

運動終了後の副交感神経活動と唾液クロモグラニンAとの関連

Relationship between salivary chromogranin A and post-exercise vagal reactivation

内藤 祐子*, 石原 和幸**, 渡辺 剛*

Yuko NAITO *, Kazuyuki ISHIHARA ** and Tsuyoshi WATANABE

ABSTRACT

The purpose of this study is to investigate the relationship between post-exercise vagally mediated HR decay time and the secretion of saliva chromogranin A (CgA) after exercise. It has been shown that the time constant (T30) of heart rate decline for the first 30sec after exercise, at an intensity lower than the ventilatory threshold (VT), can serve as a specific index to assess post-exercise vagal reactivation. Also, % Δ HR30 (the ratio of heart rate decrement for the first 30sec after exercise) is useful simple index in the evaluation of parasympathetic nervous reactivation. CgA is an acidic glycoprotein, which is localized in secretory granules of a wide variety of endocrine cells and neurons including chromaffin cells and sympathetic neurons. Recently, Jiang (J. Bid. Chem. 2001) found that the proteolytic cleavage of CgA fragment inhibited catecholamine release from pheochromocytoma cells.

Five healthy college male students participated in this study. The present study is carried out to assess a vagally mediated HR decay time (% Δ HR30) and the concentration of CgA after pedaling exercise for 4 minutes at the anaerobic threshold (AT) level.

The results are summarized as follows. 1) The % Δ HR30 at 90% AT was similar to the value at 100%AT. 2) The % Δ HR30 correlated significantly with the concentration of CgA after exercise ($p < 0.05$). 3) A strong positive correlation was observed between The % Δ HR30 and the change in concentration of CgA after exercise ($p < 0.05$). The results suggest that the % Δ HR30, at the anaerobic threshold level, is related to CgA concentration that may play a major role in catecholaminergic function.

Key words; Recovery heart rate, Autonomic nervous system, Salivary chromogranin A

* 国士舘大学体育学部スポーツ医科学科 (Dep of Sport and Medical Science, Faculty of Physical Education, Kokushikan University)
** 東京歯科大学微生物学講座 (Dep of Microbiology, Tokyo Dental College)

はじめに

心拍数の増減は神経性やホルモンによって調節されていることが知られている。運動中に増加した心拍数は運動終了直後から急速に減衰する。運動による交感神経活動はさまざまな支配によって亢進されるが、運動終了後にみられる心拍数の減少は交感神経の賦活が消失し、副交感神経活動の興奮が関与するからである。

Imair¹⁾は運動直後の心拍数減衰曲線を近似した指数関数の時定数 (T_{30}) から瞬時の交感神経活動から副交感神経活動への切り換え機能を検討し、アスリートの T_{30} は一般健常者と比較して小さな値を示したと報告している。さらに、副交感神経活動と体力水準や疲労との間には密接な関連があるとしている。山縣ら¹¹⁾も同様の T_{30} を利用して運動終了後の副交感神経への切換スピードはトレーニングによって改善することを明らかにした。そのうえ、運動トレーニングによる体力向上に伴って、副交感神経活動の亢進がみられることがわかっている⁹⁾。

菅原ら^{9, 10)}は T_{30} に代わる副交感神経の再興奮過程の指標として運動終了後30秒間の心拍数減少率 ($\% \Delta HR_{30}$) の利用を提案した。 $\% \Delta HR_{30}$ は T_{30} との間に強い相関関係が認められた上、 $\dot{V}O_{2max}$ とも有意に関連している。 $\% \Delta HR_{30}$ は T_{30} と比べて器具や設定が煩雑でなく、測定が簡便に出来るのでフィールドにおいても有用な指標となりえる。しかもトレーニングに伴う疲労状態をよく反映することからコンディショニング評価に応用できるとしている⁹⁾。

クロモグラニンA (CgA) は内分泌・神経系に広く分布する酸性糖タンパク質で、439のアミノ酸残基から構成されていて、CgAは血中のカテコールアミンの分泌を反映する^{3, 5)} ことから、交感神経-副腎系の活動の指標とする事ができる⁴⁾。この事実を運動領域に応用するならば、心拍数の増減応答に関与しているカテコールアミン濃度の増減はCgAによってコントロールされている可能性

が高い。しかも、運動生理機能の高い運動選手は自律神経活動の切換スピードも速いことから、心拍数減衰応答とCgA濃度は密接な関連があると考えられる。このCgAは体液では血液や唾液に存在するが、唾液では顎下腺導管部に存在し、自律神経刺激によって放出される⁸⁾。したがって、血液の代わりに唾液を利用することで簡便かつ精度良くCgA濃度を測定できる。

