

機関番号：32427

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：平成 21 年度 ~ 平成 22 年度

課題番号：21700547

研究課題名 (和文)

クロモグラニン A を用いた呼吸運動同調現象中の自律神経解析

研究課題名 (英文)

Analysis of autonomic nerve by chromogranin A during locomotor respiratory coupling

研究代表者

解良武士 (KERA TAKESHI )

日本医療科学大学保健医療学部リハビリテーション学科・准教授

研究者番号：50449435

研究成果の概要 (和文)：

運動呼吸同調現象 (LRC) 誘導時の自転車エルゴメータのペダル回転数の影響を換気指標と唾液クロモグラニン A から検討した。健康な成人男性 25 名を対象者とした。次に対象者を 2 群に分け、一方のペダル回転数を 50rpm(高回転群), もう一方を 40rpm(低回転群)に設定した。それぞれ自由呼吸下で 10 分間無酸素性作業閾値(AT)レベルの定常運動を行い、次いで運動と呼吸を同調させて同様に運動を行った。高回転群は LRC 時にも呼吸困難感は減少しなかったが、低回転群は呼吸数と呼吸困難感が有意に減少した。唾液クロモグラニン A 量は運動と呼吸の同調とは無関係であった。LRC により呼吸数が減少するように調整されると呼吸困難感が減少しやすいと考えられた。

研究成果の概要 (英文)：

We studied the effect of cycle ergometer pedal ratio calculated during locomotor respiratory coupling (LRC) on ventilatory indicators and salivary chromogranin A. Twenty-five subjects participated in our study. These subjects were divided into 2 groups. One group performed pedaling at a rate of 50 rotations per minute (rpm), and the other group performed pedaling at 40 rpm. First, the subjects pedaled at anaerobic threshold (AT) under the spontaneous breathing condition for 10 min, and then performed the same exercise under LRC. The 50-rpm group showed persistent dyspnea under LRC; however, the 40-rpm group showed a significant decrease in the respiratory rate and dyspnea. Human salivary chromogranin A level was not related to coupling between pedaling and respiration. Dyspnea decreased when the breathing rate during spontaneous breathing was lesser than that during LRC, but did not decrease when the former was greater than the latter. Nonetheless, we could not clarify the benefit of LRC on ventilatory indicators and human salivary chromogranin A.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21 年度	800,000	240,000	1,040,000
22 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,400,000	420,000	1,820,000

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：運動呼吸同調現象, 唾液クロモグラニン A, 呼吸困難感

## 1. 研究開始当初の背景

運動呼吸同調現象 (Locomotor Respiratory Coupling ; 以下 LRC)は四肢の運動に呼吸運動が同調する現象である(Bramble 1983). 走行, エルゴメータ, 漕艇, 車いす, クロスカントリースキーなど様々な様式での運動で観測される. LRC は間欠的に出現する機会が多いが, 聴覚的, 視覚的刺激を行うと連続的に出現させることが可能である.

LRC 出現による生理学的な利得を明らかにしようとする試みがいくつか行われた. 例えば LRC によって酸素摂取量が減少するという報告が Garland ら(1985)によって行われている. Bernasconi ら(1993)も同等の研究によって酸素摂取量がわずかだが確実に減少することを報告している. 一方 Rassler と Kohl(1996)は LRC の発生率や酸素摂取量, 心拍変動などを測定した結果, 酸素摂取量には差を見いだすことができなかった. 我々の走行での検討 (未発表) でも LRC による酸素摂取量の減少を示すことができず, LRC が酸素摂取量の面から利得があるかははっきりしない.

LRC は呼吸困難の改善の面からも研究されている(Takano ら 1997). それによれば LRC により呼吸困難改善や呼吸筋酸素消費量の減少を示す被験者もいたが, そうではないものもあり, LRC の出現やそれによる利得には個人差があることが示唆された. また呼吸困難の改善の程度と呼吸筋酸素消費量の減少の程度には相関が認められ, LRC 誘導による呼吸困難の低下は, 呼吸筋活動の減少が原因の一つであると述べている. 我々の研究では, 呼吸運動出力の指標である  $P_{0.1}$  によって LRC の効果を検討したところ, 個人差はあるが LRC によって呼吸困難の指標が改善した.

