

## 慢性腎不全モデルラットの骨格筋毛細血管，持久力，腎機能に及ぼす長期的運動，olmesartan，azelnidipineの併用効果

石田 篤子<sup>1</sup> 金澤 雅之<sup>1</sup> 魯 紅梅<sup>1</sup> Andraia Tufescu<sup>1</sup> 堅山 真規<sup>2</sup>  
河村 孝幸<sup>3</sup> 上月 正博<sup>1</sup>

**要 旨**：5/6腎摘除慢性腎不全モデルラットにおける12週間にわたる長期的運動(Ex)とアンジオテンシンII受容体拮抗薬olmesartan，カルシウム拮抗薬azelnidipineとの併用療法は，降圧作用，運動持久力増強作用，腎保護作用とともに長趾伸筋における毛細血管増加作用を示した。また，骨格筋毛細血管網の発達にはExのみならず血圧のコントロールが重要な役割を果たす可能性が示唆された。(J Jpn Coll Angiol, 2007, 47: 171-178)

Key words: chronic renal failure, chronic exercise, anti-hypertensive therapy, skeletal muscle, capillary

### 序 言

腎機能障害者においては，腎機能障害の増悪とともに運動持久力が低下し，長期間の安静による廃用と相まって生活の質(quality of life: QOL)が損なわれることが少なくない<sup>1)</sup>。一方，腎機能障害者においても，適度な長期的運動(Ex)は体力やQOLの向上，糖や脂質代謝の改善など，好影響をもたらす可能性のあることが明らかになってきた<sup>2)</sup>。

腎機能障害者では骨格筋のdeconditioningや萎縮が観察されることが多く，それが原因となり運動耐容能の低下が生じている可能性がある<sup>3,4)</sup>。したがって，それらの状態を改善させることが体力を増強し，QOLの改善をもたらすことにつながると期待される<sup>5)</sup>。しかしながら，急性の運動時には，腎血流量や糸球体濾過量が減少することから，腎機能障害者が運動を行うと腎機能障害が増悪する危険性も指摘されている<sup>6)</sup>。そのため，腎機能障害を増悪させずに骨格筋機能を増強させる至適な運動強度や頻度を設定する必要があるが<sup>7)</sup>，いかなる運動が良い影響を及ぼすかについての検討はまだ少ない<sup>2)</sup>。

慢性腎不全の治療においては，血圧のコントロールやrenin-angiotensin系(RAS)抑制の重要性が指摘されている<sup>8)</sup>。また，降圧薬のangiotensin II type I receptor blocker(ARB)には慢性腎不全患者<sup>9)</sup>や腎不全モデルラット<sup>10)</sup>における降圧効果および腎保護作用があるとされ，臨床的にも汎用されている<sup>11)</sup>。一方，calcium channel blocker(CCB)にもその腎保護作用を示す報告がある<sup>12,13)</sup>。

そこで，5/6腎摘除慢性腎不全モデルラットを作製し，腎機能や骨格筋，運動持久力に対する，Exの効果を検討した。さらに，ExにARBとCCBを併用することの有用性についても検討した。

### 対象と方法

6週齢の雄性Wistar-Kyoto(WKY)ラット(日本チャールス・リバー社，横浜)をdiethyletherで麻酔し，側腹切開にて右腎を露出した。右腎の上極側1/3および下極側1/3を結紮して閉腹した7週齢に再び麻酔下にて左腎を全摘し，閉腹した。偽手術群には同週齢に両腎の露出のみを行った。ラットは温度(22±2°C)，湿度(55±10%)と明暗時間(12時間サイクル)を一定とした環境下で飼育し，飼料(ノーサンラボMRストック，タンパク質18.3w%，Na0.18w%，Cl1.13w%，日本農産工業社，横

<sup>1</sup>東北大学大学院医学系研究科内部障害学分野

<sup>2</sup>東北大学大学院医学系研究科神経内科学分野

<sup>3</sup>東北福祉大学ウェルコム21予防福祉健康増進センター

2006年8月28日受付 2007年3月5日受理

浜), および水道水を自由に与えた。

9週齢に, 作製した5/6腎摘ラットを無作為に以下の5群に分けた; A)コントロール群(Control,  $n = 6$ ), B) Ex群( $n = 6$ ), C) ExおよびARBのolmesartan(10mg/kg/day)投与群(Ex + OLS,  $n = 6$ ), D) ExおよびCCBのazelnidipin(3mg/kg/day)投与群(Ex + AZN,  $n = 8$ ), E) ExおよびOLS(5mg/kg/day), AZN(1.5mg/kg/day)併用投与群(Ex + OLS + AZN,  $n = 8$ )。以上の5群にF)為手術群(Sham,  $n = 9$ )を加えた計6群に, 12週間にわたる治療を行った。

