

博士論文

加齢および習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・  
逆行性シェアレートと内中膜複合体厚に及ぼす影響

平成 29 年度

筑波大学大学院 人間総合科学研究科 スポーツ医学専攻

棚橋 嵩一郎

筑波大学

## 目次

I.	序論	
1.	研究の背景	1
2.	研究の目的	3
3.	用語の定義	3
II.	文献研究	
1.	動脈の分類と構造	5
2.	内中膜複合体厚 (IMT)	6
	2-1) IMT の評価	6
	2-2) IMT と疾患	6
	2-3) IMT と加齢	8
	2-3) IMT と運動	8
3.	シェアストレス	10
	3-1) シェアストレスの評価	10
	3-2) シェアストレスの作用	11
	3-3) シェアストレスと加齢	13
	3-3) シェアストレスと運動	14
4.	下半身陰圧負荷 (LBNP)	16
	4-1) LBNP による循環動態変化	16
	4-2) LBNP とシェアストレス	17

III.	研究課題, 仮説, 方法	
1.	本研究の仮説と課題	19
2.	本研究で用いた方法	21
IV.	研究課題 1: 中高齢者における上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT の 関係	
1.	緒言	24
2.	方法	26
3.	結果	27
4.	考察	32
5.	まとめ	34
V.	研究課題 2: 中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行 性シェアレートおよび IMT に及ぼす影響	
1.	緒言	35
2.	方法	37
3.	結果	39
4.	考察	47
5.	まとめ	50
VI.	研究課題 3: 習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを 変化させる機序: 交感神経性血管収縮に着目して	
1.	緒言	51

2.	方法	53
3.	結果	55
4.	考察	59
5.	まとめ	61
VII.	総合討論	62
VIII.	結論	70
	謝辞	71
	参考文献	72

本論文は、以下の原著論文に加筆修正し、未発表の研究成果を加えてまとめたものである。

1. **Tanahashi K, Kosaki K, Sawano Y, Yoshikawa T, Tagawa K, Kumagai H, Akazawa N and Maeda S.** Impact of age and aerobic exercise training on conduit artery wall thickness: role of the shear pattern. *Journal of Vascular Research* 2017;54:272-279.
2. **Tanahashi K, Sugawara J, Sawano Y and Maeda S.** Influence of sympathetic vasoconstrictor tone on conduit artery retrograde and oscillatory shear: effects of habitual aerobic exercise in middle-aged and older adults. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine* 2018;7:19-24.

# I. 序論

## 1. 研究の背景

世界保健機構 (World Health Organization: WHO) の報告によると、心血管疾患による全世界の死亡者数は 2016 年時点で年間 1770 万人にのぼり、これは死因の中で最も多く、全体の 31% を占めている。Roth et al. (2015) は、1990 年から 2013 年にかけて心血管疾患による死亡者数は年間 1230 万人から 1730 万人に増加し、この増加の要因の 55% が人口の高齢化によって説明できることを報告している。また、心血管疾患による死亡者数は 2030 年までに全世界で年間 2330 万人程度まで増加すると予測されている (WHO 2017)。わが国においても、心血管疾患は死因の 25% を占め、年間 32 万人以上が死亡している。また、わが国における循環器系疾患の医科診断医療費は傷病分類の中で最も高額の 5 兆 9818 億円であり、全診断医療費の 19.9% を占めている (厚生労働省、2017)。これらのことから、心血管疾患は深刻な社会問題とされ、心血管疾患を予防することが極めて重要とされている。

心血管疾患の多くを占める虚血性心疾患 (心筋梗塞や狭心症) や、脳血管疾患である脳梗塞などの主要な要因として、アテローム性動脈硬化が挙げられる。動脈硬化はアテローム性動脈硬化、メンケベルグ硬化、細動脈硬化の大きく 3 つに分類され、なかでもアテローム性動脈硬化が最も重大で多くみられる動脈硬化とされている。アテローム性動脈硬化は、中型および大型動脈の血管壁において内腔に向かって進展するプラーク (アテローム) を特徴としている。脂質やコレステロール等の蓄積によって肥厚するプラークは、血管内腔の狭窄や、プラーク破綻によって誘発される血栓によって血流障害を引き起こし、重篤な心血管疾患の要因となる。これまでに、加齢はアテローム性動脈硬化の独立した危険因子であるとともに (Wilson et al. 1998)、身体活動量の減少や食習慣の悪化はアテローム性動脈硬化の進行を助長することが報告されている

(Fruchart et al. 2004, Laufs et al. 2005). 一方で、習慣的に有酸素性運動をおこなうことはアテローム性動脈硬化の予防・改善に有効であることが報告されており (Raurama et al. 2004), 習慣的な有酸素性運動が持つ抗アテローム性動脈硬化作用が近年注目されている。

アテローム性動脈硬化を評価する方法としては、動脈壁の内中膜複合体厚 (IMT) の測定が研究や臨床現場などで広く用いられている。大動脈や頸動脈などの中心動脈のみでなく、上腕動脈や大腿動脈などの IMT の増加も心血管イベントの発症率と関連し、アテローム性動脈硬化の兆候の1つとして考えられている (Frick et al. 2005). 特に上腕動脈は、冠動脈と同等サイズの中型の筋性動脈であり、剖検を用いた検討では、冠動脈と上腕動脈のアテローム性硬化病変の進行度が関連することが報告されている (Sorensen et al. 1997). さらに、上腕動脈 IMT は、心血管疾患リスクや心血管イベントと強く関連することから (Iwamoto et al. 2012, Hafner et al. 2014), 冠動脈などの中型の導管動脈におけるアテローム性動脈硬化のサロゲートマーカーとして評価がされている。加齢に伴い上腕動脈などの導管動脈の IMT は増大する (Sorensen et al. 1997, Nishiyama et al. 2008, Bjarnegård et al. 2010). 一方で、中高齢者における習慣的な有酸素性運動は上腕動脈などの導管動脈の IMT を減少させることも報告されている (Green et al. 2010, Maiorana et al. 2011, Thijssen et al. 2012). これまでに加齢に伴う IMT 増大に関与する因子として、血管内皮機能の低下や、酸化ストレス・炎症の増強などが挙げられているが (Wang et al. 2012), エビデンスの蓄積は不十分であるのが現状である。また、習慣的な有酸素性運動による IMT の減少に関連する因子についてはほとんど明らかにされていない。

血管壁の内皮細胞には常に血流に起因するメカニカルストレスであるシェアストレスが作用している。シェアストレスとは、細胞を血流方向にゆがませる物理力であり、内皮細胞における血管作動性物質などを調整する作用を持ち、血管壁の形態や機

能に影響すると考えられている (Malek et al. 1999). また, ヒトにおいて冠動脈や上腕動脈などの中型の導管動脈では特徴的な血流パターンを示し, 中枢から末梢に向かって流れる順行性の血流と, 末梢から中枢に向かって流れる逆行性の血流を観察することができる. 近年, これらの血流パターンに起因する順行性シェアストレスおよび逆行性シェアストレスにはそれぞれ異なる作用を持つことが示唆されており, 順行性シェアストレスは抗アテローム性動脈硬化作用を持ち, その一方で, 逆行性シェアストレスはアテローム性動脈硬化を促進させる作用を持つことが多くの先行研究により報告されている (Chatzizisis et al. 2007, Thijssen et al. 2009, Tinken et al. 2009, 2010, Naylor et al. 2011, Schreuder et al. 2014). したがって, 上腕動脈などにおける順行性シェアストレスおよび逆行性シェアストレスは, 加齢や習慣的な有酸素性運動による IMT の変化に影響する可能性が考えられる. しかしながら, IMT と順行性・逆行性シェアストレスの関連はこれまでに全く不明である.

## 2. 研究の目的

本研究では, 加齢および習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレート (シェアストレスの代替指標) と IMT に及ぼす影響を検討することを目的とした. この目的を達成するために, ①中高齢者における上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT の関係, ②中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよび IMT に及ぼす影響, そして, ③習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序, をそれぞれ検討した.

## 3. 用語の定義

順行性・逆行性シェアレート

シェアストレスの大きさは血流の速度勾配 (シェアレート) と血液粘度の積

から計算されるが、血液粘度の評価には侵襲を伴うことなどから、一般的には血管径と血流速度から計算されるシェアレートがシェアストレスの代替指標として用いられている。また、上腕動脈などの中型の導管動脈での血流は、中枢から末梢へと流れる順行性血流と、末梢から中枢へと流れる逆行性血流が観察される。これらの血流により引き起こされるのがそれぞれ順行性シェアレートおよび逆行性シェアレートと定義される。

## II. 文献研究

### 1. 動脈の分類と構造

動脈は、心臓より駆出された血液を末梢組織へと運搬し、酸素や栄養素、ホルモンなどを各組織へ供給する。動脈の壁は、内膜、中膜、外膜の3層で構成される (Figure 2-1)。内膜は、内皮細胞、基底膜、および内弾性板と呼ばれる弾性組織層よりなる。内皮細胞は血管系において血液と接する唯一の細胞であり、メカニカルストレスなどを感知して生理活性物質の産生・分泌を行う点などで重要な役割を果たしている。中膜は、動脈壁を構成する層の中で最も厚く、弾性線維、膠原線維、および平滑筋よりなる。動脈は中膜における線維の組成が異なることで、各部位でそれぞれ固有の機能を発揮しており、中膜の組成の違いから大きく弾性線維に富む弾性動脈 (大動脈・頸動脈など) と、平滑筋の多い筋性動脈 (冠動脈・上腕動脈・腎動脈など) とに区別される。外膜は主に弾性線維と膠原線維よりなる。外膜は血管の過伸展を防止するだけでなく、血管調節を行う神経と血管への栄養を受け入れるための役割を担っている。

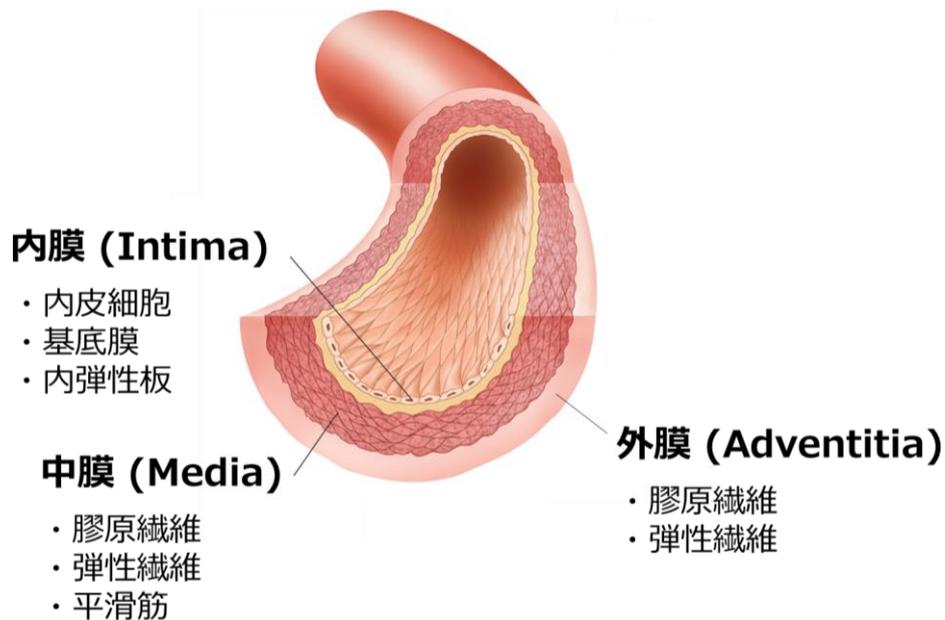


Figure 2-1: The structure of artery (Subbotin. 2016 引用改変)

## 2. 内中膜複合体厚 (IMT)

### 2-1. IMT の評価

超音波エコーを用いて動脈壁を観察すると、内腔側から高 - 低 - 高エコー帯の3層構造に描出される。超音波では内膜と中膜を分けて描出することができないため、内腔側から第1層目の高エコー帯と第2層目の低エコー帯部分をまとめて内中膜複合体 (intima-media complex: IMC) と定義される (Figure 2-2)。IMC の厚さが内中膜複合体厚 (intima-media thickness: IMT) として評価され、アテローム性動脈硬化指標として研究や臨床で汎用されている。

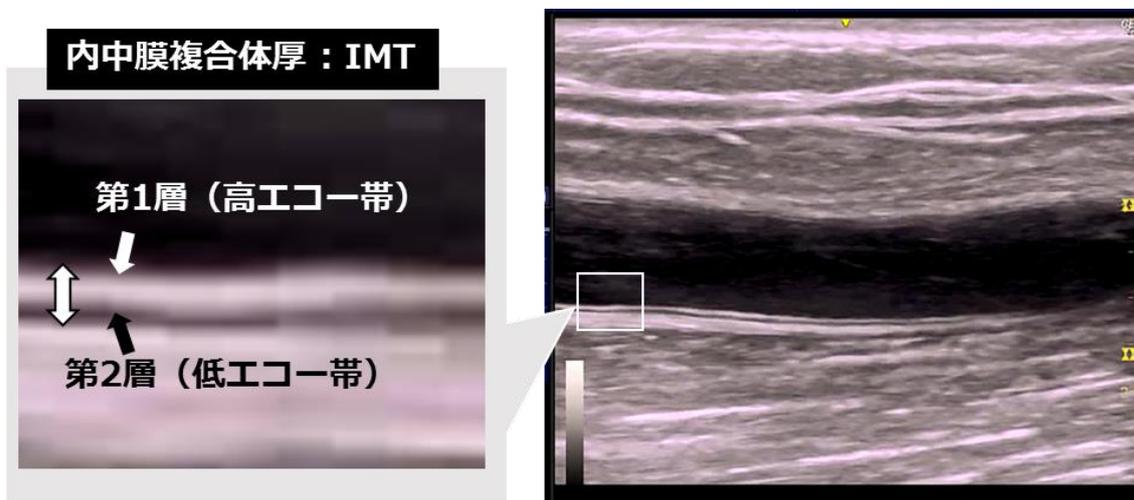
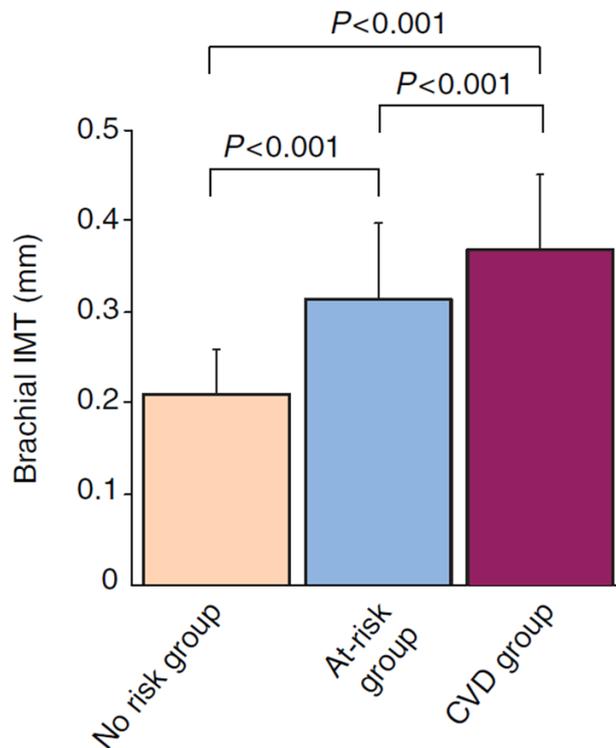


Figure 2-2: Intima-media thickness: IMT

### 2-2. IMT と疾患

IMT の肥厚はアテローム性動脈硬化の兆候の一つとされ (Frick et al. 2005, Orlandi et al. 2006), 頸動脈や四肢 (上腕・大腿) 動脈の評価が主におこなわれている (Gariépy et al. 1998, Held et al. 2001, Iwamoto et al. 2012). 頸動脈は、脳へと血液を供給するとともに、総頸動脈から内頸動脈および外頸動脈への分岐部がアテローム性動脈硬化の好発部位であることなどから、頸動脈 IMT は臨床でよく評価されている. del Sol et al. (2001) は、健常者と比較して心筋梗塞および脳卒中罹患者の総頸動脈 IMT は肥厚

していたことを報告している。また、頸動脈 IMT の肥厚は心血管疾患リスクおよび心血管イベント発症率と関連することが多くの先行研究により報告されている (Bots et al. 1997, Garipey et al. 1998, O'Leary et al. 1999)。大腿動脈 IMT は、頸動脈 IMT よりもアテローム硬化の進行が高度であることが報告されており (Wendelhag et al. 1993)、心血管疾患リスクと強く関連するとともに (Suurkula et al. 1996, Held et al. 2001)、下肢閉塞性動脈硬化症とも関連することが明らかになっている (Taniwaki et al. 2001)。上腕動脈は、冠動脈におけるアテローム性動脈硬化のサロゲートとして示唆されており、実際に剖検を用いた先行研究では、上腕動脈におけるアテローム性動脈硬化病変は、冠動脈のアテローム性硬化病変の進行度と関連することが報告されている (Sorensen et al. 1997)。また、上腕動脈 IMT は、心血管疾患リスクの非保持者と比較し、心血管疾患リスク保持者および心血管疾患罹患者で肥厚していたことが示されている (Iwamoto et al. 2012: Figure 2-3)。さらに、上腕動脈 IMT の肥厚は心血管イベントの強力な予測因子であることも報告されている (Hafner et al. 2014)。以上のように、IMT は心血管疾患と強く関連することから、アテローム性動脈硬化の進展度の判定や、心血管疾患の発症リスクおよび予後の推定、介入の効果判定などに用いられている。



**Figure 2-3: Brachial IMT with CVD risk**

(Iwamoto et al. 2012)

### 2-3. IMT と加齢

1898年に Williams Osler が「人は血管とともに老いる」と表現したように、加齢に伴い動脈には様々な変化が生じる。加齢に伴い、血管壁の機能的な変化として、血管内皮機能の低下、ホルモンや代謝産物の産生低下、凝固線溶機能の低下などが生じ (Najjar et al. 2005)、血管壁の器質・構造的変化として、弾性線維の疲弊や減少、膠原線維の増大などが生じる (O'Rourke & Hashimoto 2007)。これらに加え、加齢に伴い IMT の肥厚が生じる。Tanaka et al. (2002) は、若年者 (18-37 歳) ・中年者 (38-57 歳) ・高齢者 (58-77 歳) の頸動脈の IMT を比較し、中年者は若年者と比較して、高齢者は若年者および中年者と比較して、IMT が肥厚していたことを報告している。さらに、2~6 年間の追跡研究によって、IMT に影響する様々な因子に独立して、加齢が頸動脈 IMT の増大と関連したことが報告されている (Zureik et al. 2000, Takato et al. 2008)。また、上腕動脈や大腿動脈などにおいても、若年者と比較して高齢者の IMT の肥厚が報告されている (Seals & Dinunno. 2004, Nishiyama et al. 2008)。すなわち、加齢に伴い導管動脈の IMT は肥厚することが多くの研究で明らかになっている。

