

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2007～2009
課題番号：19700534
研究課題名 (和文) 高所トレーニング効果の個人差を予測する生理指標の開発 ～ストレス反応に着目して～
研究課題名 (英文) Development of physiological index for estimating individual differences in high altitude training effects
研究代表者 大岩 奈青 (OHIWA NAO) 独立行政法人日本スポーツ振興センター国立スポーツ科学センター・スポーツ科学研究部・ 研究員

研究成果の概要 (和文) : 本研究は、高所トレーニング後の効果に生じる個人差を評価する生理的な指標を開発することを目的とし、1) 高所順化の個人差の背景にある生理応答としてストレス反応性の違いに着目し、高所順化時における急性高山病 (AMS) 症状の程度とストレスホルモン動態および血液性状変化の関係性について検討し、2) その際のストレス関連でその発現が変化する遺伝子群について、遺伝子解析を用いて探索する2つの実験を実施した。結果、低圧低酸素環境下 (高地と同様の環境) では肺動脈圧と成長ホルモン分泌に大きな個人差が生じること、ストレス反応の指標となるコルチゾール分泌には大きな個人差が認められなかったことが明らかになり、その際の候補となる遺伝子群についても探索した。

研究成果の概要 (英文) : In this study, we set two experiments to develop physiological index for estimating individual differences of high altitude training effects; ex.1) examining the relationship to AMS (Acute Mountain Sickness)-score and physiological responses (ex. blood characteristics, stress hormone) changes during high altitude acclimatization, ex 2) searching specific gene groups which change their expression profile during high altitude acclimatization. In the experiment 1, we revealed that hypobaric hypoxic exposure markedly increased pulmonary arterial pressure (PAP) and growth hormone (GH) release, and shows significant relation between PAP and GH. These results suggested changes of PAP and GH show individual difference among subjects. Hypobaric hypoxic exposure did not induce significant increase of cortisol level. We also extracted gene groups which respond hypobaric hypoxic exposure in experiment 2.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：体育科学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学

キーワード：高地トレーニング 個人差 ストレス反応

1. 研究開始当初の背景

高所トレーニングは、今日パフォーマンスを向上させる有効なトレーニング方法として様々な競技種目、特に高いレベルでパフォーマンスを競うトップ選手に導入されてきた。しかし、この高所トレーニングに対する生理・生化学的応答には個人差があり、結果パフォーマンスにも差が生じることが多く報告されている。Chapsonらは高所トレーニング後に走行記録が向上した者をResponder (R)、非向上者をnon-responder (N-R)に分けたところ、総赤血球数及び赤血球の増加を誘発するエリスロポエチン (EPO)の増加率がRで有意に高値を示すことを見出し、血液性状の適応能力など生理応答の個人差を考慮し実施するべきだとしている。このため、高所トレーニング効果を予測できる生理・生化学的指標の開発が求められるが、いまだ普遍的で再現性のある指標は見出されていない。

高所トレーニングのパフォーマンス向上効果は、初期高所順化に左右されると考えられる。初期順化時には全身の倦怠感、不眠、頭痛など急性高山病 (AMS) を引き起こす場合があり、その症状には個人差が大きいことが知られている。AMS時に認められる種々の愁訴は、急性ストレス暴露時の生理反応と類似しており、実際にAMS症状はストレスホルモンであるグルココルチコイド (GC) のインヒビター (デキサメタゾン) 投与により緩和される。さらに興味深いことに、ある刺激に曝された場合のストレスホルモンの分泌量 (ストレス感受性) は個体により異なり、R、N-Rに分類できることも知られているため、AMS症状の発現程度、そして高所トレーニング後のトレーニング応答の個人差にはストレスホルモン分泌応答の違いが寄与している可能性がある。

このようなストレスホルモン分泌応答もしくはストレス感受性に認められる個人差には、自律神経・内分泌系機能に関与する遺伝子発現の違いが原因である可能性も示唆されている。加えて、GC受容体の遺伝子多型なども報告されており、高所トレーニング後のR、N-Rの背景にも何らかの遺伝的要因が存在すると想定される。しかしストレス反応に着目し、高所トレーニング効果の個人差の背景にある遺伝子発現の違いについて探索した研究は皆無である。