そこで本研究は、ATレベル以下の定量運動負荷直後の副交感神経活動への切換スピードを $\% \Delta HR_{30}$ から評価すると同時に、運動直後から5分間の混合唾液中のCgA濃度を測定し、両者の関連性について検討した。

方法

I 対象

本大学体育学部に所属する男子大学生5名(年齢: 21.4 ± 0.5 歳)を対象とした。各被験者の身体的特徴は表1に示した。体脂肪率はキャリパー法で測定した。なお、実験に先立ち実験内容や手順を説明し、本実験への参加を承諾したものを被験者として選抜した。

II 実験プロトコル

被験者の体力レベルの指標に用いたATをもとめるため、あらかじめ漸増運動負荷テストを実施した。測定方法は自転車エルゴメーターを用いて、60rpmのペダリング運動中に採取した血中乳酸濃度と呼気ガスからATを決定した。

定量負荷運動テストは以下のような手順で実施した。被験者は自転車エルゴメーター場で5分間

表1 被験者の身体特性

人数 (名)	5
年齢 (歳)	21.40 ± 0.5
身長 (cm)	170.4 ± 2.7
体重 (kg)	64.0 ± 10.2
BMI	21.8 ± 3.1
体脂肪率 (%)	15.5 ± 2.8

の安静をとった後、1分間の無負荷ペダリングによる予備運動に続いてATレベル強度の主運動を4分間実施した。各運動終了後は自転車エルゴメーター上で安静を保った。そしてこの際に運動終了直前5秒間の平均心拍数と運動終了後25秒目から30秒目までの平均心拍数をそれぞれ求め、両者の差を運動終了直前5秒間の平均心拍数で除し、 $\% \Delta HR_{30}$ とした。

唾液は安静時とAT運動終了直後5分間に口腔内に貯まった混合唾液をカップに採取した。採取した唾液は遠心(3000rpm)したのち、エペンドルフポリプロピレンチューブに移し、測定時まで -80°C で冷凍保存した。

Ⅲ 唾液クロモグラニンA濃度の測定法

唾液中クロモグラニンAの測定はHuman Chromogranin A キット(矢内原研究所)を用いてELISA法で測定した。すなわち、抗human chromogranin Aをコーティングした96wellプレートに希釈した唾液、さらにペルオキシダーゼで標識した抗human chromogranin Aを加え、発色させた。スタンダードはヒトクロモグラニン合成ペプチドを用いた。クロモグラニンAは439のアミノ酸残基からなるが、合成ペプチドはその配列の344—374の部分合成した30アミノ酸残基を標準抗原とした。さらに、唾液の総タンパク量をBradford法で測定し、クロモグラニンA量をタンパク補正した。

Ⅳ 統計処理

各測定値は平均値および標準偏差で示した。唾液成分の比較にはpaired-t検定を用いた。また、ATレベルでの運動後の唾液クロモグラニン濃度と $\% \Delta HR_{30}$ との相関関係は単相関分析を実施した。ともに有意水準は5%とした。

結 果

I ATレベルでの運動における $\Delta\%HR_{30}$

安静時、ATレベルでの運動直後の心拍数の平均値はそれぞれ 60 ± 14 、 161 ± 10 であり、この強

度における $\% \Delta HR_{30}$ は 24.8 ± 18.2 であった。予備実験としてATレベル以下での運動強度(90%AT)で同様の実験を実施したところ $\% \Delta HR_{30}$ は 23.7 ± 12.0 とAT強度における場合とほぼ同一の値を示した。図1に90%ATとAT強度での $\% \Delta HR_{30}$ を比較して示した($Y=1.0853X+1.125$ 、 $\gamma^2=0.8746$ 、 $p<0.05$)。これよりAT以下の運動強度であれば $\% \Delta HR_{30}$ はほぼ同値を示すことが確認できた。

Ⅱ ATレベル運動後の唾液成分の変化

表2に安静時と運動後の被験者の平均唾液成分を示した。唾液分泌速度、唾液タンパク量、唾液CgA濃度は運動前後ではほとんど変化が認められなかった(表2)。タンパク量で補正したCgA濃度も運動前後では濃度に変化はなかった(図2)。

次に、CgA濃度と $\% \Delta HR_{30}$ との単相関分析を行った。その結果、 $\% \Delta HR_{30}$ と運動後のCgA濃度の間には有意な相関関係($Y=0.1362X-1.932$ 、 $\gamma^2=0.9283$ 、 $p<0.05$)が認められた。同様に $\% \Delta HR_{30}$