### 2-4. IMT と運動

近年の研究で、身体活動の増加や習慣的な有酸素性運動は、IMT 増大の抑制および減少に効果的であることが明らかになっている。身体活動量と IMT との関係性を検討した Folsom et al. (1994) の研究では、14430 名の中高齢者を対象に身体活動量のアンケートおよび頸動脈 IMT 測定をおこない、アンケートによって得られた身体活動量が多い者ほど頸動脈 IMT は小さかったことを報告している。さらに、495 名の中高齢者を対象に、身体活動量計を用いて客観的に身体活動量を評価した検討においても、同様の結果が確認されている (Kozakava et al. 2010)。また、習慣的な有酸素性運動が IMT に及ぼす影響を横断的に検討した研究では、有酸素性運動の運動習慣がある者は運動習

慣がない者と比較して、頸動脈、上腕動脈、大腿動脈の IMT が小さいことが報告されている (Rowley et al. 2011). すなわち、加齢に伴う IMT の肥厚を抑制する手段として、習慣的な有酸素性運動が有効であることが示唆されている。また、習慣的な有酸素性運動の効果を経断的に検討した研究では、Tanaka et al. (2002) が、中高齢者における 12 週間の有酸素性運動トレーニングによって頸動脈 IMT は変化しなかったことを報告している。中高齢者において、8~12 週間の有酸素性運動トレーニングをおこなった他の研究においても、同様の結果が報告されている (Thijssen et al. 2007, Matsubara et al. 2014, Tanahashi et al. 2014). しかしながら、中高齢者において、6 年間の長期的な有酸素性運動トレーニングを実施した研究では、頸動脈 IMT の減少が報告されており (Rauramaa et al. 2004), 頸動脈のような大型の動脈の IMT を減少させるには、長期的な有酸素性運動トレーニング介入が必要であると推察される。一方で、上腕動脈や大腿動脈に対して有酸素性運動トレーニングの効果を検討した研究では、中高齢者における 8 週間の有酸素性運動トレーニングは大腿動脈 IMT を変化させなかったが (Thijssen et al. 2007), 12 週間の有酸素性運動トレーニングによって大腿動脈 IMT が減少したことが報告されている (Dinenno et al. 2001). また、上腕動脈 IMT も中高齢者における 12 週間の有酸素性運動トレーニングによって減少することが報告されている (Green et al. 2010). これらのことから、中高齢者における上腕動脈や大腿動脈などの中型の導管動脈の IMT は、比較的短期間の 12 週間以上の有酸素性運動トレーニングを実施することで変化を示し、習慣的な有酸素性運動による抗アテローム性動脈硬化効果を評価できると示唆される。

### 3. シェアストレス

#### 3-1. シェアストレスの評価

血管壁の内皮細胞には常に血流に起因するメカニカルストレスであるシェアストレスが常時作用している。シェアストレスとは、物体のある面の平行方向にすべらせるように作用する物理力のことをさし、血管で置き換えると、血流によって生じる内皮細胞を血流方向にゆがませる応力のことをさす。ある間隙を流れる流体によって生じるシェアストレス ( $\tau$ ) は、Newton の粘性法則より、流速と間隙径とから算出されるシェアレート ( $du/dr$ ) と、そこを通る流体の粘度 ( $\mu$ ) により次の式で表される。

$$\tau = \mu (du/dr)$$

また、血管のような円筒管内では、Haagen-Poiseuille の法則により、半径 ( $r$ ) の血管内を粘度 ( $\mu$ )、流量 ( $Q$ ) の血液が、血流速度 ( $u$ ) で定常的に流れているときにシェアストレス ( $\tau$ ) は次の式で表される (Figure 2-4: Malek et al. 1999).

$$\tau = 4\mu Q/\pi r^3$$

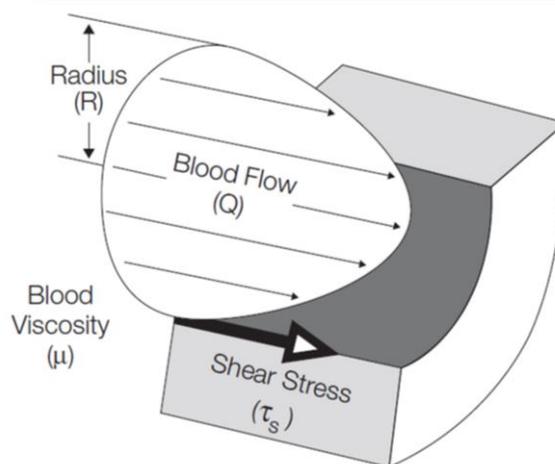


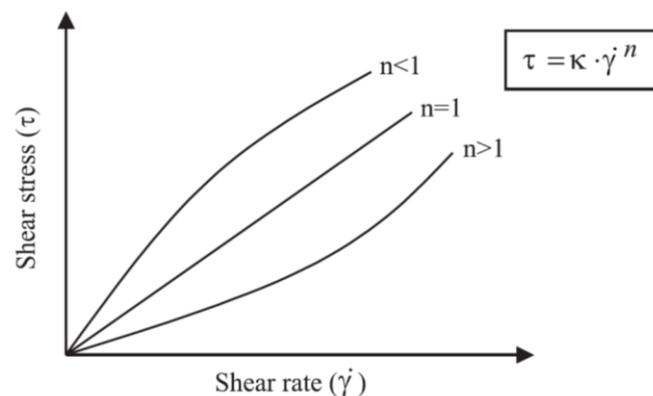
Figure 2-4: Shear stress (Malek et al. 1999)

上述の式は Newton の粘性法則からも表すことができ、血管径 ( $r$ ) と血流速度 ( $u$ ) から算出されるシェアレート ( $du/dr$ ) と血液粘度 ( $\mu$ ) により次の式で表される。

$$\tau = 8\mu (du/dr) \text{ or } 4\mu (du/dr)$$

つまり、ヒトの血管におけるシェアストレスは血管径および血流速度と血液粘度から算出することができる。Haagen-Poiseuille の法則は金属のような剛体円筒管内を仮定しているため、高い伸展性を有する血管ではシェアストレスが減少することが報告されており (Perktold et al. 1994), よりヒトの生理的な値に近づけるため上述後者の式が先行研究では多く用いられている (Tinken et al. 2009, 2010, Scholten et al. 2014, Thijssen et al.

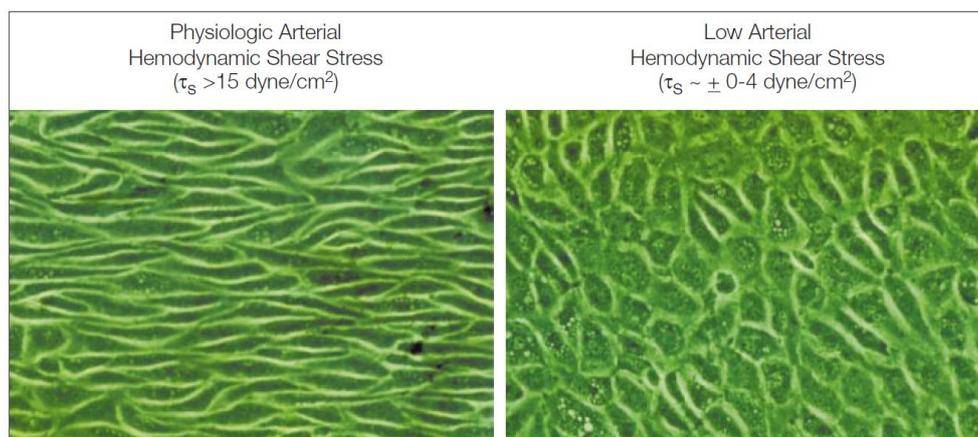
2015). さらに、水のような単純な液体はニュートン流体といい、ある一定の温度の場合には粘度は変わらないため、シアーストレスとシアレートは直線的な関係を示す (Figure 2-5). 一方、血液は非ニュートン流体とされ、赤血球など状態によっても粘度が変化する。赤血球は血流速度およびシアレートに影響を受け、赤血球の変形現象や集合現象が生じる。低シアレートの状態では赤血球の変形や集合により粘度は上昇し、逆に高シアレートの状態では粘度が減少することが知られている (Vennemann et al. 2007). したがって、血管におけるシアーストレスとシアレートは指数関数的な関係を示す (Figure 2-5: Papaioannou & Stefanadis. 2005). しかしながら、血液粘度の評価には侵襲を伴うことや、厳密な評価ができないことなどから、ヒトにおけるシアーストレスの評価には代替指標としてシアレートが多く用いられている (Parker et al. 2009, Padilla et al. 2011).



**Figure 2-5: Shear stress-rate relationship for Newtonian (n=1) and non-Newtonian (n > 1 or n < 1) fluids.**

### 3-2. シアーストレスの作用

ヒトの生理条件下の動脈では 10-70 dynes/cm<sup>2</sup>、静脈系には 1-6 dynes/cm<sup>2</sup> のシアーストレスが作用しているとされる (Malek et al. 1999). *in vitro* の研究において、内皮細胞に対し培養液を流して一方向的にシアーストレスを加えると、不整多角形の内皮細胞は紡錘状に変形するとともに流れの方向に長軸を一致させて配列する。一方、シアーストレスがない場合や逆行性シアーストレスを含む乱流域に置かれた内皮細胞は、



**Figure 2-6: Transformation of endothelial cell by shear stress (Malek et al. 1999)**

より不整多角形で流れ方向に配列しない (Figure 2-6). そして、内皮細胞はシェアストレスによって形態を変えながら同時に多数の遺伝子や蛋白を発現させることが明らかになっている (Malek et al. 1999, Laughlin et al. 2008). 一方向性のシェアストレスの増大は、細胞の増殖 (Malek & Izumo. 1994) およびアポトーシス (Kaiser et al. 1997, Masuda et al. 1989) を抑制することにより内皮細胞の代謝回転を促進し、血管拡張物質 (Ranjan et al. 1995, Okahara et al. 1998, Chun et al. 1997, Ishibazawa et al. 2011) や線溶系物質 (Malek et al. 1994, Diamond et al. 1989, Kawai et al. 1996), 抗酸化物質 (Inoue et al. 1996, Keulenaer et al. 1998) の産生増加および遺伝子発現を増大させるとともに、血管収縮物質 (Masatsugu et al. 1998, Ishibazawa et al. 2011), 炎症性メディエーター (Shyy et al. 1994), 酸化ストレス (Keulenaer et al. 1998, Silacci et al. 2001, McNally et al. 2003), 接着分子 (Ando et al. 1994, Korenaga et al. 1997) の産生および遺伝子発現を抑制する. 一方で、一方向性のシェアストレスの減少もしくは逆行性シェアストレスの増大は、細胞増殖およびアポトーシスを促進し (Davies et al. 1986), アテローム性動脈硬化を促進する物質の産生を増加させる働きを有する (Malek et al. 1999: Figure 2-7). また、これらのシェアストレスによる内皮表現型の調整は、数時間から数日の時間スケールで調整される. ヒトにおける研究では、上腕動脈や大腿動脈において、温熱刺激などによる一過的な順行性シェアレート増大は血管内皮機能を向上させること (Tinken et al. 2009, 2010, Naylor et al.

2011, Birk et al. 2012), その一方で, 前腕駆血などによる一過的な逆行性シエアレートの増大は血管内皮機能を低下させることが報告されている (Thijssen et al. 2009, 2015, Schreuder et al. 2014). 以上のように, シェアストレスはアテローム性動脈硬化の病態に様々な作用を介して深く関与していると考えられている.

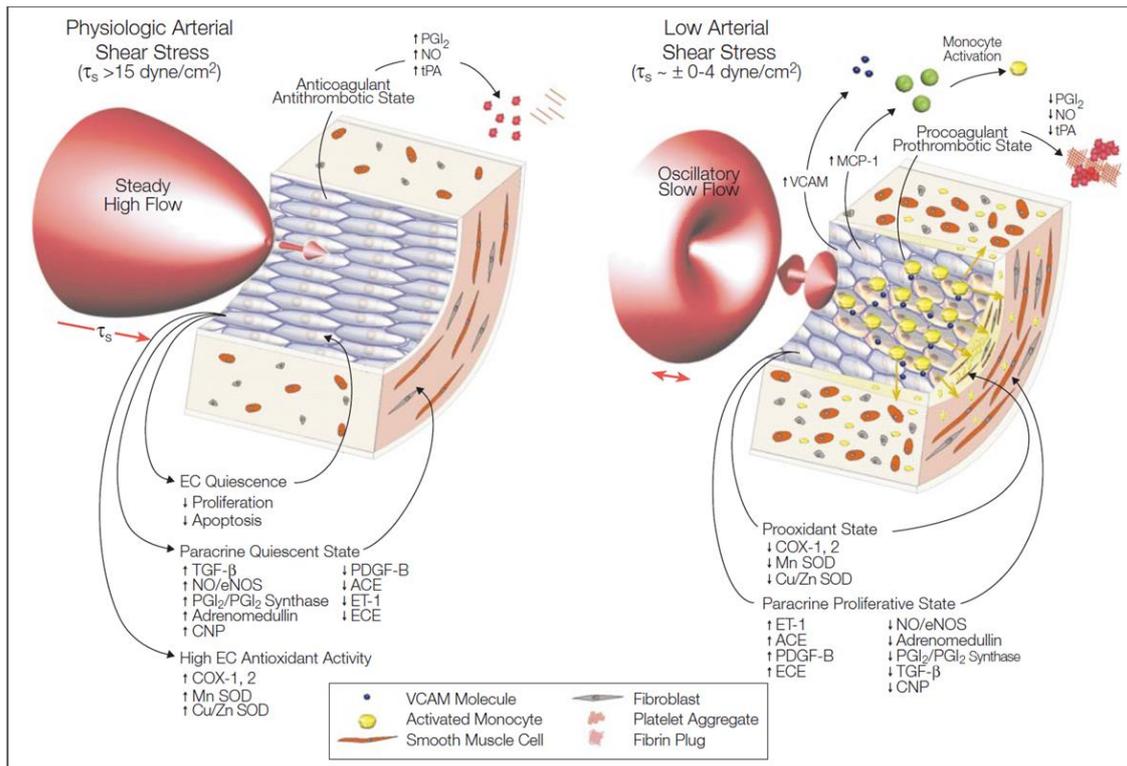


Figure 2-7: Model of atherosclerosis with shear stress (Malek et al. 1999)

### 3-3. シェアストレスと加齢

Carallo et al. (2016) は, 中高齢者を対象に約 12 年の追跡研究を実施し, 頸動脈の平均シエアレートおよび最高シエアレートが加齢によって減少したことを報告している. また, 頸動脈にくわえ, 上腕動脈や大腿動脈においても, 若年者と比較して高齢者で平均シエアレートおよび最高シエアレートは小さいことが報告されており (Nishiyama et al. 2008, Young. 2010, Padilla et al. 2011, Trinity et al. 2014), 加齢に伴い導管動脈の平均および最高シエアレートは減少することが明らかになっている. さらに, 上

腕動脈などの中型の導管動脈では順行性および逆行性から構成される血流パターンを観察することができる。Padilla et al. (2011) は、若年者と比較して高齢者における上腕動脈の逆行性シェアレートが大きいことを報告している。また、大腿動脈においても、若年者と比較して高齢者の順行性シェアレートは小さく、逆行性シェアレートは大きいことが報告されている (Young, 2010)。これらのことから、加齢によって導管動脈のシェアレートは変化し、加齢に伴う血管機能の低下に關与する可能性が示唆されている。

#### 3-4. シェアストレスと運動

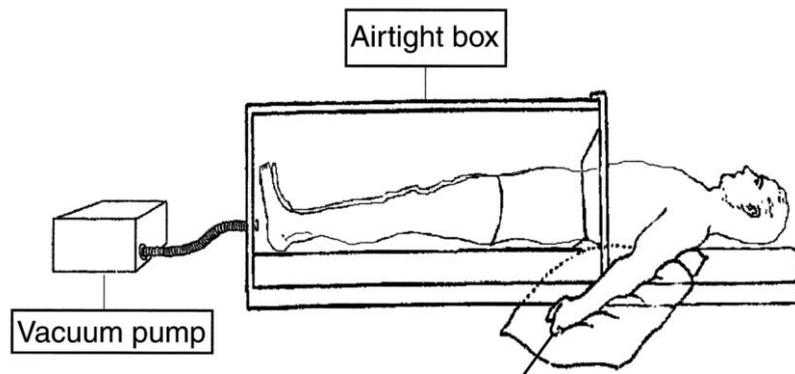
近年の研究で、運動が持つ心血管保護効果のメカニズムとして、シェアストレスが果たす役割について幅広い研究がおこなわれている。特に、一過的な運動によって生じる血流増加はシェアストレスの増大を引き起こし、血管機能を向上させることが多くの先行研究により報告されている (Green et al. 2005, 2008, Thijssen et al. 2009, Dowson et al. 2013)。Tinken et al. (2009) は、ハンドグリップ運動に伴う平均シェアレートの増大が、血管内皮機能に及ぼす影響を検討した。この検討では、運動に伴う平均シェアレート増大の効果を明らかにするため、両腕で 30 分間の一過的なハンドグリップ運動を実施し、片腕に対してシェアレートの増大が起こらないよう前腕を駆血した。その結果、運動後に、駆血をしなかった腕では血管内皮機能の向上が認められたが、駆血により運動誘発性のシェアレート増大を起こさなかった腕では血管内皮機能に変化は認められなかった。また、同様の方法で習慣的な運動の効果も検討されており、8 週間のハンドグリップトレーニングによって血管内皮機能は改善したが、運動時に駆血によってシェアストレスを増大させなかった腕ではトレーニングによる血管内皮機能の改善が認められなかったことも報告されている (Tinken et al. 2010)。つまり、運動による血管内皮機能の向上には、運動誘発性の一過的なシェアストレスの増大が重要な役割を果たしていると考えられている。