自律神経系の評価から LRC の利得を探る試みも行われている. Bernasconi らは LRC 出現時の酸素摂取量減少の原因に交感神経活動の変化を考えたが, 彼らの研究の中では実際の検討は行われてはいなかった. 一方 Rassler と Kohl の研究では, 心拍変動を用いた自律神経系の評価を行っている. しかし, 交感神経の緊張を表す LF/HF 比には差が認められなかった. 彼らの研究では自律神経系の評価に心拍変動が用いていたがそれには少し問題がある. Nakamura ら(1997)は LRC の研究とは別に, 心拍変動がエルゴメータ駆動の条件によってどのように影響を受けるかをパワースペクトルグラムにより検討した. それによれば副交感神経の緊張を反映する周波数は呼吸周期と一致しているため, 下肢と呼吸運動が同調すると自律神経の緊張の程度とは無関係にその帯域のパワーが減少する. したがって Rassler と Kohl の研究

は LRC の効果を自律神経系の面からは正當に評価していない可能性がある.

## 2. 研究の目的

本研究の目的は LRC の効果を自律神経系の面から評価し, LRC の臨床での応用についての検討を行うことである. 自律神経系の評価には心拍変動のパワースペクトルグラム解析が非侵襲的にかつ簡便に行える点からよく用いられている. しかし Nakamura らの研究が指摘するとおり, LRC 研究においてはこれによる自律神経系の解析が困難である可能性がある. そのため, われわれは自律神経系の興奮の程度の推定に, 呼吸数や運動との同調に直接影響を受けない唾液内ホルモンの測定を考えた. 唾液コルチゾルの測定は, 従来ストレスマーカーとして主に心理系の研究に用いられてきた. さらに近年では唾液コルチゾルよりも鋭敏に交感神経の緊張を反映する唾液クロモグラニン A が自律神経系の評価に応用されるようになってきている(深田 2007). 本研究ではこの LRC の利得について, クロモグラニン A を用いてストレス及び自律神経系の側面から検討することとした. 本研究では, LRC 誘発呼吸条件と他の条件を比較し(図), エルゴメータ運動時に LRC を誘発する効果を交感神経緊張の程度から研究した.



## 3. 研究の方法

本研究はパイロットスタディー及び第1研究, 第2研究に分けて実施した.

### (1)パイロットスタディー

LRC を誘発する際は呼吸数が下肢運動に対して整数分の1に規制されるため, 下肢運動のピッチによっては LRC 誘発によって呼吸数が著しく減じられる, または増加してしまう. 例えば 60rpm(または 120step)で運動を行う場合, 呼吸数は 30 回となるが, 運動強度に対する自然な呼吸数の増加がこれよりも少ない場合も多い場合もある. また LRC はエルゴメータ駆動に比べ歩行や走行での出現率が高いとも言われる. そのためトレッドミルとエルゴメータ負荷の双方で LRC 誘発について比較した. その結果, トレッドミ

ル負荷の場合、ケーデンスは傾斜角度、トレッドミル速度、歩幅、その他の個人因子などの多数のパラメータで規定されることもあり、ケーデンスの整数倍になる呼吸数を多重回帰分析で得られた係数と運動負荷試験で得られるパラメータであらかじめ予測することは困難であった。それに比べエルゴメータ負荷の場合、回転数が40~60rpm、負荷量が0~200Wの範囲で調整が可能であり、トレッドミルの時に比べ研究は容易であることが分かった。

## (2) 第1研究

LRCの誘発に自作の同調誘発システムと、LRCの効果判定にクロモグラニンA測定と死腔負荷法による呼吸筋酸素摂取量測定が用いることができるかについて検討する目的で研究を実施した。

### ①対象者

健康大学生8名(20.3±0.5歳)が研究に参加し、いずれもインフォームド・コンセントを得た。

### ②方法

被験者の自由に任せた呼吸数とエルゴメータのクランク回転数で運動させた場合と、クランク回転に一致した音刺激にて呼吸のタイミングを指示しながら運動させた場合で比較した。

