766-2772, 2005)。

腎臓において NO は、腎血管トーンスの減少に加えて、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_x 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)。一方で、長期的運動による腎 NOS 発現や腎機能への影響についてはこれまで報告はないにもかかわらず、腎疾患への運動療法は推奨されていない。しかし、5/6 腎摘による慢性腎不全モデルラットに対して長期的運動を行った結果、腎不全による尿蛋白排泄量増加や腎糸球体硬化が改善することが明らかにされている (Am J

Hypertens 19:80-86, 2006)。

健康人や健常動物への運動のNO系への影響、心臓や腎臓機能におけるNOの役割についてはこれまで数多くの論文が発表されているが、MSモデルや腎不全モデルに対する長期的運動の組織NO系への影響についての報告はない。以上のエビデンスを踏まえて、各種病態モデルにおける長期的運動のNO系への影響の検討が望まれる。

研究代表者は、高血圧自然発症ラット (SHR) において、長期的運動により降圧とともに腎組織の NOS 蛋白発現が増強することを既に明らかにしている (*Clin Exp Pharmacol Physiol* 40: 74-82, 2013)。また、血管内皮改善作用などの薬理作用を有する高脂血症治療薬である HMG-CoA 還元酵素阻害薬、スタチンを SHR に慢性投与し、長期的運動と同様に、降圧および腎組織における NOS 蛋白発現が増強することも報告している (*J Hypertens* 28: 2278-2288, 2010)。更に応募者は、平成 20-22 年度文部科学省科学研究費補助金若手研究 (B) 「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」において、慢性心不全 (CHF) モデルラットにおいて、心血管および腎組織の NOS 蛋白発現が減少していること、さらに長期的運動により CHF ラットの心機能・腎機能の改善とともに心血管および腎組織の NOS 蛋白発現が増強することを初めて明らかにした (論文投稿中)。

これらのことから、長期的運動が MS モデルにおいても NO 系を活性化すると予想される。したがって、MS に対するリハビリテーション (運動療法) の有効性の機序を解明するため、MS モデルにおける心臓、腎臓、大動脈、下肢骨格筋などの組織 NOS 系や心機能・腎機能への影響の検討を着想するに至ったものである。

2. 研究の目的

運動療法は、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、また、糖・脂質代謝の改善および臓器機能の改善にも寄与している。NOはL-arginineからNOSによって生成される。NOSには、Ca²⁺/カルモジュリン濃度依存性で常在型 NOSに属するnNOSと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。運動によってラットの心臓や血管、骨格筋のNOSが増強することや、MSモデルラットや腎不全モデルラットではNO系が低下していることが報告されている。しかし、各種病態モデルにおける運動のNO系への影響については未だ明らかになっていない。そこで本研究は、MSへのリハビリテーション(運動療法)の有効性の機序を明らかにするため、MS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目的とする。

3. 研究の方法

Zucker obese ラットと Zucker lean ラットをそれぞれコントロール群と運動群に分け、運動群にはトレッドミル運動(20m/分、60分/回、5回/週)を4週間施行する。期間終了後、各群から心臓、腎臓、胸部大動脈、下肢骨格筋を摘出し、NOについて生化学的に検討する。NOの合成酵素であるeNOS、nNOS、iNOSおよびそれらに関わるとされるAkt、低分子量G蛋白および酸化ストレス関連酵素の組織における発現をウェスタンブロット法およびRT-PCR法により検討する。その他、血清・尿の脂質や蛋白等各パラメーター測定、ELISA法によるインスリン測定も実施する。

長期的運動が運動耐用能に与える影響についても検討する。4週間の運動終了直前に、

各群のラットに対してトレッドミル運動と呼気ガス分析を施行し、総走行距離と最高酸素摂取量を測定して、運動耐容能を評価する。これにより運動耐容能への運動の有効性を検討する。

4. 研究成果

ブドウ糖負荷試験において、obese ラットにおいて、運動群がコントロール群と比較して有意に改善がみられた。また、運動耐容能検査においても、obese ラットにおいて、運動群がコントロール群と比較して有意に運動耐容能(最高酸素摂取量、総走行距離)の改善がみられた。左室、胸部大動脈、下肢骨格筋、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が増強する傾向であった(その他のパラメーターも含めて現在解析中)。メタボリックシンドロームモデルにおける腎のNOSへの影響はこれまで報告がなく、本研究で初めて明らかになることとなり、全て解明されれば、メタボリックシンドロームへのリハビリテーションの有効性の機序の一部が解明されることとなる。

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2件)

1. Ito D, Ito O, Cao P, Mori N, Suda T, Muroya Y, Takashima K, Kohzuki M. Effects of exercise training on nitric oxide synthase in the kidney of spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 40: 74-82, 2013

DOI: 10.1111/1440-1681.12040

(査読有)

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. 慢性心不全モデルラットにおける長期的運動の心・腎一酸化窒素合成酵素に対する影響. 日本心不全学会 News Letter 16:19-22, 2012 (査読無)

[学会発表] (計8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長期的運動の心・腎一酸化窒素合成酵素に対する影響. 第16回日本心不全学会 (仙台), 2012. 11. 30
2. Ito D, Ito O, Cao P, Mori N, Suda C, Muroya Y, Takashima K, Kohzuki M. Effects of exercise training on nitric oxide synthases expression and phosphorylation in the kidney of spontaneously hypertensive rats. 24th Scientific Meeting of International Society of Hypertension (Sydney, Australia), 2012. 9. 30
3. 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. 長期的運動が慢性心不全ラットの心・腎一酸化窒素合成酵素に及ぼす影響. 第18回日本心臓リハビリテーション学会 (さいたま), 2012. 7. 13
4. 伊藤大亮, 伊藤 修, 曹 鵬宇, 森 信芳, 室谷喜一, 高島健太, 上月正博. 腎 NO 系に対する長期的運動の影響. 第12回日本 NO 学会 (神戸), 2012. 6. 29
5. 伊藤大亮, 伊藤 修, 曹 鵬宇, 森 信芳, 上月正博. 血圧と腎 Nitric oxide 系に対する長期的運動の影響. 第47回日本理学療法学会 (神戸), 2012. 5. 25
6. 伊藤大亮, 伊藤 修, 曹 鵬宇, 森 信芳, 須田千尋, 室谷喜一, 高島健太, 上月正博. 腎 nitric oxide 系に対する長期的運動の影響. 第2回日本腎臓リハビリテーション学会 (仙台), 2012. 1. 21
7. Ito D, Ito O, Mori N, Suda C, Hao K, Cao P, Muroya Y, Takashima K, Shimokawa H, Kohzuki M. Exercise training increases nitric oxide synthases in the kidney of rats with chronic heart failure. American Heart Association High Blood Pressure Research 2011 Scientific Sessions (Orlando, USA), 2011. 9. 21
8. Ito D, Ito O, Mori N, Suda C, Hao K, Cao P, Muroya Y, Takashima K, Shimokawa H, Kohzuki M. Disability prevention of cardiovascular and chronic kidney diseases: Effects of exercise training on nitric oxide synthases in rats with chronic heart failure. 6th World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine (San Juan, Puerto Rico), 2011. 6. 12

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

(3) 連携研究者