上述の通り、運動によって引き起こされる一過的なシェアストレス増大効果については多くの報告がされている。一方で、習慣的な運動が導管動脈の安静時シェアレートに及ぼす影響およびその効果については、近年にごく僅かしか報告されていない。Scholten et al. (2014) は、若年女性および子癩前症患者において 12 週間の有酸素性運動トレーニングを実施し、トレーニング介入によって上腕動脈の安静時逆行性シェアレートが減少したことを報告している。また、同研究において、12 週間の有酸素性運動トレーニングは血管内皮機能を向上させ、有酸素性運動トレーニングによる血管内皮機能と逆行性シェアレートの変化量に関連性が認められたことを報告し、有酸素性運動トレーニングによる安静時のシェアレートの変化が血管内皮機能の向上に關与することを示唆している。中高齢者における検討では、近年の横断的な研究によって、中高齢の運動実施者は、加齢に伴う上腕動脈の安静時逆行性シェアレートの増大が抑制されるとともに、大腿動脈の逆行性シェアレートは同年代の非実施者と比較し小さいことが報告された (Casey et al. 2016)。しかし、中高齢者における習慣的な有酸素性運動によって上腕動脈などの順行性・逆行性シェアレートが改善するか否か検討した報告はこれまでにない。さらに、習慣的な運動によって変化した安静時の順行性・逆行性シェアストレスが持つ効果についても、さらなるエビデンスの蓄積が必要であると考えられる。

## 4. 下半身陰圧負荷 (LBNP)

### 4-1. LBNP による循環動態変化

仰臥位で下半身を箱に入れて囲み、その中の空気を吸引し圧を減少させる下半身陰圧負荷 (LBNP) 法 (Figure 2-8) は、頭部から足部方向への加速度負荷 (起立負荷) を模擬し、血圧調節系の能力を評価する方法として開発され、起立耐性評価の手段などとして利用がされている。下半身に

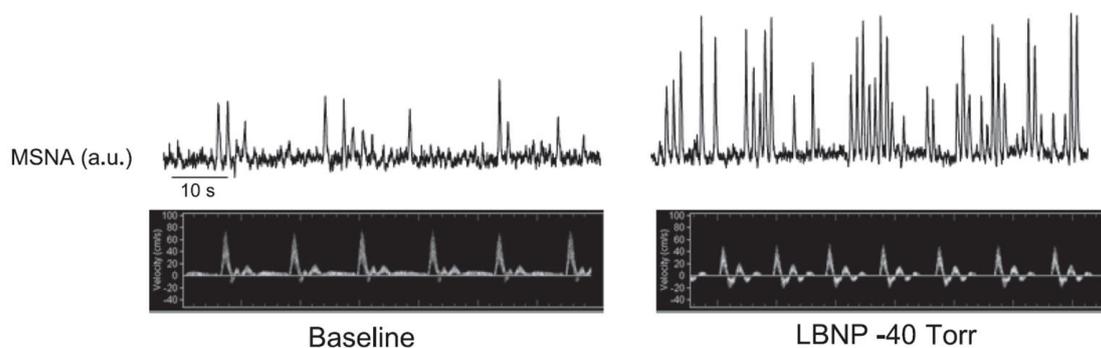


陰圧を負荷すると、**Figure 2-8: Lower body negative pressure device (Frank et al. 2003)** 上半身に貯留していた血液が下肢方向へと移行する。その結果、静脈還流量および心拍出量の減少、動脈圧の低下が起こり、これがトリガーとなって交感神経系が賦活化されることにより、心拍数の増加および、内臓、腎臓、骨格筋等で血管収縮が起こり、体内の血流・血圧が調整される (Robert et al. 1972). LBNP による心拍数の増加および血管収縮は、動脈および心肺における圧受容体の反射機構によるものであり、圧受容器反射には、頸動脈洞圧受容体や大動脈圧受容体などの高圧受容器によるものと、心肺圧受容器体などの低圧受容器によるものがこれまでに特定されている (Johnson et al. 1974, Zoller et al. 1972). LBNP の強度に着目すると、 $-20\text{mmHg}$  以下の比較的軽度の LBNP 負荷では、中心静脈圧の低下は起きても動脈圧の低下や脈圧の減少はないという報告が多数であり (Johnson et al. 1974, Zoller et al. 1972, Tripathi et al. 1989, Davy et al. 1998), そのため動脈系の圧受容体の関与は少なく、主に心肺圧受容器にかかる圧刺激の減衰により引き起こされると考えられている。また、 $-20\text{mmHg}$  以下の負荷では心拍数の増加は起こらず、主に筋交感神経性血管収縮の増強によって血圧の調節が起こることも報告されている

(Convertino. 1993, Mack et al. 1987, Victor et al. 1985, Rea & Wallin. 1989). 一方, -30mmHg以上のLBNP負荷では平均血圧や脈圧の低下が起こり, それを補償すべく心拍数の増加や, 末梢血管抵抗の増大, 静脈伸展性の低下などが起こることが報告されている (Johnson et al. 1974, Zoller et al. 1972, Tripathi et al. 1989, Davy et al. 1998). したがって, LBNP によって様々な体内変化が起こるとともに, LBNP の負荷の違いによって心肺圧受容器反射および動脈伸展受容器反射の作用を分離して検討できると考えられる.

#### 4-2. LBNP とシェアストレス

Padilla et al. (2010) は, 若年者における LBNP 刺激が, 上腕動脈の順行性シェアレートを減少させ, 逆行性シェアレートを増大させることを報告した. また, 同研究において, 段階的な LBNP 負荷の増大に伴い, 筋交感神経活性の段階的な増大と, 順行性・逆行性シェアレートの変化が認められ (Figure 2-9), LBNP 刺激による交感神経性血管収縮の増強が順行性・逆行性シェアレートを変化させることが明らかになっている.



**Figure 2-9: The elevation in muscle sympathetic nerve activity (MSNA) and the accompanying changes in brachial artery blood velocity at baseline and during lower body negative pressure (Padilla et al. 2010)**

さらに, LBNP 負荷による一過的な上腕動脈の順行性シェアレートの減少および逆行性シェアレートの増大は, 血管内皮機能を低下させることも報告されている (Thijssen et al. 2016). Casey et al. (2012) は, 若年者と高齢者で LBNP 負荷による上腕動脈の順行性・

逆行性シェアレートの反応性の違いを検討し、-20mmHg の LBNP 負荷により若年者の順行性・逆行性シェアレートは変化したが、中高齢者では変化が認められなかったことを報告している。この要因として、同研究において、交感神経性血管収縮を抑制する薬剤を投与した際には、中高齢者の順行性シェアレートの増大および逆行性シェアレートの減少を確認しており、安静時の交感神経性血管収縮の活性度の違いが LBNP による順行性・逆行性シェアレートの変化に影響することが示唆されている。

### Ⅲ. 研究課題, 仮説, 方法

#### 1. 本研究の仮説と課題

本研究では、加齢および習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT に及ぼす影響を検討することを目的とした。そこで、(1) 中高齢者の上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT は関連する。(2) 中高齢者における習慣的な有酸素性運動は上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させ、習慣的な有酸素性運動による上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化が IMT の減少に関連する。(3) 中高齢者における習慣的な有酸素性運動による上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化に交感神経性血管収縮が関与すると仮説をたてた。これらの仮説を検証するため以下の課題を設定した。

#### 【研究課題 1】 中高齢者における上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT の関係

加齢に伴い上腕動脈などの導管動脈の IMT は増大する。近年、加齢により上腕動脈などの順行性シェアレートの減少および逆行性シェアレートの増大が報告され、血管機能の低下に関与する可能性が示唆されている。しかしながら、順行性・逆行性シェアレートと IMT の関連性については全く不明である。そこで研究課題 1 では、中高齢者を対象とし上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT の関係性を横断的に検討する。

#### 【研究課題 2】 中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよび IMT に及ぼす影響

近年の横断的な検討によって、中高齢の運動実施者は、加齢に伴う上腕動脈の逆行性シェアレートの増大が抑制されていることが示され、中高齢者における習慣的

な有酸素性運動により上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートが変化する可能性が考えられる。しかしながら、中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートに与える影響を縦断的に検討した報告はない。さらに、中高齢者における習慣的な有酸素性運動は、上腕動脈 IMT を減少させることが明らかになっている。しかし、習慣的な有酸素性運動による上腕動脈の IMT の減少に順行性・逆行性シェアレートが関連するかは不明である。そこで研究課題 2 では、中高齢者を対象に 12 週間の有酸素性運動トレーニングが上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよび IMT に及ぼす影響を検討するとともに、有酸素性運動トレーニングによる順行性・逆行性シェアレートおよび IMT の変化の関連性を検討する。

**【研究課題 3】** 習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序：筋交感神経性血管収縮に着目して

先行研究により、加齢に伴う上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化には、交感神経性血管収縮の増強が関与することが報告されている。一方で、中高齢者における習慣的な有酸素性運動が導管動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させるメカニズムは不明である。そこで研究課題 3 では、中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序に交感神経性血管収縮に着目して検討する。

## 2. 本研究で用いた方法

### ①身長, 体重, BMI の測定

身長は 0.1 cm 単位, 体重は 0.1 kg 単位で計測し, BMI は以下の式から算出した.

$$\text{BMI} = \text{体重} / \text{身長}^2$$

### ②血圧, 心拍数の測定

安静時仰臥位における上腕血圧および心拍数を血圧脈波検査装置 (Form PWV/ABI; Colin Medical Technology, Japan) を用いて測定した. 測定は連続して 2 回以上おこない, 得られた値の平均値を採用した.

### ③順行性・逆行性シェアレートの評価

順行性・逆行性シェアレートは, 超音波診断装置 (Logiq e; GE Healthcare, Tokyo, Japan) を用いて得られた上腕動脈血管画像および血流波形から評価した. 超音波診断装置にリニア型で 10.0MHz のプローブを装着し, 上腕遠位 3 分の 1 の部分にプローブをあて, 上腕動脈血管画像を B モードにて, 上腕動脈血流波形をドップラーモードにてそれぞれ映出した. 超音波診断装置に映出された動画を, キャプチャユニット (DVI2USB3.0; Epiphan, USA) を用いて, 外部デバイスに動画をリフレッシュレート 30Hz にて記録した (Green et al. 2002). 記録された血管径および血流波形動画から, 超音波画像解析ソフト (S-14081; Takei kiki kogyo, Niigata, Japan) を用いて血管径および血流速度を評価した. 血管径および血流速度は 30 秒以上の連続したデータから解析され, シェアレートは以下の式を用いて算出した (Padilla et al. 2011, Casey et al. 2012).

$$\text{上腕動脈シェアレート} = 4 \times \text{上腕動脈血流速度} / \text{上腕動脈血管径}$$

#### ④上腕動脈 IMT の評価

IMT は、順行性・逆行性シェアレートと同様に、超音波診断装置 (Logiq e; GE Healthcare, Tokyo, Japan) を用いて得られた上腕動脈血管画像から評価した。超音波診断装置にリニア型で 10.0MHz のプローブを装着し、上腕遠位 3 分の 1 の部分にプローブをあて、上腕動脈血管画像を B モードにて映出した。超音波診断装置に映出された動画を、キャプチャユニット (DVI2USB3.0; Epiphan, USA) を用いて、外部デバイスに動画をリフレッシュレート 30Hz にて記録した。記録された血管径動画から、画像処理ソフトウェア (Image J; NIH, USA) を用いて、心拡張期における血管壁の内中膜複合体厚を測定した。10 箇所以上の測定をおこない、得られた値の平均値を採用した (Pignoli et al. 1986, Tanaka et al. 2002)。

#### ⑤血液生化学データの測定

採血は 12 時間以上の絶食状態で行った。上腕静脈より採血した血液を 4℃、3000rpm、15 分間の遠心分離し、血清を抽出した。血清から総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、トリグリセリドを測定した。

#### ⑥上腕動脈血管抵抗の評価

上腕動脈血管抵抗は、順行性・逆行性シェアレートと同様に超音波診断装置 (Logiq e; GE Healthcare, Tokyo, Japan) および超音波画像解析ソフト (S-14081; Takei kiki kogyo, Niigata, Japan) を用いて評価された上腕動脈血管径および血流速度から上腕動脈平均血流量を算出し、血圧脈波検査装置 (Form PWV/ABI; Colin Medical Technology, Japan) より得られた平均血圧とともに以下の式を用いて算出した (Casey et al. 2016)。

$$\text{上腕動脈血管抵抗} = \text{平均血圧} / \text{平均血流量} [\pi \times (\text{血管径} / 2)^2 \times \text{平均血流速度} \times 60]$$

#### ⑦ $\dot{V}O_{2VT}$ の測定

有酸素性運動能力の指標として、換気性作業閾値時の酸素摂取量 ( $\dot{V}O_{2VT}$ ; oxygen uptake at the ventilatory threshold) を測定した。被験者は自転車エルゴメーターを用いた漸増運動負荷試験を行い、運動中の呼吸動態を呼気ガス分析装置 (AE-300S; Minato Medical Science, Japan) によって測定した。漸増運動負荷試験は 20W で 2 分間のウォーミングアップ後、1 分毎に 10W ずつ漸増する負荷で、被験者の心拍数が 85% HRmax 以上に到達するまで運動を続けた。呼気ガス分析装置によって得られた運動中の酸素摂取量および二酸化炭素排出量の変曲点をもとに換気性作業閾値時の酸素摂取量を算出した。

## IV. 研究課題 1

### 中高齢者における上腕動脈の

### 順行性・逆行性シェアレートと IMT の関係

#### 1. 緒言

導管動脈のアテローム性動脈硬化の評価として内中膜複合体厚 (IMT) の測定が研究や臨床現場などで広く用いられている。なかでも上腕動脈は、剖検を用いた検討によって冠動脈のアテローム性硬化病変の進行度と関連することが報告されていることや (Sorensen et al. 1997), 上腕動脈 IMT が心血管疾患リスクや心血管イベントと強く関連することから (Iwamoto et al. 2012, Hafner et al. 2014), 冠動脈などの中型の導管動脈のサロゲートとして評価されている。加齢に伴い上腕動脈などの導管動脈の IMT は増大する (Sorensen et al. 1997, Nishiyama et al. 2008, Bjarnegård et al. 2010)。これまでに加齢に伴う IMT 増大のメカニズムとして、血管内皮機能の低下や、酸化ストレス・炎症の増強などが挙げられているが (Wang et al. 2012), エビデンスの蓄積が不十分であるのが現状である。

血管壁には常に血流に起因するメカニカルストレスであるシェアストレスが作用しており、血管作動性物質などを調節していることが明らかになっている (Malek et al. 1999)。ヒトにおいて上腕動脈などの中型の導管動脈では特徴的な血流パターンを示し、中枢から末梢に向かって流れる順行性の血流と、末梢から中枢に向かって流れる逆行性の血流を観察することができる。近年、これらの血流パターンに起因する、順行性シェアストレスは抗アテローム性動脈硬化作用を持つが、逆行性シェアストレスはアテローム性動脈硬化を促進させる作用を持つことが示唆されている (Chatzizisis et al. 2007, Thijssen et al. 2009, Tinken et al. 2009, 2010, Naylor et al. 2011 Schreuder et al. 2014)。こ

れまでに、加齢によって上腕動脈などの順行性シェアレートは減少し、逆行性シェアレートは増大することが報告されており (Nishiyama et al. 2008, Young et al. 2010, Padilla et al. 2011, Casey et al. 2012), 加齢に伴う IMT の増大に順行性・逆行性シェアレートが関与する可能性が考えられる。しかしながら、順行性・逆行性シェアレートと IMT の関連性については全く不明である。

以上の背景から、研究課題 1 では、中高齢者を対象に上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT の関連性を横断的に検討することを目的とした。本研究にて、中高齢者の上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT は関連すると仮説を立てた。この仮説を検証するため、中高齢者において上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよび IMT を評価し、これらの関連性を検討した。

## 2. 方法

### 2.1. 対象者

健康な中高齢者 102 名 (40-79 歳) を対象とした。心血管疾患に関連した既往歴がある者、心血管疾患に関連した薬を服用している者、喫煙習慣のある者は対象から除外した。また女性においては、閉経より 2 年以上経っている者を対象とし、ホルモン補充療法を実施している者は対象から除外した。実験に先立ち、全ての被験者に対して実験の目的と内容について説明し、実験に参加する同意を得た。なお、本研究は筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得て実施した。

### 2.2. 測定項目および測定方法

全ての測定は室温を調節した静かな部屋で行った (24-26°C)。被験者には、測定の 12 時間以内の水以外の飲食、および 24 時間以内の激しい運動を控えさせた。20 分以上の安静後に仰臥位にて血行動態指標 (上腕動脈 IMT・順行性シェアレート・逆行性シェアレート・血圧・心拍数) を測定した。また、血液を採取し、血液生化学データ (総コレステロール・HDL コレステロール・LDL コレステロール・トリグリセリド) を測定した。

### 2.3. 統計解析

統計処理は SPSS22 (SPSS Inc.) を用いた。各指標の関係性の検討には Pearson の相関係数および偏相関係数を用いた。偏相関分析は共変量として、IMT および順行性・逆行性シェアレートに影響することが報告されている年齢・体重・心拍数・平均血圧を用いた。統計学的有意水準は 5%未満とした。得られたデータ値はすべて平均値±標準偏差で示した。

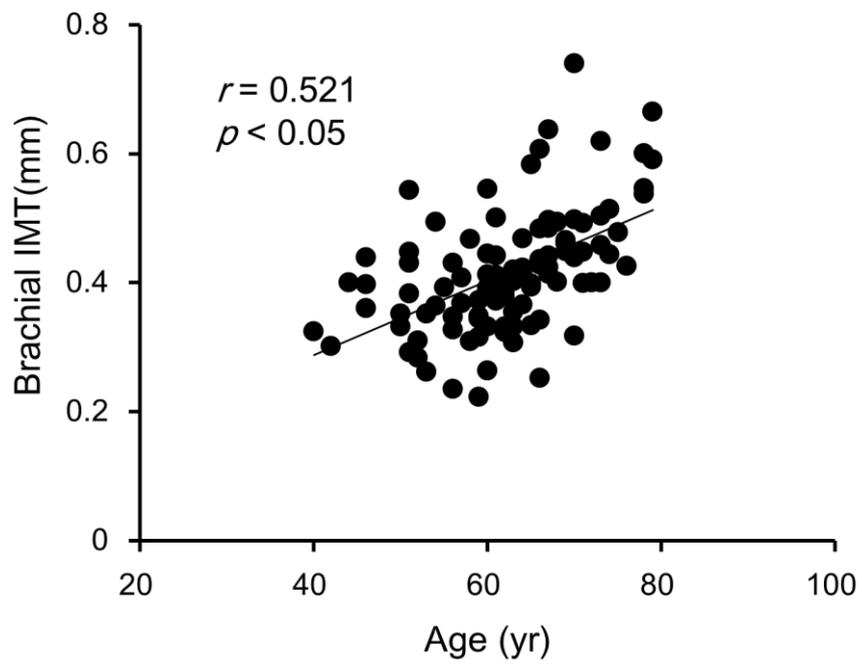
### 3. 結果

Table 4 に被験者特性を示す. 被験者の平均年齢は  $62 \pm 9$  歳で, 女性の割合は 30.4% だった. 中高齢者における年齢と上腕動脈の IMT ( $r = 0.521, p < 0.05$  : Figure 4-1) および順行性シェアレート [ $r = -0.317, p < 0.05$  : Figure 4-2 (A)], 逆行性シェアレート [ $r = -0.364, p < 0.05$  : Figure 4-2 (B)] の間にはそれぞれ有意な相関関係が認められた. また, 中高齢者における上腕動脈の IMT と順行性シェアレート [ $r = -0.648, p < 0.05$  : Figure 4-3 (A)] および逆行性シェアレート [ $r = -0.555, p < 0.05$  : Figure 4-3 (B)] の間にも有意な相関関係が認められた. さらにこれらの関係は, 年齢, 体重, 心拍数, 平均血圧で補正後も有意な相関関係が認められた (IMT & 順行性シェアレート:  $\beta = -0.557, p < 0.05$ ; IMT & 逆行性シェアレート:  $\beta = -0.541, p < 0.05$ ).

