

SHR と WKY の血圧とレニン-アンギオテンシン系に及ぼす 自発走運動の影響(第2報)

林 あつみ, 小林 愛, 木元 幸一

(平成12年10月5日受理)

Effects of Voluntary Running Exercise on Blood Pressure and Renin-Angiotensin System in Spontaneously Hypertensive Rats and Normotensive Wistar-Kyoto Rats (Part 2)

Atsumi HAYASHI, Ai KOBAYASHI and Koichi KIMOTO

(Received on October 5, 2000)

キーワード：自発走運動, 血圧, ACE活性

Key words: voluntary running exercise, blood pressure, ACE activity

緒 言

高血圧は, 原因の明らかな二次性高血圧と, 原因不明の本態性高血圧に分類される。全国に3,000万人以上と推定される高血圧患者の90%以上は本態性高血圧であると言われる。

高血圧の発症には複数の遺伝因子と環境因子が関与する。そしてその治療は, 軽症および中等症の場合, 非薬物療法すなわち生活習慣の改善から始められる。非薬物療法としては食塩の制限, 肥満者の体重減量, 飲酒の制限, そして運動等があげられる。

運動による降圧の機序は, 交感神経抑制¹⁾, 体液量の減少²⁾, 心拍出量の低下³⁾, 末梢血管抵抗の低下⁴⁾によるといわれている。すなわち, 昇圧系を抑制し降圧系を活性化することにより血圧調節を行うと考えられる。

我々は, 血圧調節, 水・電解質バランスなどに関与する重要な生体調節系の一つであるレニン-アンギオテンシン(RA)系について, 運動による血圧変動における関与を追跡してきた。そして, 高血圧自然発症ラット(SHR)に自発走運動を負荷することにより血圧と血漿レニン活性に変化を認め, 運動による降圧効果に対するRA系の関与が示唆されたことを報告した⁵⁾。今回は,

特にACE阻害薬による血圧変動とその抑制が一致すると報告された⁶⁾, 組織アンギオテンシンI変換酵素(ACE, EC 3.4.15.1)活性である大動脈ACE活性について検討を行った。さらに, 15週齢の実験終了時における臓器重量の検討を行ったので報告する。

実験方法

1. 実験動物及び飼育方法

4週齢の雄性高血圧自然発症ラット17匹及びWistar-Kyotoラット(WKY)16匹を日本チャールス・リバー株式会社より購入し, 1週間の予備飼育の後, 各々2群に分けた。うち1群は運動群とし, 1周1メートルの回転ケージに入れて自由走行させ, 毎日定時に運動量(走行距離)を測定した。残る1群は, 非運動群(対照群)とした。運動群, 非運動群ともに飼料は, 日本クレアCE-2固型飼料, 飲料水は水道水を用い, それぞれ自由摂取とした。ラットは, 温度 $23\pm1^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55\pm5\%$ そして, 12時間明暗周期(明期6:00~18:00)に保持した部屋で飼育した。

2. 血圧測定

実験期間の間, 収縮期血圧は週に1回測定した。血圧測定は, 無麻酔下, 非観血法でラット尾動脈圧測定装置(ソフトロンBP-98A)を用い, ラットをあらかじめ保温器(約 40°C)中で4分間加温した後, 測定を行った。

*栄養科 栄養生化学研究室

3. 解剖及び ACE 活性測定用試料調製

実験の最終日に 24 時間絶食後、エーテル麻酔下解剖した。腹部大動脈より採血した後、胸部大動脈、腸管膜及び臓器を摘出し重量を測定した。血液については、ヘパリンで処理した後、血漿を分離した。胸部大動脈、腸管膜動脈については、ACE 活性測定用試料とするため、水中で細切した後、冷却した 2mL の 200mM ホウ酸緩衝液 pH8.3 中でテフロンホモジナイザーを用いることにより粉碎した。遠心分離後、上清を血管組織の粗 ACE 抽出液として用いた。

