

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24689014

研究課題名(和文)バゾプレッシンV1a受容体遺伝子と運動習慣の定着率：その作用機序と環境因子の影響

研究課題名(英文)Vasopressin V1a receptor gene and adherence to an exercise program: the congenital and acquired mechanisms

研究代表者

増木 静江(MASUKI, Shizue)

信州大学・学術研究院医学系・助教

研究者番号：70422699

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,600,000円

研究成果の概要(和文)：中高年を対象に、インターバル速歩とITネットワークシステムからなる「遠隔型個別運動処方システム」を開発し、22か月間の定着率を検討した。その結果、バゾプレッシンV1a受容体遺伝子のある多型を有するヒトは、運動習慣の定着率が著しく低かった。そこで、そのメカニズムを検討したところ、V1a受容体遺伝子欠損マウス、およびV1a受容体阻害剤を延髄孤束核に投与した正常マウスでは、大脳皮質活動上昇に伴う運動開始時の血圧上昇が起きず、自発運動が著しく阻害されていた。以上、V1a受容体は運動開始時の血圧を上昇させ、運動を開始しやすいように働くが、その働きが弱いと運動の開始が困難で不精になることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have developed a broadly available, remotely-supervised exercise training system for middle-aged and older people. Using this system, we assessed the factors affecting adherence to the 22-mo interval walking training (IWT) program. We found that vasopressin V1a receptor polymorphisms were independent determinants of adherence to the IWT program even after adjustment for other possible covariates. Based on these results, we assessed whether voluntary locomotion was impaired in mice genetically deficient in V1a receptor (KO) and in wild-type mice locally infused with a V1a receptor antagonist into the nucleus tractus solitarius (BLK). We found that in both KO and BLK mice, voluntary locomotion linked with cerebral activation was abolished with no suppression of the baroreflex control of heart rate. Thus, central V1a receptor plays an important role in starting voluntary locomotion through pressor responses, contributing to the adherence to the exercise program.

研究分野：環境生理学

キーワード：自発運動 血圧反射 脳波 vasopressin V1a 受容体 運動習慣 遺伝子多型

### 1. 研究開始当初の背景

運動習慣の定着は中高年者の体力と健康の維持向上に重要であり、そのために運動処方方が広く実施されている。しかし、フィールドで容易に利用でき、長期間の定着率と効果が保証される運動処方は存在しなかった。そこで、我々は、中高年を対象に、インターバル速歩トレーニングと IT ネットワークシステムからなる「遠隔型個別運動処方システム」を開発した。その結果、5ヶ月間のインターバル速歩の定着率が高く、効果もマシントレーニングと遜色ないことを報告した (Mayo Clin Proc 82, 803-11, 2007; Br J Sports Med 45, 216-24, 2011)。しかし、その長期間の定着率と効果は不明であった。

さらに長期間の定着率に影響する因子について、これまで、初期特性、身体活動量等、後天的因子の影響については報告されてきた。しかし、遺伝因子については全く不明であった。一方、最近、我々はバゾプレッシン V1a 受容体遺伝子のある多型を有するヒトは、不精なために生活習慣病に陥りやすいことを報告した (Hypertension 55, 747-54, 2010)。したがって、同多型は運動習慣の定着に関与する可能性があった。

### 2. 研究の目的

そこで、本研究の第1の目的は、我々が開発した、遠隔型個別運動処方システムへの長期間の定着率と効果、さらに定着率に影響する後天的・遺伝的因子を検討することである。そして、第2の目的は、もし、バゾプレッシン V1a 受容体が定着率に影響するなら、そのメカニズムをマウスを用いて解明することである。

### 3. 研究の方法

#### [ヒト実験]

男性 196 名、女性 500 名(65±7(SD)歳)を対象にインターバル速歩トレーニングを 22ヶ月間実施し、最大体力の 70%以上の強度で ≥15 分/日、≥週 4 日を目標に歩くことを指導した。22ヶ月間のトレーニング定着率は、歩行実施日数 / 指示した歩行日数(週 4 日)より算出した。

#### [マウス実験]

頭蓋表面に脳波電極、大脳皮質運動野(付近)にレーザードップラー血流計プローブ、さらに、大腿動脈にカテーテルをそれぞれ慢性留置したマウスにおいて、脳波の  $\theta/\delta$  比、脳血流、動脈血圧、心拍数、行動量(赤外線センサー)を自由行動下で連続測定した。また、マウスの意識下の自由行動を阻害しないようにするため、実験の実施は生体パラメータ測定用の電極、カテーテルの慢性留置手術後、十分な回復期(最低 1 週間)をおいた後、よりマウスの日常生活に近い状態で行った。