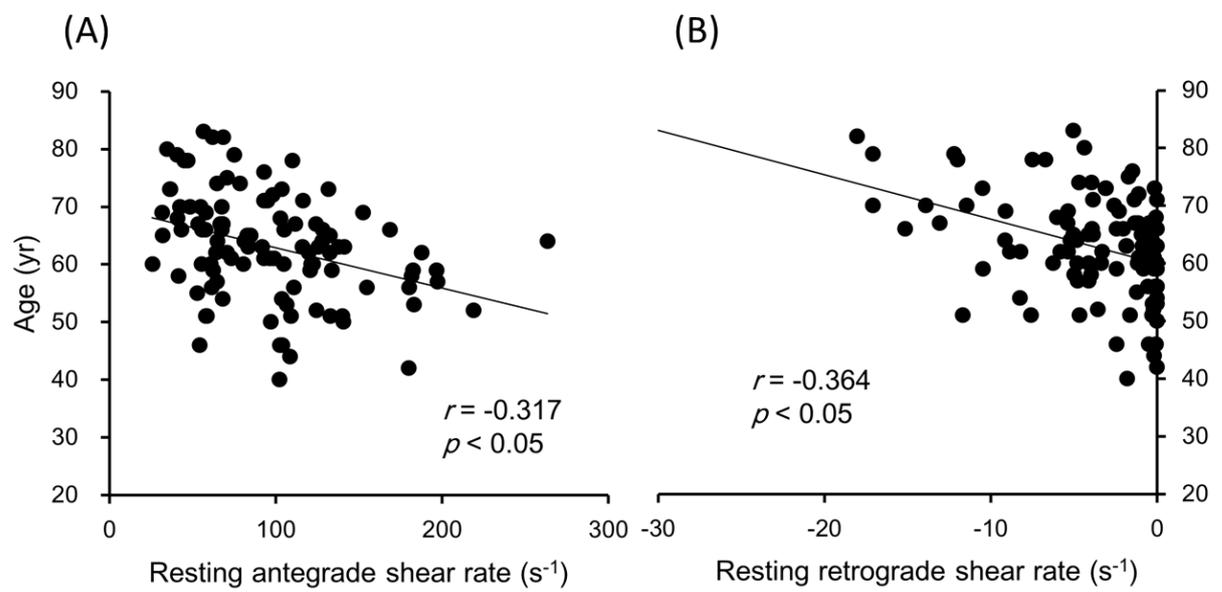
**Table 4. Characteristics of selected subjects**

Variables	Total (n =102)		
% women	30.4		
Age, yr	62	±	9
Height, cm	163.4	±	7.8
Body mass, kg	61.5	±	9.2
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	23.0	±	2.6
Heart rate, bpm	59.1	±	7.8
Systolic blood pressure, mmHg	126	±	16
Mean blood pressure, mmHg	100	±	12
Diastolic blood pressure, mmHg	78	±	9
Total cholesterol, mg/dl	220	±	37
HDL cholesterol, mg/dl	65	±	13
LDL cholesterol, mg/dl	133	±	35
Triglyceride, mg/dl	100	±	49
Brachial artery diameter, cm	0.41	±	0.06
Brachial artery antegrade shear rate, s <sup>-1</sup>	98.5	±	46.5
Brachial artery retrograde shear rate, s <sup>-1</sup>	-3.7	±	4.2
Brachial artery intima-media thickness, mm	0.42	±	0.09

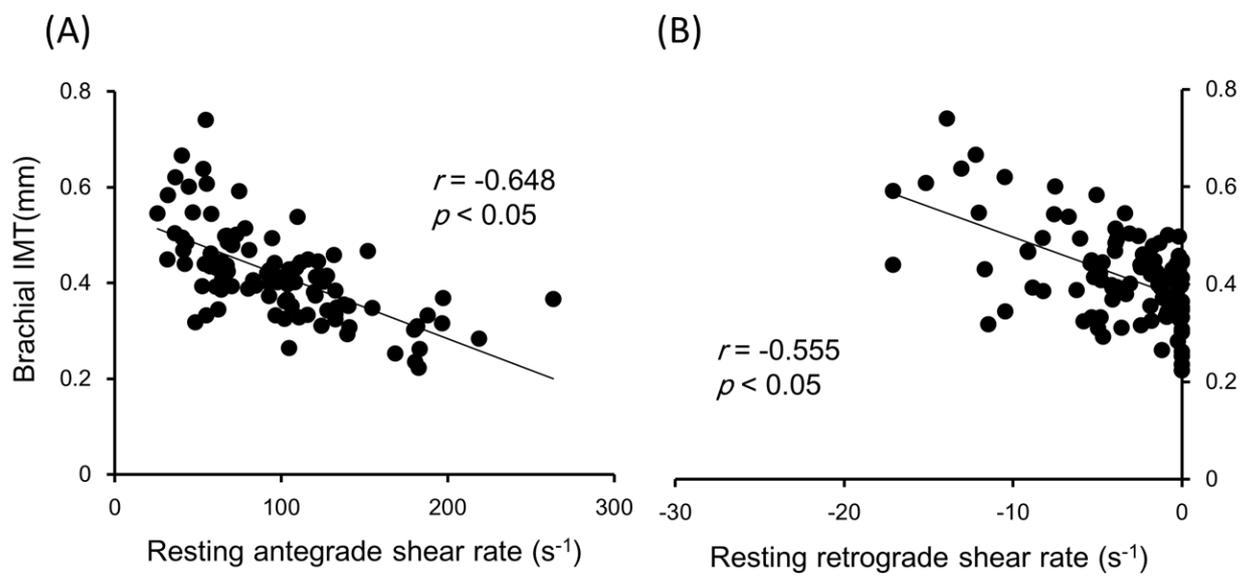
Data are expressed as means ± SD.



**Figure 4-1: Relationship of age to brachial artery IMT  
in middle-aged and older individuals.**



**Figure 4-2: Relationship of age to brachial artery shear rate patterns [antegrade shear rate (A), retrograde shear rate (B)] in middle-aged and older individuals.**



**Figure 4-3: Relationship of brachial artery intima-media thickness (IMT) to brachial artery shear rate patterns [antegrade shear rate (A), retrograde shear rate (B)] in middle-aged and older individuals.**

#### 4. 考察

本課題では、中高齢者を対象に上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT の関連性を検討した。その結果、中高齢者において年齢と上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよび IMT が関連した。さらに、上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT の間にも関連性が認められた。これらの結果より、加齢に伴う上腕動脈の IMT の増大には順行性・逆行性シェアレートが関与する可能性が示された。

本研究において、年齢と上腕動脈の IMT および順行性・逆行性シェアレートの間にそれぞれ相関関係が認められた。加齢に伴い、上腕動脈の IMT は増大すること (Sorensen et al. 1997, Nishiyama et al. 2008, Bjarnegård et al. 2010), 並びに、順行性シェアレートは減少し、逆行性シェアレートは増大することがそれぞれ報告されており (Nishiyama et al. 2008, Young et al. 2010, Padilla et al. 2011, Casey et al. 2012), 本研究の結果は先行研究の報告と一致している。さらに本研究では、中高齢者における上腕動脈の IMT は順行性・逆行性シェアレートと関連する結果が認められた。これまでに、*in vitro* の研究では、一方向性のシェアストレスの増大は抗アテローム動脈硬化に関連する遺伝子 (NOS, SOD etc.) の発現を増大し、アテローム性動脈硬化を促進させる遺伝子 (ICAM, VCAM, ET-1 etc.) の発現を抑制することが明らかになっている。その一方で、一方向性のシェアストレスの減少もしくは逆行性シェアストレスの増大は、アテローム性動脈硬化を促進する働きを有することも報告されている (Malek et al. 1999, Laughlin et al. 2008)。ヒトにおける研究では、上腕動脈や大腿動脈における一過的および慢性的な順行性シェアレートの増大は血管内皮機能を改善し (Tinken et al. 2009, 2010, Naylor et al. 2011, Birk et al. 2012), 一方で、逆行性シェアレートの増大は血管内皮機能を低下させることがそれぞれ報告されている (Thijssen et al. 2009, 2015, Schreuder et al. 2014)。また、上腕動脈 IMT の増大は心血管疾患の発症と強く関連することや (Hafner et al. 2014), 冠動脈と上腕動脈のアテローム性硬化病変の進行度が関連することなどが報

告されており (Sorensen et al. 1997), 上腕動脈 IMT は冠動脈などの中型の導管動脈のアテローム性動脈硬化のサロゲートマーカーとなり得ることが示唆されている。以上のことから, 上腕動脈などの導管動脈における加齢に伴う順行性シェアレートの減少および逆行性シェアレートの増大は, IMT の肥厚に関与し, 心血管疾患の発症に寄与する可能性が考えられる。

本研究は, 中高齢者における上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT の関連性を初めて示した。しかし, 本研究は両者の相関関係を検討したのみであり, その因果関係までは明らかにできていない。これまでに, Irace et al. (2012) の追跡研究において, 頸動脈の平均シェアレートの減少は, 将来の頸動脈 IMT の増大と関連することを報告しており, シェアレートが IMT の変化に寄与することが明らかになっている。このことから, 今後は上腕動脈などの中型の導管動脈における順行性シェアレートの減少および逆行性シェアレートの増大が, 将来の IMT の変化に寄与するか否か検討する必要があると考えられる。

## 5. まとめ

研究課題 1 では、中高齢者を対象に上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT の関連性を検討した。中高齢者において年齢と上腕動脈の IMT および順行性・逆行性シェアレートが関連した。さらに、上腕動脈の IMT と順行性・逆行性シェアレートの間にも関連性が認められた。これらの結果より、加齢に伴う上腕動脈の IMT の増大に順行性・逆行性シェアレートが関与する可能性が示された。

## V. 研究課題 2

### 中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の 順行性・逆行性シェアレートおよび IMT に及ぼす影響

#### 1. 緒言

心血管疾患の予防として習慣的に有酸素性運動をおこなうことが推奨されている (Warburton et al 2006). これまでに、習慣的な有酸素性運動が上腕動脈などの中型の導管動脈 IMT に及ぼす影響を検討した研究では、運動実践者の上腕・大腿動脈 IMT は、同年代の非実践者と比較し小さいことや (Rowley et al. 2011), 中高齢者における有酸素性運動トレーニングは上腕動脈の IMT を減少させること (Green et al. 2010, Maiorana et al. 2011, Thijssen et al. 2011, 2012) などが報告されており、習慣的な有酸素性運動によるアテローム性動脈硬化の抑制・改善効果が報告されている。しかしながら、この詳細なメカニズムは十分に明らかにされていないのが現状である。

研究課題 1 において、中高齢者における上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT が関連することが示唆された。さらに近年の横断的な検討において、中高齢の運動実施者は、加齢に伴う上腕動脈の逆行性シェアレートの増大が抑制されていることが報告された (Casey et al. 2016). これらのことから、習慣的な有酸素性運動による IMT の減少に順行性・逆行性シェアレートが関与する可能性が考えられる。しかしながら、これまでに中高齢者における習慣的な有酸素性運動が順行性・逆行性シェアレートを変化させるか縦断的に検討した報告は無く、習慣的な有酸素性運動による導管動脈の IMT 減少に順行性・逆行性シェアレートが関与するかについては全く不明である。

以上の背景から、研究課題 2 では、中高齢者における有酸素性運動トレーニングが上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよび IMT に及ぼす影響を検討すること

を目的とした。本研究では、中高齢者における有酸素性運動トレーニングによって上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートは変化し、**IMT** の減少に関与すると仮説を立てた。この仮説を検証するため、中高齢者を対象に 12 週間の有酸素性運動トレーニングを実施し、その前後で上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよび **IMT** を測定した。

## 2. 方法

### 2.1. 対象者

健康な中高齢者 39 名 (50-76 歳) を対象とした。対象者の希望に応じ、運動群 (n = 26) とコントロール群 (n = 13) に群分けした。心血管疾患に関連した既往歴がある者、心血管疾患に関連した薬を服用している者、喫煙習慣のある者は対象から除外した。また女性においては、閉経より 2 年以上経っている者を対象とし、ホルモン補充療法を実施している者は対象から除外した。実験に先立ち、全ての被験者に対して実験の目的と内容について説明し、実験に参加する同意を得た。なお、本研究は筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得て実施した。

### 2.2. 有酸素性運動トレーニング

運動群は、有酸素性運動トレーニングとして自転車運動およびウォーキングを中心とした有酸素性運動を 12 週間実施した。週 3 回は監督下で自転車運動を行い、それ以外は自宅でウォーキングを行った。トレーニング 1 週目は運動に慣れるため、比較的 low 強度 (60%HRmax) で 30 分間の有酸素性運動を行った。トレーニング 2 週目以降は運動強度を 65-80%HRmax、運動時間を 30-60 分、運動頻度を週当たり 3-6 日に設定してトレーニングを行った。運動介入を行わないコントロール群の被験者には、介入期間中の身体活動を変えないように指示した (Yoshizawa et al. 2010)。

### 2.3. 測定項目および測定方法

全ての測定は室温を調節した静かな部屋で行った (24-26°C)。被験者には、測定前の 12 時間以内の水以外の飲食、および 24 時間以内の激しい運動を控えさせた。20 分以上の安静後に仰臥位にて血行動態指標 (上腕動脈 IMT・順行性シェアレート・逆行性シェアレート・血圧・心拍数) を測定した。また、血液を採取し、血液生化学データ (総

コレステロール・HDL コレステロール・LDL コレステロール・トリグリセリド) を測定した。さらに、血行動態測定および採血の後に漸増運動負荷試験をおこない  $\dot{V}O_{2VT}$  を測定した。これらの測定は介入前および 12 週間の介入後におこなった。

#### 2.4. 統計解析

統計処理は SPSS22 (SPSS Inc.) を用いた。各群の介入効果の検討には、繰り返しのある二元配置分散分析 (repeated two way-ANOVA) を用い、主効果または交互作用が有意であった場合、群内の検定に Bonferroni 法を用いた。介入前の群間比較には対応のない t 検定を用いた。介入前後における各指標の変化量の関係性の検討には Pearson の相関係数および偏相関係数を用いた。偏相関分析は共変量として、IMT および順行性・逆行性シェアレートに影響することが報告されている年齢・体重・心拍数・平均血圧を用いた。統計学的有意水準は 5%未満とした。得られたデータ値はすべて平均値±標準偏差で示した。

### 3. 結果

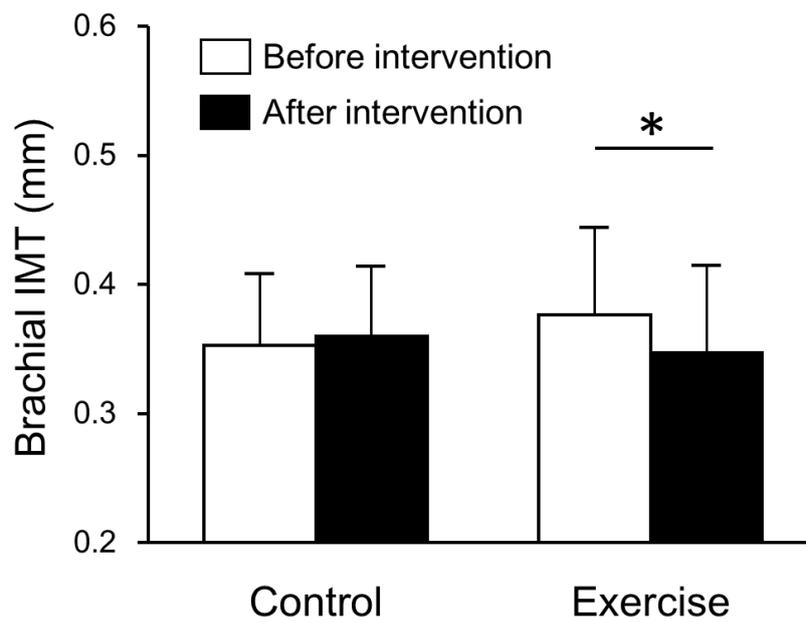
Table 5 に被験者特性を示す。介入前において、年齢、身長、体重、BMI、総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、トリグリセリド、心拍数、収縮期血圧、平均血圧、拡張期血圧、 $\dot{V}O_{2VT}$ 、上腕動脈血管径に群間差は認められなかった。12 週間の介入後、運動群の  $\dot{V}O_{2VT}$  は有意に増大した ( $p < 0.05$ )。体重、BMI、総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、トリグリセリド、心拍数、収縮期血圧、平均血圧、拡張期血圧、上腕動脈血管径は運動群において有意な変化は認められなかった。また、コントロール群では全ての項目で変化は認められなかった。介入前後の上腕動脈 IMT の変化を Figure 5-1 に示す。介入前における上腕動脈 IMT に群間差は認められなかった。12 週間の介入後、運動群において上腕動脈 IMT は有意に減少した ( $p < 0.05$ )。一方、コントロール群では上腕動脈 IMT の変化は認められなかった。Figure 5-2 には、介入前後の上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化を示す。介入前における上腕動脈の順行性シェアレートおよび逆行性シェアレートに、群間差は認められなかった。12 週間の介入後、運動群において、順行性シェアレートは有意に増大し、逆行性シェアレートは有意に減少した ( $p < 0.05$ )。一方、コントロール群では順行性・逆行性シェアレートの変化は認められなかった。介入前後の上腕動脈の IMT と順行性シェアレート [ $r = -0.595, p < 0.05$  : Figure 5-3 (A)] および逆行性シェアレート [ $r = 0.552, p < 0.05$  : Figure 5-3 (B)] の変化量の間にはそれぞれ有意な相関関係が認められた。さらにこれらの関係は、体重、心拍数、平均血圧の変化量で補正後も有意な相関関係が認められた (順行性シェアレート:  $\beta = -0.542, p < 0.05$ , 逆行性シェアレート:  $\beta = 0.631, p < 0.05$ )。加えて、介入前後の上腕動脈の血管抵抗の変化を Figure 5-4 に示す。介入前における上腕動脈の血管抵抗に群間差は認められなかった。12 週間の介入後、運動群において上腕動脈の血管抵抗は有意に減少した ( $p < 0.05$ )。一方、コントロール群では上腕動脈の血管抵抗の変化は認められなかった。さらに、介入前後の上腕動脈の血管抵抗の変化量と

