

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01617

研究課題名(和文)代謝の向上によるメタボリックシンドロームの予防・改善効果

研究課題名(英文)Effects of mild hyperbaric oxygen on metabolic syndrome

研究代表者

石原 昭彦 (Ishihara, Akihiko)

京都大学・人間・環境学研究所・教授

研究者番号：90184548

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：生後5週齢(発育期)、30週齢(成熟期)、40週齢(中高齢期)のWistar系雄ラットを1.25気圧、36%酸素の軽度高気圧酸素の環境に滞在させた。10週間の飼育期間終了後に採血して、血糖、中性脂肪、アディポネクチンなどを測定した。ヒラメ筋を摘出して、遺伝子発現、生化学的特性などを分析した。発育期のメタボリックシンドロームラットでは、軽度高気圧酸素への滞在によって血糖値の上昇が抑制された。ヒラメ筋では、有酸素的な代謝の減少が抑えられ、Pgc-1 遺伝子の発現量の増大と対応する結果となった。これらの効果は、成熟時、中高齢期へと進むにしたがって少なくなった。

研究成果の概要(英文)：Effects of mild hyperbaric oxygen at 1.25 atmospheres absolute with 36% oxygen on metabolic syndrome of rats at 5- (growth), 30- (adult), and 40- (elderly) weeks old were examined. After 10 weeks of experimental period, blood glucose, adiponectin, and triglyceride levels were measured. In addition, gene expression levels and biochemical properties of the soleus muscle were examined. A growth-related increase in blood glucose and triglyceride levels of metabolic syndrome rats were inhibited by exposure to mild hyperbaric oxygen. The soleus muscle showed an increased levels of Pgc-1 mRNA after exposure to mild hyperbaric oxygen, which were related to an increased muscle oxidative enzyme activity. The effects of mild hyperbaric oxygen decreased when individual rats became old.

研究分野：生命科学

キーワード：メタボリックシンドローム 軽度高気圧酸素 有酸素代謝 骨格筋 Pgc-1 ラット

1. 研究開始当初の背景

暴飲・過食、運動不足、慢性的なストレスなど生活習慣の悪化は、内臓肥満(メタボリックシンドローム)を引き起こす。メタボリックシンドロームに陥ると、高血糖、高血圧、高脂血症を発症して、そのまま放置すると2型糖尿病や高血圧症などの生活習慣病に進行する。生活習慣病を発症すると、進行を抑えたり、改善することがきわめて難しくなる。生活習慣病では、心臓病(狭心症や心筋梗塞)、脳血管疾患(脳出血や脳血栓)、腎機能低下(腎不全)、失明や末梢神経障害などの様々な合併症を引き起こす。メタボリックシンドロームのうちに症状を改善して、生活習慣病への移行を防ぐ必要がある。

近年、メタボリックシンドローム、2型糖尿病(および糖尿病性白内障)、高血圧症、関節炎を発症するモデル動物が開発されている。これらのモデル動物では、出生直後は普通の動物と体重、血糖、血圧などに違いは認められないが、発育ともなると過体重、高血糖、高血圧、または関節炎に移行する。

メタボリックシンドロームを発症するラットを用いて、走運動や高脂肪食摂取の影響が研究されている。メタボリックシンドロームを発症するラットを回転車輪の付属した飼育装置で飼育して走運動を行わせたところ、メタボリックシンドロームによって生じた中性脂肪の増加が抑制されたこと、アディポネクチンレベルの減少が抑制されたこと、骨格筋での酸化系酵素活性の低下が抑制されることが報告されている。一方、メタボリックシンドロームを発症するラットに高脂肪食を与えたところ、普通食を与えたメタボリックシンドロームのラットに対して、空腹時血糖、中性脂肪、総コレステロール、レプチンレベルが高値を示し、骨格筋での酸化系酵素活性が低値を示したことが報告されている。これらの研究成果は、運動による代謝の向上がメタボリックシンドロームの発症を抑制・改善でき

ること、一方、過剰なカロリー摂取がメタボリックシンドロームの悪化を促進することを意味している。

研究室では、軽度の高気圧と高濃度酸素の環境(これを軽度高気圧酸素という)に滞在できる軽度高気圧酸素チャンバーを開発した(特許:第5076067号、発明者:石原昭彦、登録日:2012年9月7日)。軽度の高気圧酸素に滞在することによって、末梢における血流と酸素(とくに血液中に溶け込む溶存酸素)を増大させることができる。その結果、有酸素的な代謝を効果的に向上することが可能になる。この方法では、軽度高気圧酸素チャンバーに滞在するだけで良いので、運動の継続が難しかったり、薬の服用が困難な高齢者、ケガをした人、身体障がい者、体の弱い(健康や体力レベルの低い)人でも容易に使用できるという利点がある。

これまでの研究から、軽度高気圧酸素への滞在によって、2型糖尿病、糖尿病性白内障、高血圧、II型コラーゲン誘発関節炎、パーキンソン病の発症を予防したり、改善できることを動物実験から明らかにした。また、人を用いた臨床実験から、軽度高気圧酸素への滞在によって、紫外線の照射で生じた皮膚の変色を早期に退色させたり、高齢者のしみを薄くできることを明らかにした。

2. 研究の目的

気圧を高くして、さらに酸素濃度を高めた環境(1.25気圧、36%酸素)に滞在することによって、体内の酸素(とくに血液に溶ける溶存酸素)と末梢での血流を増大させることができる。これにより、安静時の有酸素的な代謝を改善させることが可能になる。