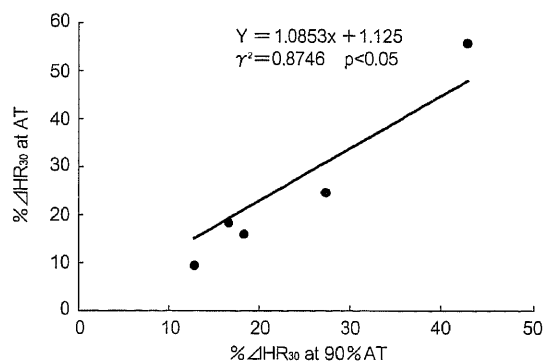


図1 90%ATとATにおける $\% \Delta HR_{30}$ の関係

表2 安静時と運動後の唾液成分の変化

	安静	運動後	p値(t検定)
唾液分泌速度 (ml/min)	0.46 ± 0.30	0.36 ± 0.29	0.6634
唾液総タンパク量 (mg/ml)	2.33 ± 0.77	4.07 ± 1.58	0.0700
唾液CgA (pmol/ml)	3.22 ± 1.93	5.34 ± 8.86	0.5828

数値は平均値 \pm SD

と運動前後でのCgA濃度の変化量 (Δ CgA) との間にも有意な正の相関関係 ($Y=83.808X-23.8$, $\gamma^2=0.9467$, $p<0.05$) が観察された (図3)。

考 察

運動トレーニングは様々な運動生理的機能に変化をもたらす。特に、心臓機能の適応は顕著に現れる。Imair¹⁾ は交感神経活動から副交感神経活動への瞬時の切換機能をVT水準以下の運動終了後の心拍減衰曲線 (T_{30}) から検討している。山縣ら¹¹⁾ は運動終了後の心拍減衰は主に副交感神経の再興奮によりもたらされるうえ、一般健常者より運動選手の方がこの切換がすみやかに行われると報告している。さらに、菅原たちは T_{30} と負の

相関があり、より簡便に求めることの出来る $\% \Delta HR_{30}$ を利用して、長距離選手の測定を実施している^{9,10)}。そして、同一種目においても体力水準の高い者の方が運動終了後の副交感神経の再興奮過程を亢進することを示した。

本研究では $\% \Delta HR_{30}$ と唾液CgA濃度との関連を検討した。まず、 $\% \Delta HR_{30}$ と運動終了後に採取した唾液CgA濃度との間には有意な正の相関関係が見いだされた。さらに、 $\% \Delta HR_{30}$ と運動前後での唾液中のCgA濃度変化 (Δ CgA) との間にも有意な相関関係 (図3) が見いだされた。このことはATレベル強度の運動終了直後における副交感神経活動の切換スピードはCgA分泌量と深く関連があることを示している。自律神経活動はカテコールアミンの分泌を調節することによって心臓機能を制御している。運動終了後にみられる心拍数の減少は高位中枢指令の影響で抑制されていた副交感神経活動が運動終了後に回復したことにより説明できる。この運動中にみられる高位中枢指令に基づく副交感神経活動は血中カテコールアミンによって抑制されると推測されている¹⁾。したがって、運動終了後のカテコールアミンの速やかな消失は副交感神経の再活動をもたらす。本実験ではカテコールアミンの分泌量を直接測定はせずにCgA濃度を測定した。CgAはカテコールアミン貯蔵顆粒に存在する主要タンパク質でその役割はストレス応答で放出されるカテコールアミンの調節にある。さらに、最近になってJiangら²⁾ はプロテアーゼによってCgAから分離した活性化フラグメントであるhuman CgA (360-373) がカテコールアミンの分泌を阻害することを明らかにした。

こうした事実と本実験を照らし合わせると、運動終了後にみられる副交感神経の活動はCgAに強く影響を受けている可能性がある。そして、CgA分泌によるカテコールアミン分泌阻害が速やかにおこなわれる者ほど副交感神経活動の切換スピードが速くなると考えられる。今後、血中カテコールアミン濃度を測定することでこの点はより明らかになると思われるが、ホルモンは神経機構には