順行性シェアレート [ $r = -0.532, p < 0.05$  : Figure 5-5 (A)] および逆行性シェアレート [ $r = -0.442, p < 0.05$  : Figure 5-5 (B)] の変化量の間にはそれぞれ有意な相関関係が認められた。

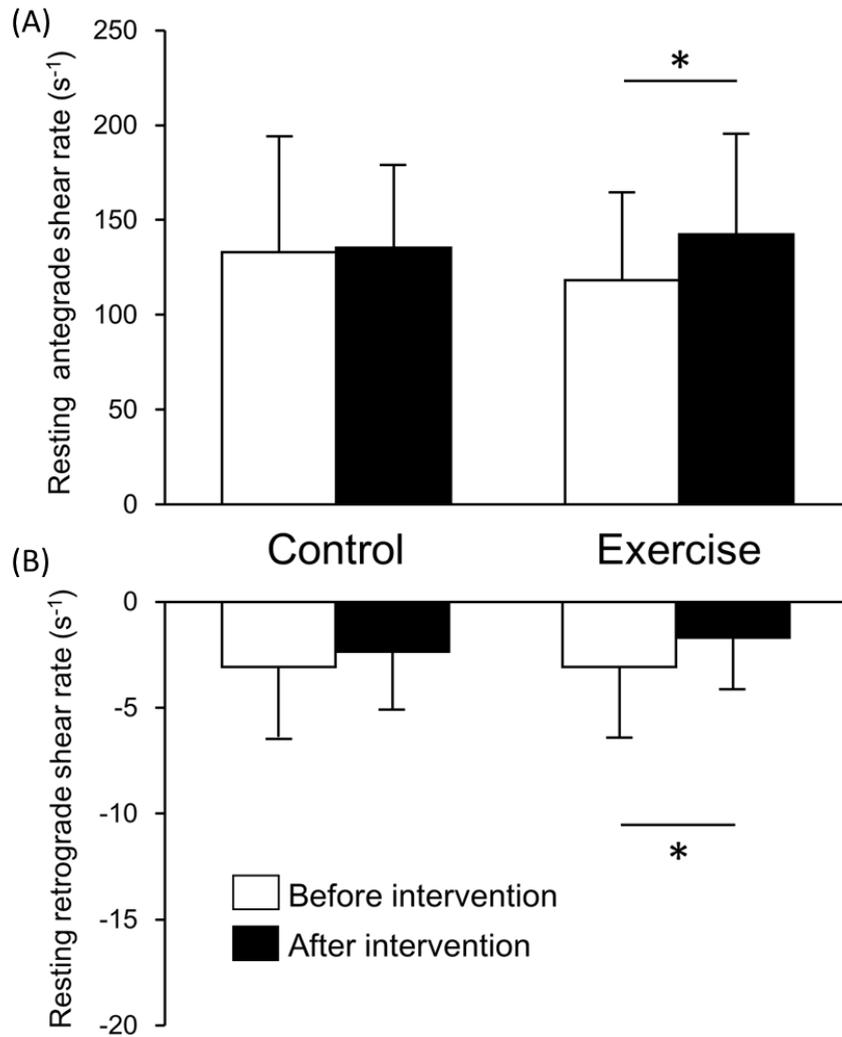
**Table 5. Characteristics of selected subjects before and after 12-wk exercise training**

Variables	Control		Exercise	
	Before	After	Before	After
% women	61.5		69.2	
Age, yr	62 ± 4		61 ± 7	
Height, cm	160.7 ± 8.2		159.3 ± 5.9	
Body mass, kg	58.0 ± 11.6	58.0 ± 11.9	58.7 ± 7.3	58.0 ± 7.3
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	22.3 ± 3.3	22.3 ± 3.4	23.1 ± 2.4	22.8 ± 2.3
Systolic blood pressure, mmHg	123 ± 14	122 ± 18	121 ± 13	116 ± 12
Mean blood pressure, mmHg	92 ± 10	90 ± 13	90 ± 9	86 ± 9
Diastolic blood pressure, mmHg	77 ± 10	74 ± 12	74 ± 8	71 ± 7
Total cholesterol, mg/dl	214 ± 29	212 ± 33	224 ± 41	216 ± 39
HDL cholesterol, mg/dl	67 ± 14	66 ± 11	63 ± 13	60 ± 12
LDL cholesterol, mg/dl	125 ± 33	125 ± 35	140 ± 36	133 ± 34
Triglyceride, mg/dl	83 ± 50	81 ± 43	93 ± 54	99 ± 58
VO <sub>2VT</sub> , ml · min <sup>-1</sup> · kg <sup>-1</sup>	15.9 ± 3.3	15.8 ± 3.3	15.3 ± 2.2	17.3 ± 2.8*
Brachial artery diameter, cm	0.39 ± 0.05	0.39 ± 0.05	0.38 ± 0.06	0.38 ± 0.06

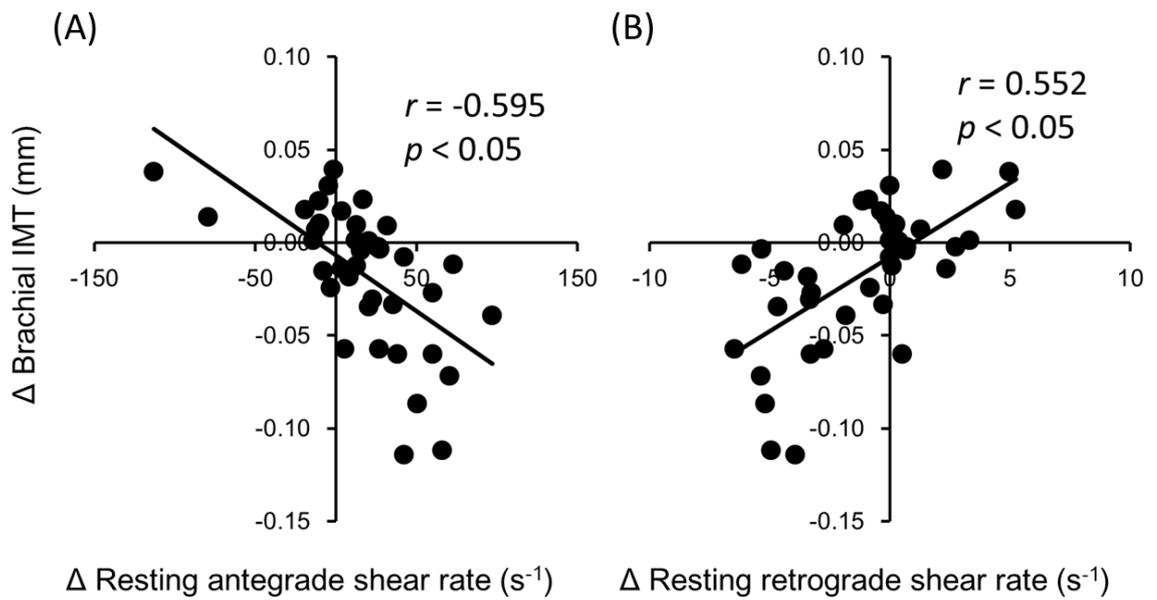
Data are expressed as means ± SD. \* $p < 0.05$  vs. before intervention.



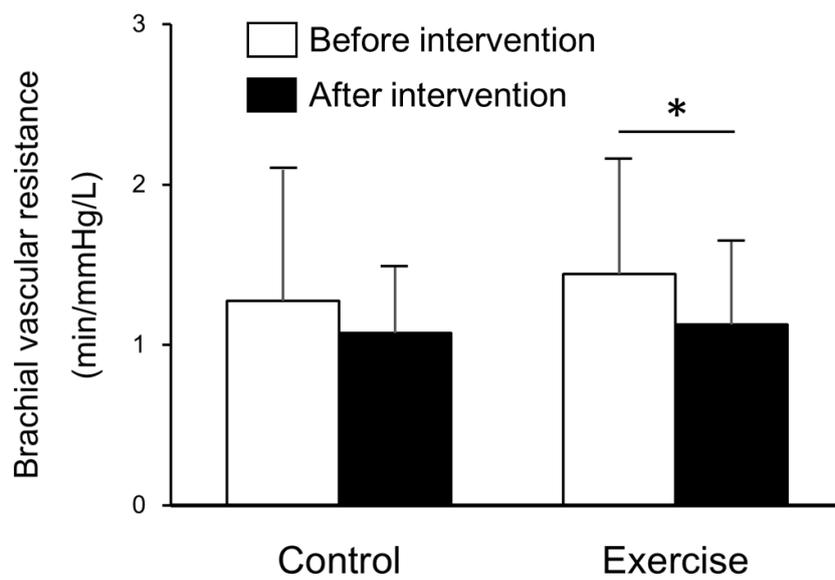
**Figure 5-1: Brachial artery intima-media thickness (IMT) before and after intervention in middle-aged and older individuals. Data are reported as means  $\pm$  SD. \* $p < 0.05$ .**



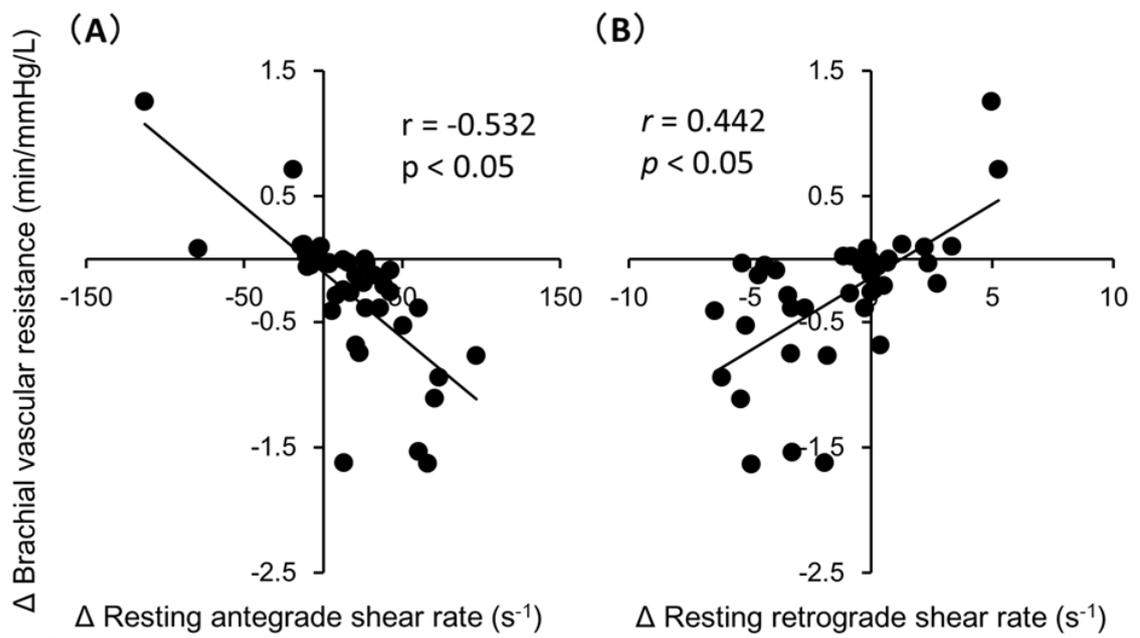
**Figure 5-2: Brachial artery shear rate patterns [antegrade shear rate (A), retrograde shear rate (B)] before and after intervention in middle aged and older individuals. Data are reported as means  $\pm$  SD. \* $p < 0.05$ .**



**Figure 5-3: Relationship of changes in brachial artery intima-media thickness (IMT) to the changes in brachial artery shear rate patterns [antegrade shear rate (A), retrograde shear rate: a “negative” change relates to a smaller retrograde shear rate (B)].**



**Figure 5-4: Brachial vascular resistance before and after intervention in middle-aged and older individuals. Data are reported as means  $\pm$  SD. \* $p < 0.05$ .**



**Figure 5-5: Relationship of changes in brachial vascular resistance to the changes in brachial artery shear rate patterns [antegrade shear rate (A), retrograde shear rate: a “negative” change relates to a smaller retrograde shear rate (B)].**

#### 4. 考察

本課題では、中高齢者を対象に有酸素性運動トレーニングが上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよび IMT に及ぼす影響を検討した。その結果、中高齢者における 12 週間の有酸素性運動トレーニングによって、上腕動脈の IMT が減少するとともに、順行性シェアレートは増大し、逆行性シェアレートは減少することが示された。さらに、有酸素性運動トレーニングによる上腕動脈の IMT と順行性・逆行性シェアレートの変化量の間に関連性が認められた。これらの結果より、中高齢者における有酸素性運動トレーニングは上腕動脈の順行性シェアレートを増大させ、逆行性シェアレートを減少させることが明らかになり、さらに、中高齢者における有酸素性運動トレーニングによる上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化が IMT 減少に関与する可能性が示された。

本研究にて、有酸素性トレーニングによって上腕動脈の順行性シェアレートが増大し、逆行性シェアレートおよび IMT が減少することが示された。さらに、有酸素性トレーニングによる IMT の変化と順行性・逆行性シェアレートの変化には相関関係が認められた。近年、若年者において、有酸素性運動トレーニングによる順行性・逆行性シェアレートの変化と血管内皮機能の改善が関連することが報告された (Scholten et al. 2014)。血管内皮機能は、血管壁のリモデリングにおいて重要な役割を果たしている (Deanfield et al. 2007)。また、中高齢者における有酸素性運動トレーニングは血管内皮機能改善することも報告されている (Maeda et al. 2004, Yoshizawa et al. 2010)。これらのことから、有酸素性トレーニングによる順行性シェアレートの増大および逆行性シェアレートの減少は、血管内皮機能を向上させ、このことが IMT の減少に寄与した可能性が考えられる。

これまでに先行研究において、中高齢の運動実施者は、加齢に伴う上腕動脈の逆行性シェアレートの増大が抑制されていることが報告されており (Casey et al. 2016),

習慣的な有酸素性運動によって加齢による逆行性シェアレートの増大を抑制できる可能性が示唆されている。本研究では、中高齢者における有酸素性運動トレーニングによって逆行性シェアレートが減少した。この結果は、先行研究の結果と一致するとともに、中高齢者における習慣的な有酸素性運動により上腕動脈の逆行性シェアレートは減少するという新たな可能性を提供すると考えられる。

導管動脈の順行性・逆行性シェアレートに影響する因子として、各所の末梢の血管抵抗が挙げられる。上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートに関する検討では、前腕部を駆血し、血管抵抗を意図的に増大させた際に、順行性シェアレートの減少および、逆行性シェアレート増大が生じることが報告されている (Thijssen et al. 2009)。また、この前腕部駆血による上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化は、駆血の圧依存的に変化する (Thijssen et al. 2009)。さらに、末梢の血管抵抗を増大させるようなコールドプレッシャーテストや下半身陰圧負荷試験などによっても同様の変化が観察できる (Newcomer et al. 2011, Thijssen et al. 2014, Schreuder et al. 2014, Green et al. 2017)。一方で、血管を拡張させ血管抵抗を減少させる温熱負荷は、順行性シェアレートを増大させ、逆行性シェアレートを減少させることも報告されている (Tinken et al. 2009, Newcomer et al. 2011)。本研究において、中高齢者における 12 週間の有酸素性運動トレーニングによって上腕動脈の順行性シェアレートは増大し、逆行性シェアレートは減少した。さらに、上腕動脈の血管抵抗は運動群のみ減少し、介入による順行性・逆行性シェアレートと血管抵抗の変化量にそれぞれ相関関係が認められた。これらのことから、有酸素性運動トレーニングによる上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化には、血管抵抗を調整する因子の変化が関与する可能性が考えられる。

本研究では、比較的短期間の 12 週間の有酸素性運動トレーニングが中高齢者における上腕動脈 IMT を減少させることを示した。Green et al. (2010) は、中高齢者において 24 週間の有酸素性運動トレーニングを実施し、12 週目の段階から上腕動脈 IMT が

減少したことを報告しており、本研究の結果と一致している。さらに本研究では、有酸素性運動トレーニングによる順行性・逆行性シェアレートと **IMT** の変化の間に関係性が認められた。また、先行研究では、一過的な血管機能の改善により **IMT** が変化することが報告されている (Thijssen et al. 2011)。そのため、本研究で得られた **IMT** の変化が機能的変化か器質的変化のどちらによって引き起こされたかは不明である。したがって、さらに長期間の有酸素性運動トレーニングを実施した際の順行性・逆行性シェアレートと **IMT** の関係を検討する必要があると考えられる。

## 5. まとめ

研究課題 2 では、中高齢者における 12 週間の有酸素性運動トレーニングによって、上腕動脈の IMT が減少するとともに、順行性シェアレートは増大し、逆行性シェアレートは減少することが示された。さらに、有酸素性運動トレーニングによる上腕動脈の IMT と順行性・逆行性シェアレートの変化量の間に関連性が認められた。これらの結果より、中高齢者における有酸素性運動トレーニングによる上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化は IMT の減少に関与する可能性が示された。

## VI. 研究課題 3

習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序：交感神経性血管収縮に着目して

### 1. 緒言

研究課題 2 において、中高齢者における 12 週間の有酸素性運動トレーニングによって上腕動脈の順行性シェアレートが増大し、逆行性シェアレートが減少することが示された。先行研究においても、中高齢の運動実施者は、加齢に伴う上腕動脈の逆行性シェアレートの増大が抑制されていることが報告されている (Casey et al. 2016)。これらのことから、習慣的な有酸素性運動は、加齢に伴う上腕動脈などの順行性シェアレートの減少および逆行性シェアレートの増大を抑制・改善させることが示唆されたが、これらの詳細なメカニズムは全く不明である。

上腕動脈などの順行性・逆行性シェアレートを変化させる要因として、末梢の血管抵抗が大きく影響することが明らかになっている (Padilla et al. 2010, Newcomer et al. 2011, Simmons et al. 2011, Schreuder et al. 2014)。研究課題 2 においても、有酸素性運動トレーニングによって上腕動脈の血管抵抗が減少し、血管抵抗の変化は順行性・逆行性シェアレートの変化と関連した。また、Casey et al. (2012) は、若年者と中高齢者に対して交感神経系を賦活化させる LBNP 刺激を負荷し、若年者では順行性・逆行性シェアレートが変化した。中高齢者では変化しなかったことを報告するとともに、交感神経性血管収縮を抑制する薬剤を投与した際には、中高齢者の順行性シェアレートは増大し、逆行性シェアレートは減少することを確認している。つまり、加齢に伴う上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化に交感神経性血管収縮の増強が関与することが示唆されている。これまでに、習慣的な有酸素性運動は交感神経系を抑制する効果を有するこ

とが報告されており (Mueller. 2007, Donato et al. 2007), 中高齢者における習慣的な有酸素性運動による順行性・逆行性シェアレートの変化に交感神経性血管収縮が関与する可能性が考えられる.

