

機関番号：24601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20500623

研究課題名（和文） 高齢者のスポーツ活動時における血栓形成機所の解明と予防策の構築

研究課題名（英文） Elucidation of mechanism of thrombus formation in older people during sporting activity and preventive measure thereof

研究代表者

石指 宏通（ISHIZASHI HIROMICHI）

奈良県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50260807

研究成果の概要（和文）：

高齢者は老化の影響により、「向」血栓に作用するVWFと「抗」血栓へ作用するADAMTS13の働きにバランスの崩れが生じている可能性が考えられるため、安静時およびスポーツ活動前後におけるVWF産生について高齢者と若年成人で比較検討した。その結果、高齢者は若年成人に比して、安静時レベルでのVWF抗原量の高いこと、ならびに運動強度に対する変化量の大きいことが認められた。また、一方、VWFを分解する酵素活性（ADAMTS13活性）は若年成人に対して、高齢者では有意に低いことが認められた。これは安静レベルで高値を示すVWFを分解するために活性が低下している可能性もあるが、老化に伴ってADAMTS13産生量そのものが低下していることも十分予想された。

研究成果の概要（英文）：

Since there is a possibility of occurrence of imbalance between the thrombophilic action of VWF and the antithrombogenic action of ADAMTS13 due to aging, production of VWF in resting state and before and after sporting activity was investigated and compared between older peoples and young adults. The results indicated that older peoples had higher VWF antigen level in resting state as compared with young adults. In contrast, enzyme activity for decomposing ADAMTS13 activity was recognized as significantly lower in older peoples as compared with young adults. Based on this, lowering of the ADAMTS13 production amount itself due to aging was also presumed, though there is a possibility of lowering of the activity for decomposing VWF showing high level in resting state.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学 応用健康科学

キーワード：スポーツ活動 VWF ADAMTS13 老化 脱水

1. 研究開始当初の背景

近年、生活習慣病に対するスポーツの効用が強調され、一般市民の間でスポーツが着実

に広まってきている。しかしながら、それと同時にスポーツ実施に関わって突然死を起こす人の数も増えてきているのが現状であ

る。スポーツ活動時における突然死の発生機序は未だ十分解明されていないが、微小循環障害は特に注目されており、その一因として病的血栓の形成があげられる。血栓には、出血を止めるための止血血栓と臓器障害を引き起こす病的血栓があり、後者は血小板とフォンビルブランド因子(VWF)によって形成される血小板血栓と考えられる。

これまで我々は健常大学生に60分間、高強度運動と低強度運動の二種類の運動負荷を与え、高強度運動において負荷直後からVWF抗原が増加し、強い血小板凝集能をもつUL-VWFmが出現することを明らかにしてきた。一方、低強度運動負荷ではVWFの増加もUL-VWFmの出現も認められなかった。この高強度運動負荷におけるVWFの増加とUL-VWFmの出現は、運動時の血圧の上昇ならびにhyperdynamic state下における過剰出血(外傷等による)に対する防御機構の一つと考えられる。一方、このUL-VWFmのTyr842-Met843ペプチド結合を切断する酵素がADAMTS13(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13)である。運動負荷時のADAMTS13活性はVWFの増加に約2時間遅れて低下し、負荷後4~6時間には正常レベルに戻る。この際のADAMTS13活性の低下は、運動負荷直後に増加したUL-VWFmを切断するために消費されたことを反映していると考えられる。以上のことから、高強度運動後にUL-VWFmの過剰産生が持続するような状態、あるいはADAMTS13が増加したUL-VWFmを十分に分解し得ない状況下では、生体は一時的に血栓症を誘発しやすい状態にあること推察させるものであった。とくに、スポーツ活動時に突然死の頻度が高い高齢者では、老化により、「向」血栓に作用するVWFと「抗」血栓へ作用するADAMTS13の働きにバランスの崩れが生じている可能性が考えられる。

2. 研究の目的

(1) スポーツ活動時におけるVWF産生能の老化の影響

スポーツ活動時に突然死の頻度が高い高齢者では、老化により、「向」血栓に作用するVWFと「抗」血栓へ作用するADAMTS13の働きにバランスの崩れが生じている可能性が考えられるため、運動習慣(野球)を有する高齢者と大学野球部員を対象に、安静時およびスポーツ活動前後におけるVWFパラメーターおよびADAMTS13活性の変化の違いを比較検討した。