また, 9週齢に体重(body weight: BW), 尾動脈収縮期血圧(systolic blood pressure: SBP), treadmill testおよび呼吸ガス分析(MK-5000, MK-680AT/02R, 室町機械社, 東京), 尿量, 24時間尿蛋白排泄量(urine protein: UP)を測定し, Ex前の基準値とした。10週齢よりExおよび薬剤の投与を開始し, その後2週間ごとにBW, SBP, UPを測定し, 最終週にはそれらに加えてtreadmill testを行った。treadmill testは走行速度15m/分より開始し, 3分ごとに5m/分ずつ速度を上昇させた。疲労困憊して走行不可能となった時点で終了し, 総走行距離(total running distance: TRD)を算出した。SBPIはラット用尾動脈非観血的血圧測定装置(UR6000, エルクエスト社, 千葉)を用いて無麻酔下で覚醒中に測定した。

Exは, ラット用treadmill装置(KN-73, 夏目製作所社, 東京)を用いて傾斜角0度, 速度20m/分, 1日60分間の連続走行を1週間に5日間の頻度で12週間にわたって行った。

OLSおよびAZNは, 投与直前に0.5% carboxymethyl celluloseに懸濁し, 12週間にわたりゾンデにより連日一定時刻(午前9時)に経口投与した。

治療開始後12週間にラットを断頭により屠殺し, 血液をポリエチレンチューブに採取した。次いで, 4°Cで遠心(3000rpm, 15分間)し, その上清を自動分析器(Synchron Clinical System CX7, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA)を用いて測定し, 血清クレアチニン(Scr), 血液尿素窒素濃度(BUN)を求めた。また, 同測定器を用いてUPを測定した。

ラットを屠殺後, 速やかに長趾伸筋(extensor digitorum longus: EDL)を摘出し, 液体窒素にて瞬間凍結した。次いで, 組織化学的分析に使用するまでの期間, -80°Cで保存した。

EDLは, その筋腹部位から, -23°Cに冷却したミクロ

ームを用いて10 $\mu$ m厚の横断連続切片を作製し, 室温でミオシンATPase染色を行った<sup>14)</sup>。さらに, Lojda<sup>15)</sup>のdipeptidylpeptidase IV-alkaline phosphatase(DPPIV-AP)染色法を用いて切片中の毛細血管を染色した。

染色後, 光学顕微鏡(BX51, オリンパス社, 東京)に接続したデジタルカメラ(DP12, オリンパス社, 東京)を使用し, 筋線維と毛細血管を $\times 100$ の倍率で撮影した。次いで, 画像解析ソフト(WinROOF5.0, 三谷商事社, 福井)を用いて解析した。毛細血管の計測はSuwaら<sup>16)</sup>の方法を用いて行い, 重複ならびにアーチファクトのない領域を無作為に抽出して, 毛細血管密度[capillary density: CD(no./mm<sup>2</sup>)]と単一筋線維に接する毛細血管数(capillary/fiber: C/F)を算出した。

結果はすべてmean  $\pm$  SEMで示した。統計計算にはコンピューターソフトウエアSPSS ver.11.5(SPSS社, Chicago, IL)を用いた。BW, SBP, UPの変動の比較にはrepeated measures analysis of variance(ANOVA)を行い, 差異が認められた場合には個々の平均値間の有意差の有無をBonferroni/Dunn testにより多重比較した。TRDについてはWilcoxon matched-pair signed-rank testで評価した。その他のデータの各群間の有意差の有無はone way ANOVAおよびBonferroni/Dunn testで評価した。いずれの場合にも,  $p < 0.05$ をもって統計学的に有意の差異とした。

本研究のプロトコールは医学生理学的研究に関する国際指針の勧告の趣旨に沿ったものであり, 東北大学大学院医学系研究科動物実験委員会の承認を得た。

## 結 果

Control群のpeak $\dot{V}O_2$ は $6.6 \pm 0.41$ ml/min/100gBWで, Sham群( $8.5 \pm 0.3$ ml/min/100gBW)に比較して有意に低値を示した( $p < 0.05$ )。また, 腎不全モデルラットの速度20m/min走行時の $\dot{V}O_2$ はpeak $\dot{V}O_2$ の約80%に相当した。

Exと降圧薬療法開始前において, 各腎摘群のBWとSBPには有意な差異を認めなかった。Exと降圧薬療法開始後12週のBW, SBP, UP, BUN, Scrの結果をTable 1に示す。

Control群のSBPIは12週間にわたって上昇を続け, Sham群に比較して有意に高値を示した( $p < 0.01$ , repeated measures ANOVA)。一方, Ex + OLS群, Ex + AZN群とEx + OLS + AZN群のSBPIはControl群に比較して有意

