

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K11449

研究課題名（和文）ストレス性高血圧の発症と運動による予防・改善効果に関わる扁桃体STAT3の役割

研究課題名（英文）Amygdala STAT3: A Key Regulator in Stress-Induced Hypertension and the Therapeutic Benefits of Exercise

研究代表者

和気 秀文（Waki, Hidefumi）

順天堂大学・スポーツ健康科学部・教授

研究者番号：50274957

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：精神的ストレスが慢性化すると高血圧発症リスクが高まる。一方ストレスに対する対策として運動トレーニングが推奨されており、高血圧発症の予防や改善に寄与する。本研究では、ストレス応答に関わる脳部位、扁桃体に着目し、これらの神経科学的機序について調べた。ラットに慢性的なストレスを与えると扁桃体中心核のSTAT3（細胞死の抑制に関与する因子）の発現が低下するが、運動はその反応を抑制すること、また遺伝子操作により、扁桃体中心核STAT3の発現量を低下させると血圧は上昇することがわかった。以上本研究により、ストレスや運動による血圧応答の機序には扁桃体中心核STAT3が関与していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性的なストレスは高血圧のリスクファクターとして広く知られている。運動トレーニングによるその予防効果も然りである。しかしながら、これらを証明する生理学的機序やその分子基盤について示した研究は少ない。脳の中でも扁桃体はストレス応答に重要で、かつ血圧調節などの自律神経応答にも関与するが、高血圧の発症や運動トレーニングによる予防効果について、扁桃体に着目した研究はほとんど知られていない。本研究により、ストレスに強い脳づくりのための分子基盤を解明することができれば、高血圧症の予防・改善へ向けた新たな運動処方の開発と健康増進活動の推進に寄与するだけでなく、新薬開発にも繋がることを期待される。

研究成果の概要（英文）：Chronic mental stress increases the risk of developing hypertension, while exercise training is recommended as a countermeasure against stress, contributing to the prevention and improvement of hypertension. However, the underlying mechanisms remain unclear. This study focuses on the amygdala, a brain region involved in the stress response, to investigate these mechanisms. Our findings indicate that chronic stress decreases the expression of STAT3, a factor involved in the inhibition of cell death, in the central nucleus of the amygdala. Conversely, exercise inhibits this reduction. Additionally, suppression of STAT3 expression in the central nucleus of the amygdala leads to an increase in blood pressure. These results suggest that STAT3 expression in the central nucleus of the amygdala plays a crucial role in the blood pressure response to stress and exercise.

研究分野：生理学

キーワード：ストレス 高血圧 扁桃体 STAT3 運動トレーニング 圧受容器反射 siRNA ウイルスペクター

## 1. 研究開始当初の背景

精神的ストレスは高血圧発症を促し、脳卒中や心不全のリスクを高める。従ってストレスコントロールは極めて重要であり、その一手段として定期的な運動を行うことが推奨されている。しかしストレスによる高血圧の発症や運動による予防効果の機序は不明である。ストレス応答に関わる主な脳部位は扁桃体であり、扁桃体は血圧調節機能を有する。申請者は慢性ストレスは数百個もの扁桃体遺伝子発現に影響するが、運動習慣によりその約 8 割が正常発現に改善されること、つまり“運動は扁桃体に効く”ことを明らかにした。このうち、シグナル伝達兼転写活性化因子 STAT3 遺伝子は、神経系疾患に関与していることが報告されており、また我々の先行研究において扁桃体 STAT3 遺伝子の発現量と血圧値の間に高い相関性があることも明らかにした。

## 2. 研究の目的

以上の背景のもと、本研究では STAT3 の扁桃体内発現局在や血圧調節などの生理機能を明らかにし、ストレスによる高血圧発症と運動による予防効果の脳内機序について検討した。

## 3. 研究の方法

本研究は全て順天堂大学実験動物委員会によって承認された。

### (1) 慢性拘束ストレスおよびストレスに対する運動習慣が扁桃体 STAT3 発現に及ぼす影響

雄性 Wistar ラットを用いた。4 週齢から 3 週間の拘束ストレス (1 時間/日、5 日/週) を負荷する群、ストレスを与えるが自発性走運動ができる環境で飼育する群 (回転カゴ付ケージで飼育を行う群) そして通常のケージで飼育を行う対照群の 3 群に分け、介入前後の血圧を尾動脈より測定した。飼育終了後に免疫組織化学的手法を用いて、リン酸化 STAT3 の扁桃体内局在ならびに発現細胞の種類を同定し、さらに各群における発現水準の比較を行った。

