

高気圧・高濃度酸素への曝露がラットの神経筋単位と運動能力に及ぼす影響

京都大学大学院人間・環境学研究科 石原昭彦、松本亜希子

Effects of Hyperbaric Exposure with High Oxygen Concentration on the Neuromuscular Units and Physical Activity in Rats

Akihiko Ishihara and Akiko Matsumoto

Laboratory of Neurochemistry, Graduate School of Human and Environmental Studies,
Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501

E-Mail: ishihara@life.mbox.media.kyoto-u.ac.jp

Abstract: Five-week-old rats were exposed to an atmospheric pressure of 1.25 with an oxygen concentration of 36.0% for 12 h and exercised voluntarily for 12 h daily for 8 weeks. The voluntary running activities were compared with those in age-matched rats without hyperbaric exposure. Furthermore, the properties of the slow soleus and fast plantaris muscle fibers and their spinal motoneurons were examined. The voluntary running activities of rats with or without hyperbaric exposure increased during development. However, the activities were higher in rats with hyperbaric exposure than in those without hyperbaric exposure. The oxidative enzyme activity of the soleus and plantaris muscle fibers and their motoneurons increased following hyperbaric exposure. It is concluded that hyperbaric exposure with high oxygen concentration used in this study enhances the oxidative metabolism and thus the function of neuromuscular units is promoted.

Key words; Oxidative Capacity, Hyperbaric Oxygenation, Skeletal Muscle Fiber, Spinal Motoneuron, Voluntary Running Activity

【緒言】 高気圧・高濃度酸素の環境に滞在すると血流速度が増大して血管が拡張する。これによって体内の酸素（特に溶解酸素）が増大する。酸素の増大は、細胞（特に末梢の細胞）の代謝を顕著に向上させる。

高気圧・高濃度酸素への滞在は、後肢懸垂によって萎縮した骨格筋（ヒラメ筋）線維の回復を早める [1]。同様に、糖尿病を発症するモデル動物 (Goto-Kakizaki rat) を高気圧・高濃度酸素に曝露すると血糖値の上昇が完全に抑制される [2, 3]。これらは、細胞の代謝が向上することによるものと推察されている [4]。

本研究では、生後 5 週齢のラットを高気圧・高濃度酸素の環境で 1 日に 12 時間にわたり飼育、さらに常圧環境で 1 日に 12 時間にわたり自発的な走運動を行わせて、走運動量（走行距離）、ヒラメ筋と足底筋の筋線維及びそれらを神経支配する脊髄運動ニューロンの特性を検討した。

【方法】 実験には、生後 5 週齢の Wistar 系雄ラット計 20 匹を使用した。ラットを普通飼育する群 10 匹と高気圧・高濃度酸素で飼育する群 10 匹に分けた。さらに、各群を自発的に走運動させる群 5 匹と走運動させない群 5 匹に分けた。

高気圧・高濃度酸素で飼育する群には、1.25 気圧、酸素濃度 36.0% の環境に 1 日 12 時間にわたって滞在させた（午前 7 時から午後 7 時の間）。さら

に、運動群には、研究室で開発した走運動装置 [5] で 1 日に 12 時間にわたり自発的に走運動を行わせた（午後 7 時から午前 7 時の間）。

すべての群で水と餌は自由摂取とした。午前 7 時から午後 7 時までは点灯し、午後 7 時から午前 7 時までは消灯した。

8 週間の走運動後、ネンブータル麻酔下ですべての群の左側のヒラメ筋と右側の足底筋に蛍光色素 (nuclear yellow) を注入した。注入 1 日後、ネンブータル麻酔下で右側のヒラメ筋と左側の足底筋、脊髄腰膨大部を摘出して急速凍結した。

骨格筋については、厚さ 10 μm の連続横断切片を作成して、ATPase と succinate dehydrogenase (SDH) 染色を施した。組織像を顕微鏡からコンピュータに取込み、画像解析装置を使用して筋線維タイプ構成比、筋線維タイプ別の横断面積、筋線維タイプ別の酸化系酵素活性を分析した。

脊髄については、厚さ 20 μm の連続縦断断片を作成して、蛍光顕微鏡からヒラメ筋と足底筋を神経支配する運動ニューロンを同定した [6, 7]。その後、同一切片に SDH 染色を施した。同定された運動ニューロンについて、ニューロン数、横断面積、酸化系酵素活性を分析した。

