

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790224

研究課題名(和文) マウス自発運動開始時の大脳皮質活動と圧反射性血圧調節 -動機づけ行動との関連-

研究課題名(英文) Voluntary exercise linked with cerebral activation and baroreflex control of heart rate: its relation to motivated locomotion

研究代表者

増木 静江 (MASUKI SHIZUE)

信州大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：70422699

研究成果の概要(和文)：

本研究の目的は、運動開始時の中枢性の昇圧反応と血圧反射抑制におけるバゾプレッシン V1a 受容体の役割を明らかにすることである。[正常マウスを用いた実験] 大脳皮質活動レベルと血圧反射を自由行動下で連続測定した。その結果、大脳皮質活動が上昇すると、血圧反射が著しく抑制されること、さらにこの一連の反応後にマウスは高頻度で自発運動を開始することを発見した。[Vasopressin V1a 受容体遺伝子欠損マウスを用いた実験] Vasopressin V1a 受容体遺伝子欠損マウス(KO)とその同腹のコントロールマウス(WT)を用いて、上記の反応における vasopressin V1a 受容体の役割を検証した。その結果、WT では、大脳皮質活動レベルの上昇に比例して、血圧反射が抑制されたのに対して、KO ではこの反応が消滅していた。さらに、大脳皮質活動が上昇した後に KO が運動を開始する確率は、WT と比較して著しく低く、この際、KO の血圧反射は抑制されなかった。以上より、vasopressin V1a 受容体は、大脳皮質活動の上昇レベルに応じて、圧反射を抑制することにより、それに続く自発運動に重要な役割を果たしていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：

[Control study] We continuously measured cerebral activity and baroreflex control of HR in freely moving control mice. We found that cerebral activation suppressed baroreflex control of heart rate (HR) in their daily life, and after these sequential responses, mice started to move at 5 times higher probability than after a given time, suggesting tight linkages between cerebral activity, baroreflex control of HR, and voluntary locomotion. [V1a knockout study] We assessed any role of vasopressin V1a receptor in these sequential responses. We continuously measured the variables mentioned above in V1a receptor knockout (KO) and wild-type mice (WT). We found that suppression of baroreflex control of HR in response to voluntary activation of the cerebral cortex was abolished in KO mice. Moreover, the probability that mice started to move after cerebral activation was markedly lower in KO than WT mice with less suppression of baroreflex control of HR. These results suggest that V1a receptor plays an important role in starting voluntary locomotion after cerebral activation through suppression of baroreflex control of HR.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：環境・運動生理学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：自発運動、vasopressin V1a 受容体、血圧反射、脳波、脳血流

1. 研究開始当初の背景

我々の血圧は中枢性の昇圧反応とそれに対抗する末梢性の血圧反射のパワーバランスによって決定される。すなわち自発運動開始時には、大脳皮質活動が上昇するが、それは血圧反射を抑制し、その結果、中枢性の昇圧応答を惹き起こすと考えられている。しかし、この反応がどのような時間変化で起こるのかは不明であった。

ところが、最近、我々は、安静時に血圧反射を中心に末梢性に行われていた血圧調節が、運動開始前から既に、大脳皮質活動によって抑制されて中枢性に移行していることを示唆する結果を得た。これらの一連の反応は、運動開始後、早期に「高血圧（高灌流圧）・高心拍数（高心拍出量）」の昇圧反応を惹き起こし、活動筋への迅速な血流を確保するのに都合がよく、自発運動に伴う予測制御の一つと考えられる。さらに、これらの中枢性メカニズムに関してバズプレッシン V1a 受容体が関与している可能性がある。

2. 研究の目的

そこで、本研究は、運動開始時の中枢性の昇圧反応と血圧反射抑制におけるバズプレッシン V1a 受容体の役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

頭蓋表面に脳波電極、大脳皮質運動野（付近）にレーザー Doppler 血流計プローブ、さらに、大腿動脈にカテーテルをそれぞれ慢性留置したマウスにおいて、脳波の θ/δ 比、脳血流、動脈血圧、心拍数、行動量（赤外線センサー）を自由行動下で連続測定した。

また、マウスの意識下の自由行動を阻害しないようにするため、実験の実施は生体パラメータ測定用の電極、カテーテルの慢性留置手術後、十分な回復期（最低1週間）をおいた後、よりマウスの日常生活に近い状態で行った。