4. ACE 活性測定法

ACE 活性は、Cushman と Cheung の改良法⁷⁾に準じて測定した。200mM ホウ酸緩衝液 pH8.3 に 7mM になるように溶解した Hip-His-Leu, 2M NaCl そして粗 ACE 抽出液を混合して 37°C 30 分間インキュベートした後、1N HCl で反応を停止した。遊離した馬尿酸を酢酸エチルで抽出し、遠心分離後、採取した上層を濃縮遠心により蒸発乾固した後、水に溶解し 228nm の吸光度を測定した。

5. 統計処理

測定値は、平均値±標準偏差で表し、有意差検定は F-test により等分散性を検定後、Student の t-test あるいは Welch の t-test により行った。

結果

1. 走行距離

走行距離については、SHR において 10 週齢で 6,720 km/day を記録したが 15 週齢では 3,466km/day と減少した。WKY においては 10 週齢で 8,293km/day を記録し、そしてそれは 15 週齢における実験終了まで維持された⁹⁾。

2. 収縮期血圧および心拍数

両ラットの運動グループの収縮期血圧は 9 週齢以降、非運動群と比較して有意な抑制を示した。15 週齢の実験終了時において、SHR 非運動群の収縮期血圧は 204 ± 7.8 mmHg に対し、運動群は 172 ± 13.5 mmHg であった。WKY 非運動群の収縮期血圧は 134 ± 5.1 mmHg に対し、運動群は 126 ± 6.6 mmHg であった⁹⁾。

心拍数については、Fig. 1 に示した。SHR, WKY 共に非運動群と比較して運動群において有意な減少を示した。

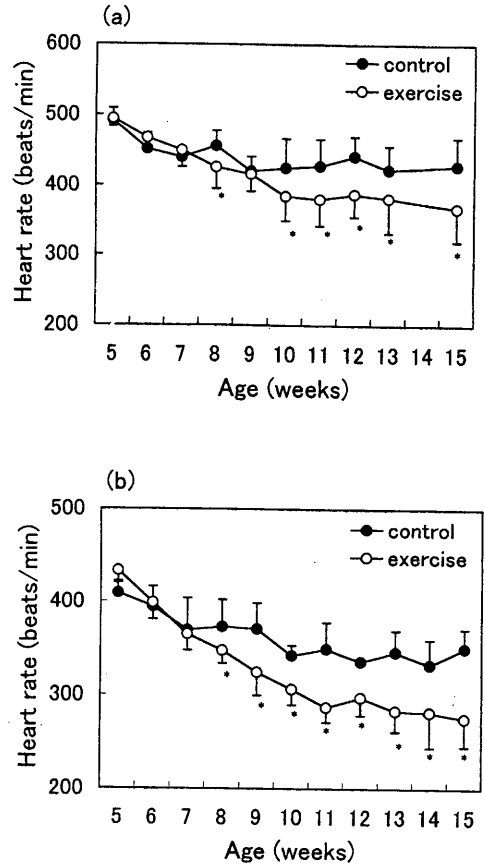


Fig.1 Heart rate of exercised group and control group in SHR and WKY. (a); SHR, (b); WKY.

●; control group,
○; exercised group. The values are expressed as the mean±SD.

*, p<0.05, compared to control group.

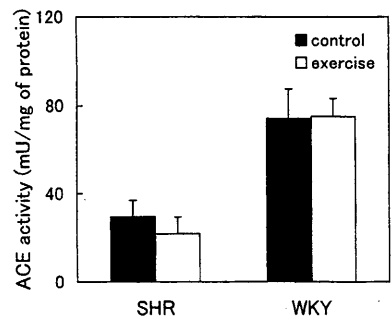


Fig.2 Thoracic aorta ACE activity of exercised group and control group in SHR and WKY.

■; control group,
□; exercised group. The values are expressed as the mean±SD.

