



Increase in carbon dioxide accelerates the performance of endurance exercise in rats.

Ueha, Takeshi

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2018-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7144号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007144>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位審査のための論文の要旨

Increase in carbon dioxide accelerates the performance of endurance exercise in rats.

ラットで炭酸ガスの増加は持久運動のパフォーマンスを向上させる。

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

リハビリテーション機能回復学

(指導教官: 酒井良忠特命教授)

上羽 岳志

【目的】ほとんどの動物は、酸素の消費し、炭酸ガスを排出してエネルギーを作る。この酸素を使ったエネルギー代謝は有酸素代謝と呼ばれ、ミトコンドリア内で酸素を使って行われる。一方、持久運動は有酸素代謝を介して炭酸ガスを発生させ、エネルギーを消費する運動である。この際の炭酸ガスの役割として、血管拡張作用やBohr効果による酸素分圧の上昇が知られているが、持久運動能について、炭酸ガスが果たす役割については、不明な部分が多く残されている。我々は、以前に炭酸ガスを生体内に取り込ませる方法として、新規の炭酸ガス経皮吸収法を開発した。この新しい炭酸ガス経皮吸収法は、ハイドロゲルを用いることで、生体内に炭酸ガスが取り込まれやすくなること、生体内的血管でBohr効果を引き起こすことを示した。さらにこの炭酸ガス経皮吸収によって、ラットを用い、外因的に炭酸ガスを生体内へ投与することで筋線維の移行が進み、骨格筋の筋持久力を亢進させる可能性があることを、我々は以前に報告した。そこで本研究では、有酸素運動における炭酸ガスの役割を明らかにするため、外因的に炭酸ガスの経皮吸収を行った場合と行わなかった場合において、ラットの回転かごの持久運動のパフォーマンスに差異が生まれるかどうか、また組織学的な変化が起こるのかについて検討を行った。

【方法】本研究は、神戸大学医学部動物実験委員会の承認(承認番号: P100408)のもと行った。24匹のWistar系ラットを使用し、非運動群(コントロール群)と持久運動のみ行う群(運動負荷群)、持久運動後に炭酸ガスを経皮吸収する群(炭酸ガス群)とした。持久運動負荷は、自走式回転かごにて30分間、週5日間行い、走行距離はマグネットセンサーを使って回転数を計測した。4週間、毎日の走行量及び、最終日の5分後ごとの走行量の経時的变化を評価した。炭酸ガス経皮吸収は以前の論文で報告している方法と同様の方法(剃毛したラットの

下肢にハイドロゲルを塗布し、アダプターをかぶせて、純炭酸ガスを送気する方法)で行った。炭酸ガス群は前述の炭酸ガス経皮吸収を1回10分、持久運動負荷後に施行した。

試験期間終了後、各群の前脛骨筋を採取し、筋湿重量を測定後、イソペンタンを用いて瞬間凍結し、組織解析と分子生物学的解析を行った。筋組織の解析としては、ATPase 染色とミオシン重鎖の定量から筋線維の種類の評価、アイソレクチン B4 による血管の染色法を用いて毛細血管密度を算出し、ゲノム DNA とミトコンドリア DNA を比較する Real-time PCR を行うことでミトコンドリア DNA 量を評価した。統計は、 $P < 0.05$ を統計的有意差とし、分散分析とマンホイットニー U 検定を用いて、検定した。

【結果】走行距離については、1週目は運動負荷群と炭酸ガス群の間に差異は認めなかつたが、2週目以降、運動負荷群と比較して、炭酸ガス群で有意に走行距離が大きくなつた。また最終日の毎5分の走行量の変化は、運動負荷群と比較して、炭酸ガス群で20分から25分の走行量、25分から30分の走行量が有意に増加した。

試験期間終了後の前脛骨筋の筋重量および筋湿重量体重比はコントロール群および運動負荷群と比較して、炭酸ガス群で増加傾向は認めたが、3群間に有意差は認めなかつた。筋線維については、コントロール群と比較して、運動負荷群で有意な IIB 線維および IID 線維の減少、IIA 線維の増加が認められた。また炭酸ガス群の筋線維は運動負荷群とコントロール群と比較して、有意に IIB 線維が減少し、IIA 線維が増加した。また毛細血管内密度とミトコンドリア DNA 量は、コントロール群と比較して炭酸ガス群で、有意な増加が認められた。

【考察】本研究で、炭酸ガス経皮吸収によって、持久運動のパフォーマンスが向上することが明らかになった。生体内ガスは生体内で様々なシグナル伝達に関与していることがわかっている。以前の我々の研究で、炭酸ガス経皮吸収は非運動で前脛骨筋の PGC-1 α 遺伝子発現を亢進させ、筋持久力が亢進する方向に筋線維の移行を促すことが示唆されている。それゆえ、本研究の持久運動のパフォーマンスの向上には、この筋線維移行が関与している可能性が考えられる。さらに、最終日の走行量で、30分間の走行で後半の走行量が増加したが、この後半の筋持久力の亢進にも、同様の筋線維移行による筋持久力が亢進していたことが関与していると考えられる。