【結果】 普通飼育群および高気圧・高濃度酸素での飼育群では、ともに発育に伴う走運動量の増大が認められた。さらに、高気圧・高濃度酸素での飼育

群は、普通飼育群と比較して高い走運動量を示した。

高気圧・高濃度酸素での飼育群のヒラメ筋では、普通飼育群と比較してタイプ IIA 線維およびタイプ IIC 線維の割合が増加して、タイプ I 線維の割合が減少した。また、筋線維タイプや走運動に関係なく、高気圧・高濃度酸素での飼育群では筋線維の酸化系酵素活性が増大した。

高気圧・高濃度酸素での飼育群の足底筋では、普通飼育群と比較してタイプ IIA 線維の割合が増加して、タイプ IIB 線維の割合が減少した。また、筋線維タイプや走運動に関係なく、高気圧・高濃度酸素での飼育群では筋線維の酸化系酵素活性が増大した。

普通飼育群と高気圧・高濃度酸素での飼育群を比較すると、ヒラメ筋と足底筋を神経支配する運動ニューロンの総数や横断面積には違いがみられなかった。この結果は、走運動を負荷しても同様であった。

高気圧・高濃度酸素での飼育群のヒラメ筋と足底筋を神経支配する運動ニューロンでは、普通飼育群の運動ニューロンと比較して錘外筋線維を神経支配する運動ニューロンで酸化系酵素活性の増大が認められた。しかしながら、走運動による効果はみられなかった。

【考察】 普通飼育群と高気圧・高濃度酸素での飼育群では、ともに自発的な走運動による走運動量や神経筋単位の特性の変化はみられなかった。したがって、高気圧・高濃度酸素での飼育群で認められた走運動量の顕著な増大は、走運動の効果ではなく、高気圧・高濃度酸素の環境への滞在による変化によるものと推察される。

本研究では、高気圧・高濃度酸素の環境への滞在によって神経筋単位の酸化能力が増大した。この結果は、先行研究 [4] の結果と一致する。神経筋単位で酸化能力が増大したことが自発的な走運動量を増大させたと推察される。

本研究では、高気圧・高濃度酸素群を1日あたり12時間にわたって1.25気圧、酸素濃度36.0%の環境に滞在させた。どの程度の気圧と酸素濃度、滞在時間で顕著な効果が認められるかは、今後の研究で明らかにする必要がある。

[文献]

1. 石原昭彦, 栗山可奈, 東端 晃, 石岡憲昭, 鈴木ひろみ, 嶋津 徹, 大平充宣. 後肢懸垂後の高気圧・高濃度酸素への曝露がラットのヒラメ筋に及ぼす影響. 第22回宇宙利用シンポジウム(プロシーディング), pp. 210-211, 2006.
2. Yasuda K, Aoki N, Adachi T, Tsujimoto G, Gu N, Matsunaga T, Kikuchi N, Tsuda K, Ishihara A. Hyperbaric exposure with high oxygen concentration inhibits growth-associated increase in the glucose level of diabetic Goto-Kakizaki rats. *Diabetes Obes Metab*, 8: 714-715, 2006.
3. Yasuda K, Adachi T, Gu N, Matsumoto A, Matsunaga T, Tsujimoto G, Tsuda K, Ishihara A. Effects of hyperbaric exposure with high oxygen concentration on glucose and insulin levels and skeletal muscle-fiber properties in diabetic rats. *Muscle Nerve*, in press.
4. Ishihara A, Kawano F, Okiura T, Morimatsu F, Ohira Y. Hyperbaric exposure with high oxygen concentration enhances oxidative capacity of neuromuscular units. *Neurosci Res*, 52: 146-152, 2005.
5. Ishihara A, Roy RR, Ohira Y, Iyata Y, Edgerton VR. Hypertrophy of rat plantaris muscle fibers after voluntary running with increasing loads. *J Appl Physiol*, 84: 2183-2189, 1998.
6. Ishihara A, Roy RR, Edgerton VR. Succinate dehydrogenase activity and soma size of motoneurons innervating different portions of the rat tibialis anterior. *Neuroscience*, 68: 813-822, 1995.
7. Ishihara A, Ohira Y, Tanaka M, Nishikawa W, Ishioka N, Higashibata A, Izumi R, Shimazu T, Iyata Y. Cell body size and succinate dehydrogenase activity of spinal motoneurons innervating the soleus muscle in mice, rats, and cats. *Neurochem Res*, 26: 1301-1304, 2002.