2. 研究の目的

本研究では、1) 高所順化の個人差の背景にある生理的機構としてストレス反応性の

違いに着目し、高所順化時におけるAMS症状の程度とストレスホルモン動態および血液性状変化の関係性について検討し、2) その際の遺伝的要因について遺伝子解析を用いてストレス関連でその発現が変化する遺伝子群について探索することを目的とした。

3. 研究の方法

研究目的を検討するために3つの実験を行った。

(1) ストレス・造血反応が顕著に見られる実験モデルの構築

(2) 低圧・低酸素曝露による各生理的指標の変化とその関連性

(3) 低圧・低酸素曝露による網羅的遺伝子発現解析

(1) ストレス・造血反応が顕著に見られる実験モデルの構築

低酸素環境下における個人差を検討する上で最も効果的なモデルを探るため、

① 低酸素環境下に12時間曝露した場合

② 低酸素環境下で1時間運動した場合

の2条件でストレス反応・エリスロポエチン (EPO) 分泌などの造血反応について検討した。

① 低酸素環境下に12時間曝露した場合

<対象者、期間>

健常成人男性8名を被験者とし、低酸素 (酸素濃度14.6%、高度3000m相当) 及び常酸素宿泊を実施した。実験は、計2泊のうち被験者をランダムに低酸素あるいは常酸素宿泊に割り当て、宿泊は個人の酸素濃度がわからない状況で実施した (単盲検法)。

<実験方法及び測定項目>

宿泊前、宿泊後3時間、12時間後に採血を行い、RNA抽出したサンプルから遺伝子発現変化について検討すると同時に、その他の生理的指標 (血液性状、血漿中EPO、副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) Cortisol濃度など) も測定した。入室後はパルスオキシメーターを用いて動脈血酸素飽和度をモニタリングした。被験者には緊急事態を除き、宿泊室内にとどまるよう指示した。

② 低酸素環境下で1時間運動した場合

<対象者、期間>

健常成人男性6名を被験者とし、低酸素 (酸素濃度14.6%、高度3000m相当) 及び常酸素環境下で1時間の自転車運動 (60%V02max) を実施した。その後両群ともに常酸素環境下にて4-6時間安静とした。

<実験方法及び測定項目>

運動前、運動直後、運動後4-6時間に採血

を行い、生理・生化学的指標（血算、血漿中 EPO、ACTH、Cortisol 濃度）も測定した。入室後はパルスオキシメーターを用いて動脈血酸素飽和度をモニタリングした。

①②の2条件で実験を行い、よりストレス反応、造血反応に個人差が認められる実験条件を決定した。

(2) 低圧・低酸素曝露による各生理的指標の変化とその関連性

実験(1)の①②で得られた知見をもとに、低圧低酸素曝露による生理的指標の開発について検討した。

<対象者、期間>

健常成人男性 20 名を被験者とし、2 時間の低圧低酸素（酸素濃度 14.6%、高度 3000m 相当）曝露を実施した。

<実験方法及び測定項目>

曝露前後に採血を行い、RNA 抽出したサンプルから遺伝子発現変化について検討すると同時に、その他の生理的指標（血液性状、血漿中 EPO、ACTH、Cortisol 濃度など）も測定した。入室前には低酸素換気応答および肺動脈圧測定を行い、入室後はパルスオキシメーターを用いて動脈血酸素飽和度をモニタリングするとともに、低圧低酸素曝露 2 時間後に肺動脈圧を測定した（写真 1）。

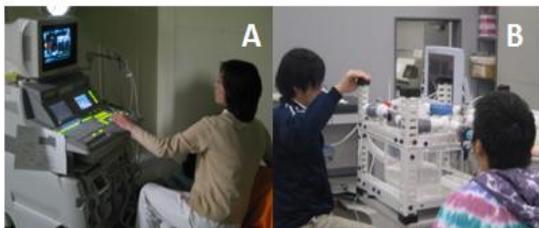


写真 1 実験風景

A: 肺動脈圧測定 B: 低酸素換気応答測定

(3) 低圧・低酸素曝露による網羅的遺伝子発現解析

実験(2)において、低圧低酸素曝露に最も反応性の高かった被験者 2 名、および最も反応性の低かった被験者 2 名をそれぞれ抽出し、採取した血液から mRNA 抽出を行い、Agilent oligo cDNA Microarray を用いて、遺伝子発現プロファイル変化について網羅的遺伝子発現解析を行った。