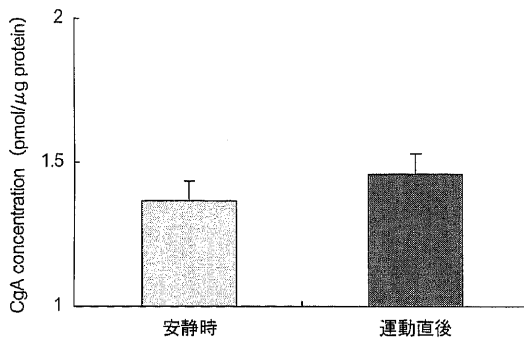


図2 安静時と運動後の唾液クロモグラニンA濃度の比較

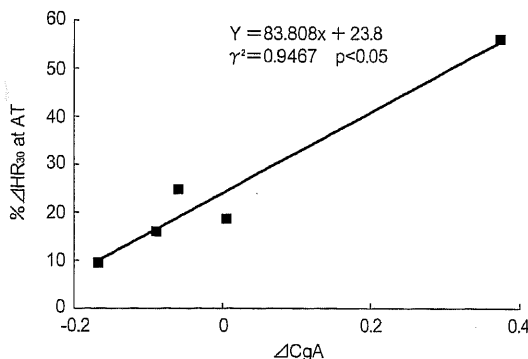


図3 ATにおける $\% \Delta HR_{30}$ と唾液クロモグラニンA濃度の変化値との関係

見られない分泌の緩慢さが存在することも考慮しなくてはならない。実施した予備実験でも運動終了0~5分間と5~10分間ではむしろ5~10分間のCgA分泌量の方が高い値を示した被験者がいた。運動領域でのCgA量と血中ノルアドレナリンに関しての先行研究はひとつある。そこでは95% $\dot{V}O_{2max}$ 強度の運動を実施した直後から2分間では血中ノルアドレナリン濃度の高い場合ほど唾液CgAの分泌量が多かったことを観察している⁷⁾。本実験とは実施した運動強度や唾液採取時間などの条件が異なるため簡単な比較は出来ない。今後、運動強度や唾液採取時間などの条件設定を変更した詳細な観察を行えば、CgAの役割についてさらに有用な情報が得られると考えられる。

以上の結果から、AT水準の運動終了直後における副交感神経活動の切換スピードとカテコールアミン分泌制御物質であるCgA量は連動していることが示唆された。

ま と め

本研究ではAT水準の固定負荷ペダリング運動終了直後における副交感神経活動への切換スピードを% ΔHR_{30} から評価すると同時に唾液クロモグラニンA (CgA) の分泌量を測定することから神経調節機構とホルモン調節機構の連動性を検証した。その結果、カテコールアミン分泌性制御物質であるCgA量は% ΔHR_{30} と正の相関を示し、連動している可能性が示唆された。

本研究は国士舘大学体育学部附属体育研究所の2001年度研究助成によった。

引用・参考文献

- 1) Imai K, Sato H, Hori M, et al. : Vagally mediated heart rate recovery after exercise is accelerated in athletes but blunted in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 24 : 1529-1535, 1994.
- 2) Jiang Q, Taupenot L, et al. : Proteolytic cleavage of chromogranin A (CgA) by plasmin. Selective

liberation of a specific bioactive CgA fragment that regulates catecholamine release. *J Biol Chem* 276 : 25022-25029, 2001.

- 3) Kanno T, Asada N, Yanase H, et al. : Salivary secretion of highly concentrated chromogranin A in response to noradrenaline and acetylcholine in isolated and perfused rat submandibular glands. *Experimental Physiology* 84 : 1073-1083, 1999.
- 4) Konnecki DS, Benedum UM, Gerdesh HH and Huttner WB : The primary structure of human chromogranin A and pancreastatin. *J Biol Chem* 262 : 17025-17030, 1987.
- 5) Moulant AJ, Bevan S, White JH and Hendy GN : Human chromogranin A gene. Molecular cloning, structural analysis, and neuroendocrine cell-specific expression. *J. Biol. Chem.* 269 : 6918-6926, 1994.
- 6) 宮本法子, 室 増男 : 軽負荷運動習慣が迷走神経活動に及ぼす影響. *呼吸と循環* 48 : 187-192, 2000.
- 7) Nakane H, Asami O, Yamada Y, et al. : Salivary chromogranin A as an index of psychosomatic stress response. *Biomedical Research* 19 : 401-406, 1998.
- 8) Nishikawa Y, Li J, Futai Y, et al. : Region-specific radioimmunoassay for human chromogranin A. *Biomed Res.* 19 : 245-251, 1998.
- 9) 菅原 順, 湯川英昭, 白井克佳 ほか : アスリートにおける運動負荷後の心臓副交感神経系活動回復応答を用いた体調評価の有用性. *体育学研究* 45 : 611-618, 2000.
- 10) 菅原 順, 浜田 豊, 鍋倉賢治 ほか : 運動終了後の副交感神経活動の簡易評価法とコンディショニングにおける応用. *体力科学* 48 : 467-476, 1999.
- 11) 山縣孝司, 宮本法子, 室 増男 ほか : 運動競技選手における動的運動終了直後の副交感神経活動への切換特性. *呼吸と循環* 47 : 627-633, 1999.