圧反射感受性 ( $\Delta HR/\Delta MAP$ ) は、動脈圧の自発性動揺 ( $\Delta MAP$ ) に対する心拍変化

( $\Delta HR$ ) から 4 秒ごとに求めた。 $\Delta HR/\Delta MAP$  は  $\Delta HR$  と  $\Delta MAP$  の相互相関関数 ( $R(t)$ ) が有意 ( $P<0.05$ ) である期間に算出した。大脳皮質活動は、脳波の  $\theta$ 波と  $\delta$ 波のパワー比 ( $\theta/\delta$ ) から 4 秒ごとに求めた。

### 4. 研究成果

#### [ヒト実験]

22ヶ月間の運動習慣の定着率は、参加者 696 名において平均 70%で、定着率の高い者ほど、生活習慣病指標が改善し(平均 13%) (図 1)、 $VO_{2peak}$  が上昇した(平均 12%) (図 2)。

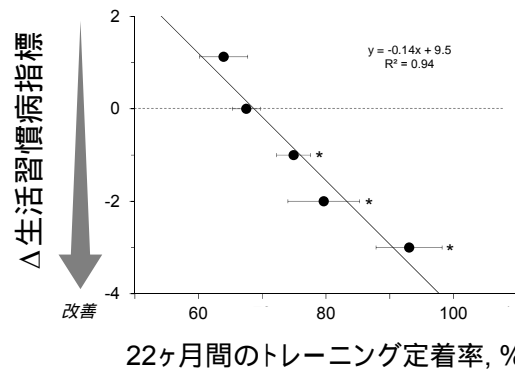


図 1. 22ヶ月間の生活習慣病指標の改善度とトレーニング定着率の関係。696名の参加者について、生活習慣病の改善度によって5つのレベルに分割し、トレーニング定着率に対してプロットした (J Appl Physiol 118, 595-603, 2015 より)。

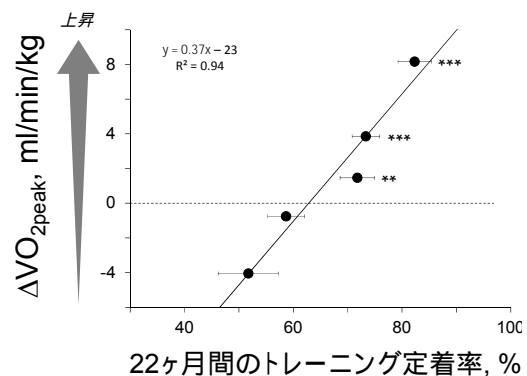
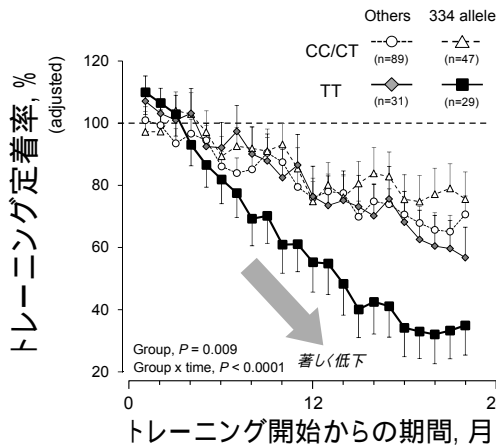


図 2. 22ヶ月間の体力の上昇度とトレーニング定着率の関係。696名の参加者について、体力の上昇度によって5つのレベルに分割し、トレーニング定着率に対してプロットした (J Appl Physiol 118, 595-603, 2015 より)。

すなわち、運動習慣さえ定着すれば、それに比例して処方効果が期待できることを意味する。そこで、定着率に影響する独立因子を明らかにするために、年齢、性別、初期身体特性、体力、活動レベル、整形外科的疾患、心理指標の他、遺伝子多型を候補として重回帰分析を行った。その結果、低 BMI 者ほど ( $P<0.0001$ )、また男性で ( $P<0.0001$ ) 定着率が高かった。さらに、男性では、BMI に加え、喫煙習慣 ( $P=0.031$ ) とバゾプレッシン V1a 受容