**Table 1** Values of body weight (BW), systolic blood pressure (SBP), blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (Scr) at Week 12

Group	BW (g)	SBP (mmHg)	UP (mg/day)	BUN (mg/dl)	Scr (mg/dl)
Sham	376 ± 5**	132 ± 7**	15.05 ± 0.76**	16.9 ± 0.3**	0.34 ± 0.02**
Control	313 ± 9	184 ± 7	105.68 ± 19.42	57.3 ± 8.4	1.39 ± 0.14
Ex	312 ± 12	158 ± 8	76.77 ± 9.46	52.8 ± 1.9	1.00 ± 0.06
Ex + OLS	327 ± 12	159 ± 7	48.32 ± 9.61	53.0 ± 8.2	1.00 ± 0.16
Ex + AZN	319 ± 9	150 ± 7*	72.58 ± 8.57	54.0 ± 3.6	1.00 ± 0.04
Ex + OLS + AZN	341 ± 8	133 ± 7**	26.41 ± 6.97**	34.8 ± 3.4	0.65 ± 0.05**

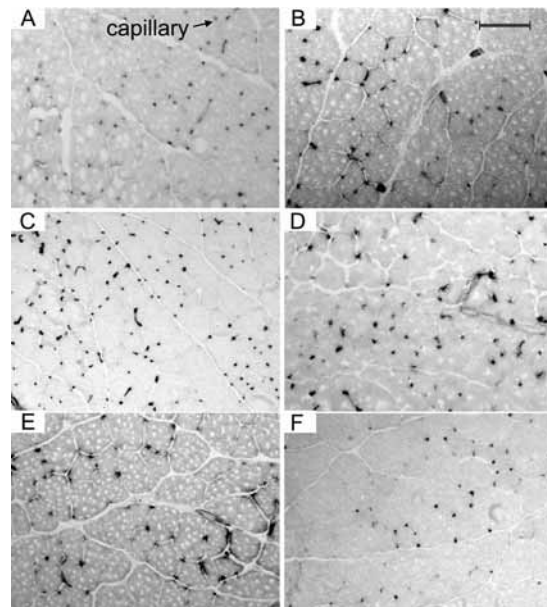
Sham = sham operation; Control = no exercise; Ex = chronic exercise with treadmill running (20 m/min for 60 min/day, 5 days/week); Ex + OLS = Ex + olmesartan medoxomil (10 mg/kg/day); Ex + AZN = Ex + azelnidipine (3 mg/kg/day); Ex + OLS + AZN = Ex + OLS (5 mg/kg/day) + AZN (1.5 mg/kg/day). Values are expressed as the means ± SEM. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  vs. Control.

に低値を示した( $p < 0.01$ , repeated measures ANOVA)。Ex + OLS + AZN群のSBPIはEx + OLS群, Ex + AZN群に比較して有意に低値を示した( $p < 0.01$ , repeated measures ANOVA)。Ex群とControl群のSBPIに差異を認めなかった。

Control群のUPは12週間にわたって増加を続け, Sham群に比較して有意に高値を示した( $p < 0.01$ , repeated measures ANOVA)。一方, Ex群, Ex + OLS群, Ex + AZN群, Ex + OLS + AZN群のUPはControl群に比較して有意に低値を示した( $p < 0.05$  vs. Ex + AZN,  $p < 0.01$  vs. Ex,  $p < 0.01$  vs. Ex + OLS,  $p < 0.01$  vs. Ex + OLS + AZN, repeated measures ANOVA)。Ex + OLS + AZN群のUPはEx群, Ex + AZN群に比較して有意に低値を示した( $p < 0.01$ , repeated measures ANOVA)。Ex + OLS群, Ex + OLS + AZN群とSham群のUPに有意な差異を認めなかった。

Control群のScrとBUNはSham群に比較して有意に高値を示した( $p < 0.01$ )。一方, Ex + OLS + AZN群のScrはControl群に比較して有意に低値を示した( $p < 0.01$ )。Ex群, Ex + OLS群, Ex + AZN群とControl群のScrに有意な差異を認めず, 治療によってもScrは増悪しなかった。Ex + OLS群, Ex + AZN群, Ex + OLS + AZN群, Control群のBUNに有意な差異を認めず, 治療によってもBUNは上昇しなかった。