運動負荷には自転車エルゴメータ(エアロバイク75XL, コンビ)を用いた。ペダル回転数の検出のために、右側ペダルの上死点に一致して信号が発生するようにリードスイッチを設置した。換気量の測定には呼吸ガス分析器(Aero monitor AE-300, ミナト医科学)、心拍数の測定には心電計(MSM-7201, 日本光電)を用いた。ペダル、心電計及び呼吸ガス分析器のアナログ信号はADコンバーター(Power Lab, AD Instrument)とPCで収集し、波形分析ソフト(Chart ver. 5.3)を用いて解析した。呼吸ガス分析器からの気流の信号から呼吸開始のタイミングを、自転車エルゴメータに設置したリードスイッチからの信号から右脚上死点のタイミングをそれぞれ求め、LRCの発生率について評価を行った。唾液クロモグラニンA量測定のために、各運動終了直後に脱脂綿を口に含ませ、十分に唾液が染み込んでから脱脂綿をサリベット管に採取した。得られた検体は速やかに輸送し、(株)矢内原研究所へ分析を依頼した。クロモグラニンA量は唾液内タンパク量で補正した値を用いた。

自由呼吸下で7分間の無酸素性作業閾値レベルの定常運動を行い、さらに連続して300mlおよび500ml死腔負荷による呼吸筋酸素摂取量の評価を行った。唾液クロモグラニンAは300ml死腔負荷の最後の1分、500ml死腔負荷の最後の1分、運動終了4分

後に測定した。続いてLRC誘発下で同様の運動負荷を行った。

### ③結果

LRC誘発下ではLRC発生率が有意に増加した(0.14±0.26%から0.65±0.14%)。しかし、呼吸数、酸素摂取量、呼吸筋酸素摂取量、呼吸困難感の改善の程度には一定した傾向が見られなかった(いずれもP>0.05)。またクロモグラニンAはLRCを誘発しても一定した変化を示さず、さらに死腔負荷を加えても呼吸困難感の減少とは関係なく変化しなかった。

### ④考察

これまでの報告通りLRCによる利得は個人差が大きく、今回の結果からは自律神経系の影響は明らかにならなかった。また、LRCによって呼吸数が減少する場合と増加する場合の双方があったが、外的負荷が変化しない条件でLRCの有無によって変化しうるのは呼吸数であるため、LRCの効果を観察するためにはこれらの点について統制が必要と考えられた。また死腔負荷による呼吸困難感増大に対してもクロモグラニンA濃度が変化しなかったことから、呼吸困難感の発生には心的ストレスよりも機械的ストレスのほうが関係する可能性も考えられた。

## (3)第2研究(主研究)

第1研究の結果を踏まえ研究を単純化し、LRCの効果を唾液クロモグラニンA量によって判定することを目的に研究を実施した。

### ②対象

健康成人(年齢20±1.4歳)を対象とし、いずれもインフォームド・コンセントを得た。

### ③方法

事前にすべての対象者にペダル回転数を50rpm、負荷増加量20W/分の設定で漸増運動負荷試験を行い、最大酸素摂取量( $VO_{2max}$ )と無酸素性作業閾値(AT)を求めた。その後、対象者をランダムに2群に分け、それぞれエルゴメータの回転数を40rpmおよび50rpmに設定した(それぞれ低回転群、高回転群)。まず、ATレベルの運動強度で10分間の定常運動負荷試験を呼吸運動に規制を行わずに行った(自由呼吸)。15分以上の十分な休息の後、対象者の自発的な方法でLRCを誘導したうえで同様に定常運動負荷試験を行った(LRC)。具体的には、対象者の右または左脚の踏み込むタイミングに合わせて呼吸を行うように指示することでLRCを誘導した。運動と呼吸はクランク2回転につき呼吸1サイクルの比率(2:1)で行わせた。

運動負荷器具、換気量測定器具、心拍数測定器具、呼吸とペダルのタイミングの算出については第2研究に準じた。解析区間は運動負荷の後半5分間とした。LRCの出現の程度の評価として、Mrowkaら(2000)の方法に準