4. 研究成果

(1) ストレス・造血反応が顕著に見られる実験モデルの構築

①低酸素環境下に 12 時間曝露した場合

<動脈酸素飽和度・血液性状>

酸素飽和度は低酸素宿泊時には 85-90%に減少した。血液成分（白血球数、赤血球数、ヘ

モグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板濃度）に関しては低酸素宿泊（N）群、常酸素宿泊（H）群に有意な差は認められなかった。

<生化学項目>

低酸素及び常酸素宿泊後の血漿ホルモンレベルの変化について図 1 に示した。エリスロポエチン（EPO）の濃度変化は N 群と比較して H 群で有意に異なることが示された。各タイムポイントでの比較では、曝露後 12 時間で N 群と比較して H 群の EPO 濃度が有意に上昇した。低酸素宿泊時の EPO レベルの上昇は、我々の先行研究においても確認されており、本実験での EPO 濃度も同程度増加した。ACTH についても N 群と H 群では有意に異なり、各タイムポイントでの比較では宿泊後 12 時間で N 群と比較して H 群の ACTH 濃度が有意に減少した。血漿コルチゾール濃度は両群間で有意な変化は認められなかった。

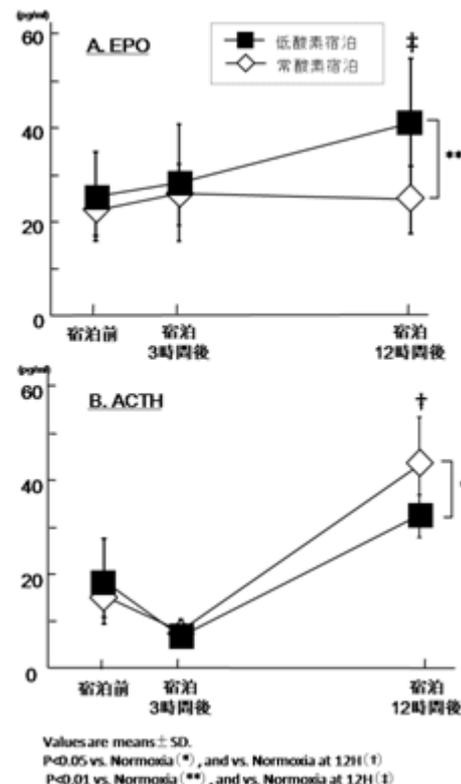


図 1 低酸素・常酸素宿泊前後の血中 EPO・ACTH 濃度の変化

②低酸素環境下で 1 時間運動した場合

<運動時の動脈酸素飽和度・心拍数>

酸素飽和度は低酸素運動群において 80-85%に減少した。心拍数は両運動群ともに運動時に増加し、両群間に有意な変化は認められなかった。

<生化学項目>

低酸素及び常酸素運動後の血漿ホルモンレベルの変化について図 2 に示した。エリスロポエチン（EPO）・コルチゾール濃度は常酸素

運動群と比較して低酸素運動群で有意に増加した。各タイムポイントでの比較では、両群ともに運動前と比較して運動直後において ACTH 濃度が有意に上昇したが、両群における有意な差は認められなかった。