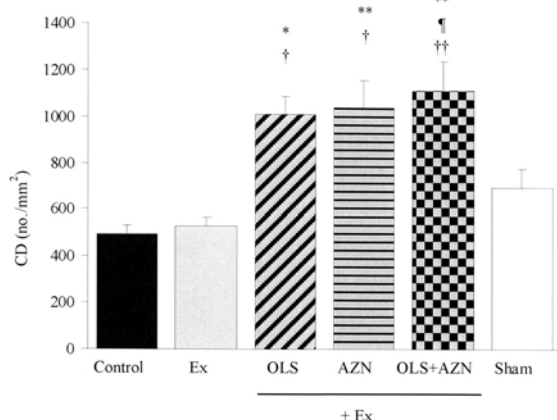
Control群のBWはSham群に比較して有意に低値を示した( $p < 0.01$ , repeated measures ANOVA)。一方, Ex群, Ex + OLS群, Ex + AZN群, Ex + OLS + AZN群とControl群のBWに有意な差異を認めなかった。



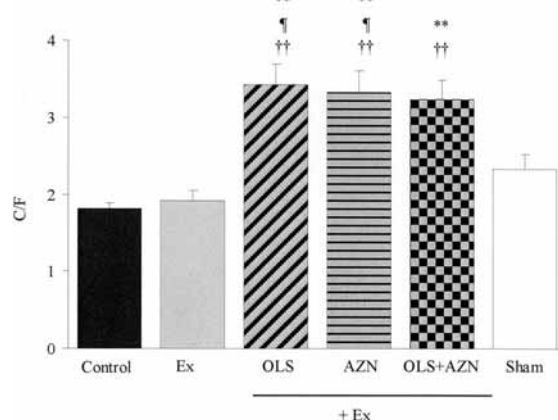
**Figure 1** Representative cross sections of extensor digitorum longus muscle from rats in the A) Control (no exercise); B) Ex (chronic exercise with treadmill running of 20 m/min for 60 min/day, 5 days/week); C) Ex + OLS [Ex + olmesartan medoxomil (10 mg/kg/day)]; D) Ex + AZN [Ex + azelnidipine (3 mg/kg/day)]; E) Ex + OLS + AZN [Ex + OLS (5 mg/kg/day) + AZN (1.5 mg/kg/day)]; and F) Sham groups. Sections were stained for dipeptidylpeptidase IV-alkaline phosphatase (DPP-IV-AP) methods. Scale bar = 100  $\mu$ m. All images were taken at the same magnification. The arrow indicates the capillary.

**Fig. 1** に各群の典型的なEDL毛細血管像を示す。

**Fig. 2** に各群のCDを示す。Ex + OLS群, Ex + AZN群, Ex + OLS + AZN群のCDはControl群に比較して,



**Figure 2** The capillary density (CD) in the extensor digitorum longus muscle (EDL) in the Control (no exercise); Ex (chronic exercise with treadmill running of 20 m/min for 60 min/day, 5 days/week); Ex + OLS [Ex + olmesartan medoxomil (10 mg/kg/day)]; Ex + AZN [Ex + azelnidipine (3 mg/kg/day)]; Ex + OLS + AZN [Ex + OLS (5 mg/kg/day) + AZN (1.5 mg/kg/day)]; and Sham groups at week 12. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  vs. Control; † $p < 0.05$  vs. Sham; ‡ $p < 0.05$ , †† $p < 0.01$  vs. Ex. The CD in the Ex + OLS, Ex + AZN, and Ex + OLS + AZN of the EDL muscle was significantly higher than that in the Control group at Week 12.



**Figure 3** The capillary-to-fiber ratio (C/F) in the extensor digitorum longus muscle (EDL) in the Control (no exercise); Ex (chronic exercise with treadmill running of 20 m/min for 60 min/day, 5 days/week); Ex + OLS [Ex + olmesartan medoxomil (10 mg/kg/day)]; Ex + AZN [Ex + azelnidipine (3 mg/kg/day)]; Ex + OLS + AZN [Ex + OLS (5 mg/kg/day) + AZN (1.5 mg/kg/day)]; and Sham groups at week 12. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  vs. Control; † $p < 0.05$  vs. Sham; ‡ $p < 0.05$ , †† $p < 0.01$  vs. Ex. The C/F in the Ex + OLS, Ex + AZN, and Ex + OLS + AZN of the EDL muscle was significantly higher than that in the Control group at Week 12.