体遺伝子多型(P=0.033)が定着率の独立した決定因子だった。そこで、V1a 受容体多型の結果を詳細に検討してみると、**図3**で示すように、運動介入開始から3か月が経過すると、徐々にトレーニング量が低下するが、V1a 受容体遺伝子多型(rs1042615のTT型かつRS3の334アレル)保有者は他の群に比べ、その低下度が著しく大きいことを発見した。



**図3.** V1a 受容体遺伝子多型(rs1042615とRS3)各群における22ヶ月間のトレーニング定着率の変化。凡例カッコ内の数値は被験者数を示す(J Appl Physiol 118, 595-603, 2015より)。

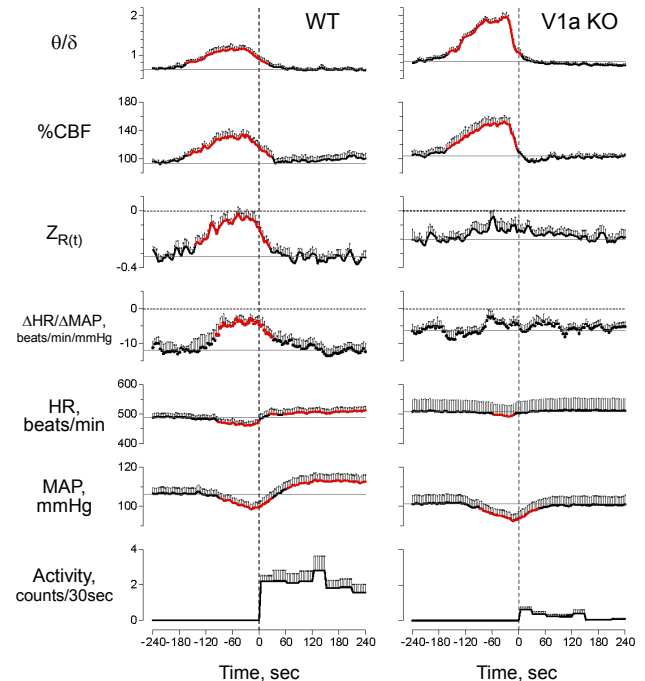
以上の結果より、我々の開発した遠隔型個別運動処方システムは、効果的な長期トレーニング法であること、これを用いて、初期BMIと性別、さらに男性では、V1a 遺伝子多型が、運動習慣の定着に関与することを明らかにした。これらの結果を、第69回日本体力医学会大会、第25回バゾプレシン研究会で発表し、論文にまとめた(Masuki et al., J Appl Physiol 118, 595-603, 2015)。

#### [マウス実験]

##### (1) V1a 受容体が運動に与えるメカニズムの解明

V1a 受容体遺伝子欠損マウス(KO, n=8)、さらに、V1a 受容体阻害剤を延髄孤束核に投与した正常マウス(BLK, n=8)において、自由行動下の大脳皮質活動、圧反射感受性、自発運動量を連続測定し、それらの反応を対照マウス(CNT, n=8)と比較した。その結果、これら3群のマウスにおいて全測定期間12時間のうち、~8.7時間が安静期間であり、群間に有意差はなかった(P>0.2)。この期間を解析した結果、3群において、 $\theta/\delta$ の自発性変化はR(t)と同期していた。ところが、この2つが有意に正相関した期間は、CNTでは全安静期間の62±3%であったのに対し、KOでは38±4%、BLKでは47±2%とCNTと比較して有意に低かった(both, P<0.001)。また、 $\theta/\delta$ を6段階に分けて、そのレベルと、R(t)または $\Delta HR/\Delta MAP$ との関係を求めた結果、CNTでは、両者に高い正の相関を認めただのに対して(both, P<0.001)、KOおよびBLKでは、こ

れらに相関を認めなかった(all, P>0.05)。さらに、 $\theta/\delta$ が上昇した後にマウスが自発運動を開始する確率は、KOでは24±4%、BLKでは24±6%、とCNTの61±5%と比較して著しく低かった(both, P<0.001)。さらに、この際、KO、BLKにおいて、 $\theta/\delta$ が上昇しても血圧反射は抑制されなかった(**図4**)。



**図4.** 正常マウス(n=8)とV1a 受容体遺伝子欠損マウス(V1a KO, n=8)における、大脳皮質活動度 $\theta/\delta$ 上昇前後の血圧反射と運動量(J Physiol 591, 3651-65, 2013より)。

以上の結果より、脳内の vasopressin は、V1a 受容体を介して、大脳皮質活動上昇に伴い血圧反射を抑制することで自発運動開始に重要な役割を果たしていることが示唆された。これらの結果を、Experimental Biology 2013で発表し、論文にまとめた(Masuki et al., J Physiol 591, 3651-65, 2013)。