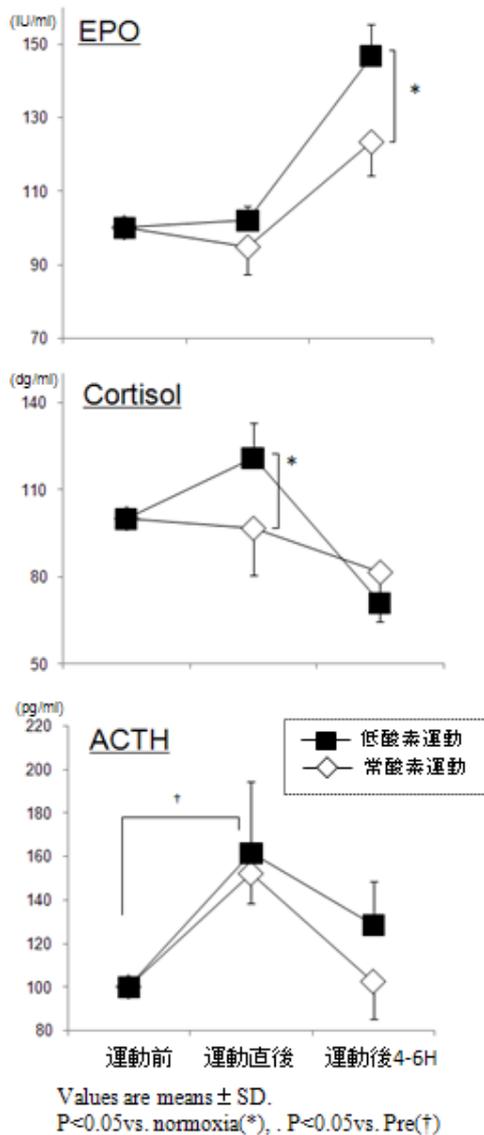


図2 低酸素・常酸素運動時の血中 EPO・コルチゾール・ACTH 濃度の変化

以上①②の実験結果から、低酸素暴露のみではコルチゾールレベルに有意な変化は認められないが、エリスロポエチンレベルは低酸素暴露により有意に増加し、低酸素運動よりもその個人差が大きいことが示唆された。そこで、実験(2)では、低酸素よりもストレス反応をより惹起すると考えられる低圧低酸素環境下で同様の実験を行い、その際のホルモンレベルの変化と、肺動脈圧、低酸素換気応答の個人差について検討することとした。

(2) 低圧・低酸素暴露による各生理的指標の変化とその関連性

成人男性 20 名を用いて、低圧低酸素暴露の前後で低酸素換気応答、肺動脈圧、動脈酸素飽和度などの生理指標と、ストレス反応（コルチゾール・成長ホルモン応答など）・エリスロポエチン（EPO）分泌などの造血反応について検討した。結果、低酸素環境と同様に、動脈酸素飽和度は暴露開始 30 分後と比較して有意に減少した（図 3）。エリスロポエチン・アルドステロン分泌が暴露前後で比較すると、有意に増加し、成長ホルモン分泌応答にも同様の傾向が認められた。その際、低圧低酸素暴露前後において、肺動脈圧・成長ホルモン分泌応答の反応性が個人間で顕著に異なっていた（図 4）。加えて、肺動脈圧と成長ホルモンの増加率には強い相関が認められた（図 5）。この反応性の違いをもとに、最も反応性の高い被験者 2 名と、応答がほとんど認められなかった被験者 2 名を抽出し、遺伝子発現変化の違いについて検討した。