じた同期指数を算出した。この同期指数は、位相差があってもその位相差が一定であれば1に近づく性質がある。

唾液クロモグラニン A 量は運動直後に採取し、その後運動中の呼吸困難感と下肢疲労感を10cmのVisual analog scale (VAS)にて聴取した。採取した唾液クロモグラニン A については、第2研究と同様の取り扱いをした。

統計学的分析として、群間の比較には対応のないt検定と2条件間の比較に対応のあるt検定を、また正規性が認められない場合はそれぞれMann-Whitney検定とWilcoxon signed-rank検定を用いた。統計ソフトはSPSS ver.18 (SPSS)を用い、いずれもP<0.05を有意とした。

#### ④結果

運動強度を決定するために運動負荷試験で求めたAT値は $1.35 \pm 0.50 \text{ml}$  ( $52.3 \pm 5.9\% \text{VO}_{2\text{max}}$ )、決定した負荷量は $105.4 \pm 38.3 \text{W}$  ( $52 \pm 14.8\% \text{VO}_{2\text{max}}$ )であった。高回転群と低回転群とにはいずれも有意な差は認められなかった。Mrowkaらの同期指数で評価したLRCの発生程度は、高回転群が $0.737 \pm 0.243$ 、低回転群が $0.737 \pm 0.170$  (全被験者で $0.737 \pm 0.204$ )と2群には差が認められなかった。またエルゴメータの回転数は高回転群が自由呼吸時、LRC時それぞれ $56.0 \pm 2.2 \text{rpm}$ 、 $56.4 \pm 2.3 \text{rpm}$ で、低回転群はそれぞれ、 $42.5 \pm 2.4 \text{rpm}$ 、 $41.9 \pm 2.9 \text{rpm}$ といずれもLRC誘導の有無で回転数は変化しなかった。

VASと唾液クロモグラニンAの結果を表.1に示す。呼吸困難感の高回転群ではLRC時には統計学的には有意な低下が認められなかったが、低回転群は有意に低下した(P=0.001)、下肢の疲労感はいずれも有意な変化を示さなかった。クロモグラニンAの分泌量についても双方とも有意な変化を示さなかった。心拍変動による自律神経の解析では、高回転群はLF/HFが有意に減少したが(P=0.038)、低回転群ではいずれも有意な差を認めなかった。

換気諸量の変化を表.2に示した。LRCの誘導により呼吸数は高回転群で上昇し、低回転群では逆に減少したが統計学的には有意ではなかった。しかしながらLRC時の呼吸数を2群間で比較すると有意な差が認められた(P<0.001)。酸素摂取量は低回転群でLRC誘導による影響を認めなかったものの、高回転群では増加する傾向があった(P=0.071)。呼気終末二酸化炭素濃度(P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>)は低回転群では変化がなかったが高回転群では有意に減少した(P=0.002)。分時換気量は低回転群では変化が認められなかったが、高回転群は有意に増加した(P=0.032)。換気効率の検討では酸素当量はいずれの群もLRC時に有意な変化を認めなかったが、LRC時は低回転群の

表 1. LRC 誘発による VAS とクロモグラニン A の影響

		呼吸 VAS (cm)	下肢 VAS (cm)	唾液 CoA (pmol/mg)
高回 転群	自由 呼吸	4.5±1.8	5.4±2.1	5.2±5.5
	LRC	3.8±1.5	5.0±2.1	4.5±3.7
低回 転群	自由 呼吸	4.8±1.8	4.7±1.9	4.7±2.4
	LRC	3.6±1.2***	4.3±1.5	4.6±2.3
全被 験者	自由 呼吸	4.7±1.8	5.0±2.0	4.9±4.1
	LRC	3.7±1.3**	4.6±1.8	4.6±3.0