また本研究では、持久運動後に炭酸ガス経皮吸収を行うことで、前脛骨筋のミトコンドリア DNA 量と血管数の増加が認められた。回転かごによる持久運動と炭酸ガス経皮吸収により筋持久力の高い筋線維である IID や IIA の筋線維が増加したことによって、PGC-1 α や VEGF の関与に伴い、組織中のミトコンドリアや毛細血管が増加したものと考えられる。

今回の研究から、本研究の運動負荷では、運動負荷だけで十分な毛細血管密度の増加とミトコンドリア量の増加は認めなかつた。しかしながら、炭酸ガス経皮吸収を追加することでこれらが有意に増加した。このことは、有酸素運動によって炭酸ガスが増加することが、筋の持久力の亢進に役立つ可能性を示唆する結果である。さらに、炭酸ガス経皮吸収は、酸素とエネルギーが必要な組織修復などにおいて、新規の治療アプローチになる可能性が示唆される。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2767 号	氏名	上羽 岳志
論文題目 Title of Dissertation	<p>Increase in carbon dioxide accelerates the performance of endurance exercise in rats. ラットで炭酸ガスの増加は持久運動のパフォーマンスを向上させる。</p>		
審査委員 Examiner	<p>主査 Chief Examiner</p> <p>副査 Vice-examiner</p> <p>副査 Vice-examiner</p>	<p>上羽 岳志 木澤 義之 古屋 敏之</p>	

(要旨は1,000字～2,000字程度)

【目的】持久運動は有酸素代謝を介して炭酸ガスを発生させ、エネルギーを消費する運動である。炭酸ガスの役割として、血管拡張作用やBohr効果による酸素分圧の上昇が知られているが、持久運動能について、炭酸ガスが果たす役割については、不明な部分が多く残されている。以前申請者らは、炭酸ガスを生体内に取り込ませる方法として、新規の炭酸ガス経皮吸収法を開発した。さらに、この炭酸ガス経皮吸収によって、外因的に炭酸ガスを生体内へ投与することで骨格筋の筋持久力を亢進させる可能性があることを報告した。申請者らは、本研究において有酸素運動における炭酸ガスの役割を明らかにするため、外因的な炭酸ガスの経皮吸収がラットの持久運動のパフォーマンスにどのような影響を与えるか、また、組織学的な変化が起こるのかについて検討を行った。

【方法】Wistar系ラットを使用し、非運動群（コントロール群）と持久運動のみ行う群（運動負荷群）、持久運動後に炭酸ガスを経皮吸収する群（炭酸ガス群）に分類した。持久運動負荷は、自走式回転かごにて30分間、週5日間行い、走行距離はマグネットセンサーを使って回転数を計測した。4週間、毎日の走行量及び、最終日の5分後ごとの走行量の継時的变化を評価した。炭酸ガス群は既報の炭酸ガス経皮吸収を1回10分、持久運動負荷後に施行した。

試験期間終了後、各群の前脛骨筋を採取し、組織解析と分子生物学的解析を行った。筋組織の解析としては、ATPase染色とミオシン重鎖の定量から筋線維の種類の評価、アイソレクチンB4による血管の染色法を用いて毛細血管密度を算出し、ゲノムDNAとミトコンドリアDNAを比較するReal-time PCRを行うことでミトコンドリアDNA量を評価した。

【結果】走行距離については、1週目は運動負荷群と炭酸ガス群の間に差異は認めなかつたが、2週目以降、運動負荷群と比較して、炭酸ガス群で有意に走行距離が大きくなつた。

また最終日の毎5分の走行量の変化は、運動負荷群と比較して、炭酸ガス群で20分から25分の走行量、25分から30分の走行量が有意に増加した。

試験期間終了後の前脛骨筋の筋重量および筋湿重量体重比はコントロール群および運動負荷群と比較して、炭酸ガス群で増加傾向は認めたが、3群間に有意差は認めなかつた。筋線維については、コントロール群と比較して、運動負荷群で有意なIIB線維およびIID線維の減少、IIA線維の増加が認められた。また炭酸ガス群の筋線維は運動負荷群とコントロール群と比較して、有意にIIB線維が減少し、IIA線維が増加した。また毛細血管内密度とミトコンドリアDNA量は、コントロール群と比較して炭酸ガス群で、有意な増加が認められた。

【考察】本研究で、炭酸ガス経皮吸収によって、持久運動のパフォーマンスが向上することが明らかとなり、そのメカニズムとして筋線維移行が関与している可能性が考えられた。さらに、本研究の運動負荷に炭酸ガス経皮吸収を追加することで毛細血管密度の増加とミトコンドリア量の増加を認めた。本研究は、有酸素運動に炭酸ガス経皮吸収を追加することで、筋の持久力の亢進や酸素とエネルギーが必要な組織修復などにおいてに役立つ可能性を示した価値ある結果であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）を得る資格があると認める。