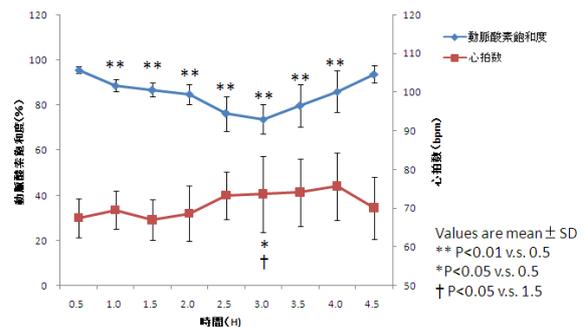


図3 低圧低酸素暴露時の動脈酸素飽和度および心拍数の変化

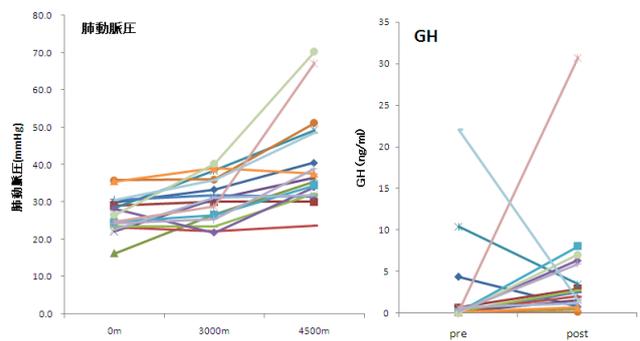


図4 低圧低酸素暴露前後の肺動脈圧および成長ホルモン（GH）の変化

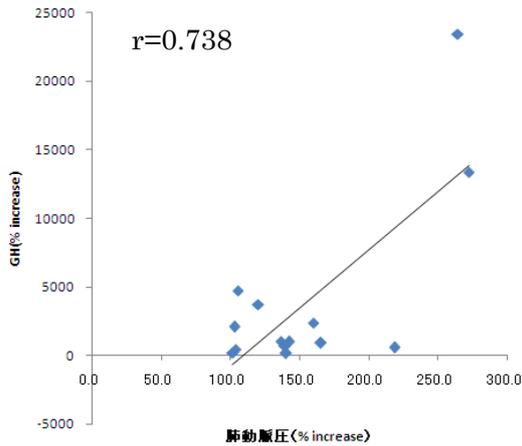


図5 肺動脈圧と成長ホルモン(GH)の相関

(3) 低圧・低酸素曝露による網羅的遺伝子発現解析

実験(2)において、低圧低酸素曝露に最も反応性の高かった被験者2名、および最も反応性の低かった被験者2名をそれぞれ抽出し、網羅的遺伝子発現解析を行った。クラスター解析の結果、Responder (KR, OK)の遺伝子発現プロファイルが近い関係にあることがわかった(図6)。これは低酸素曝露前で Responder と Non-responder (SG, ST)を判別できる遺伝子候補を検出できる可能性を示している。また、各サンプルの各遺伝子に関して、直後(Post)の発現値から直前(Pre)の発現値を差し引いた値でサンプルのクラスタリングを行った(図7)。この場合も Responder と Non-responder が分かれているので、低酸素曝露の遺伝子発現に与える影響が Responder と Non-responder 間で異なることを示唆している。

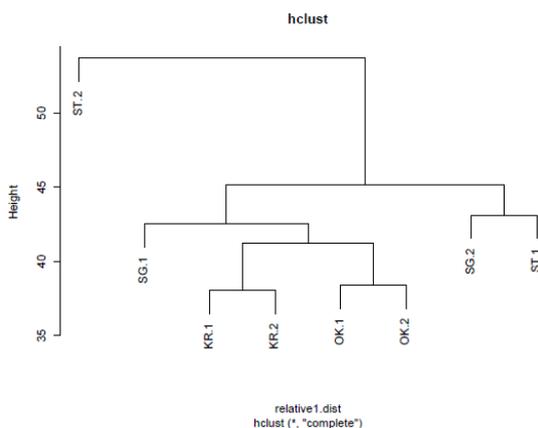


図6 全採血ポイントのデータによるサンプルのクラスタリング

R package: stats を使用。Euclidean Distance, Complete Linkage

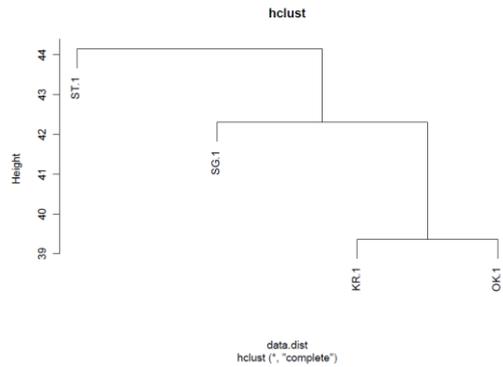


図7 低酸素曝露前ポイントのデータによるサンプルのクラスタリング

R package: stats を使用。Euclidean Distance, Complete Linkage

さらにこの群間で異なる発現を示す遺伝子群を抽出した。結果、その多くが receptor 関連の遺伝子であり、Arginine vasopressin receptor, Androgen receptor, G-protein-coupled receptor, olfactory receptor などがあげられる。これらの機能的な意味は今後の研究で検討していかなくてはならない。

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)
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大岩 奈青 (OHIWA NAO)

独立行政法人日本スポーツ振興センター
国立スポーツ科学センター・スポーツ科学研究部・研究員

研究者番号: 50443247

(2) 研究協力者

本田 亜希子 (HONDA AKIKO)

独立行政法人日本スポーツ振興センター
国立スポーツ科学センター・スポーツ科学研究部・研究員

研究者番号: 20413784

前川 剛輝 (MAEGAWA TAKETERU)

日本女子体育大学

研究者番号: 50336351

斉藤 陽子 (SAITO YOKO)

独立行政法人日本スポーツ振興センター
国立スポーツ科学センター・スポーツ科学研究部・研究員

研究者番号：90549461

(3)連携研究者 ()

研究者番号：