Mean±SD

自由呼吸とLRCとの比較

\* P<0.05 \*\* P<0.01 \*\*\* P<0.001

VAS = Visual analog scale CoA=クロモグラニン A

表 2. LRC 誘導による換気量の変化

		分時換気量 (L)	酸素摂取 量(L)	P <sub>ET</sub> CO <sub>2</sub> (mmHg)
高回 転群	自由 呼吸	41.40± 5.38	1.60±0.18	45.3±2.7
	LRC	45.21± 5.65*	1.66±0.18†	42.0±2.8**
低回 転群	自由 呼吸	40.97±10.38	1.67±0.37	45.4±3.1
	LRC	40.58± 7.36	1.64±0.33	44.1±2.7
全被 験者	自由 呼吸	41.16± 8.52	1.64±0.31	45.4±2.9
	LRC	42.62± 7.05	1.65±0.28	43.2±2.9**

Mean±SD

自由呼吸とLRCとの比較

†P<0.1 \* P<0.05 \*\* P<0.01 \*\*\* P<0.001

呼気終末二酸化炭素濃度 (P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>)

方が高回転群より有意に低かった。一方、二酸化炭素当量については高回転群が有意に悪化した(P=0.027)。

#### 4. 研究成果

これまでLRCによる生理的効果についてはこれまで報告が少ないうえ、その結果はかならずしも一致しない。我々もいくつかの方法で検討してきたが、LRCが酸素摂取量を明らかに減少させる根拠は見いだすことができなかった。また主研究においてもストレスマーカーあるいは自律神経系の指標としての唾液クロモグラニンAの分泌量からその影響を測ることを考えたが、LRCによって唾液クロモグラニンA分泌量は影響を受けなかった。またNakamuraらが報告したとおり、心拍変動の値は他のパラメータと一致した変化を認めず、自律神経の変化を反映していない可能性が高かった。一方、LRCによって呼吸数が増えるため、これがLRCの効果を増強する可能性があった。主研究ではこれを踏まえた検討をしたところ、呼吸数が減少するようにLRCが誘導されると呼吸困難

感は明らかに減少したが、逆に呼吸数が増加するように LRC が誘導されると呼吸困難感  
は減少しないばかりか、換気効率は悪化する  
上酸素摂取量はむしろ増加傾向であった。し  
たがって LRC の効果を得るためには、少な  
くとも呼吸数が増加しないように運動頻度  
や運動呼吸比の調節が必要であると考えら  
れた。

今回、呼吸困難感を一種のストレスと捉え  
唾液クロモグラニン A 分泌量との関連も検  
討したが、LRC による呼吸困難感の増減と唾  
液クロモグラニン A とは直接的な関係を認  
めなかった。したがって元々呼吸困難感と唾  
液クロモグラニン A 分泌量とは関連がなか  
った可能性があるが、それについてはさらに  
検証が必要である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

①解良武士, 大島洋平, 玉木彰, ペダル回転  
数が運動呼吸同調現象誘導時の換気諸量と  
唾液クロモグラニン A の分泌に与える影響,  
理学療法科学, 26 巻, 2011 年, 査読あり (印  
刷中)

②解良武士, 藍原章子, 一場友実: 呼吸困難  
感の感知モデルからみた呼吸リハビリテー  
ションアプローチ, 理学療法-臨床, 研究,  
教育-, 17 巻, 9-14, 2010 年, 査読なし

〔学会発表〕(計1件)

解良 武士, 玉木彰, 大島洋平, 松下哲也,  
運動呼吸同調現象の誘発が呼吸様式へ及ぼ  
す影響, 2011 年, 第 46 回日本理学療法学術  
大会 (宮崎)

〔その他〕

①解良武士, 講演「呼吸困難感のメカニズム  
とリハビリテーション」 講師：2009 (脳血  
管研究所附属南東北福島病院)

②解良武士, 講演「呼吸困難感のメカニズム  
とリハビリテーション」講師：2009 (新横浜  
リハビリテーション病院)

③解良武士, 講演「埼玉内部疾患リハビリテ  
ーション研究会 第2回研修会 呼吸苦を理  
解する」講師：2011年5月11日 (埼玉)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

解良武士 (KERA TAKESHI )

日本医療科学大学保健医療学部・准教授  
研究者番号：50449435

### (3)連携研究者

玉木 彰 (TAMAKI AKIRA )