### (2) 扁桃体における STAT3 の生理機能評価 - siRNA による STAT3 発現抑制実験 -

雄性 Wistar ラット (9-11 週齢) を用いた。自由行動下ラットの血圧をテレメトリーシステムによりモニターし、血圧、心拍数、ならびに心拍変動解析により、自律神経調節能 (圧受容器反射など) を慢性的に記録した。STAT3 発現を抑制するために、2 つの実験を行った。ウイルスベクターに比べて毒性が低いとされる *in vivo* 用高性能トランスフェクション試薬、*in vivo*-jet PEI (Polyplus transfection 社製) を用いて STAT3 の siRNA を扁桃体中心核に導入し、慢性的に (数日間) 当該分子の発現を抑制した際の循環動態ならびに自律神経調節能について調べた。次にウイルスベクター (AAV-Stat3 siRNA) を用いて、より長期間の発現抑制を試み、同様の測定を行った。それぞれのコントロール試薬/ウイルスを注入した群を対照群とした。

### (3) 扁桃体中心核と循環調節中枢の機能的接続について

運動習慣が扁桃体中心核を介した循環調節機能に及ぼす機序について検討するために、逆行性トレーサー (CTB: コレラトキシン B サブユニット) を用いた免疫組織化学的手法と運動を負荷した際の循環調節中枢 (視床下部室傍核と延髄孤束核) における c-Fos 発現について調べるとともに、c-Fos 発現量をもとにした偏相関解析により扁桃体中心核、視床下部室傍核、延髄孤束核との機能的接続についても検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 慢性拘束ストレスおよびストレスに対する運動習慣が扁桃体 STAT3 発現に及ぼす影響

従来の報告の通り、本実験においても慢性拘束ストレスでは血圧上昇を認め、ストレスを課していても、自発性走運動を行わせることで血圧上昇を抑えられることがわかった。リン酸化 STAT3 は主としてニューロンに発現しており、扁桃体のうち中心核に発現するリン酸化 STAT3 は、慢性拘束ストレスで減少し、運動習慣によりその発現量は回復することがわかった。一方、近隣部の扁桃体基底外側核の STAT3 発現はストレスや運動で影響を受けないことを確認した。

### (2) 扁桃体における STAT3 の生理機能評価 - siRNA による STAT3 発現抑制実験 -

*in vivo*-jet PEI による扁桃体中心核への STAT3 siRNA 導入により、対照群に比較し動脈圧（平均血圧）の上昇（導入4日後）を認めたが、心拍数、心臓交感神経及び副交感神経活動の指標、動脈圧受容器心臓反射の感度には有意な変化を認めなかった。また、扁桃体中心核への AAV-*Stat3* siRNA 導入により、導入4日後から有意な平均血圧の上昇を認め、導入13日後には最大の上昇量（約15mmHg）を認めた。一方、心臓交感神経及び副交感神経活動の指標、動脈圧受容器心臓反射の感度には有意な変化を認めなかった。さらに、扁桃体中心核への AAV-*Stat3* siRNA 導入は同部位における STAT3 発現を有意に低下させるが、近隣部の扁桃体基底外側核の STAT3 発現には影響を及ぼさないことを確認した。

### (3) 扁桃体中心核と循環調節中枢の機能的接続について

延髄孤束核および視床下部室傍核へ投射する扁桃体中心核ニューロン群の c-Fos 発現水準は、運動強度依存的に増加した。さらに、c-Fos 発現水準による各神経核間の偏相関解析では、いずれも運動強度依存性に有意な相関関係を示した。

### (4) まとめ

本研究により、慢性拘束ストレスによる扁桃体中心核の STAT3 発現低下は血管支配性交感神経系の賦活化を介して血管抵抗ならびに動脈圧を上昇させること、この際には動脈圧受容器反射感度の変化を伴わないこと、すなわち当該反射のリセットにより血圧が上昇している可能性が考えられた。一方、日常的にストレスに晒されていても、運動習慣により、扁桃体 STAT3 の発現が回復するとともに、血圧上昇も予防・改善される可能性が示唆された。また免疫組織化学的手法により、扁桃体中心核における STAT3 依存性循環調節は延髄孤束核や視床下部室傍核を介した経路による可能性が示された。