有意に増加した ( $p < 0.05$  vs. Ex + OLS,  $p < 0.01$  vs. Ex + AZN,  $p < 0.01$  vs. Ex + AZN + OLS)。Control群とEx群のCDに差異を認めなかった。Ex + OLS群, Ex + AZN群, Ex + OLS + AZN群のCDに差異を認めなかった。Ex + OLS + AZN群のCDはSham群に比較して有意に増加していた ( $p < 0.05$ )。

**Fig. 3** に各群のC/Fを示す。Ex + OLS群, Ex + AZN群, Ex + OLS + AZN群のC/FはControl群に比較して, 有意に増加した ( $p < 0.01$  vs. Ex + OLS,  $p < 0.01$  vs. Ex + AZN,  $p < 0.01$  vs. Ex + AZN + OLS)。Control群とEx群のC/Fに差異を認めなかった。Ex + OLS群, Ex + AZN群, Ex + OLS + AZN群のC/Fに差異を認めなかった。Ex + OLS群, Ex + AZN群のC/FはSham群に比較して有意に増加していた ( $p < 0.05$ )。

Control群, Ex群, Ex + OLS群, Ex + AZN群, Ex + OLS + AZN群, Sham群のEDLにおける単位面積当たりの筋線維数に有意な差異を認めなかった。

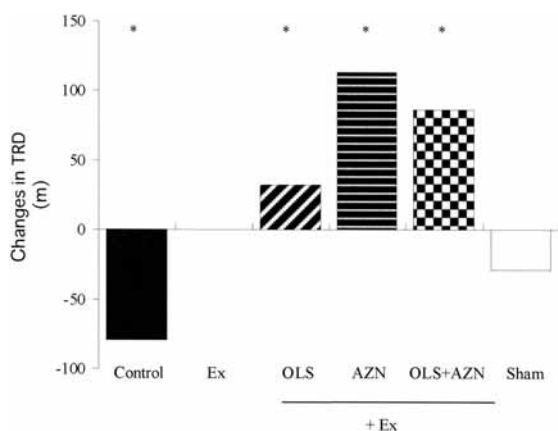
**Fig. 4** に各群のTRDを示す。Control群のTRDはEx開始前に比較し, 有意に短縮した ( $p < 0.05$ )。Ex + OLS群, Ex + AZN群, Ex + OLS + AZN群のTRDはEx開始前に比較して有意に延長した ( $p < 0.05$ )。Ex群とSham

群のTRDには有意な変化を認めなかった。

## 考 察

本研究では, 5/6腎摘腎不全モデルラットを用いてExが腎機能や骨格筋毛細血管, 運動持久力に及ぼす効果を検討した。さらには, ExにARBのOLSやCCBのAZNを併用することの有用性について検討した。

ラットの腎を部分的に摘除し, そのmassを減少させると糸球体が傷害され, その結果, 高血圧, 腎機能障害, UPの増加を認めるようになる<sup>17,18</sup>。本研究においても, 5/6腎摘除を行ったControl群に高血圧, 多量のUPとScrやBUNの上昇を認めた。また, 腎摘ラットのpeak $\dot{V}O_2$ はSham群のそれに比較して低値であり, 腎不全モデルラットの運動耐容能が減弱していることが示唆された。このような腎不全モデルラットに12週間にわたるExやEx + OLSを行ってもUP, BUN, Scrに増悪を認めなかった。また, ExにAZNを併用した場合にはUP, BUN, Scrを増悪させることなくSBPを降下させた。特に, 運動に各薬剤の用量を半減して併用したEx, OLS, AZNの三者併用療法においては, OLSまたはAZNをExと併用した群に比較しても, UP, Scr,



**Figure 4** Changes in total running distance (TRD) between Week 0 and 12. Control (no exercise); Ex (chronic exercise with treadmill running of 20 m/min for 60 min/day, 5 days/week); Ex + OLS [Ex + olmesartan medoxomil (10 mg/kg/day)]; Ex + AZN [Ex + azelnidipine (3 mg/kg/day)]; Ex + OLS + AZN [Ex + OLS (5 mg/kg/day) + AZN (1.5 mg/kg/day)]; and Sham groups. \* $p < 0.05$  Week 0 vs. Week 12. The TRD in the Control group at week 12 was significantly shortened at Week 0. The TRD in the Ex, Ex + OLS, Ex + AZN, and Ex + OLS + AZN significantly elongated with the treatments for 12 weeks.

SBPIは有意に低値を示した。

一方、Ex + OLS群、Ex + AZN群、Ex + OLS + AZN群においては、EDLにおけるCDとC/FがControl群に比較して有意に増加し、骨格筋において毛細血管網が発達した可能性が示唆された。

また、Ex + OLS群、Ex + AZN群、Ex + OLS + AZN群のTRDは、治療開始後12週に有意に延長し、運動持久力の改善が示唆された。

現時点までに、腎不全モデルラットを用いてARBやCCBのCDやC/Fに及ぼす影響を検討した成績は、本研究以外には示されていない。腎不全を対象としたものではないが、Scheideggerら<sup>19)</sup>は、高血圧自然発症ラットの虚血下筋筋のCDやC/Fに対するcandesartanの効果を検討したところ、candesartanはCDやC/Fに影響を及ぼさなかった。また、Takadaら<sup>20)</sup>はフルクトース食負荷Sprague-Dawleyラットに対して、2週間にわたりCCBのcilnidipineを投与したが、soleus (SOL)のCDとC/Fには変化を認めなかった。すなわち、これまでのところARBやCCB単独治療によるCD、C/F増加効果を示す報告はなされていない。したがって、今回の研究では、ARB、CCB単独治療がCDとC/Fに及ぼす影響を検討し