Table 1 Organ weights of control and exercised groups at the 15th week

	SHR		WKY	
(g/100g body weight)	control (n=9)	exercise (n=8)	control (n=8)	exercise (n=8)
Heart	0.35 ± 0.006	0.41 ± 0.044*	0.35 ± 0.012	0.43 ± 0.024*
Liver	2.98 ± 0.088	2.80 ± 0.094*	2.63 ± 0.060	2.96 ± 1.790*
Kidney	0.65 ± 0.031	0.69 ± 0.034*	0.67 ± 0.022	0.78 ± 0.065*
Stomach	0.42 ± 0.034	0.43 ± 0.021	0.44 ± 0.021	0.45 ± 0.030

* p<0.05

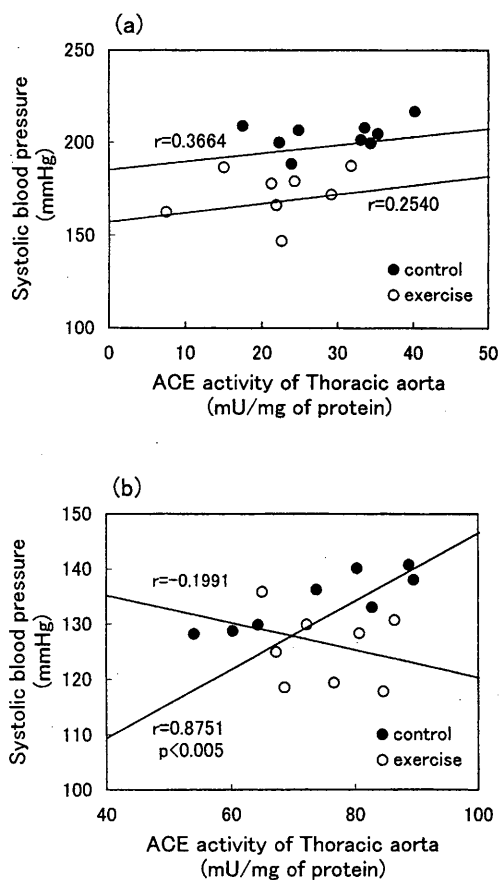


Fig.3 Correlation between Thoracic aorta ACE activity and systolic blood pressure in SHR and WKY.
 (a); SHR, (b); WKY.
 ●; control group, ○; exercised group.

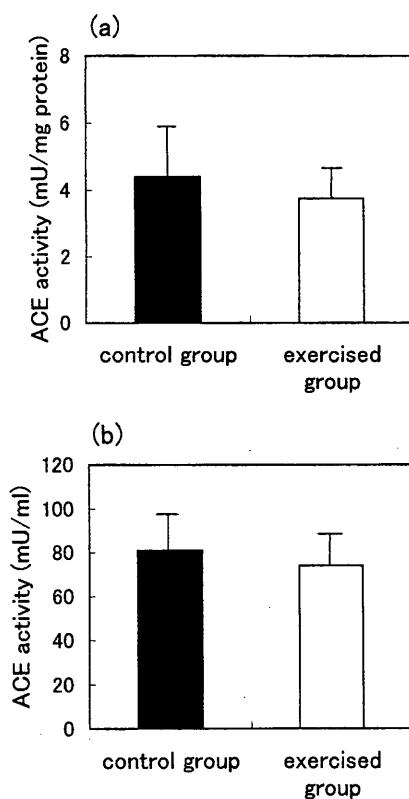


Fig. 4 ACE activity of exercised group and control group in SHR and WKY. (a); Mesenteric artery ACE activity of SHR. (b); ACE activity in plasma of WKY.
 ■; control group,
 □; exercised group. The values are expressed as the mean±SD.

3. 臓器重量

臓器重量は Table 1 に示した。SHR における運動群の心臓と腎臓の重量は、非運動群と比較して有意な増加を示した。しかし、肝臓重量は非運動群より有意に減少した。WKY において運動群の心臓、腎臓そして肝臓重量は、非運動群より有意な増加を示した。

4. 組織 ACE 活性

Fig.2 に自発走運動による胸部大動脈の ACE 活性の結果を示した。SHR の運動群において低い傾向を示したが、SHR および WKY のどちらの結果も有意な差はなかった。

さらに、胸部大動脈 ACE 活性と収縮期血圧との相関を検討した (Fig.3)。正常 WKY の非運動群においては有意な正の相関が示されたが、運動群では有意ではないが負の傾向であった。SHR においては、運動群、非運動群ともに有意な相関は観察されなかった。