扁桃体内における神経接続は極めて複雑でありその機能も同様である。扁桃体中心核の内側亜核からは、多くの GABA 性（抑制性）ニューロンが存在し、延髄孤束核（興奮により血圧を低下させる）などを抑制的に支配している。これらのニューロンは扁桃体中心核外側亜核からの抑制性支配を受けており、またニューロン数は内側部より外側部の方が多いとされている。STAT3 は抗アポトーシス作用を有していることから、慢性ストレスによる STAT3 発現低下は、外側亜核ニューロンのアポトーシスを引き起こすことで、内側亜核からの孤束核への抑制性出力が増し、結果的に血圧の上昇を引き起こした可能性が考えられる。今後はストレスや運動によって扁桃体 STAT3 発現がどのような機序で修飾を受けるのか、さらに扁桃体 STAT3 が血圧調節に関わるより詳細な機序について明らかにする必要がある。

<引用文献>

Nguyen TV, et al. Impact of exercise on brain-bone marrow interactions in chronic stress: potential mechanisms preventing stress-induced hypertension. *Physiol Genomics*. 55(5), 2023, 222-234.

Yamanaka K, et al. Bidirectional cardiovascular responses evoked by microstimulation of the amygdala in rats. *J Physiol Sci*. 68(3), 2017, 233-242.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Thu Van Nguyen, Ko Yamanaka, Keisuke Tomita, Jasenka Zubcevic, Sabine S S Gouraud, Hidefumi Waki	4. 巻 55
2. 論文標題 Impact of exercise on brain-bone marrow interactions in chronic stress: potential mechanisms preventing stress-induced hypertension	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physiological Genomics	6. 最初と最後の頁 222-234
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/physiolgenomics.00168.2022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ezure S, Ichihara H, Yamanaka K, Waki H.	4. 巻 12(3)
2. 論文標題 Functional connectivity in central nucleus of amygdala, paraventricular hypothalamus, and nucleus tractus solitarii circuits during high-intensity endurance treadmill exercise in rats.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine	6. 最初と最後の頁 69-75
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7600/jpfsm.12.69	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kei Tsukioka, Ko Yamanaka, Hidefumi Waki	4. 巻 496
2. 論文標題 Implication of the central nucleus of the amygdala in cardiovascular regulation and limiting maximum exercise performance during high-intensity exercise in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 52-63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2022.06.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ko Yamanaka, Hidefumi Waki	4. 巻 13
2. 論文標題 Conditional regulation of blood pressure in response to emotional stimuli by the central nucleus of the amygdala in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Physiol	6. 最初と最後の頁 820112
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphys.2022.820112	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