以上の背景から, 研究課題 3 では, 中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序に, 交感神経性血管収縮が関与するか否かを検討することを目的とした. 本研究にて, 中高齢者における習慣的な有酸素性運動による順行性・逆行性シェアレートの変化は, 交感神経性血管収縮の抑制が関与すると仮説を立てた. この仮説を検証するため, 中高齢者を対象とし, 交感神経系を賦活する LBNP 刺激を負荷した際の上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの反応性を, 運動習慣をもとに比較検討した.

## 2. 方法

### 2.1. 対象者

健康な中高齢者 15 名 (52-67 歳) を対象とした。心血管疾患に関連した既往歴がある者、心血管疾患に関連した薬を服用している者、喫煙習慣のある者は対象から除外した。また女性においては、閉経より 2 年以上経っている者を対象とし、ホルモン補充療法を実施している者は対象から除外した。実験に先立ち、全ての被験者に対して実験の目的と内容について説明し、実験に参加する同意を得た。なお、本研究は筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得て実施した。

### 2.2. 測定項目および測定方法

全ての測定は室温を調節した静かな部屋で行った (24-26°C)。被験者には、測定の 12 時間以内の水以外の飲食、および 24 時間以内の激しい運動を控えさせた。20 分以上の安静後に、仰臥位にて安静時の血行動態指標 (心拍数・上腕動脈の順行性シェアレート・逆行性シェアレート・血圧) を測定した。その後、LBNP 刺激を負荷し、LBNP 負荷中の血行動態指標を測定した。さらに、安静時および LBNP 中の血行動態測定後に、漸増運動負荷試験をおこない  $\dot{V}O_{2VT}$  を測定した。

### 2.3. LBNP

全ての被験者は、交感神経系の賦活化が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートに及ぼす影響を検討するため、LBNP 負荷試験を実施した。LBNP 負荷は仰臥位にて下半身を LBNP 負荷装置に入れ密封し、-20mmHg まで装置内を減圧した。先行研究において -20mmHg の LBNP 負荷は心拍数を変化させず、筋交感神経活性のみを賦活化させることが報告されているとともに (Rea & Wallin, 1989)、中高齢者において筋交感神経の賦活が確認されている負荷である (Davy et al. 1998)。LBNP 負荷試験は 3 分間実施し

(Casey et al. 2012), 負荷中の血行動態指標の測定をおこなった。

#### 2.4. 統計解析

対象者は運動習慣のアンケートをもとに、先行研究の基準より (Monahan et al. 2000. [週 3 日以上, 1 日 30 分以上の有酸素性運動の実施]), 高活動群と低活動群の 2 群に分け比較検討をおこなった。統計処理は SPSS22 (SPSS Inc.) を用いた。各群の順行性・逆行性シェアレートに対する LBNP の影響の検討には、繰り返しのある二元配置分散分析 (repeated two way-ANOVA) を用い、主効果または交互作用が有意であった場合、群内の検定に Bonferroni 法を用いた。安静時の群間比較には対応のない t 検定を用いた。統計学的有意水準は 5%未満とした。得られたデータ値はすべて平均値±標準偏差で示した。

### 3. 結果

Table 6-1 に被験者特性を示す。女性の人数、年齢、身長、体重、BMI、収縮期血圧、平均血圧、拡張期血圧に群間差は認められなかった。高活動群の  $\dot{V}O_{2VT}$  は低活動群と比較し有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。Table 6-2 には、安静時および LBNP 負荷時の心拍数および上腕動脈血管径を示す。安静時において、心拍数、血管径に群間差は認めなかったが、血管径は低活動群と比較し高活動群で大きい傾向であった ( $p = 0.08$ )。また、両群ともに LBNP 負荷によって心拍数および血管径の有意な変化は認められなかった。安静時および LBNP 負荷時の上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを Figure 6 に示す。安静時において、高活動群は低活動群と比較し、上腕動脈の順行性シェアレートの差は認められず、逆行性シェアレートは有意に小さい値を示した ( $p < 0.05$ )。また、高活動群において、LBNP 負荷によって、安静時と比較して順行性シェアレートは有意に減少し ( $p < 0.05$ )、逆行性シェアレートは有意に増大した ( $p < 0.05$ )。一方、低活動群では LBNP 負荷による順行性・逆行性シェアレートの変化は認められなかった。

**Table 6-1. Characteristics of selected subjects**

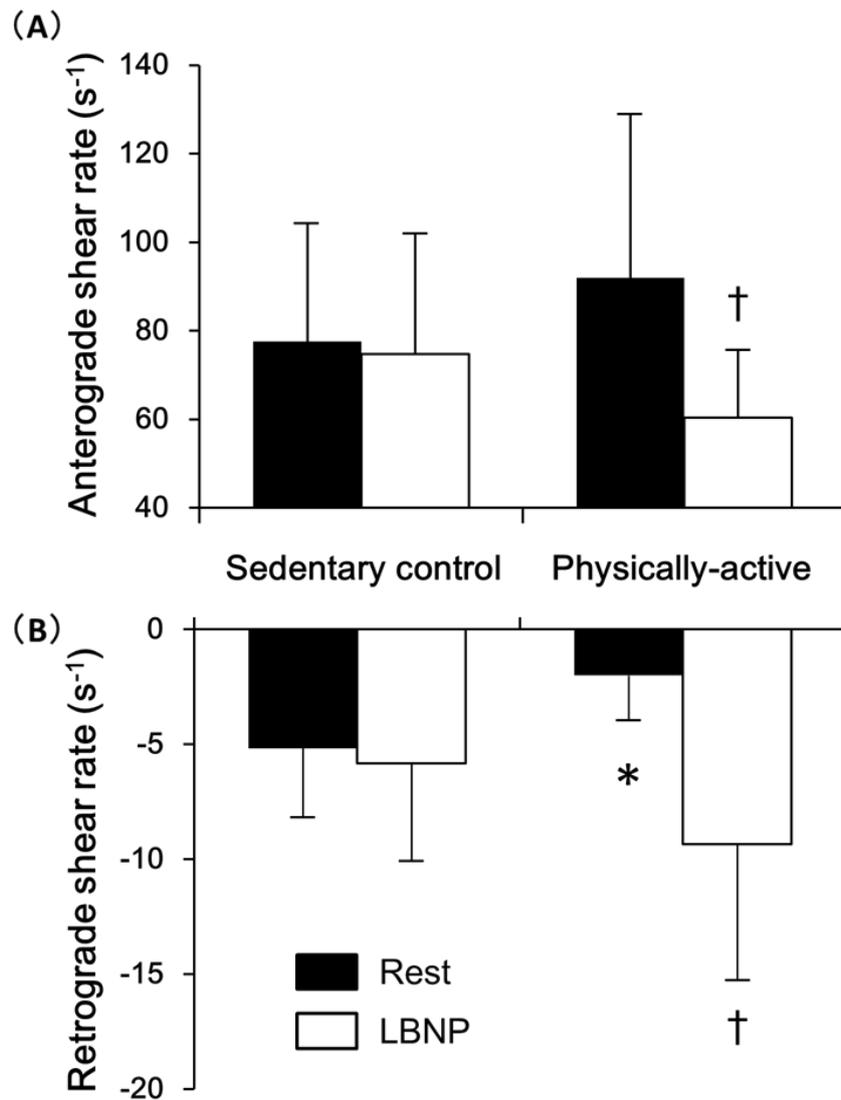
Variables	Sedentary control (n = 8)			Physically-active (n = 7)		
women, n	6			5		
Age, yr	60.4	±	4.2	61.3	±	6.0
Height, cm	162.7	±	8.0	163.2	±	3.4
Body mass, kg	61.5	±	11.2	59.9	±	5.0
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	23.1	±	2.9	22.5	±	1.2
Systolic blood pressure, mmHg	120	±	17	114	±	13
Mean blood pressure, mmHg	86	±	11	85	±	9
Diastolic blood pressure, mmHg	72	±	10	71	±	8
$\dot{V}O_{2VT}$ , ml · min <sup>-1</sup> · kg <sup>-1</sup>	11.8	±	1.7	17.6	±	3.4*

Data are expressed as means ± SD. \* $p < 0.05$  vs. Sedentary control group.  $\dot{V}O_{2VT}$  indicates oxygen uptake at the ventilatory threshold.

**Table 6-2. Heart rate and brachial artery properties at rest and lower body negative pressure (LBNP) conditions**

Variables	Sedentary control		Physically-active	
	Rest	LBNP	Rest	LBNP
Heart rate, bpm	55 ± 4	54 ± 4	55 ± 4	56 ± 4
Brachial artery diameter, cm	0.37 ± 0.05	0.37 ± 0.05	0.42 ± 0.04	0.42 ± 0.04

Data are expressed as means ± SD. \* $p < 0.05$  vs. Sedentary control group. † $p < 0.05$  vs. Rest.



**Figure 6: Brachial artery shear rate patterns [retrograde shear rate (A), oscillatory shear index (B)] at rest (with no stimulus) and sympathetic stimulation conditions (via lower body negative pressure; LBNP) in middle-aged and older individuals. Data are reported as means  $\pm$  SD. \**p* < 0.05 vs. Sedentary control group. †*p* < 0.05 vs. Rest.**

#### 4. 考察

本課題では、中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序に、交感神経性血管収縮が関与するか否かを検討した。その結果、高活動群の逆行性シェアレートは低活動群と比較し有意に小さい値を示した。さらに、LBNP 負荷によって、高活動群の順行性・逆行性シェアレートは有意に変化した。低活動群の順行性・逆行性シェアレートは変化しなかった。これらのことから、習慣的な有酸素性運動による交感神経性血管収縮の抑制が順行性・逆行性シェアレートの変化に寄与している可能性が考えられる。

本研究は、加齢に伴う上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化における交感神経性血管収縮の関与を検討した Padilla et al. (2010) の研究デザインを模して実施した。先行研究では、若年者および中高齢者に対し、本研究と同様の交感神経性血管収縮を増強する-20mmHg の LBNP を負荷し、若年者では順行性・逆行性シェアレートの変化が認められたが、中高齢者では変化が認められなかったことを報告している。また、同研究において、交感神経性血管収縮を抑制する薬剤を投与した際には、中高齢者の順行性シェアレートの増大および逆行性シェアレートの減少が認められている。これらのことから、中高齢者では、加齢により安静時の交感神経性血管収縮が増強しており、LBNP 刺激による付加的な交感神経性血管収縮の効果が認められなかったことが示唆されている。本研究において、LBNP 負荷により 高活動群の順行性・逆行性シェアレートの変化が認められ、一方で、低活動群の順行性・逆行性シェアレートの変化は認められなかった。動物モデルにおいて、習慣的な有酸素性運動は交感神経性血管収縮を抑制することも報告されている (Donato et al. 2007)。以上のことから、運動習慣による LBNP 負荷に対する反応性の違いには、安静時の交感神経性血管収縮の活性度の違いが影響している可能性が考えられる。

本研究では、上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートに対する交感神経性血管

収縮の影響を検討したが、筋交感神経活性および前腕の血管抵抗については測定していない。そのため、筋交感神経活性および前腕の血管抵抗の大きさを評価することはできない。しかしながら、先行研究において、本検討で用いた-20mmHg の LBNP 負荷は、高齢者において筋交感神経活性を増大させることを確認している (Davy et al. 1998)。さらに、同研究では、LBNP 負荷の段階的な増大によって、負荷依存的に筋交感神経活性および前腕の血管抵抗が増大することも報告されている。これらのことから、本研究における LBNP 負荷によって筋交感神経性血管収縮および前腕の血管抵抗が増大していると推察される。

## 5. まとめ

研究課題3では、中高齢者を対象に LBNP を負荷した際の上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの反応性を、運動習慣をもとに比較検討した。その結果、高活動群の逆行性シェアレートは低活動群と比較し有意に小さい値を示した。さらに、LBNP 負荷によって、高活動群の順行性・逆行性シェアレートは有意に変化したが、低活動群の順行性・逆行性シェアレートは変化しなかった。これらの結果より、中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させるメカニズムの1つに、交感神経性血管収縮が関与する可能性が示された。

## VII. 総合討論

加齢に伴う上腕動脈などの IMT の肥厚は心血管疾患の発症率と関連し、アテローム性動脈硬化の兆候の 1 つとされている (Nishiyama et al. 2008, Iwamoto et al. 2010, Hafner et al. 2014). 一方, 中高齢者における習慣的な有酸素性運動は上腕動脈などの IMT を減少させることが報告されている (Green et al. 2010, Maiorana et al. 2011). これまでに, IMT を変化させる機序として, 血管内皮機能や酸化ストレス, 炎症などが報告されているが (Wang et al. 2012), エビデンスの蓄積は不十分である.

血管壁には常に血流に起因するメカニカルストレスであるシェアストレスが作用して, 血管を調節していることが明らかになっている (Malek et al. 1999). ヒトにおいて上腕動脈などの中型の導管動脈では特徴的な血流パターンを示し, 中枢から末梢に向かって流れる順行性の血流と, 末梢から中枢に向かって流れる逆行性の血流を観察することができる. 近年, この血流パターンに起因する, 順行性シェアストレスは抗アテローム性動脈硬化作用を持ち, 一方, 逆行性シェアストレスはアテローム性動脈硬化を促進させる作用を持つことが示唆されている (Newcomer et al. 2011). このことから, 加齢や習慣的な有酸素性運動による IMT の変化に順行性・逆行性シェアストレスが関与する可能性が考えられる.

そこで, 本研究では, 加齢および習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT に及ぼす影響を検討することを目的とした. 研究課題 1 では, 中高齢者における上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと IMT の関係性を検討した. 研究課題 2 では, 中高齢者における有酸素性運動トレーニングが上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよび IMT に及ぼす影響を検討した. さらに, 研究課題 3 では, 中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させるメカニズムに, 交感神経性血管収縮に着目して検討した.

### 中高齢者における上腕動脈のIMTと順行性・逆行性シェアレートの関連

研究課題1において、中高齢者における上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよびIMTはそれぞれ年齢と関連性が認められた。さらに、中高齢者における上腕動脈のIMTと順行性・逆行性シェアレートの間にも関連性が認められた。また、研究課題2において、12週間の有酸素性運動トレーニングによって、上腕動脈のIMTは減少するとともに、順行性・逆行性シェアレートは変化した。さらに有酸素性運動トレーニングによるIMTと順行性・逆行性シェアレートの変化量の間に関連性が認められた。これらのことから、加齢および習慣的な有酸素性運動による上腕動脈のIMTの変化に、順行性・逆行性シェアレートが関与する可能性が示された。

加齢に伴い上腕動脈のIMTは肥厚するが (Nishiyama et al. 2008), 中高齢者における習慣的な有酸素性運動によって上腕動脈のIMTは減少する (Green et al. 2010, Maiorana et al. 2011). また, IMTを変化させる機序として, 血管内皮機能や酸化ストレス・炎症などが報告されている (Wang et al. 2012). 上腕動脈における順行性シェアレートは血管内皮機能を向上させる効果を持つ (Tinken et al. 2009, 2010, Naylor et al. 2011, Birk et al. 2012). 一方で, 逆行性シェアレートは血管内皮機能を低下させることが報告されている (Thijssen et al. 2009, 2015, Schreuder et al. 2014). さらに, *in vitro* の研究でも, 一方向性のシェアストレスの増大は抗アテローム動脈硬化に関連する遺伝子 (NOS, SOD etc.) の発現を増大し, アテローム性動脈硬化を促進させる遺伝子 (ICAM, VCAM, ET-1 etc.) の発現を抑制することが明らかになっている. またその一方で, 一方向性のシェアストレスの減少もしくは逆行性シェアストレスの増大は, アテローム性動脈硬化を促進する働きを有することも報告されている (Malek et al. 1999, Laughlin et al. 2008). したがって, 加齢や習慣的な有酸素性運動による順行性・逆行性シェアレートの変化は, 血管内皮機能を調節し, このことがIMTの変化に寄与した可能性が考えられる.