また、SHR の腸管膜動脈 ACE 活性および WKY の循環 RA 系について血漿 ACE 活性を測定した (Fig.4)。SHR, WKY ともに非運動群と比較して運動群に有意な変化は観察されなかった。

考 察

高血圧、高脂血症、糖尿病、肥満症はいわゆる生活習慣病の代表的疾患であり、遺伝的素因に加えて、不適切な食事や運動不足が誘引となるといわれている。高血圧については、薬物療法の進歩により降圧は困難ではなくなった。しかし、薬物療法はあくまでも対症療法である。加えて、降圧薬の使用による Quality of life (QOL) の低下も問題となっている。そこで、軽症高血圧の場合薬物療法以前に重要となるのが非薬物療法である。近年、生活習慣病の予防、改善に食事療法と共に運動療法が重要な意味をもつことが広く認められてきた。運動療法は原因療法の一つであり十分な効果を得るには時間がかかる。しかし、生活習慣病に対する他の危険因子を改善すると共に、QOL の向上も期待できる。

我々は、高血圧自然発症ラット (SHR) とその対照として正常血圧 Wistar-Kyoto ラット (WKY) を用いて、自発走運動負荷による血圧変動とその RA 系の関与について検討してきた。

その結果、SHR の PRA および PRC が自発走運動により有意に低下したが、WKY においては変化が見られなかった。さらに、運動前の SHR にレニン活性と血圧

との間に負の相関が観察されたが、運動後にそれが正の相関に変化したことにより、RA 系のフィードバック機構が運動により変化したことを裏付ける結果が得られた⁵⁾。

今回、胸部大動脈 ACE 活性の自発走運動による変化を調べた。ACE はアンギオテンシン I (AI) を強力な昇圧ペプチドであるアンギオテンシン II (A II) に変換すると共に、降圧ペプチドであるブラジキニンを不活性化する酵素であり、RA 系において中心的役割を果たしている。この ACE 活性を阻害することにより、血圧の上昇を抑制できるという観点から、数種の ACE 阻害薬が臨床的に用いられている。さらに、食品中からも数種の ACE 阻害物質が報告され、動物実験により血圧降下作用が確認されている^{8)~10)}。さらに、大動脈は、ACE 阻害薬による血圧変動とその抑制が一致する唯一の組織であり、ACE 阻害薬の降圧の標的が血管であることが明確に示されている⁶⁾。

そして、SHR において自発走運動により、血圧およびレニン活性に有意な抑制が観察された⁵⁾が、今回胸部大動脈の ACE 活性には変化が見られず、収縮期血圧との相関においても有意な変化は観察されなかった。しかし、正常血圧 WKY の非運動群において胸部大動脈 ACE 活性と収縮期血圧の間に有意な正の相関が示され、ACE 活性が高い個体ほど収縮期血圧が上昇することが確認された。そして、自発走運動により有意ではないが負の傾向に変化した。WKY においては、自発走運動による血圧低下に RA 系が何らかの形で関与している可能性が示唆された。

また、臓器重量において、両ラット運動群の心臓重量はこれらの非運動群より有意に増加した。心臓重量については、これまでに慢性運動が心臓重量を増加させることが報告されている¹¹⁾。さらに、橋本ら¹²⁾は、運動が心室/体重比を増加させることを示し、榎村ら¹³⁾は、トレーニング初期では、右室肥大が生じることを報告した。そして、徐脈と心臓の肥大がトレーニングした人の 2 つの顕著な特性として著された¹⁴⁾。同様に我々の結果は、心臓重量の増加と心拍数の減少を示した。一方、Kingwell ら¹⁵⁾は、自発走運動により WKY においてのみ心臓および左室、右室重量の増加を認め、SHR では変化が見られなかったことを報告した。しかし、Kingwell らによると WKY の走行距離は 7.9km/day と我々の実験とはほぼ同様の値を記録したが、SHR の走

行距離については我々の実験と異なり, 1.0km/day と低い値を示したことによると考えられる。

心臓において RA 系は, 心筋細胞肥大, 間質の繊維化, 血管内皮細胞障害による心筋虚血を引き起こし左室の内腔拡大を生じさせる。心筋におけるレニン, ACE の発現増大により局所の A II 産生が亢進する。A II の作用は AT₁受容体および AT₂受容体を介する。心臓における AT₁受容体の作用は心筋細胞の肥大, 間質の繊維化促進, 心拍数・心収縮性の増加である。