てはないが、われわれが観察したCDとC/Fの増加は降圧薬の効果であるよりはむしろ、Exを併用したことによる効果である可能性が考えられる。

Exの骨格筋毛細血管に及ぼす影響に関してKanazawaら<sup>17)</sup>は、WKY5/6腎摘腎不全ラットに対して中強度(20m/min for 60min/day, 5days/week)、高強度(28m/min for 60min/day, 5days/week)の12週間にわたるtreadmill走行運動を実施した結果、SOLのCDとC/Fが増加することを報告している。臨床成績では、Sakkasら<sup>4)</sup>が末期腎不全患者に週3回の頻度で1回40分、6カ月間にわたる自転車エルゴメーター運動(換気閾値の90%強度)を実施したところ、腓腹筋のC/Fが24%増加した。

このような、持久的トレーニングによる骨格筋毛細血管密度の増加は、運動に伴い骨格筋での酸素需要が増大し、それに適応するため毛細血管網が発達することによると考えられている<sup>17,21,22)</sup>。その機序としては、筋線維の収縮、血流の増加などによって賦活化される一酸化窒素(NO)や低酸素誘導因子(HIF-1)、血管内皮増殖因子(VEGF)など種々の血管成長因子が重要な役割を演じている可能性が考えられている<sup>21,22)</sup>。

しかしながら、今回の成績では、Ex単独においてはCDやC/Fに変化を認めなかった。Hernandezら<sup>23)</sup>はDOCA食塩高血圧ラットに高塩食を14週間にわたり摂取させた結果、高塩食群のC/FやCDが減少していたことを報告している。Hansen-Smithら<sup>24)</sup>は血圧と骨格筋毛細血管網の関係について、慢性高血圧の病態にある毛細血管では血管肥厚、希薄化(Rarefaction)など構造的変化に加え、血管反応性などの機能的変化が生じる可能性を述べている。また、Saneら<sup>25)</sup>は高血圧が血管壁の構造的変化を引き起こし、さらには血管新生因子に対する抵抗性に影響を及ぼす可能性を指摘している。

本研究でのEx群のSBPIはControl群に比較して差異はなく、Ex+降圧薬投与群に比較すると高値を示していた。この結果とScheideggerら<sup>19)</sup>、Takadaら<sup>20)</sup>の報告を併せて検討を行った場合、Ex群では降圧薬投与群に比較して十分な降圧が得られなかったため、Exによってもたらされたであろう、CDやC/Fの増加作用が相殺されてしまった可能性が考えられる。

また、Kanazawaら<sup>17)</sup>の成績では、Ex単独療法、Exとenalaprilとの併用療法により降圧作用と腎保護作用を認め、slow twitch muscleが優位なSOLにおいて毛細血管数の増加を認めた。本研究では薬剤としてARBの

olmesartanやCCBのazelnidipineを用いたが、Exとの併用によって、fast twitch muscleが優位であるEDLの骨格筋毛細血管数の増加を認めた。

これらの成績を合わせて考えれば、fast twitch muscleの毛細血管であってもslow twitch muscleの毛細血管であっても、運動や薬剤による何らかの影響により発達し得ることが示唆された。

現時点において、腎不全モデルラットにおける、Exによる運動持久力改善効果を検討した成績の報告はないが、臨床成績では、Kouidiら<sup>3</sup>が透析患者に、週3回、90分間、計6カ月間にわたる自転車エルゴメーター運動や筋力トレーニングを組み合わせたリハビリテーションプログラムを行ったところ、運動負荷試験での最大運動持続時間が延長した。さらに、Storerら<sup>26</sup>が透析患者に週3回、90分間、18週間にわたる自転車エルゴメーター運動を行ったところ、運動負荷試験での持続時間が144%延長した。これらの成績は、本研究で観察したExによるTRD延長効果を支持するものであると考える。

運動持久力を決定する因子として骨格筋と毛細血管間の酸素の運搬能が挙げられている<sup>17, 27</sup>。すなわち、骨格筋組織では持久的運動により増加した酸素需要に対応するために、筋線維を取り囲む毛細血管が増加し、それを介した筋細胞中のミトコンドリアへの酸素供給が増加する。その結果、筋活動が効率的に行われ、運動持久力が増強すると考えられている<sup>28</sup>。したがって本研究においても、Exにより骨格筋でのCDやC/Fが増加し、その結果、酸素の供給が増加したためにTRDが延長した可能性が考えられる。