##### (2) 動機付け行動におけるV1a 受容体の役割

次に、この大脳皮質活動上昇を伴う一連の反応の生理的意義について検討した。我々は、この大脳皮質活動の上昇は、食欲などの動機付けと関連しているのではないかと考えた。そこで、絶食させ食欲という動機付けを高めた時、大脳皮質活動上昇後の昇圧反応との連関が亢進し、餌の探索行動が亢進するか、この反応に循環中枢(孤束核)のバゾプレッシンV1a 受容体が関与するか、を検証した。

自由摂食、絶食、回復の条件をそれぞれ負荷した連続3日間、7時/19時の明暗サイクル下で、V1a 受容体遺伝子欠損マウス(KO, n=10)、さらに正常マウスの孤束核にV1a 受容体阻害剤を局所投与したマウス(BLK, n=10)において活動量、大脳皮質活動、血圧反射、行動パターン(DVC)を同時連続測定し、それらの反応を対照マウス(CNT, n=9)と比較

した。

その結果、CNT において、絶食日には自由摂食日に比べ、大脳皮質活動上昇に対する血圧反射抑制、餌の探索行動といった一連の反応が亢進した(すべて  $P < 0.05$ )。しかし、回復日には自由摂食日のレベルに戻った ( $P > 0.1$ )。一方、KO では絶食日に大脳皮質活動上昇後の一連の反応の亢進が起きなかった(すべて  $P > 0.1$ )。また BLK も、KO とほぼ同様の結果を示した ( $P > 0.06$ )。

以上の結果より、大脳皮質活動上昇に伴う昇圧反応は、「動こう」という意思を持った行動、すなわち動機付け行動に特に重要なこと、この際の昇圧反応に孤束核の V1a 受容体が関与することが示唆された。これらの結果を、Experimental Biology 2013、第 69 回日本体力医学会大会、第 25 回バゾプレシン研究会で発表し(研究奨励賞受賞)、現在、投稿準備中である。

#### 【まとめ】

V1a 受容体は運動開始時の血圧を上昇させ、運動を開始しやすいように働くが、その働きが弱いと運動の開始が困難で不精になることが示唆された。

#### 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 8 件)

1. Zhang Y, Hashimoto S, Fujii C, Hida S, Ito K, Matsumura T, Sakaizawa T, Morikawa M, Masaki S, Nose H, Higuchi K, Nakajima K, Taniguchi S. NF $\kappa$ B2 gene as a novel candidate that epigenetically responds to interval walking training. *Int J Sports Med*, in press. DOI: 10.1055/s-0035-1547221. (査読有)
2. Masaki S, Mori M, Tabara Y, Sakurai A, Hashimoto S, Morikawa M, Miyagawa K, Sumiyoshi E, Miki T, Higuchi K, and Nose H. The factors affecting adherence to a long-term interval walking training program in middle-aged and older people. *J Appl Physiol* 118: 595-603, 2015. (査読有)
3. 増木静江, POTS 患者における運動時の血圧調節機構の解明. *自律神経* 52, 45-19, 2015. (査読有)
4. 能勢 博、森川真悠子、増木静江、上條義一郎: 大規模科学的エビデンスにもとづく遠隔型個別運動処方. *保健の科学* 57: 22-26, 2015. (査読有)
5. Morishima Y, Mizushima T, Yamauchi K, Morikawa M, Masaki S, Nose H. Effects of home-based interval walking training on thigh muscle strength and aerobic capacity

in female total hip arthroplasty patients: a randomized, controlled pilot study. *PLoS One* 9: 1-9, 2014. (査読有)

6. Masaki S, Sumiyoshi E, Koshimizu TA, Qian J, Higuchi K, Tsujimoto G, and Nose H. Voluntary locomotion linked with cerebral activation is mediated by vasopressin V1a receptors in free-moving mice. *J Physiol (Lond)* 591: 3651-3665, 2013. (査読有)
7. Kamijo Y, Ikegawa S, Okada Y, Masaki S, Okazaki K, Uchida K, Sakurai M, and Nose H. Enhanced renal Na<sup>+</sup> reabsorption by carbohydrate in beverages during restitution from thermal and exercise-induced dehydration in men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 303: R824-833, 2012. (査読有)
8. Nose H, Morikawa M, Masaki S, Miyagawa K, Kamijo Y, and Gen-no H. Exercise training based on individual physical fitness and interval walking training to prevent lifestyle-related diseases in middle-aged and older people. *J Phys Fitness Sports Med* 1: 65-71, 2012. (査読有)