我々の結果より, ヒト本態性高血圧モデル動物である SHR においては, 自発走運動後のレニン活性の低下, 収縮期血圧との相関関係の変化そして心拍数の減少より, また正常血圧ラットである WKY においては, 自発走運動後の胸部大動脈 ACE 活性と収縮期血圧との相関関係の変化そして心拍数の低下より, 自発走運動による血圧低下に RA が関与した可能性が示唆された。

謝 辞

本研究の遂行にあたり, 実験にご協力いただいた本研究室卒論生谷中希実子, 相楽亜紀子, 渡部邦子, 新藤千恵の各氏に感謝申し上げます。

文 献

- 1) A. Kiyonaga, K. Arakawa, H. Tanaka and M. Shindo: *Hypertension* **7**, 125 (1985)
- 2) B. Melin, J. P. Eclache, G. Geelen, G. Annat, A. M. Allevard, E. Jarsaillon, A. Zebidi, J. J. Legros and Cl. Gharib: *Eur. J. Appl. Physiol* **44**, 141 (1980)
- 3) J. M. Hagberg, S. J. Montain, W. H. Martin and A. A. Ehsani: *Am. J. Cardiol* **64**, 348 (1989)
- 4) L. Nelson, G. L. Jennings, M. D. Esler and P. Korner: *Lancet* **2**, 476 (1986)
- 5) A. Hayashi, A. Kobayashi, R. Takahashi, F. Suzuki, T. Nakagawa and K. Kimoto: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **46**, 165 (2000)
- 6) M. Miyazaki, T. Kawamoto and H. Okunishi: *Am. J. Hypertens.* **8**, S63 (1995)
- 7) D. W. Cushman and H. S. Cheung: *Biochem. Pharmacol.* **20**, 1637 (1971)
- 8) E. Shimizu, A. hayashi, R. Takahashi, Y. Aoyagi, T. Murakami and K. Kimoto: *J. Nutri. Sci. Vitaminol.* **45**, 375 (1999)
- 9) 関英治, 川崎晃一, 吉田真弓, 箴島克裕, 玉屋圭, 松井利郎, 箴島豊: 日本栄養・食糧学会誌 **52**, 5 271 (1999)
- 10) 江藤義春, 伊藤友美, 西岡茂子: 日本栄養・食糧学会誌 **52**, 5 301 (1999)
- 11) L. B. Oscai, P. A. Mole and J. O. Holloszy: *Am. J. Physiol.* **220**, 1944 (1971)
- 12) 橋本勲, 樋口満, 山川喜久江, 鈴木慎次郎: 体力科学 **30**, 206 (1981)
- 13) O. Kashimura and A. Sakai: *Int. J. Biometeorol* **35**, 214 (1991)
- 14) C. M. Tipton: *Am. J. Physiol.* **209**, 1089 (1965)
- 15) B. A. Kingwell, P. J. Arnold, G. L. Jennings and A. M. Dart: *J. Hypertens.* **16**, 181 (1998)
- 16) 日和田邦男, 萩原俊男, 猿田亨男: レニン・アンギオテンシン系と高血圧, 先端医学社 (東京), 1998, p.272

Abstract

The effect of a voluntary running exercise on blood pressure and renin-angiotensin system (RAS) were studied in male spontaneously hypertensive rats (SHR) and normotensive Wistar-Kyoto rats (WKY). SHR and WKY were assigned to either voluntary running exercise or sedentary control groups at 5 weeks of age. ACE activity of Thoracic aorta was not different between the exercised group and the control group in both strains of rats. In SHR, no correlation was observed between the thoracic aorta and systolic blood pressure. However, in the non-exercised group of WKY, a significant positive correlation was observed between the ACE activity of thoracic aorta and systolic blood pressure. While, in the exercised group of WKY, a weak negative correlation was observed. Thus, in SHR, the influence of the voluntary running exercise was different in the case of WKY.