

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K11444

研究課題名（和文）血栓形成関連因子の変動からみた運動強度閾値の季節・日内変動

研究課題名（英文）Seasonal and diurnal variations in exercise intensity thresholds in relation to changes in thrombosis-related factors

研究代表者

石指 宏通（Ishizashi, Hiromichi）

奈良県立医科大学・医学部・教育教授

研究者番号：50260807

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、夏季と冬季のAMとPMに運動強度閾値下（55%HRmax）のランニングを負荷し、その前後の血栓形成関連因子（VWF、ADAMTS13）を測定し、運動強度閾値が季節や時間の影響で変動するかについて検討した。その結果、いずれの季節、時間においても運動による血栓形成関連因子の変動には統計的な差は認められなかった。このことは、今回設定した運動強度閾値下の運動において血栓化に変動は見られず、季節・時間の影響は受けない結果となった。しかしながら、冬季はAM、PMとも運動前からVWF/ADAMTS13値が高値を示したことから、運動実施の際には十分に考慮する必要性のあることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

スポーツ活動時には血小板、VWF、ADAMTS13（血栓形成関連因子）にバランスの崩れが生じ、「向」血栓性に傾くことが明らかにされている。その要因として、運動継続時間や発汗による脱水の程度よりも「運動強度」に影響され、VWFが著増することによって生じる運動強度閾値が50%VO2max付近にあることが明らかにされている。しかしながらこれらの結果は実験室的の快適環境で得られたものであり、日本のように四季の見られる地域では、「向」血栓化の閾値には季節や日内変動があり、注意を払う必要性が考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted running exercise at below the exercise intensity threshold (55% HRmax) during the summer and winter and during the morning and evening, and investigated the formation of blood clots before and after the exercise. By measuring thrombosis-related factors (VWF, ADAMTS13), we examined whether the exercise intensity threshold at which thrombosis is thought to begin varies depending on season and time. The results of the study revealed no statistical difference in the changes in thrombosis-related factors due to exercise in any season or in any time period. These results show that there is no change in thrombotic tendency during exercise below the exercise intensity threshold set here, indicating that it is not influenced by season or by time. However, in the case of the exercise enforcement, it was suggested that there was the need to be considered enough because a VWF/ADAMTS13 level showed high level before exercise with AM, PM in the winter season.

研究分野：スポーツ科学

キーワード：VWF ADAMTS13 運動強度閾値 季節変動 日内変動

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、一般市民の間でジョギングやウォーキングをはじめとするスポーツが着実に広まってきている。しかしながら、スポーツ実施に伴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。本来なら、生体防御に必須の止血血栓過程は、時に過剰に機能した場合、心筋梗塞や脳梗塞をはじめとした臓器障害を伴う致死的な病的血栓形成の引き金ともなりえる。この病的血栓は、血小板と、その接着因子となる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。スポーツ活動時など、血流速度の高い状況下での血栓形成においては、フォンビルブランド因子(VWF)が血小板の粘着、凝集に重要な働きを持つことが知られている。

これまで我々は血小板血栓において「分子糊」として作用するVWFとVWFを特異的に切断し、血栓形成を分解する働きをもつ酵素(ADAMTS13)をとりあげ、男子大学生を対象に、自転車エルゴメータを用いた60%VO₂maxの60分間運動を負荷し、負荷前、負荷直後から経時的に12時間後まで、血小板数、VWF抗原量、VWF凝集能、およびADAMTS13活性を経時的に測定した。その結果、負荷直後よりVWF抗原量と凝集能は著増し、これらの増加は運動6時間後まで検出され、12時間後には消失した。一方、ADAMTS13活性はVWFの動態とは異なり、運動負荷前後には酵素活性の変化は認められなかったが、2時間後以降に減少が認められた。運動負荷によるVWFの量的・質的增加は血流量や血圧増加に伴う外傷時の過剰出血に対する防御策の一つと考えられ、血漿中のADAMTS13により分解され、同時に同酵素活性の消耗性低下がひき続くものと理解された。次に、高強度時にみられた著増が如何なる要因によるものかを明らかにするため、運動時の発汗による脱水状態に着目し、脱水状態の相違がVWF産生にどのように影響するのか検討した。その結果、運動終了1時間後のVWF抗原量と体重当りの脱水率との間には有意な正の相関傾向がみられたことから、運動時における脱水の程度が軽い者ほど、回復過程におけるVWF産生の低下が早期に出現する可能性が示唆された。しかしながら、運動時にみられたVWFの量的・質的增加が脱水それ自体に起因したのか、あるいは高強度運動に起因したのかは明確とは言えない。