また, 上腕動脈は, 冠動脈と同等サイズの中型の筋性動脈であり, 剖検を用い

た検討では、冠動脈と上腕動脈のアテローム性硬化病変の進行度が関連することが報告されている (Sorensen et al. 1997). さらに、上腕動脈 IMT は、心血管疾患リスクや心血管イベントと強く関連することから (Iwamoto et al. 2012, Hafner et al. 2014), 冠動脈などの中型の導管動脈のアテローム性動脈硬化のサロゲートマーカーとなり得ることが示唆されている. したがって、上腕動脈などの中型の導管動脈における加齢や習慣的な有酸素性運動による順行性・逆行性シェアレートの変化は、IMT のリモデリングに関与し、心血管疾患の発症に寄与する可能性が考えられる.

### **中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートに及ぼす影響**

研究課題 2 において、中高齢者における 12 週間の有酸素性運動トレーニングは上腕動脈の順行性シェアレートを増大させ、逆行性シェアレートを減少させた. また、研究課題 3 では、中高齢の高活動群は、同年代の低活動群と比較し、小さい逆行性シェアレートを示した. 近年、順行性シェアレートは抗アテローム性動脈硬化作用を持ち、逆行性シェアレートはアテローム性動脈硬化を促進させる作用を持つことが示唆されている (Newcomer et al. 2011). これらのことから、中高齢者における習慣的な有酸素性運動は、上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させ、血管機能の向上やアテローム性動脈硬化の予防に好影響をもたらす可能性が示された.

近年の横断的な検討において、中高齢の運動実施者は、加齢に伴う上腕動脈の逆行性シェアレートの増大が抑制されていることが報告された (Casey et al. 2016). 研究課題 3 においても、中高齢の高活動群は、同年代の低活動群と比較し、上腕動脈における小さい逆行性シェアレートを示しており、先行研究の結果と一致している. 一方、研究課題 2 では、12 週間の有酸素性運動トレーニングによって上腕動脈の順行性シェアレ

ートは増大し、逆行性シェアレート減少した。したがって、逆行性シェアレートについては、横断的検討と縦断的検討で一致した結果が得られているが、順行性シェアレートについては、縦断的検討のみで運動効果が認められている。この結果の違いの要因として血管径の影響が挙げられる。習慣的な有酸素性運動によって上腕動脈の血管径は拡大することが報告されている (Maiorana et al. 2010, Thijssen et al. 2012)。研究課題 3 においても高活動群は低活動群と比較し血管径が大きい傾向を示した ( $p = 0.08$ )。このことから、習慣的な有酸素性運動が順行性・逆行性シェアレートに及ぼす影響には、血管径が影響する可能性が考えられる。今後は、習慣的な有酸素性運動が順行性・逆行性シェアレートに及ぼす影響を、より長期間・継時的に検討し、順行性・逆行性シェアレートの変化と血管壁リモデリングの関係を明らかにする必要がある。

#### **習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序**

研究課題 2, 3 によって、習慣的な有酸素性運動は上腕動脈の順行性シェアレートを増大させ、逆行性シェアレートを減少させる可能性が示された。さらに、研究課題 3 では、習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序として交感神経性血管収縮に着目し検討した。交感神経性血管収縮を増強する LBNP 負荷によって、高活動群の順行性・逆行性シェアレートが変化し、一方で低活動群の順行性・逆行性シェアレートは変化しなかった。このことから、習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序に、交感神経性血管収縮の抑制が関与する可能性が示された。また、研究課題 3 においては、安静時の逆行性シェアレートのみで群間差が認められた。一方で、LBNP 負荷によって、高活動群では逆行性シェアレートのみでなく順行性シェアレートにも変化が認められた。研究課題 2 では、有酸素性運動トレーニングによって上腕動脈の順行性シェアレートの増大も認め

られている。このことから、習慣的な有酸素性運動による交感神経性血管収縮の抑制は、順行性シェアレートにも影響すると考えられる。

### **本研究の意義**

加齢は心血管疾患の危険因子であり、中高齢者において、アテローム性動脈硬化の進行を抑制または改善することは重要な課題である。シェアストレスはアテローム性動脈硬化に関連する因子を上流で調節する作用を有するとともに、順行性と逆行性の持つ効果の違いにより、アテローム性動脈硬化の進展に中心的に関与することが示唆される。本研究により、加齢に伴う上腕動脈におけるアテローム性動脈硬化のマーカである **IMT** の増大に順行性・逆行性シェアレートが関与する可能性が示された。このことは医学や老年学の研究に対して重要な情報を提供すると考えられる。さらに本研究により、習慣的な有酸素性運動による **IMT** の減少に順行性・逆行性シェアレートの変化が関与する可能性が示された。運動によるアテローム性動脈硬化の抑制または改善の機序の全体像を捉えることができれば、心血管疾患の予防を考える上で重要な意義を持つと考えられる。

### **まとめ**

本研究は、加齢および習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと **IMT** に及ぼす影響を検討することを目的として3つの研究課題をおこなった。横断的検討から、①中高齢者における上腕動脈の **IMT** は順行性・逆行性シェアレートと関連することが示された。また、縦断的検討によって②中高齢者における有酸素性運動トレーニングは上腕動脈の順行性シェアレートを増大させ、逆行性シェアレート

を減少させること, ③有酸素性運動トレーニングによる上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化が IMT の減少に関連することが示された. そして一過的な LBNP 刺激を用いた検討により④習慣的な有酸素性運動による順行性・逆行性シェアレートの変化に交感神経性血管収縮の抑制が関与する可能性が示された. これらの結果から, 加齢および習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の IMT を変化させる機序には, 順行性・逆行性シェアレートが関与する可能性が示された.

## 本研究の限界

### 1. 血管内皮機能

加齢に伴い血管内皮機能は低下するが (Celermajer et al. 1994), 習慣的な有酸素性運動によって中高齢者の血管内皮機能は改善する (Maeda et al. 2004, Yoshizawa et al. 2010). さらに, 順行性・逆行性シェアレートは血管内皮機能を調節することが明らかになっている (Laughlin et al. 2008). したがって, 本研究で認められた順行性・逆行性シェアレートと IMT の関連性の間には, 血管内皮機能が重要な役割を果たしている可能性が高い. しかし, 本研究では血管内皮機能を評価できていない. 今後は, 血管内皮機能の指標とともに, 加齢や習慣的な有酸素性運動による IMT の変化と順行性・逆行性シェアレートの関連を検討していく必要がある.

### 2. 対象者

本研究では, 健康な中高齢者を対象として検討をおこなった. したがって, 心血管疾患の既往歴がある者や, 心血管疾患リスクの高い高血圧保持者や糖尿病患者において, 同様の減少が起こるかは不明である. 今後, 他の対象者でも同様の効果が得られるか否か検討が必要である.

### 3. 評価部位（上腕動脈）

本研究では、順行性シェアレートおよび逆行性シェアレートが観察できることに加え、比較的短期間の有酸素性運動トレーニングによって **IMT** が減少することが報告されている (Green et al. 2010, Maiorana et al. 2011). したがって、本研究では上腕動脈を評価部位として選択した. 先行研究にて上腕動脈 **IMT** の増大は心血管疾患の発症率と関連する (Hafner et al. 2014) ことが報告されているものの、実際の疾患に直結するような冠動脈などの評価はできていない. したがって、今後は他の動脈でも検討を行う必要があると考えられる. しかしながら、研究課題 3 では習慣的な有酸素性運動が順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序として交感神経性血管収縮の抑制が関与する可能性が示された. これは上腕動脈のみでなく、他の動脈でも同様の現象が生じている可能性が高いと考えられる.

### 4. 血管リモデリング

本研究では、順行性・逆行性シェアレートと **IMT** の関連性を初めて示した. しかし、本研究では因果関係までは明らかにできていない. 今後はコホート研究等によって順行性・逆行性シェアレートが **IMT** に及ぼす影響を検討する必要がある. さらに、先行研究では、一過的な血管機能の改善により **IMT** が変化することも報告されている (Thijssen et al. 2011). 本研究では比較的短期間 (12 週間) の有酸素性運動トレーニングの影響を検討しており、**IMT** が機能的変化か器質的変化のどちらによって減少したかは不明である. したがって、さらに長期間の有酸素性運動トレーニングを実施した際の順行性・逆行性シェアレートと **IMT** の関係も検討する必要があると考えられる.

## 5. 血液粘度

シェアストレスはシェアレートと血液粘度の積より算出される。血液粘度の評価には侵襲を伴うことや、厳密な評価ができないことなどから、ヒトにおけるシェアストレスの評価には代替指標としてシェアレートが多く用いられている (Padilla et al. 2011, Casey et al. 2012)。したがって、本研究でもシェアレートの評価をおこなったが、正確なシェアストレスの評価および血液粘度の影響は考慮できていない。また、血液は非ニュートン流体であり、シェアレートの増大によって赤血球の状態が変化し、血液粘度は減少する (Vennemann et al. 2007)。そのため、血管におけるシェアストレスとシェアレートは指数関数的な関係を示すことが知られている (Papaioannou & Stefanadis. 2005)。一方で、本研究におけるシェアレートと IMT はすべての検討において直線的な関係性を示した。多くの横断的および縦断的な先行研究においても、シェアレートと血管機能の直線的な関係性が報告されている (Pyke KE & Tschakovsky. 2005, Boulanger CM et al. 2007, Scholten et al. 2014)。Parkhurst et al. (2012) は、ヒトにおける上腕動脈のシェアレートがシェアストレスよりも血管内皮機能と強い直線的な関係性が認められたことを報告している。これらは、シェアレートおよびシェアストレスが直接的に評価された値ではなく、血流速度および血管径から算出される推定値であることが要因であると考えられる (Parker et al. 2009)。本研究における結果は、順行性・逆行性シェアストレスが IMT に及ぼす影響を示していると考えられるとともに、血液粘度は大きく影響していない可能性も示唆される。ただし、血液粘度はアテローム性動脈硬化の危険因子であるコレステロールなどによっても影響を受けることから、血液粘度を含めた順行性・逆行性シェアストレスとアテローム性動脈硬化の関連性の検討も今後は必要であると考えられる。

## VIII. 結論

本研究では、加齢および習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと **IMT** に及ぼす影響を検討することを目的とした。この目的を達成するために、①中高齢者における上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートと **IMT** の関係、②中高齢者における習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートおよび **IMT** に及ぼす影響、そして、③習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートを変化させる機序、をそれぞれ検討した。

これらの検討により、中高齢者における上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートは **IMT** と関連し、加齢に伴う上腕動脈の **IMT** の増大に順行性・逆行性シェアレートが関与する可能性が示された。また、中高齢者における 12 週間の有酸素性運動トレーニングは上腕動脈の **IMT** を減少させるとともに、順行性シェアレートを増大させ、逆行性シェアレートを減少させた。さらに、有酸素性運動トレーニングによる上腕動脈の **IMT** と順行性・逆行性シェアレートの変化量の間に関連性が認められた。これらの結果より、中高齢者における習慣的な有酸素性運動による上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化が **IMT** の減少に関与する可能性が示された。加えて、中高齢者における順行性・逆行性シェアレートは、交感神経性血管収縮を誘発する **LBNP** を負荷した際の反応性が運動習慣によって異なっていた。このことから、中高齢者における習慣的な有酸素性運動による上腕動脈の順行性・逆行性シェアレートの変化には交感神経性血管収縮の抑制が関与する可能性が示された。

本研究において、以上の結果より、中高齢者における習慣的な有酸素性運動は上腕動脈の順行性シェアレートを増大させ、逆行性シェアレートを減少させることが示唆された。さらに、加齢および習慣的な有酸素性運動が上腕動脈の **IMT** を変化させる機序に、順行性・逆行性シェアレートが関与する可能性が示された。

## 謝辞

本研究を終えるにあたり、懇切丁寧なご指導・ご助言を賜りました指導教員である筑波大学体育系・前田清司教授に深甚の謝意を表します。また、副指導教員および本博士論文の副査をお引き受け頂き、貴重なご指導・ご助言と賜りました筑波大学体育系・徳山薫平教授，筑波大学体育系・鍋倉賢治教授，筑波大学体育系・渡部厚一准教授に心より感謝申し上げます。さらに，本研究の実験および論文執筆に関して，多大なるご協力を頂きました産業技術総合研究所人間情報研究部門・菅原順先生に厚く御礼申し上げます。

介入研究および実験測定を進める上で，多大なるご協力頂きました国立スポーツ科学センター研究員・赤澤暢彦博士，日本学術振興会特別研究員・松原朋子博士，日本学術振興会特別研究員・熊谷仁博士，並びに筑波大学前田研究室・小崎恵生氏，澤野友里子氏をはじめ，前田研究室の皆様にも深く感謝申し上げます。また、本研究に参加して頂いた多くの被験者の皆様にも心より感謝致します。

そして最後に，常に温かく支えてくださった両親や家族，並びに友人に深く感謝の意を表します。

## 参考文献

**Ando J, Tsuboi H, Korenaga R, Takada Y, Toyama-Sorimachi N, Miyasaka M and Kamiya A.** Shear stress inhibits adhesion of cultured mouse endothelial cells to lymphocytes by downregulating VCAM-1 expression. *Am J Physiol.* 1994; 267:C679-87.

**Birk GK, Dawson EA, Atkinson C, Haynes A, Cable NT, Thijssen DH and Green DJ.** Brachial artery adaptation to lower limb exercise training: role of shear stress. *J Appl Physiol (1985).* 2012; 112:1653-8.

**Bjarnegård N and Länne T.** Arterial properties along the upper arm in humans: age-related effects and the consequence of anatomical location. *J Appl Physiol (1985).* 2010; 108:34-8.

**Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A and Grobbee DE.** Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation.* 1997; 96:1432-7.

**Boulanger CM, Amabile N, Guérin AP, Pannier B, Leroyer AS, Mallat CN, Tedgui A, London GM.** In vivo shear stress determines circulating levels of endothelial microparticles in end-stage renal disease. *Hypertension.* 2007; 49:902-8.

**Casey DP, Padilla J and Joyner MJ.**  $\alpha$ -adrenergic vasoconstriction contributes to the age-related increase in conduit artery retrograde and oscillatory shear. *Hypertension.* 2012; 60:1016-22.

**Casey DP, Schneider AC and Ueda K.** Influence of chronic endurance exercise training on conduit artery retrograde and oscillatory shear in older adults. *Eur J Appl Physiol.* 2016; 116:1931-40.

**Chatzizisis YS, Coskun AU, Jonas M, Edelman ER, Feldman CL and Stone PH.** Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49:2379-93.

**Chun TH, Itoh H, Ogawa Y, Tamura N, Takaya K, Igaki T, Yamashita J, Doi K, Inoue M, Masatsugu K, Korenaga R, Ando J and Nakao K.** Shear stress augments expression of C-type natriuretic peptide and adrenomedullin. *Hypertension.* 1997; 29:1296-302.

**Convertino VA.** Endurance exercise training: conditions of enhanced hemodynamic responses and tolerance to LBNP. *Med Sci Sports Exerc.* 1993; 25(6):705-12.

**Davies PF, Remuzzi A, Gordon EJ, Dewey CF and Gimbrone MA.** Turbulent fluid shear stress induces vascular endothelial cell turnover in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986; 83:2114-7.

**Davy KP, Seals DR and Tanaka H.** Augmented cardiopulmonary and integrative sympathetic baroreflexes but attenuated peripheral vasoconstriction with age. *Hypertension.* 1998; 32:298-304.

**Dawson EA, Green DJ, Cable NT and Thijssen DH.** Effects of acute exercise on flow-mediated dilatation in healthy humans. *J Appl Physiol (1985)*. 2013; 115:1589-98.

**De Keulenaer GW, Chappell DC, Ishizaka N, Nerem RM, Alexander RW and Griendling KK.** Oscillatory and steady laminar shear stress differentially affect human endothelial redox state: role of a superoxide-producing NADH oxidase. *Circ Res*. 1998; 82:1094-101.

**De Keulenaer GW, Chappell DC, Ishizaka N, Nerem RM, Alexander RW and Griendling KK.** Oscillatory and steady laminar shear stress differentially affect human endothelial redox state: role of a superoxide-producing NADH oxidase. *Circ Res*. 1998; 82:1094-101.

**Deanfield JE, Halcox JP and Rabelink TJ.** Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007; 115:1285-95.

**del Sol AI, Moons KG, Hollander M, Hofman A, Koudstaal PJ, Grobbee DE, Breteler MM, Witteman JC and Bots ML.** Is carotid intima-media thickness useful in cardiovascular disease risk assessment? The Rotterdam Study. *Stroke*. 2001; 32:1532-8.

**Diamond SL, Eskin SG and McIntire LV.** Fluid flow stimulates tissue plasminogen activator secretion by cultured human endothelial cells. *Science*. 1989; 243:1483-5.

**Dinenno FA, Tanaka H, Monahan KD, Clevenger CM, Eskurza I, DeSouza CA and Seals DR.** Regular endurance exercise induces expansive arterial remodelling in the trained limbs of healthy men. *J Physiol*. 2001; 534:287-95.

**Donato AJ, Lesniewski LA and Delp MD.** Ageing and exercise training alter adrenergic vasomotor responses of rat skeletal muscle arterioles. *J Physiol.* 2007; 579:115-25.

**Folsom AR, Eckfeldt JH, Weitzman S, Ma J, Chambless LE, Barnes RW, Cram KB and Hutchinson RG.** Relation of carotid artery wall thickness to diabetes mellitus, fasting glucose and insulin, body size, and physical activity. Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Stroke.* 1994; 25:66-73.

**Frank H, Schobel HP, Vitkowsky J, Schmieder RE and Heusser K.** Effects of angiotensin II receptor antagonism on the renal hemodynamic response to cardiovascular stress. *Kidney Int.* 2003; 63(2):617-23.

**Frick M, Suessenbacher A, Alber HF, Dichtl W, Ulmer H, Pachinger O and Weidinger F.** Prognostic value of brachial artery endothelial function and wall thickness. *J Am Coll Cardiol.* 2005; 46:1006-10.

**Fruchart JC, Nierman MC, Stroes ES, Kastelein JJ and Duriez P.** New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation.* 2004; 109:III15-9.

**Gariépy J, Salomon J, Denarié N, Laskri F, Mégnien JL, Levenson J and Simon A.** Sex and topographic differences in associations between large-artery wall thickness and coronary risk profile in a French working cohort: the AXA Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; 18:584-90.

**Green D, Cheetham C, Reed C, Dembo L and O'Driscoll G.** Assessment of brachial artery blood flow across the cardiac cycle: retrograde flows during cycle ergometry. *J Appl Physiol (1985)*. 2002; 93: 361–368.