〔学会発表〕(計 25 件)

1. 増木静江、森川真悠子、降幡真由佳、片岡由布子、眞鍋憲正、住吉愛里、小川 雄、上條義一郎、高杉 諭、能勢 博. 高齢者における運動 + 乳蛋白質摂取の筋力・持久力向上効果. 第 70 回日本体力医学会大会, 和歌山, 和歌山県民文化会館, 2015. 9.18-20 (発表確定).
2. 森川真悠子、増木静江、古籟俊一、下平博和、降幡真由佳、能勢 博. 中高年者における 10 年間のインターバル速歩トレーニングの体力維持・向上効果. 第 70 回日本体力医学会大会, 和歌山, 和歌山県民文化会館, 2015. 9.18-20 (発表確定).
3. 内田晃司、上條義一郎、池川茂樹、増木静江、能勢 博. 中高年者におけるインターバル速歩トレーニング中の糖質・蛋白質補助食品摂取が血漿アルブミン量、血漿量に及ぼす効果. 第 70 回日本体力医学会大会, 和歌山, 和歌山県民文化会館, 2015. 9.18-20 (発表確定).
4. 鈴木 宏、森川明代、増木静江、小川 雄、上條義一郎、能勢 博. 中高年うつ患者女性に対する 5-アミノレブリン酸摂取とインターバル速歩の併用療法の効果. 第 70 回日本体力医学会大会, 和歌山, 和歌山県民文化会館, 2015. 9.18-20 (発表確定).

5. 眞鍋憲正、小川雄、片岡由布子、住吉愛里、上條義一郎、**増木静江**、能勢 博. ヒト自発運動開始時の筋血流調節における脳内バゾプレシンの役割. 第 70 回日本体力医学会大会, 和歌山, 和歌山県民文化会館, 2015. 9.18-20 (発表確定).
6. **Masaki S**, Taniguchi S, and Nose H. Effects of dairy products intake on thigh muscle strength and NFκB2 gene methylation during walking training in middle-aged and older women. Symposium “Exercise physiology in advanced aging society: basic and applied aspects”. 第 92 回日本生理学会大会, 神戸, 神戸コンベンションセンター, 2015. 3.21-23 (招待講演).
7. **増木静江**, 森川真悠子、能勢 博. 長期インターバル速歩トレーニングの定着率: 環境・遺伝因子の影響. 第 25 回バゾプレシン研究会, 東京, 慶應義塾大学病院, 2015. 1.10.
8. 住吉愛里、**増木静江**、能勢 博. マウスにおける中枢性昇圧反応と動機付け行動: バゾプレシン V1a 受容体の役割. 第 25 回バゾプレシン研究会, 東京, 慶應義塾大学病院, 2015. 1.10.
9. **増木静江**. POTS 患者における運動時の血圧調節機構の解明. 教育講演. 第 67 回日本自律神経学会総会, さいたま, ラフレさいたま, 2014.10.30-31 (招待講演).
10. **増木静江**, 森川真悠子、能勢 博. 運動習慣の定着率: 環境・遺伝因子の影響. 第 69 回日本体力医学会大会, 長崎, 長崎大学 文教キャンパス, 2014. 9.19-21.
11. 住吉愛里、**増木静江**、能勢 博. 動機付け行動と中枢性昇圧反応: バゾプレシン V1a 受容体の役割. 第 69 回日本体力医学会大会, 長崎, 長崎大学 文教キャンパス, 2014. 9.19-21.
12. 大塩琢也、半田秀一、上條義一郎、**増木静江**、能勢 博. 肥満中高年女性における重錘を负荷した水中インターバル速歩トレーニングの効果. 第 69 回日本体力医学会大会, 長崎, 長崎大学 文教キャンパス, 2014. 9.19-21.
13. 田邊愛子、**増木静江**、根本賢一、小川雄、能勢 博. 若年者のインターバル速歩トレーニング実施率の季節差と効果. 第 69 回日本体力医学会大会, 長崎, 長崎大学 文教キャンパス, 2014. 9.19-21.
14. 半田秀一、大塩琢也、上條義一郎、**増木静江**、能勢 博. 水中と陸上のインターバル速歩トレーニングの効果比較. 第 69 回日本体力医学会大会, 長崎, 長崎大学 文教キャンパス, 2014. 9.19-21.
15. 片岡由布子、上條義一郎、小川 雄、住吉愛里、仲江真理、**増木静江**、能勢 博. 運動 + 糖質・蛋白質補助食品摂取が高齢者の体温・血圧調節に及ぼす影響. 第 69 回日本体力医学会大会, 長崎, 長崎大学 文教キャンパス, 2014. 9.19-21.
16. 能勢 博、**増木静江**、森田淳美、岡崎和伸、上條義一郎. 運動と栄養補助食品摂取の併用で加速する体力・生活習慣病改善効果、シンポジウム「栄養・内臓機能面からみたりハビリテーション」、第 91 回日本生理学会大会, 鹿児島, 鹿児島大学 郡元キャンパス, 2014. 3.16-18 (招待講演).
17. Sumiyoshi E, **Masaki S**, and Nose H. Vasopressin V1a receptor and pressor responses for food-seeking behavior in fasting mice. Experimental Biology 2013, Boston, MA, USA, Boston Convention & Exhibition Center, 2013. 4.20-24. FASEB J 27: 943.1, 2013. [Meeting Abstract]
18. **Masaki S**, Sumiyoshi E, Koshimizu T, Tsujimoto G, and Nose H. Vasopressin V1a receptor and voluntary locomotion linked with cerebral activation in free-moving mice. Experimental Biology 2013, Boston, MA, USA, Boston Convention & Exhibition Center, 2013. 4.20-24. FASEB J 27: 943.2, 2013. [Meeting Abstract]
19. Ogawa Y, Kamijo Y, Ikegawa S, **Masaki S**, Morita A, and Nose H. Head-up tilt suppressed sympathetic nerve activity synchronized with cardiac cycle to skin but increased that to muscle in passively warmed men. Experimental Biology 2013, Boston, MA, USA, Boston Convention & Exhibition Center, 2013. 4.20-24. FASEB J 27: 1201.12, 2013. [Meeting Abstract]
20. **Masaki S**, Sumiyoshi E, and Nose H. Vasopressin V1a receptor gene and motivated behavior in mice and humans. Symposium “Membrane proteins in kidney tubules: from molecules to disease”. 第 90 回日本生理学会大会, 船堀, タワーホール船堀, 2013.3.27-29 (招待講演).
21. 小川 雄、上條義一郎、池川茂樹、**増木静江**、森田淳美、能勢 博. 高体温時ヘッドアップティルト時の右心房容量変化が皮膚血管コンダクタンスに及ぼす影響. 第 67 回日本体力医学会大会, 岐阜, 日本教育会館・学術総合センター, 2012. 9.14-26.
22. 森田淳美、池川茂樹、上條義一郎、**増木**