[学会発表] 計21件(うち招待講演 3件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 和氣秀文
2. 発表標題 呼吸・循環系の運動生理学:基礎と応用 (教育講演)
3. 学会等名 第101回日本生理学会大会(招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 江連眞一郎, 山中航, 和氣秀文
2. 発表標題 Functional connectivity in the limbic and brain stem regions during treadmill exercise in rats.
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 市原弘康, 山中航, 和氣秀文
2. 発表標題 Functional connectivity of multiple regions of the brainstem induced by high-intensity exercise in rats
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Nguyen Van Thu, 山中航, 富田圭佑, Pham Thuy Linh, Jasenka Zubcevic, Gouraud Sabine, 和氣秀文
2. 発表標題 Effects of oral minocycline on bone marrow inflammation in the restraint stress-induced hypertension
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Nguyen Van Thu, 山中航, 富田圭佑, Pham Thuy Linh, Jasenka Zubcevic, Gouraud Sabine, 和氣秀文
2. 発表標題 ストレス誘発性高血圧に対するミノサイクリン経口投与が骨髄内炎症関連遺伝子発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第77回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江連眞一郎, 市原弘康, 山中航, 和氣秀文
2. 発表標題 高強度運動時に活性化する脳領域のc-Fos発現関連ネットワークの検討
3. 学会等名 第77回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山中航, 月岡恵性, 和氣秀文
2. 発表標題 運動時の情動と心血管応答制御における扁桃体中心核の役割
3. 学会等名 第74回日本自律神経学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 富田圭佑, 山中航, Nguyen Van Thu, Gouraud Sabine, 和氣秀文
2. 発表標題 慢性ストレスに対する運動介入が視床下部の遺伝子発現プロファイルに及ぼす影響
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 和気秀文、富田圭佑、月岡恵惟、Nguyen Van Thu、Gouraud Sabine、山中航
2. 発表標題 扁桃体中心核におけるSTAT3の血圧調節作用
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 富田圭佑、山中航、月岡恵惟、Nguyen Van Thu、Gouraud Sabine、和気秀文
2. 発表標題 慢性拘束ストレスと運動のストレス改善効果が視床下部遺伝子の発現プロファイルに及ぼす影響
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Waki H, Tomita K, Yamanaka K, Tsukioka K, Nguyen VT, Gouraud S.
2. 発表標題 Effect of daily voluntary exercise on stress-induced high blood pressure and gene expression profiles of the amygdala in rats
3. 学会等名 American Physiological Society, Integrative Physiology of Exercise, Virtual Conference, 2020/11/09-13 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamanaka K, Waki H.
2. 発表標題 Role of the central nucleus of the amygdala in blood pressure regulation during appetitive and aversive classical conditioning task in rats
3. 学会等名 American Physiological Society, Integrative Physiology of Exercise, Virtual Conference, 2020/11/09-13 (国際学会)
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 和気秀文、富田圭祐、月岡恵惟、Nguyen Van Thu、Gouraud Sabine、山中航
2. 発表標題 ストレス性高血圧における扁桃体STAT3の役割
3. 学会等名 第56回高血圧関連疾患モデル学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 和気秀文、富田圭祐、月岡恵惟、ヌエン ヴァン トゥー、Gouraud Sabine、山中航
2. 発表標題 扁桃体におけるSTAT3の発現局在と循環調節作用について
3. 学会等名 第75回日本体力医学会大会（鹿児島）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 和気秀文、鈴木誠、富田圭祐、山中航、月岡恵惟、Gouraud Sabine
2. 発表標題 慢性ストレスによる延髄孤束核遺伝子発現変化は運動により改善する
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山中航、和気秀文
2. 発表標題 Switching of autonomic cardiovascular regulation to emotional stimuli by the central nucleus of the amygdala in rats
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 和気秀文, 鈴木誠, 富田圭佑, 山中航, 月岡恵惟, Gouraud Sabine
2. 発表標題 ラットの拘束ストレスによる延髄孤束核内遺伝子発現の変化と自発性運動による修飾効果
3. 学会等名 第74回日本体力医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 月岡恵惟, 山中航, 和気秀文
2. 発表標題 ラットの扁桃体破壊が漸増運動負荷試験における最大走速度を増大させる
3. 学会等名 第74回日本体力医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山中航, 川田裕次郎, 月岡恵惟, Malphurs Wendi, Zubcevic Jasenka, 内藤久土, 和気秀文
2. 発表標題 拘束ストレスがラットの自発的運動量に及ぼす短期的および長期的な影響
3. 学会等名 第74回日本体力医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和気秀文, 鈴木誠, 富田圭佑, 山中航, 月岡恵惟, Gouraud Sabine
2. 発表標題 拘束ストレスラットに対する運動介入が延髄孤束核における神経伝達系因子に及ぼす影響
3. 学会等名 第29回日本循環薬理学会・第55回高血圧関連疾患モデル学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和気秀文
2. 発表標題 シンポジウム「高血圧における交感神経系の役割：病態生理の理解」高血圧における運動療法の意義：基礎研究から機序を探る
3. 学会等名 第72回日本自律神経学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 和気秀文, Gouraud Sabine	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 7
3. 書名 別冊・医学のあゆみ	

1. 著者名 和気秀文, Gouraud Sabine	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 7
3. 書名 別冊・医学の歩み 健康寿命延伸に寄与する体力医学 運動トレーニングによる高血圧改善の機序 - 中枢性機序を中心に	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>順天堂大学 スポーツ健康科学部 生理学研究室  <a href="https://jsphysiol.org">https://jsphysiol.org</a></p>
--

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
研究 分 担 者	グホ サビン  (Gouraud Sabine)  (30453179)	国際基督教大学・教養学部・准教授   (32615)	
研究 分 担 者	山中 航  (Yamanaka Ko)  (40551479)	順天堂大学・スポーツ健康科学部・准教授   (32620)	

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			
ベトナム	ベトナム軍医大学			