

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350590

研究課題名(和文) リハビリテーション運動療法における一酸化窒素系および交感神経系の役割の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the rehabilitation effects on nitric oxide and sympathetic nervous system

研究代表者

伊藤 大亮 (ITO, DAISUKE)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50466570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： 高血圧自然発症ラット(SHR)を、偽手術群、除神経処置群、運動群、除神経処置+運動群の4群に分け、トレッドミル運動を8週間施行した。収縮期血圧は、開始後2週間で偽手術群に比較して他3群が低値を示し、最終8週間後では、加えて除神経処置+運動群が除神経処置群と運動群より更に低値を示した。尿中アルブミンクレアチニン比は、偽手術群に比較して他3群が低値、体重当たりクレアチンクリアランス値は、偽手術群に比較して他3群が高値を示し、両介入共腎機能改善効果が示唆されたが相加効果は認めなかった。その他、血漿および腎組織のノルエピネフリン濃度、NO系、酸化ストレス系、免疫組織化学的検討は現在解析中である。

研究成果の概要(英文)： The present study evaluated the effects of the chronic aerobic running exercise and renal denervation on blood pressure and renal nitric oxide (NO) system in spontaneously hypertensive rats (SHR). Rats were randomly divided into 4 groups, sham-operated, renal denervated, forced treadmill exercised (20 m/min, 60 min/day, 5 days/week, 8 weeks) and combined (renal denervation and exercise) groups.

Both renal denervation and exercise decreased, and the combination further decreased systolic blood pressure in SHR. Compared with sham-operated groups, other 3 groups indicated lower albumin secretion and higher creatinine clearance in SHR. Analysis of renal norepinephrin, nitric oxide system, oxidative stress and histology are in progress. To elucidate the mechanisms of effects of exercise, involvements of renal sympathetic nervous system and nitric oxide system, would elevate the evidence of beneficial effects of chronic aerobic exercise on hypertension.

研究分野： 内部障害リハビリテーション(特に腎臓リハ、心臓リハ)、高血圧学、腎臓病学、一酸化窒素、酸化ストレス

キーワード： 運動療法 一酸化窒素 交感神経 高血圧 腎臓

1. 研究開始当初の背景

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. 2005; 46: 667-675)。一酸化窒素 (NO) は主に血管弛緩因子として作用し、NO 合成酵素 (NOS) 阻害薬で血圧上昇 (Eur. J. Pharmacol. 2001; 411: 175-80)、NOS 基質の L-arginine 投与で血圧は低下する (J. Clin. Invest. 1991; 88: 1559-67)。高血圧自然発症ラット (SHR) にヒト内皮型 NOS (eNOS) 遺伝子投入で血圧が低下することも報告されている (Hypertension. 1997; 30: 307-13)。

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系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. 1992; 90: 278-81)。また、腎不全モデルラットでは eNOS、神経型 NOS (nNOS) および尿中の NO₂/NO₃ (NO_x) 量が低下している (J Am Soc Nephrol. 2002; 13: 2278-87)。また、運動療法の効果の機序として 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. 2002; 1587:75-82)。これら腎において重要な NO と交感神経系との関与についてもいくつか報告があり、SHR において NO が腎交感神経活性 (RSNA) による血圧への影響に関与 (Hypertens Res. 20: 35-42, 1997)、NOS 阻害剤によってラットの RSNA が亢進 (Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 1995; 269: R807-13)、腎除神経処置によって、血圧とレニン濃度が減少する (Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2008; 294: R1130-39) ことが報告されている。また、心不全モデルラットにおいて、運動が視床下部室傍核の nNOS 増強を介して、RSNA

を抑制することも確認されている (Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2005; 288: H2332-41)。

運動の NO 系や交感神経系への影響および腎機能における 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、長期的運動の降圧や腎保護効果の機序として、腎 NO 系および交感神経系の関与についての報告はない。