したがって、本研究のように動物モデルを用いて行った研究結果をそのまま臨床に応用することには問題があるが、腎不全患者の運動持久力を増強させるためには、単にExを実施するだけでなく、同時に血圧を良好にコントロールすることが腎保護効果を得るのみならず、体力の面でも良い結果を生む可能性があると考えられる。

本研究においてはOLS、AZNを単独でExに併用した群に比較し、OLSとAZNの両者をExに併用した群において、その容量を半減したにもかかわらず、むしろ良好なUP、Scr、SBPを示した。このことは、単に副作用の軽減ということのみならず、ARBとCCBの少量併用療法が腎保護や体力改善の観点からも有用である可能性を示唆させる。

## 結 論

5/6腎摘除慢性腎不全モデルラットにおけるExとARBのOLSあるいはCCBのAZNの併用療法は、腎機能障害を増悪させることなく高血圧をコントロールし、EDLにおける毛細血管網を発達させ、運動持久力を改善させることが示唆された。また、毛細血管網の発達には、Exのみならず、血圧のコントロールが重要な役割を果たす可能性が示唆された。

## 文 献

- 1) Johansen KL, Shubert T, Doyle J et al: Muscle atrophy in patients receiving hemodialysis: effects on muscle strength, muscle quality, and physical function. *Kidney Int*, 2003, **63**: 291–297.
- 2) Painter P: Physical functioning in end-stage renal disease patients: Update 2005. *Hemodial Int*, 2005, **9**: 218–235.
- 3) Kouidi E, Albani M, Natsis K et al: The effects of exercise training on muscle atrophy in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 1998, **13**: 685–699.
- 4) Sakkas GK, Sargeant AJ, Mercer TH et al: Changes in muscle morphology in dialysis patients after 6 months of aerobic exercise training. *Nephrol Dial Transplant*, 2003, **18**: 1854–1861.
- 5) Sakkas GK, Ball D, Sargeant AJ et al: Skeletal muscle morphology and capillarization of renal failure patients receiving different dialysis therapies. *Clin Sci*, 2004, **107**: 617–623.
- 6) Clorius JH, Mandelbaum A, Hupp T et al: Exercise activates renal dysfunction in hypertension. *Am J Hypertens*, 1996, **9**: 653–661.
- 7) Koufaki P, Mercer TH, Naish PF: Effects of exercise training on aerobic and functional capacity of end-stage renal disease patients. *Clin Physiol Funct Imaging*, 2002, **22**: 115–124.
- 8) Wolf G, Butzmann U, Wenzel UO: The renin-angiotensin system and progression of renal disease: from hemodynamics to cell biology. *Nephron Physiol*, 2003, **93**: P3–P13.
- 9) Campbell R, Sangalli F, Peticucci E et al: Effects of combined ACE inhibitor and angiotensin II antagonist treatment in human chronic nephropathies. *Kidney Int*, 2003, **63**: 1094–1103.
- 10) Kohzuki M, Kamimoto M, Wu XM et al: Renal protective effects of chronic exercise and antihypertensive therapy in hypertensive rats with chronic renal failure. *J Hypertens*, 2001, **19**: 1877–1882.