**静江**、片岡由布子、小川 雄、住吉愛里、高橋 究、能勢 博. 5-アミノレブリン酸 (ALA) 摂取が運動時の呼吸循環応答とトレーニング量に与える影響. 第 67 回日本体力医学会大会, 岐阜, 日本教育会館・学術総合センター, 2012. 9.14-26.

23. 住吉愛里、**増木静江**、奥水崇鏡、辻本豪三、能勢 博. 餌の探索行動におけるバゾプレッシン V1a 受容体の役割. 第 67 回日本体力医学会大会, 岐阜, 日本教育会館・学術総合センター, 2012. 9.14-26.
24. **Masaki S** and Nose H. Vasopressin V1a receptor gene and voluntary exercise in humans and mice. Symposium “New frontier in body fluid homeostasis”. 第 89 回日本生理学会大会, 松本, 松本文化会館, 2012.3.29-31 (招待講演).
25. **増木静江**. 運動習慣化決定因子としてのバゾプレッシン V1a 受容体遺伝子 - 動機づけ行動との関連 - . 生存のための体温調節—温熱的ストレスに対する生体の戦略—, 早稲田大学, 東京, 早稲田大学国際会議場, 2012.3.17 (招待講演).

〔図書〕(計 1 件)

1. **Masaki S**, Sumiyoshi E, and Nose H. Vasopressin V1a receptor gene and voluntary exercise in humans and mice. Sports Sciences for the Promotion of an Active Life. Vol. II: Physical Activity, Exercise, Sedentary Behaviour and Health Promotion, edited by Oka K, Cao ZB, Oshima S. Springer, *in press*.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

増木 静江 (MASUKI, Shizue)

信州大学・学術研究院医学系・助教

研究者番号 : 70422699