**Green DJ, Bilsborough W, Naylor LH, Reed C, Wright J, O'Driscoll G and Walsh JH.** Comparison of forearm blood flow responses to incremental handgrip and cycle ergometer exercise: relative contribution of nitric oxide. *J Physiol*. 2005; 562:617-28.

**Green DJ, Hopman MT, Padilla J, Laughlin MH and Thijssen DH.** Vascular Adaptation to Exercise in Humans: Role of Hemodynamic Stimuli. *Physiol Rev*. 2017; 97:495-528.

**Green DJ, O'Driscoll G, Joyner MJ and Cable NT.** Exercise and cardiovascular risk reduction: time to update the rationale for exercise? *J Appl Physiol (1985)*. 2008; 105:766-8.

**Green DJ, Swart A, Exterkate A, Naylor LH, Black MA, Cable NT and Thijssen DH.** Impact of age, sex and exercise on brachial and popliteal artery remodelling in humans. *Atherosclerosis*. 2010; 210:525-30.

**Green D, Cheetham C, Reed C, Dembo L and O'Driscoll G.** Assessment of brachial artery blood flow across the cardiac cycle: retrograde flows during cycle ergometry. *J Appl Physiol (1985)*. 2002; 93:361-8.

**Hafner F, Kieninger A, Meinitzer A, Gary T, Froehlich H, Haas E, Hackl G, Eller P,**

**Brodmann M and Seinost G.** Endothelial dysfunction and brachial intima-media thickness: long term cardiovascular risk with claudication related to peripheral arterial disease: a prospective analysis. *PLoS One*. 2014; 9:e93357.

**Held C, Hjemdahl P, Eriksson SV, Björkander I, Forslund L and Rehnqvist N.** Prognostic implications of intima-media thickness and plaques in the carotid and femoral arteries in patients with stable angina pectoris. *Eur Heart J*. 2001; 22:62-72.

**Inoue N, Ramasamy S, Fukai T, Nerem RM and Harrison DG.** Shear stress modulates expression of Cu/Zn superoxide dismutase in human aortic endothelial cells. *Circ Res*. 1996; 79:32-7.

**Irace C, Carallo C, De Franceschi MS, Scicchitano F, Milano M, Tripolino C, Scavelli F and Gnasso A.** Human common carotid wall shear stress as a function of age and gender: a 12-year follow-up study. *Age (Dordr)*. 2012; 34:1553-62.

**Ishibazawa A, Nagaoka T, Takahashi T, Yamamoto K, Kamiya A, Ando J and Yoshida A.** Effects of shear stress on the gene expressions of endothelial nitric oxide synthase, endothelin-1, and thrombomodulin in human retinal microvascular endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011; 52:8496-504.

**Iwamoto Y, Maruhashi T, Fujii Y, Idei N, Fujimura N, Mikami S, Kajikawa M, Matsumoto T, Kihara Y, Chayama K, Noma K, Nakashima A and Higashi Y.** Intima-media thickness of brachial artery, vascular function, and cardiovascular risk factors. *Arterioscler*

*Thromb Vasc Biol.* 2012; 32:2295-303.

**Johnson JM, Rowell LB, Niederberger M and Eisman MM.** Human splanchnic and forearm vasoconstrictor responses to reductions of right atrial and aortic pressures. *Circ Res.* 1974; 34(4):515-24.

**Kaiser D, Freyberg MA and Friedl P.** Lack of hemodynamic forces triggers apoptosis in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 231:586-90.

**Kawai Y, Matsumoto Y, Watanabe K, Yamamoto H, Satoh K, Murata M, Handa M and Ikeda Y.** Hemodynamic forces modulate the effects of cytokines on fibrinolytic activity of endothelial cells. *Blood.* 1996; 87:2314-21.

**Korenaga R, Ando J, Kosaki K, Isshiki M, Takada Y and Kamiya A.** Negative transcriptional regulation of the VCAM-1 gene by fluid shear stress in murine endothelial cells. *Am J Physiol.* 1997; 273:C1506-15.

**Kozàkovà M, Palombo C, Morizzo C, Nolan JJ, Konrad T, Balkau B and Investigators R.** Effect of sedentary behaviour and vigorous physical activity on segment-specific carotid wall thickness and its progression in a healthy population. *Eur Heart J.* 2010; 31:1511-9.

**Laufs U, Wassmann S, Czech T, Münzel T, Eisenhauer M, Böhm M and Nickenig G.** Physical inactivity increases oxidative stress, endothelial dysfunction, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25:809-14.

**Laughlin MH, Newcomer SC and Bender SB.** Importance of hemodynamic forces as signals for exercise-induced changes in endothelial cell phenotype. *J Appl Physiol (1985)*. 2008; 104:588-600.

**Mack GW, Shi XG, Nose H, Tripathi A and Nadel ER.** Diminished baroreflex control of forearm vascular resistance in physically fit humans. *J Appl Physiol (1985)*. 1987; 63(1):105-10.

**Maeda S, Tanabe T, Otsuki T, Sugawara J, Iemitsu M, Miyauchi T, Kuno S, Ajisaka R and Matsuda M.** Moderate regular exercise increases basal production of nitric oxide in elderly women. *Hypertens Res*. 2004; 27:947-53.

**Maiorana AJ, Naylor LH, Exterkate A, Swart A, Thijssen DH, Lam K, O'Driscoll G and Green DJ.** The impact of exercise training on conduit artery wall thickness and remodeling in chronic heart failure patients. *Hypertension*. 2011; 57:56-62.

**Malek AM, Alper SL and Izumo S.** Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *JAMA*. 1999; 282:2035-42.

**Malek AM and Izumo S.** Molecular aspects of signal transduction of shear stress in the endothelial cell. *J Hypertens*. 1994; 12:989-99.

**Malek AM, Jackman R, Rosenberg RD and Izumo S.** Endothelial expression of thrombomodulin is reversibly regulated by fluid shear stress. *Circ Res*. 1994; 74:852-60.

**Masatsugu K, Itoh H, Chun TH, Ogawa Y, Tamura N, Yamashita J, Doi K, Inoue M, Fukunaga Y, Sawada N, Saito T, Korenaga R, Ando J and Nakao K.** Physiologic shear stress suppresses endothelin-converting enzyme-1 expression in vascular endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998; 31 Suppl 1:S42-5.

**Masuda H, Kawamura K, Tohda K, Shozawa T, Sageshima M and Kamiya A.** Increase in endothelial cell density before artery enlargement in flow-loaded canine carotid artery. *Arteriosclerosis.* 1989; 9:812-23.

**Matsubara T, Miyaki A, Akazawa N, Choi Y, Ra SG, Tanahashi K, Kumagai H, Oikawa S and Maeda S.** Aerobic exercise training increases plasma Klotho levels and reduces arterial stiffness in postmenopausal women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014; 306:H348-55.

**McNally JS, Davis ME, Giddens DP, Saha A, Hwang J, Dikalov S, Jo H and Harrison DG.** Role of xanthine oxidoreductase and NAD(P)H oxidase in endothelial superoxide production in response to oscillatory shear stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 285:H2290-7.

**Monahan KD, Dinunno FA, Tanaka H, Clevenger CM, DeSouza CA and Seals DR.** Regular aerobic exercise modulates age-associated declines in cardiovascular baroreflex sensitivity in healthy men. *J Physiol.* 2000; 529 Pt 1:263-71.

**Mueller PJ.** Exercise training and sympathetic nervous system activity: evidence for physical activity dependent neural plasticity. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007; 34:377-84.

**Najjar SS, Scuteri A and Lakatta EG.** Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor? *Hypertension*. 2005; 46:454-62.

**Naylor LH, Carter H, FitzSimons MG, Cable NT, Thijssen DH and Green DJ.** Repeated increases in blood flow, independent of exercise, enhance conduit artery vasodilator function in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 300:H664-9.

**Newcomer SC, Thijssen DH and Green DJ.** Effects of exercise on endothelium and endothelium/smooth muscle cross talk: role of exercise-induced hemodynamics. *J Appl Physiol (1985)*. 2011; 111:311-20.

**Nishiyama SK, Wray DW and Richardson RS.** Aging affects vascular structure and function in a limb-specific manner. *J Appl Physiol (1985)*. 2008; 105:1661-70.

**O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL and Wolfson SK.** Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999; 340:14-22.

**O'Rourke MF and Hashimoto J.** Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 50:1-13.

**Okahara K, Sun B and Kambayashi J.** Upregulation of prostacyclin synthesis-related gene

expression by shear stress in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; 18:1922-6.

**Orlandi A, Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G and Spagnoli LG.** Aging, smooth muscle cells and vascular pathobiology: implications for atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2006; 188:221-30.

**Padilla J, Simmons GH, Fadel PJ, Laughlin MH, Joyner MJ and Casey DP.** Impact of aging on conduit artery retrograde and oscillatory shear at rest and during exercise: role of nitric oxide. *Hypertension.* 2011; 57:484-9.

**Padilla J, Young CN, Simmons GH, Deo SH, Newcomer SC, Sullivan JP, Laughlin MH and Fadel PJ.** Increased muscle sympathetic nerve activity acutely alters conduit artery shear rate patterns. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010; 298:H1128-35.

**Papaoannou TG and Stefanadis C.** Vascular wall shear stress: basic principles and methods. *Hellenic J Cardiol.* 2005; 46:9-15.

**Parker BA, Trehearn TL, Meendering JR.** Pick your Poiseuille: normalizing the shear stimulus in studies of flow-mediated dilation. *J Appl Physiol (1985).* 2009; 107:1357-9

**Perktold K, Thurner E, Kenner T.** Flow and stress characteristics in rigid walled and compliant carotid artery bifurcation models. *Med Biol Eng Comput.* 1994; 32:19-26.

**Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P and Paoletti R.** Intimal plus medial thickness of the

arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986; 74:1399-406.

**Pyke KE and Tschakovsky.** The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function. *J Physiol*. 2005; 568:357-369.

**Ranjan V, Xiao Z and Diamond SL.** Constitutive NOS expression in cultured endothelial cells is elevated by fluid shear stress. *Am J Physiol*. 1995; 269:H550-5.

**Rauramaa R, Halonen P, Väisänen SB, Lakka TA, Schmidt-Trucksäss A, Berg A, Penttilä IM, Rankinen T and Bouchard C.** Effects of aerobic physical exercise on inflammation and atherosclerosis in men: the DNASCO Study: a six-year randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 2004; 140:1007-14.

**Rauramaa R, Halonen P, Väisänen SB, Lakka TA, Schmidt-Trucksäss A, Berg A, Penttilä IM, Rankinen T and Bouchard C.** Effects of aerobic physical exercise on inflammation and atherosclerosis in men: the DNASCO Study: a six-year randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 2004; 140:1007-14.

**Rea RF and Wallin BG.** Sympathetic nerve activity in arm and leg muscles during lower body negative pressure in humans. *J Appl Physiol (1985)*. 1989; 66:2778-81.

**Roth GA, Forouzanfar MH, Moran AE, Barber R, Nguyen G, Feigin VL, Naghavi M, Mensah GA and Murray CJ.** Demographic and epidemiologic drivers of global

cardiovascular mortality. *N Engl J Med*. 2015; 372:1333-41.

**Rowley NJ, Dawson EA, Birk GK, Cable NT, George K, Whyte G, Thijssen DH and Green DJ.** Exercise and arterial adaptation in humans: uncoupling localized and systemic effects. *J Appl Physiol (1985)*. 2011; 110:1190-5.

**Scholten RR, Spaanderman ME, Green DJ, Hopman MT and Thijssen DH.** Retrograde shear rate in formerly preeclamptic and healthy women before and after exercise training: relationship with endothelial function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014; 307:H418-25.

**Schreuder TH, Green DJ, Hopman MT and Thijssen DH.** Acute impact of retrograde shear rate on brachial and superficial femoral artery flow-mediated dilation in humans. *Physiol Rep*. 2014; 2:e00193.

**Seals DR and Dinunno FA.** Collateral damage: cardiovascular consequences of chronic sympathetic activation with human aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004; 287:H1895-905.

**Shyy YJ, Hsieh HJ, Usami S and Chien S.** Fluid shear stress induces a biphasic response of human monocyte chemoattractant protein 1 gene expression in vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; 91:4678-82.

**Silacci P, Desgeorges A, Mazzolai L, Chambaz C and Hayoz D.** Flow pulsatility is a critical determinant of oxidative stress in endothelial cells. *Hypertension*. 2001; 38:1162-6.

**Simmons GH, Padilla J, Young CN, Wong BJ, Lang JA, Davis MJ, Laughlin MH and Fadel PJ.** Increased brachial artery retrograde shear rate at exercise onset is abolished during prolonged cycling: role of thermoregulatory vasodilation. *J Appl Physiol (1985)*. 2011; 110:389-97.

**Sorensen KE, Kristensen IB and Celermajer DS.** Atherosclerosis in the human brachial artery. *J Am Coll Cardiol*. 1997; 29:318-22.

**Subbotin VM.** Excessive intimal hyperplasia in human coronary arteries before intimal lipid depositions is the initiation of coronary atherosclerosis and constitutes a therapeutic target. *Drug Discov Today*. 2016; 21:1578-1595.

**Suurkula M, Fagerberg B, Wendelhag I, Agewall S and Wikstrand J.** Atherosclerotic disease in the femoral artery in hypertensive patients at high cardiovascular risk. The value of ultrasonographic assessment of intima-media thickness and plaque occurrence. Risk Intervention Study (RIS) Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996; 16:971-7.

**Takato T, Yamada N and Ashida T.** Effects of aging and sex on progression of carotid intima-media thickness: a retrospective 6-year follow-up study. *Geriatr Gerontol Int*. 2008; 8:172-9.

**Tanahashi K, Akazawa N, Miyaki A, Choi Y, Ra SG, Matsubara T, Kumagai H, Oikawa S and Maeda S.** Aerobic exercise training decreases plasma asymmetric dimethylarginine

concentrations with increase in arterial compliance in postmenopausal women. *Am J Hypertens.* 2014; 27:415-21.

**Tanaka H, Seals DR, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA and Dinunno FA.**

Regular aerobic exercise and the age-related increase in carotid artery intima-media thickness in healthy men. *J Appl Physiol (1985).* 2002; 92:1458-64.

**Taniwaki H, Shoji T, Emoto M, Kawagishi T, Ishimura E, Inaba M, Okuno Y and**

**Nishizawa Y.** Femoral artery wall thickness and stiffness in evaluation of peripheral vascular disease in type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis.* 2001; 158:207-14.

**Thijssen DH, Atkinson CL, Ono K, Sprung VS, Spence AL, Pugh CJ and Green DJ.**

Sympathetic nervous system activation, arterial shear rate, and flow-mediated dilation. *J Appl Physiol (1985).* 2014; 116:1300-7.

**Thijssen DH, Cable NT and Green DJ.** Impact of exercise training on arterial wall thickness in humans. *Clin Sci (Lond).* 2012; 122:311-22.

**Thijssen DH, Dawson EA, Tinken TM, Cable NT and Green DJ.** Retrograde flow and shear rate acutely impair endothelial function in humans. *Hypertension.* 2009; 53:986-92.

**Thijssen DH, de Groot PC, Smits P and Hopman MT.** Vascular adaptations to 8-week cycling training in older men. *Acta Physiol (Oxf).* 2007; 190:221-8.

**Thijssen DH, Green DJ and Hopman MT.** Blood vessel remodeling and physical inactivity in humans. *J Appl Physiol (1985)*. 2011; 111:1836-45.

**Thijssen DH, Schreuder TH, Newcomer SW, Laughlin MH, Hopman MT and Green DJ.** Impact of 2-Weeks Continuous Increase in Retrograde Shear Stress on Brachial Artery Vasomotor Function in Young and Older Men. *J Am Heart Assoc*. 2015; 4:e001968.

**Tinken TM, Thijssen DH, Hopkins N, Black MA, Dawson EA, Minson CT, Newcomer SC, Laughlin MH, Cable NT and Green DJ.** Impact of shear rate modulation on vascular function in humans. *Hypertension*. 2009; 54:278-85.

**Tinken TM, Thijssen DH, Hopkins N, Dawson EA, Cable NT and Green DJ.** Shear stress mediates endothelial adaptations to exercise training in humans. *Hypertension*. 2010; 55:312-8.

**Vennemann P, Lindken R, Westerweel J.** In vivo whole-field blood velocity measurement techniques. *Experiments in Fluids*. 2007; 42:495-511.

**Victor RG and Mark AL.** Interaction of cardiopulmonary and carotid baroreflex control of vascular resistance in humans. *J Clin Invest*. 1985; 76(4):1592-8.

**Wang JC and Bennett M.** Aging and atherosclerosis: mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence. *Circ Res*. 2012; 111:245-59.

**Warburton DE, Nicol CW and Bredin SS.** Health benefits of physical activity: the evidence.

*CMAJ*. 2006; 174:801-9.

**Wendelhag I, Wiklund O and Wikstrand J.** Atherosclerotic changes in the femoral and carotid arteries in familial hypercholesterolemia. Ultrasonographic assessment of intima-media thickness and plaque occurrence. *Arterioscler Thromb*. 1993; 13:1404-11.

**Wendelhag I, Wiklund O and Wikstrand J.** On quantifying plaque size and intima-media thickness in carotid and femoral arteries. Comments on results from a prospective ultrasound study in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996; 16:843-50.

**Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H and Kannel WB.** Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998; 97:1837-47.

**Yoshizawa M, Maeda S, Miyaki A, Misono M, Choi Y, Shimojo N, Ajisaka R and Tanaka H.** Additive beneficial effects of lactotripeptides intake with regular exercise on endothelium-dependent dilatation in postmenopausal women. *Am J Hypertens*. 2010; 23:368-72.

**Young CN, Deo SH, Padilla J, Laughlin MH and Fadel PJ.** Pro-atherogenic shear rate patterns in the femoral artery of healthy older adults. *Atherosclerosis*. 2010; 211:390-2.

**Zoller RP, Allyn L. Mark, Francois M. Abboud, Phillip G. Schmid, and Donald D. Heistad.** The role of low pressure baroreceptors in reflex vasoconstrictor responses in man. *J Clin Invest*. 1972; 51(11): 2967–2972.

**Zureik M, Ducimetière P, Touboul PJ, Courbon D, Bonithon-Kopp C, Berr C and Magne**

**C.** Common carotid intima-media thickness predicts occurrence of carotid atherosclerotic plaques: longitudinal results from the Aging Vascular Study (EVA) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20:1622-9.