4. 研究成果

(1) 正常マウスを用いた実験

大脳皮質活動レベルの指標として、脳波の δ 波 (0.75-4.0 Hz)、 θ 波 (6.0-9.0 Hz) のパワー比 (θ/δ) と脳血流量の変化を用いた。また、血圧反射ゲイン ($\Delta HR/\Delta MAP$) は血圧の自発性動揺 (ΔMAP) に対する心拍数変化 (ΔHR) より 4 秒ごと求めた。この $\Delta HR/\Delta MAP$ の算出は ΔMAP と ΔHR の相互相関関数 $R(t)$ が有意であった期間に行った

($P<0.05$)。

その結果、自発的に θ/δ 比、脳血流が上昇するタイミングで、血圧反射 $R(t)$ と Δ 心拍数/ Δ 血圧が、共にマイナスからプラス方向に上昇すること、すなわち、血圧反射が著しく抑制されることを発見した。さらに θ/δ 比、脳血流、血圧反射 ($R(t)$) がピークに達し、それが下降するタイミングで、マウスは 69% という高確率で自発運動を開始した。これは、任意の時間における自発運動の確率 14% と比較して有意に高値であった ($P<0.001$)。

以上の結果より、大脳皮質活動の上昇は血圧反射を抑制すること、そしてこの反応は、自発運動の開始と関係していることが明らかとなった。また、 θ/δ 比、脳血流、血圧反射 ($R(t)$) の上昇が実際の運動開始よりも「30 秒」も先行して起きることから、これらの反応は、口渇感、食欲などを満たす「動機づけ行動」開始のための準備過程である可能性が示唆された。これらの結果を論文にまとめた (Masuki et al., J. Physiol. 2009)。

(2) Vasopressin V1a 受容体遺伝子欠損マウスを用いた研究

(2)-①大脳皮質活動と圧反射性血圧調節

次に、Vasopressin V1a 受容体遺伝子欠損マウス (V1a KO, $n=8$) とその同腹のコントロールマウス (WT, $n=8$) を用いて、運動開始時の中枢性の昇圧反応と血圧反射抑制に vasopressin V1a 受容体が関与するのか、を検討した。測定期間 12 時間のうちの全安静期間 ~ 8.5 時間を解析対象とした。

その結果、両群において、 θ/δ 比の自発的变化は $R(t)$ の変化と同期していた。しかし、 θ/δ 比と $R(t)$ が有意に正相関する期間は、V1a KO マウスでは全安静期間の $38\pm 4\%$ で、WT マウスの $62\pm 3\%$ と比較して有意に低値であった ($P<0.001$)。次に θ/δ 比のレベルを基準に、 $R(t)$ と $\Delta HR/\Delta MAP$ を 6 つの bin に分割したところ、V1a KO マウスではいずれのパラメータも θ/δ 比が上昇しても変化しないのに対して ($P>0.1$)、WT マウスでは $R(t)$ と $\Delta HR/\Delta MAP$ の両方が θ/δ 比の上昇に比例して上昇した ($P<0.001$)。さらに、 θ/δ 比が上昇した後にマウスが運動を開始する確率は、V1a KO マウスでは $24\pm 4\%$ と WT マウスの $61\pm 5\%$ と比較して有意に低値であり ($P<0.001$)、この際、V1a KO マウスの血圧反射は抑制されなかった。

以上より、vasopressin V1a 受容体は、大脳皮質活動の上昇レベルに応じて、圧反射を抑制させることにより、それに続く自発運動開

始に重要な役割を果たしていることが示唆された。以上の結果を、第 87 回日本生理学会、Experimental Biology 2011 で発表し、現在、投稿準備中である。