(2) スポーツ活動時における、VWF産生能と脱水状態の影響

高齢者では、老化によるVWF産生能の変容に加え、口渇感の鈍化による水分補給の頻度・量の減少による脱水の影響が予想される

ため、スポーツ活動中の自発的脱水の程度(発汗量、水分摂取量、脱水率、HCT)を測定し、VWFパラメーターとの関係を高齢者と若年成人で比較検討した。

3. 研究の方法

本実験では、寿野球に参加する高齢者22名、大学運動クラブに所属する者16名を対象とし、夏季におけるスポーツ活動時(3時間)の水分補給量・総発汗量・心拍数・運動量を測定し、練習直前、練習終了直後及び終了1時間後の計3回採血(5cc)した。

測定項目

(1) 総発汗量および体重あたりの発汗量: 活動時における総発汗量は、練習前後の体重と水分補給量から算出した。

(2) 水分補給量および水分補給率: 活動時における飲水は、スポーツ飲料を被験者毎に準備した個人ボトル(1L用)で自由摂取させ、飲水前後におけるボトルの重量差から水分補給量(g)を求めた。

(3) 心拍数と運動量: 練習時における心拍数は、心拍測定器を用いて30秒毎に連続測定した。また、練習時における運動量を把握するため、万歩計で歩行量を測定した。

(4) 環境温度; いずれの調査においても、温熱環境の総合的指標であるWBGTを練習時の乾球温度(DT)・湿球(WT)・黒球温度(GT)をグラウンドで30分毎に測定した。

(5) ヘマトクリット値・VWF抗原量・VWF凝集能・VWF特異的分解酵素(ADAMTS13)活性およびADAMTS13抗原量: 活動直前、活動終了直後および1時間後に血液を5cc採取し、血液中のヘマトクリット値、VWF抗原量、VWF凝集能、およびADAMTS13活性、ADAMTS13抗原量を測定した。血液は速やかに遠心分離し、血漿を-80℃で保存した。採血は肘静脈より医師によって行った。

ヘマトクリット(HCT)は自動血球分析装置を用い、血液中に占める血球の全容積を%表示した。VWF抗原量およびADAMTS13抗原量の測定はモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ式酵素免疫測定法(enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)で、抗原量の定量化には吸光度計(コロナモデルMTP-32)が用い、OD492nmで測定した。正常標準血漿の希釈列から、%換算することによって求めた。

4. 研究成果

(1) スポーツ活動時における血栓形成関連因子の老化の影響について、高齢者と若年成人で比較検討を行った。VWF抗原量の安静レベルは若年成人の72.8±15.6%に対して、高齢者では127.6±35.5%と有意に高値を示すことが認められた。また、スポーツ活動の影響については、運動終了直後に高齢者で

173.1±44.6%、若年成人では127.6±22.5%と有意な増加を示した。安静時レベルからの変化量については両群間で有意な差は認められなかったものの、実際の運動強度において、物理的・相対的にも高齢者で強度が低かったことを考えると、高齢者での運動の影響がより大きかったと推察される。さらに高齢者に回復の遅い傾向がみられた。一方、VWFを分解する酵素活性(ADAMTS13活性)の安静値レベルは若年成人の86.6±15.3%に対して、高齢者では67.9±17.6%と有意に低いことが認められた。これは安静レベルで高値を示すVWFを分解するために活性が低下している可能性もあるが、老化に伴ってADAMTS13産生量そのものが低下していることも十分予想される。さらに、高齢者では口渇感の鈍化の影響もあり夏季スポーツ活動時の水分摂取量が若年成人に比して有意に低かったことなども考えあせると、今後、高齢者の夏季スポーツ活動には、水分摂取や休息などについて十分な注意の必要性が示唆された。

(2)若年成人において練習前、直後ならびに終了1時間後のHCTとVWF抗原量、VWF凝集能、およびADAMTS13活性との関係についてみると、HCTとVWF抗原量との間に絶対値($r=0.39, p<0.05$)変化量($r=0.45, p<0.05$)とも有意な正の相関関係がみられ、特に練習前から練習終了1時間後にかけてのHCTとVWF抗原量の変化量との間には高い相関関係が認められた($r=0.74, p<0.01$)。また、練習前から練習直後のHCTの変化量とVWF凝集能の変化量との間には正の有意な相関傾向がみられた($r=0.38, p=0.09$)。これらの結果は、HCTからみた脱水の程度が高いものほど、VWF抗原量ならびにVWF凝集能が高く、血栓を形成しやすい傾向にあることを示唆するものである。しかしながら、高齢者においては脱水の程度とVWF産生について有意な関係は認められなかった。これは口渇感の鈍化による水分補給量が若年成人より有意に低かったことが起因しているものと考えられる。

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9件)