研究代表者は、SHR において、長期的運動により降圧とともに腎組織の eNOS、nNOS 蛋白発現が増強することを明らかにした (Clin Exp Pharmacol Physiol. 2013; 40: 74-82)。また、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 eNOS、nNOS 蛋白発現が増強することを明らかにした (J Hypertens. 2010; 28: 2278-88)。さらに、平成 20-22 年度文部科学省科学研究費補助金若手研究(B)(研究代表者)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・腎機能および運動耐容性の改善とともに心血管および腎組織の eNOS、nNOS 蛋白発現が増強することを明らかにした (Clin Exp Pharmacol Physiol. 2013; 40: 617-25)。これらのことから、長期的運動が降圧や腎保護効果を有し、NO 系を活性化し、加えて交感神経系が関与することが予想される。したがって、運動療法の有効性の機序を解明するため、降圧・腎保護効果の機序解明として、交感神経系の関与の検討を着想するに至った。

2. 研究の目的

運動療法は心疾患や脳血管疾患に対するリハビリテーションとしてその有効性が明らかになっている。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。研究代表者はこれまで、長期的運動の有効性の機序解明に取り組み、心血管系や腎臓のNO系の関与を明らかにしてきた。本研究の目的は、新たに降圧や臓器保護に重要な交感神経系に焦点をあて、長期的運動の有効性の機序として、NO系に加えて交感神経系の関与を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

SHR を用いて、腎除神経処置およびラット用トレッドミルによる長期的運動を施行し、血圧、交感神経、腎 NO 系、酸化ストレス系への影響を明らかにする。SHR をそれぞれ、偽手術群、除神経処置群、運動群、除神経処置 + 運動群の 4 群に無作為に分ける。除神経処置群には腎の除神経処置を行い、運動群には、トレッドミル運動 (20m/分、60 分、5 回/週) を 8 週間施行する。

血漿、24 時間蓄尿にてアルブミン、クレアチニン他生化学測定を行う。血圧は、tail cuff 法にて測定する。交感神経は、血漿、尿および腎組織のノルエピネフリン濃度を測定して評価する。NO 系は、腎組織の NOS 活性および各 NOS (eNOS、nNOS、iNOS) 蛋白発現をウェスタンブロット法で検証し、評価する。酸化ストレス系は、腎組織における NADPH oxidase 活性、Nitrotyrosine 蛋白発現を、それぞれ測定キットおよびウェスタンブロット法で検証し、評価する。また、免疫組織化学的検討で腎障害も評価する。

4. 研究成果

収縮期血圧は、開始後 2 週間で偽手術群に比較して他 3 群が低値を示し、最終 8 週間後では、加えて除神経処置 + 運動群が除神経処置群と運動群より更に低値を示し、相加降圧効果が示された。8 週間後の血漿および 24 時間

蓄尿での尿の解析結果より、尿中アルブミンクレアチニン比は、偽手術群に比較して他 3 群が低値、体重当たりクレアチンクリアランス値は、偽手術群に比較して他 3 群が高値を示し、両介入共腎機能改善効果が示唆されたが相加効果は認めなかった。その他、血漿および腎組織のノルエピネフリン濃度、NO 系、酸化ストレス系、免疫組織化学的検討は現在解析中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1. Ito D, Cao P, Kakihana T, Sato E, Suda C, Muroya Y, Ogawa Y, Gaizun H, Ishii T, Ito O, Kohzuki M, Kiyomoto H. Chronic running exercise alleviates early progression of nephropathy with upregulation of nitric oxide synthases and suppression of glycation in zucker diabetic rats. PLOS ONE 10: e0138037, 2015
DOI: 10.1371/journal.pone.0138037 査読有
2. Ito D, Ito O, Mori N, Cao P, Suda T, Muroya Y, Hao K, Shimokawa H, Kohzuki M. Exercise training upregulates nitric oxide synthases in the kidney of rats with chronic heart failure. Clin Exp Pharmacol Physiol 40: 617-625, 2013
DOI: 10.1111/1440-1681.12130 査読有
3. 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
4. 伊藤大亮 慢性心不全モデルラットの心・腎一酸化窒素合成酵素に対する、長期的運動の効果 . 東北医学雑誌 125 :179-182 , 2013 査読無

〔学会発表〕(計 11 件)