(2)-② 自発運動開始時の代謝応答

「Vasopressin V1a 受容体遺伝子欠損マウスは、自発運動開始時の循環調節ばかりでなく、代謝調節にも異常をきたしているのではないか」という仮説を検証するため、自発運動開始時の血圧・代謝の過渡応答を Vasopressin V1a 受容体遺伝子欠損マウス (V1a KO, n=7) とコントロールマウス (WT, n=7) で比較した。血圧は動脈カテーテル法、VO₂ と VCO₂ は mass spectrometry により測定した。その結果、WT マウスでは運動に伴って、血圧、心拍数、VO₂、VCO₂ が上昇したのに対して、V1a KO マウスでは、運動開始時の血圧上昇反応が減弱していた。さらに、運動開始時に VO₂、VCO₂ がピークに達する時間が V1a KO マウスでは、WT マウスより 2 倍長かった。以上の結果は、WT マウスでは運動開始という筋肉において著しい速度でエネルギーが消費される際、それに素早く対応して、筋血流が上昇し酸素が供給され、これを達成するために血圧が上昇するのに対して、V1a KO マウスでは血圧が上昇しないため、需要に見合う血流量が供給されず、酸素不足の状態になっていることを示唆する。したがって、V1a KO マウスでは運動継続が困難である可能性が示唆された。

そこで次に、Vasopressin V1a 受容体遺伝子欠損マウス (V1a KO, n=7) とそのコントロールマウス (WT, n=7) を用いて、自発運動パターンを詳細に検討した。その結果、V1a KO の夜間の運動継続時間は WT マウスと比較して 40% 低値であった (P<0.05)。

以上より、自発運動開始時の末梢組織の必要量に見合う酸素供給の達成に V1a 受容体が関与していること、これは運動の継続に重要な役割を果たしていることが示唆された。これらの結果を、第 36 回国際生理学会世界大会 (IUPS 2009) で発表し、現在、投稿準備中である。

(3) ヒトを用いた実験

中高年の健康スポーツ教室「熟年体育大学」事業の参加者を対象に、運動処方効果の個人差と遺伝子多型の関係について検証した。マウスの結果をもとに、V1a 受容体遺伝子多型(rs1042615) と生活習慣病指標の関係

に注目して調べたところ、TT 型保有者 (n=64) は、CT 型 (n=118)、CC 型 (n=42) に比べ、トレーニング前の BMI、最低血圧が有意に高いが、運動トレーニングにより、他の群と同じレベルにまで低下すること明らかにした。すなわち、TT 型保有者は、不精であるために、生活習慣病に陥りやすいが、適切な介入を行えば、これらの症状が改善することが示唆された。これらの結果を第 36 回国際生理学会世界大会 (IUPS 2009) で発表し、論文にまとめた (Masuki et al., Hypertension 2010)。

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 10 件)

1. Ikegawa S, Kamijo Y, Okazaki K, Masuki S, Okada Y, Nose H. Effects of hypohydration on thermoregulation during exercise before and after 5-day aerobic training in a warm environment in young men. *J Appl Physiol* 110: 972-980, 2011. (査読有)
2. Morikawa M, Okazaki K, Masuki S, et al. Physical fitness and indices of lifestyle-related diseases before and after interval walking training in middle-aged and older males and females. *Br J Sports Med* 45: 216-224, 2011. (査読有)
3. Masuki S, Mori M, Tabara Y, Miki T, Sakurai A, Morikawa M, Miyagawa K, Higuchi K, Nose H; Shinshu University Genetic Research Consortium. Vasopressin V1a receptor polymorphism and interval walking training effects in middle-aged and older people. *Hypertension* 55: 747-754, 2010 (第 10 回日本生理学会奨励賞受賞論文). (査読有)
4. Goto M, Okazaki K, Kamijo Y, Ikegawa S, Masuki S, Miyagawa K, and Nose H. Protein and carbohydrate supplementation during 5-day aerobic training enhanced plasma volume expansion and thermoregulatory adaptation in young men. *J Appl Physiol* 109: 1247-1255, 2010. (査読有)
5. Nose H, Morikawa M, Masuki S, Yamazaki T, Nemoto K, Okazaki K, Kamijo Y, and Genno H. Sportology and high intensity interval walking training in aging society. *Juntendo Med J* 56: 251-256, 2010. (査読有)
6. Masuki S and Nose H. Increased cerebral activity suppresses baroreflex control of heart rate in freely moving mice. *J Physiol (Lond)* 587: 5783-5794, 2009. (査読有)