そこで、スポーツ活動時にみられる血栓形成に影響を及ぼす因子を定量する目的で、異なる運動強度、運動時間ならびに脱水率を設定し、血栓形成関連因子(VWF:「向」血栓因子・ADAMTS13:「抗」血栓因子)との関連性について検討を行った。その結果、運動時の血栓化傾向を示すVWF/ADAMTS13(「向」血栓因子に対する「抗」血栓因子の割合)は運動時間や脱水率よりも運動強度に影響され、血栓傾向が著増する運動強度閾値(55%VO₂max)の存在することが示唆された。しかしながらこれらの結果は実験室的の快適環境で得られたものであり、日本のように四季の見られる地域では、「向」血栓化の閾値には季節や日内変動があり、注意を払う必要性が考えられる。

実験結果として、運動強度閾値には季節・日内変動がみられ、気温の低い冬季および発汗量の多い夏季には閾値が低くなる。また早朝が他の時間帯より低くなることが予想される。これらの結果は、スポーツ活動時の突然死のみならず熱中症等の予防策を構築するため有益な示唆を与えるものと考えられる。

2. 研究の目的

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る。この病的血栓には血小板とその接着因子である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。平常時では血小板血栓の成長にともない ADAMTS13 が血栓成長ストッパーとして働き、バランスを保つことで、致死的な血管閉塞を回避することになるが、スポーツ活動時には血小板、VWF、ADAMTS13 (血栓形成関連因子) にバランスの崩れが生じ、「向」血栓性に傾くことが明らかにされている。その要因として、運動継続時間や発汗による脱水の程度よりも「運動強度」の影響を強く受け、VWF が著増することによって生じる運動強度閾値が 55% VO₂max 付近にあることが明らかにされている。しかしながらこれらの結果は実験室的の快適環境で得られたものであり、日本のように四季の見られる地域では、「向」血栓化の閾値には季節や日内変動があり、注意を払う必要性が考えられる。

そこで本研究では(1)これまで実験室的に定量化された「向」血栓化の運動強度閾値がフィールド現場でのランニング運動でも同様に定量化されるか (2)フィールド実験で定量化された運動強度閾値が夏季(8月)と冬季(12月)といった季節の違いで影響を受けるか(季節変動) (3)AM(7時30分)とPM(18時)といった時間の違いで影響を受けるか(日内変動) また、これらの関連性について検討した。

3. 研究の方法

(1) フィールド現場における運動強度閾値の設定

12名の健康な男子大学生について秋季の快適環境下における低強度(50%HRmax)と中強度(60%HRmax)の25分間のランニング運動を十分な期間を空けて負荷した。各設定の運動前後に採血し、血栓形成関連因子(VWF、ADAMTS13)の測定を行うとともに、VWFが著増し、ADAMTS13を大きく上回る(「向」血栓化)強度閾値を明らかにした。なお、各被験者の運動強度はカルボネン法(Karvonen Formula)を用いて設定した。

VWF 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、OD492 nm 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。VWF 凝集能はホルマリン固定血小板に一定量のリストセチン溶液を添加し、血小板凝集能測定装置(メバニクス Model PAT-2A)を用い、凝集曲線のスロープを測定する。正常標準血漿の希釈列から標準曲線を求め、%換算し定量化した。ADAMTS13 活性は Furan (1997) の方法を改変して用いた。被験血漿に精製した VWF を直接混和し、VWFM の破壊の程度を SDS-アガロースゲル電気泳動法およびウェスタンブロット法を用い測定した。正常標準血漿の希釈列から標準曲線を求め、%換算し定量化した。

(2) 運動強度閾値に及ぼす季節・日内変動

上記(1)で対象とした男子大学生 12 名について、定量化された運動強度閾値下(55%HRmax)を用いた 25 分のランニング運動を夏季(8月)と冬季(2月)の AM(7時30分)と PM(6時)に負荷した。各々の運動前後に採血し、血栓形成関連因子(VWF、ADAMTS13)の測定を行うとともに、VWF が著増し、ADAMTS13 を大きく上回る(「向」血栓化)強度閾値が季節・