1. 伊藤大亮 . 腎リハの分子生物学的検討 ~ エビデンス確立への架け橋を目指して~ .第 6 回日本腎臓リハビリテーション学会 , 岡山コンベンションセンター (岡山県・岡山市) , 2016.3.26-27
 2. 伊藤大亮, 曹 鵬宇, 柿花隆昭, 佐藤恵美子, 胡 巧尊, 室谷嘉一, 小川佳子, 伊藤修,上月正博, 清元秀泰. 糖尿病モデルにおける長期的有酸素運動の腎レニン・アンジオテンシン系と酸化ストレス系への影響. 第 8 回(P)RR フォーラム , 岐阜大学医学部記念会館 (岐阜県・岐阜市) , 2016.3.19
 3. 伊藤大亮, 伊藤修, 清元秀泰. 有酸素運動療法は一酸化窒素合成酵素 (NOS) の発現と活性を促進し、心腎連関における悪循環を是正する. 第 10 回高血圧と冠動脈疾患研究会 , 大手町サンケイプラザ (東京都・千代田区) , 2015.12.19
 4. 伊藤大亮, 曹 鵬宇, 柿花隆昭, 佐藤恵美子, 胡 巧尊, 室谷嘉一, 小川佳子, 伊藤修,上月正博, 清元秀泰. Zucker diabetic fatty ラットにおける長期的運動の腎酸化ストレス系への影響. 第 19 回日本心血管内分泌代謝学会 , 神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市) , 2015.12.10-12
 5. 伊藤大亮, 曹 鵬宇, 柿花隆昭, 須田千尋, 佐藤恵美子, 小川佳子, 胡 巧尊, 石井 正, 伊藤修,上月正博, 清元秀泰. 長期的有酸素運動は酸化ストレスと糖化ストレス軽減を介して 2 型糖尿病ラットの糖尿病性腎症を改善する. 第 27 回日本糖尿病性腎症研究会 , ベルサール汐留 (東京都・中央区) , 2015.12.5-6
 6. 伊藤大亮, 曹 鵬宇, 柿花隆昭, 須田千尋, 佐藤恵美子, 小川佳子, 伊藤修, 上月正博, 清元秀泰. 2 型糖尿病肥満モデルラットにおける長期的運動の腎 NOS 蛋白発現への影響. 第 15 回日本 NO 学会 , 千里ライフサイエンスセンター (大阪府・豊中市) , 2015.6.27-28
 7. 伊藤大亮, 曹 鵬宇, 柿花隆昭, 須田千尋, 佐藤恵美子, 小川佳子, 伊藤修, 上月正博, 清元秀泰. 2 型糖尿病肥満モデルラットにおける長期的運動の腎 NO 合成酵素および酸化ストレス系への影響. 第 58 回日本腎臓学会 , 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市) , 2015.6.5-7
 8. 伊藤大亮, 曹 鵬宇, 柿花隆昭, 須田千尋, 佐藤恵美子, 坂田佳子, 伊藤修, 上月正博, 清元秀泰. 2 型糖尿病肥満モデルラットにおける長期的運動の腎一酸化窒素合成酵素および脂質酸化への影響. 第 27 回 腎と脂質研究会 , 金沢市文化ホール(石川県・金沢市) , 2015.4.18
 9. 伊藤大亮, 伊藤修, 森 信芳, 須田千尋, 羽尾清貴, 曹 鵬宇, 阿部倫明, 清元秀泰, 石井 正, 上月正博 . 長期的運動は慢性心不全モデルラットの心・腎一酸化窒素合成酵素を増強させる . 第 14 回日本 NO 学会 (佐賀県・佐賀市) , 2014.5.16-17
 10. Ito D, Cardiac Rehabilitation, Evaluation of exercise tolerance and exercise prescription. 2014 Binhai International Cardiac Rehabilitation Symposium, Chinese Cardiac Rehabilitation Clinical Skill Conference , Tianjin (China), 2014.9.21-23
 11. Ito D, Cao P, Kakihana T, Sato E, Muroya Y, Ogawa Y, Hu G, Ishii T, Ito O, Kohzuki M, Kiyomoto H. Effects of aerobic exercise on oxidative stress in the kidneys of type2 diabetic rats. American Heart Association, Epidemiology and Prevention, Lifestyle and Cardiometabolic Health 2016 Scientific Sessions, Phoenix (USA), 2016.3 .1-4
6. 研究組織
(1)研究代表者
伊藤 大亮 (ITO, Daisuke)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：50466570

(2)研究分担者

伊藤 修 (ITO, Osamu)

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：00361072

上月 正博 (KOHZUKI, Masahiro)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：70234698