7. Nose H, Morikawa M, Yamazaki T, Nemoto K, Okazaki K, **Masaki S**, Kamijo Y, and Gen-no H. Beyond epidemiology: field studies and the physiology laboratory as the whole world. *J Physiol (Lond)* 587: 5569-5575, 2009. (査読有)
8. Okazaki K, Ichinose T, Mitono H, Chen M, **Masaki S**, Endoh H, Hayase H, Tatsuya Doi T, and Nose H. Impact of protein and carbohydrate supplementation on plasma volume expansion and thermoregulatory adaptation by aerobic training in older men. *J Appl Physiol* 107: 725-733, 2009. (査読有)
9. Okada Y, Kamijo Y, Okazaki K, **Masaki S**, Goto M, and Nose H. Pressor responses to isometric biting are evoked by somatosensory receptors in periodontal tissue in humans. *J Appl Physiol* 107: 531-539, 2009. (査読有)
10. Yamazaki T, Gen-no H, Kamijo Y, Okazaki K, **Masaki S**, and Nose H. A new device to estimate VO₂ during incline walking by accelerometry and barometry. *Med Sci Sports Exerc* 41: 2213-2219, 2009. (査読有)

[学会発表] (計 9 件)

1. **Masaki S** and Nose H. Behavioral effects of vasopressin V1a receptor gene on voluntary exercise in humans and mice. Workshop on Probing the Future of Muscle Study in the Institute of Science and Engineering, Ritsumeikan University. October 22nd, 2010, Ritsumeikan Univ., Kusatsu, Japan (招待講演, 国際会議).
2. **Masaki S** and Nose H. Vasopressin V1a receptor polymorphism and adherence to long-term interval walking training in middle-aged and older people. The 3rd International Sports Sciences Symposium on "Active Life". September 25th, 2010, Waseda Univ., Tokyo, Japan (招待講演, 国際会議).
3. **Masaki S**, Koshimizu T, Qian J, Higuchi K, Tsujimoto G, and Nose H. Reduced voluntary locomotion linked with cerebral activation in vasopressin V1a receptor knockout mice. The 87th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, May 19th-21st, 2010, Morioka, Japan (招待講演, 国内会議).
4. **Masaki S** and Nose H. Vasopressin V1a receptor and metabolism in humans and mice. International Sports Science Network Forum in Nagano 2009. August 1st-3rd, 2009, Karuizawa, Japan (招待講演, 国際会議).
5. **Masaki S**, Koshimizu T, Qian J, Higuchi K, Tsujimoto G, and Nose H. Increase in respiratory quotient at night is blunted in vasopressin V1a receptor knockout mice. 36th International Congress of Physiological Sciences, July 27th-August 1st, 2009, Kyoto, Japan. *J Physiol Sci* 59, S221, 2009 (一般発表).
6. **Masaki S**, Mori M, Tabara Y, Miki T, Morikawa M, Miyagawa K, Higuchi K, and Nose H. Vasopressin V1a receptor polymorphism and high-intensity interval walking training effects in middle-aged and older people. 36th International Congress of Physiological Sciences, July 27th-August 1st, 2009, Kyoto, Japan. *J Physiol Sci* 59, S357, 2009 (一般発表).
7. Ikegawa S, Kamijo Y, Okazaki K, **Masaki S**, Okada Y, and Nose H. Enhanced skin blood flow response to hyperthermia after endurance training is mainly caused by plasma volume expansion in humans. 36th International Congress of Physiological Sciences, July 27th-August 1st, 2009, Kyoto, Japan. *J Physiol Sci* 59, S220, 2009 (一般発表).
8. Okazaki K, Kamijo Y, **Masaki S**, Ikegawa S, Okada Y, Yazawa D, Hata T, Shiba, Y, Takahashi M, Ikeda U, and Nose H. Sympathetic vasoconstrictor responsiveness is reduced by 5-day endurance training with enhanced baroreflex sensitivity in men. 36th International Congress of Physiological Sciences, July 27th-August 1st, 2009, Kyoto, Japan. *J Physiol Sci* 59, S220, 2009 (一般発表).
9. Okada Y, Kamijo Y, **Masaki S**, Okazaki K, and Nose H. The effects of sleep bruxism on baroreflex control of the circulation in humans. 36th International Congress of Physiological Sciences, July 27th-August 1st, 2009, Kyoto, Japan. *J Physiol Sci* 59, S498, 2009 (一般発表).

[その他]

これまでの一連の研究実績が評価され、第10回 日本生理学会奨励賞を受賞した。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

増木 静江 (MASUKI SHIZUE)

信州大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：70422699