時間の影響を受け変動するかを明らかにした。

なお、季節ごとに目標とする心拍数とランニングスピードを設定するため、別日に低速度から徐々にランニング速度を高める 15 分程度のランニングを負荷し、55%HRmax (135 拍 ~ 140 拍程度) となる速度を習得するためのテストを実施した。ランニング中は腕時計式心拍計を用いて速度を調整した。

血栓形成関連因子の測定項目と測定方法は と同様である。

4. 研究の成果

(1) 快適環境下におけるフィールド現場における運動強度閾値

秋季の快適環境下における低強度 (50%HRmax) と中強度 (60%HRmax) のランニング運動 (25 分間) を負荷し、血栓形成関連因子の測定を行った。その結果、低強度でのランニングでは「向」血栓化が見られなかったのに対して (VWF / ADAMTS13 : 1.08 ± 0.25)、中強度では VWF が ADAMTS13 を大きく上回る傾向が見られた (1.44 ± 0.36)。この結果はフィールド現場においても、実験室的で定量化された運動強度閾値とほぼ同様に 55%HRmax 付近に存在し、血栓化傾向の進むことを推察させる結果であった。また、秋季においては血栓化のみられない至適運動強度 (50%HRmax) のランニング運動における日内変動については、AM で PM に比して高値を示す結果であったが、統計的有意差は認められなかった (AM vs PM : 1.08 ± 0.25 VS 1.01 ± 0.28)。

(2) 運動強度閾値に及ぼす季節・日内変動

いずれの季節 (夏季・冬季)、時間 (AM・PM) においても運動による血栓形成関連因子の変動には統計的な差は認められなかった。このことは、今回設定した運動強度閾値 (55%HRmax) 下の運動において血栓傾向に変動は見られず、季節・時間の影響は受けないことを示す結果となった。しかしながら、VWF 活性は冬季で高くなる傾向がみられ、特にその傾向は AM で顕著であった (《運動前》冬季 vs 夏季 : 121.1% vs 100.6%) (《運動後》冬季 vs 夏季 : 125.6% vs 103.5%)。VWF/ADAMTS13 についても冬季の AM で高い値を示した。血栓化の指標である V/A 値 (VWF/ADAMTS13) も同様で、冬季の AM に最も高値 (冬季 vs 夏季 : 1.19 vs 1.05) を示したことから、冬季に運動実施の際には十分に考慮する必要がある。

今回、運動前に血栓化傾向の最も高い状態にあった冬季の AM において強度閾値を超える中強度運動 (60%HRmax) を負荷し、血栓形成関連因子の変動について測定した。運動後の VWF は 159.8% と高値を示す結果であった。このときの V/A 値は 1.67 ± 0.39 と、強度閾値下である 55%HRmax 下の 1.26 を大きく上回る結果を示した。

また、冬季の中強度運動 (60%HRmax) と秋季の快適環境下の中等度運動について比較してみると冬季の V/A 値が大きく上回る結果であった (冬季 vs 秋季 : 1.67 ± 0.39 vs 1.44 ± 0.36)。冬季に運動実施時の強度設定には十分な注意を払う必要性が示唆された。

5. まとめ

本研究は 夏季と冬季の AM と PM にフィールド現場 (自然環境) で設定された運動強度閾値下 (55%HRmax) のランニング運動を負荷し、その前後の血栓形成関連因子 (VWF、

ADAMTS13)の測定し、血栓化の始まる運動強度閾値が季節や時間の影響で変動するかについて検討した。その結果、いずれの季節、時間においても運動による血栓形成関連因子の変動には統計的な差は認められなかった。このことは、今回設定した運動強度閾値下の運動において血栓化に変動は見られず、季節・時間の影響は受けない結果となった。しかしながら、冬季のAMにおいて血栓化を示す兆候がみられたこと、また閾値を超える中強度では、快適環境時よりも血栓化が進むことを考え合わせると、冬季運動実施の際には時間帯や強度設定には十分な注意が必要であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 東出珠美、竹田実来、馬場満、石指宏通、米浪直子
2. 発表標題 ラグビーフットボール選手の身体組成と臨床検査値に関する研究
3. 学会等名 第13回日本ラグビー学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------