- ① Ishikawa M, Uemura M, Matsuyama T, Matsumoto M, Ishizashi H et al: Potential role of enhanced cytokinemia and plasma inhibitor on the decreased activity of plasma ADAMTS13 in patients with alcoholic hepatitis: relationship to

endotoxemia. Alcohol Clin Exp Res. 34 :25-33. 2010 (査読有)

- ② Uemura M, Fujimura Y, Ko S, Matsumoto M, et al: Pivotal role of ADAMTS13 function in liver diseases. Int J Hematol. 2010 Jan;91(1):20-9. Review. (査読有)
- ③ Ichinose-Kuwahara T, Inoue Y et al.: Sex differences in the effects of physical training on sweat gland responses during a graded exercise. Exp Physiol. 95. 1026-32. 2010 (査読有)
- ④ Kobayashi T, Wada H, Usui M, Sakurai H, Matsumoto T, Nobori T, Katayama N, Uemoto S, Ishizashi H et al: Decreased ADAMTS13 levels in patients after living donor liver transplantation. Thromb Res. 124(5):541-5. 2009 (査読有)
- ⑤ Inoue Y, Ueda H, et al.: Sweat gland function Thai and Japanese Males in relation to physic training. Environmental Ergonomic. 13. 276-9. 2009 (査読有)
- ⑥ Uemura M, Fujimura Y, Matsuyama T, Matsumoto M, Ishikawa M, Ishizashi H et al: Potential role of ADAMTS13 in the progression of alcoholic hepatitis. Curr Drug Abuse Rev. 1(2):188-96. 2008. Review. (査読有)
- ⑦ Horii M, Uemura S, Uemura M, Matsumoto M, Ishizashi H et al: Acute myocardial infarction as a systemic prothrombotic condition evidenced by increased von Willebrand factor protein over ADAMTS13 activity in coronary and systemic circulation. Heart Vessels. 23(5):301-7. 2008 (査読有)
- ⑧ Morioka C, Uemura M, Matsuyama T, Matsumoto M, Kato S, Ishikawa M, Ishizashi H et al: Plasma ADAMTS13 activity parallels the APACHE II score, reflecting an early prognostic indicator for patients with severe acute pancreatitis. Scand J Gastroenterol. 43(11):1387-96. 2008 (査読有)
- ⑨ Uemura M, Fujimura Y, Matsumoto M, Ishizashi H et al: Comprehensive analysis of ADAMTS13 in patients with liver cirrhosis. Thromb Haemost. 99(6):1019-29. 2008 (査読有)

〔学会発表〕（計6件）

- ① 松本政則、藤村吉博 石指宏通：後天性・特発性 TTP で ADAMTS13 活性著減を示す 195 例と古典的 pentad で診断された 89 例の比較検討. 第 33 回日本血栓止血学会. 鹿児島. 2010 年 4 月.
- ② Matsumoto M, Ishizashi H: Two Patient Groups with Acquired Idiopathic Thrombotic Thrombocytopenic Purpura, Defined by ADAMTS13 (n=195) and/or Classic Pentad (n=89). 51th ASH Annual Meeting. New Orleans (USA). 2009 年 12 月
- ③ 石川昌利、植村正人、石指宏通：アルコール性肝炎における血漿エンドトキシン濃度と ADAMTS13 活性の動態—重症度との関連において. 第 95 回日本消化器病学会. 北海道. 2009 年 5 月
- ④ 植村正人、松本雅則、石指宏通：行した肝硬変の ADAMTS13 著減例は血栓性血小板減少性紫斑病と類似してい. 第 45 回日本肝臓学会総会. 神戸 2009 年 6 月
- ⑤ Ishikawa M, Ishizashi H: Potential role of enhanced cytokinemia and endotoxemia on the decreased activity of plasma ADAMTS13 in patients with alcoholic hepatitis. 50th ASH annual meeting . San Francisco(USA). 2008 年 12 月
- ⑥ 森岡千恵、植村正人、石指宏通：重症急性膵炎における血漿 ADAMTS13 活性と超高分子 VWF マルチマーの動態. 第 44 回日本肝臓学会. 愛媛. 2008 年 6 月

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石指 宏通 (ISHIZASHI HIROMICHI)
奈良県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号:50260807

(2) 研究分担者

松本 雅則 (MATSUMOTO MASANORI)
奈良県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 60316081

藤村 吉博 (FUJIMURA YOSHIHIRO)
奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号: 80118033

井上 芳光 (INOUE YOSHIMITSU)
大阪国際大学・人間科学部・教授
研究者番号: 70144566