- 11 Zhang Z, Shahinfar S, Keane WF et al: Importance of baseline distribution of proteinuria in renal outcomes trials: lessons from the reduction of endpoints in NIDDM with the angiotensin II antagonist losartan (RENAAL) study. *J Am Soc Nephrol*, 2005, **16**: 1775–1780.
- 12 Wenzel RR: Renal protection in hypertensive patients: selection of antihypertensive therapy. *Drugs*, 2005, **65**: 29–39.
- 13 Konda T, Enomoto A, Takahara A et al: Effects of L/N-type calcium channel antagonist, cilnidipine on progressive renal injuries in Dahl salt-sensitive rats. *Biol Pharm Bull*, 2006, **29**: 933–937.
- 14 Brooke MH, Kaiser KK: Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch Neurol*, 1970, **23**: 369–379.
- 15 Lojda Z: Studies on dipeptidyl(amino)peptidase IV (glycyl-proline naphthylamidase). II. Blood vessels. *Histochemistry*, 1979, **59**: 153–166.
- 16 Suwa M, Nakano H, Higaki Y et al: Increased wheel-running activity in the genetically skeletal muscle fast-twitch fiber-dominant rats. *J Appl Physiol*, 2003, **94**: 185–192.
- 17 Kanazawa M, Kawamura T, Li L et al: Combination of exercise and enalapril enhances renoprotective and peripheral effects in rats with renal ablation. *Am J Hypertens*, 2006, **19**: 80–86.
- 18 佐々木裕子, 金澤雅之, 伊東 修 他: 5/6腎摘除慢性腎不全モデルラットの血圧, 腎機能及び腎病変に対する長期的運動, 低蛋白食, アンジオテンシンII受容体拮抗薬の併用効果. *日腎会誌*, 2006, **48**: 4–13.
- 19 Scheidegger KJ, Nelissen-Vrancken MH, Leenders PJ et al: Structural adaptation to ischemia in skeletal muscle: effects of blockers of the renin-angiotensin system. *J Hypertens*, 1997, **15**: 1455–1462.
- 20 Takada M, Ura N, Higashiura K et al: Effects of cilnidipine on muscle fiber composition, capillary density and muscle blood flow in fructose-fed rats. *Hypertens Res*, 2001, **24**: 565–572.
- 21 Prior BM, Yang HT, Terjung RL: What makes vessels grow with exercise training? *J Appl Physiol*, 2004, **97**: 1119–1128.
- 22 Suzuki J: Time-course changes in VEGF expression and capillary in the early stage of exercise training with CO<sub>2</sub> treatment in rat skeletal muscles. *Acta Physiol Scand*, 2004, **181**: 225–232.
- 23 Hernandez N, Torres SH, Finol HJ et al: Capillary and muscle fiber type changes in DOCA-salt hypertensive rats. *Anat Rec*, 1996, **246**: 208–216.
- 24 Hansen-Smith F, Greene AS, Cowley AW Jr et al: Structural changes during microvascular rarefaction in chronic hypertension. *Hypertension*, 1990, **15**: 922–928.
- 25 Sane DC, Anton L, Brosnihan KB: Angiogenic growth factors and hypertension. *Angiogenesis*, 2004, **7**: 193–201.
- 26 Storer TW, Casaburi R, Sawelson S et al: Endurance exercise training during haemodialysis improves strength, power, fatigability and physical performance in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 2005, **20**: 1429–1437.
- 27 Hepple RT, Mackinnon SL, Goodman JM et al: Resistance and aerobic training in older men: effects on  $\dot{V}O_{2peak}$  and the capillary supply to skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 1997, **82**: 1305–1310.
- 28 Hepple RT: Skeletal muscle: microcirculatory adaptation to metabolic demand. *Med Sci Sports Exerc*, 2000, **32**: 117–123.

## Effect of Combination Therapy with Chronic Exercise, Azelnidipine, and Olmesartan, on Skeletal Capillaries, Exercise Endurance, and Renal Function in a Rat Model of Chronic Renal Failure

Atsuko Ishida,<sup>1</sup> Masayuki Kanazawa,<sup>1</sup> Hongmei Lu,<sup>1</sup> Andreia Tufescu,<sup>1</sup> Maki Tateyama,<sup>2</sup>  
Takayuki Kawamura,<sup>3</sup> and Masahiro Kohzuki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine and Rehabilitation Science, Tohoku University Graduate School of Medicine,  
Miyagi, Japan

<sup>2</sup>Department of Neurology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Miyagi, Japan

<sup>3</sup>Center for Preventive Medicine and Well-being, Tohoku Fukushi University, Miyagi, Japan

---

**Key words:** chronic renal failure, chronic exercise, anti-hypertensive therapy, skeletal muscle, capillary

The purpose of the study was to assess the renal and peripheral effects of chronic exercise (Ex) as well as the effects of the combination therapy with Ex, olmesartan (OLS), and azelnidipine (AZN) in a rat model of CRF. Male 5/6-nephrectomized Wistar-Kyoto rats were divided into the following treatments: A) no Ex (Control); B) Ex (running speed of 20 m/min, 60 min/day, 5 times/week); C) Ex + OLS (10 mg/kg/day, po), D) Ex + AZN (3 mg/kg/day, po), E) Ex + OLS (5 mg/kg/day) + AZN (1.5 mg/kg/day), and F) Sham. The rats were treated for 12 weeks. Compared with Control, Ex + OLS significantly increased capillary density (CD), capillary to fiber ratio (C/F) in the extensor digitorum longus, and total running distance (TRD) by treadmill test. Ex + AZN significantly increased CD, C/F, and TRD and decreased systolic blood pressure (SBP). Ex + OLS + AZN in particular significantly improved not only CD, C/F, TRD and SBP but also urinary excretion of protein (UP) and serum creatinine (Scr). These results suggest that the combination therapy with Ex, OLS, and AZN controlled SBP, increased capillaries, and enhanced exercise endurance without renal complications in a rat model of chronic renal failure. It is also suggested that controlling SBP aids in the development of the capillary network in the skeletal muscle.

(J Jpn Coll Angiol, 2007, **47**: 171–178)