本研究では、メタボリックシンドロームを発症する前の成長期のラット(生後5週齢)とメタボリックシンドロームを発症した後の成熟期のラット(生後30週齢)を軽度高気圧酸素(1.25気圧、36%酸素)に滞在させて、メタボリックシ

ドロームを予防・改善することができるかどうかを検証した。

3. 研究の方法

本研究については、京都大学大学院人間・環境学研究科動物実験倫理委員会で審議され、実験を実施することの承認を受けた。

実験 1

メタボリックシンドロームを発症する前の時期にあたる生後 5 週齢の雄ラット (SHR/ NMmcr-cp, cp/cp) 12 匹を軽度高気圧酸素に滞在させる CP-H 群 (6 匹) と軽度高気圧酸素の環境に滞在させずに普通飼育する CP 群 (6 匹) に分けた。また、メタボリックシンドロームを示さない普通飼育による同週齢の雄 Wistar ラット 6 匹を WR (対照) 群とした。

CP-H 群を 1.25 気圧、36%酸素の環境を維持できる軽度高気圧酸素チャンバーに 1 日 1 回、1 回あたり 3 時間、10 週間にわたって滞在させた。すべての群は、餌 (固形飼料) と水を自由に摂取できるようにした。飼育室と軽度高気圧酸素チャンバー内の温度は、 22 ± 2 とした。

飼育期間中は、2 週間に 1 回の割合で、体重、食餌量、空腹時血糖を測定した。飼育期間終了後にネンプター麻酔 (体重 1kg あたり 50mg) を施して、心臓から採血した。常時血糖の測定を行い、遠心分離後の血清から総コレステロール、中性脂肪、インスリン、レプチン、アディポネクチンを測定した。両後肢からヒラメ筋を摘出して、湿重量を測定した。その後、ヒラメ筋を急速凍結して、右側の筋については、生化学的に酸化系酵素 (succinate dehydrogenase, SDH) 活性を測定した。さらに、*peroxisome proliferator-activated receptor* (*PPAR*)、*PPAR* / 、*peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1* (*PGC-1*) の mRNA 発現量を解析した。左側の筋については、クリオスタットを用いて厚さ 15 μm の連続切片を作成して、ATPase 染色から筋線維を type I、type

IIA、type IIC に分類した。その後、筋線維タイプ構成比、筋線維タイプ別の横断面積と酸化系酵素 (succinate dehydrogenase、SDH) 活性を測定した。

データは、平均 \pm 標準偏差で示した。一元配置の分散分析を行い、その後、Scheffé's post hoc test を行った。P < 0.05 で統計的に有意差が認められると判断した。

実験 2

メタボリックシンドロームを発症した後の時期にあたる生後 30 週齢の雄ラット (SHR/ NMmcr-cp, cp/cp) 12 匹を軽度高気圧酸素に滞在させる CP-H 群 (6 匹) と軽度高気圧酸素の環境に滞在させずに普通飼育する CP 群 (6 匹) に分けた。また、メタボリックシンドロームを示さない普通飼育による同週齢の雄 Wistar ラット 6 匹を WR (対照) 群とした。

なお、軽度高気圧酸素への滞在の方法は、実験 1 と同じにした。さらに、分析、統計処理についても実験 1 と同様の方法を使用した。

4. 研究成果

実験 1

体重と食餌量については、生後 5 週齢から 15 週齢まで、WR、CP、CP-H の 3 群間で有意な差は認められなかった。

空腹時血糖、常時血糖、総コレステロール、中性脂肪については、生後 15 週齢で WR < CP-H < CP の順であった。インスリン、レプチンについては、CP = CP-H > WR であった。アディポネクチンについては、CP = CP-H < WR であった。

ヒラメ筋の酸化系酵素 (SDH) 活性については、WR = CP-H > CP であった。ヒラメ筋における *PPAR* の mRNA 発現量については、CP = CP-H > WR であった。一方、*PPAR* / と *PGC-1* の mRNA 発現量については、WR = CP-H > CP であった。ヒラメ筋を構成する筋線維のタイプについては、WR 群と CP-H 群では type I、type IIA、type IIC の 3 タイプ、CP 群では type I と type IIC の 2 タイプを確認できた。

CP 群は WR 群と CP-H 群に対して type I 線維の割合が多く、type IIA 線維は存在しなかった。筋線維タイプ別にみた横断面積と酸化系酵素 (SDH) 活性については、WR、CP、CP-H の 3 群間で有意な差は認められなかった。

実験 2

体重と食餌量については、生後 30 週齢から 40 週齢まで、CP = CP-H > WR の順であった。

空腹時血糖、常時血糖、総コレステロール、中性脂肪については、WR < CP-H < CP の順であった。インスリン、レプチンについては、CP = CP-H > WR であった。アディポネクチンについては、CP < CP-H < WR であった。

ヒラメ筋の酸化系酵素 (SDH) 活性については、WR = CP-H > CP であった。ヒラメ筋における PPAR、PPAR / と PGC-1 の mRNA 発現量については、CP = CP-H > WR であった。ヒラメ筋を構成する筋線維のタイプについては、WR 群と CP-H 群では type I、type IIA、type IIC の 3 タイプ、CP 群では type I と type IIC の 2 タイプを確認できた。CP 群は、WR 群と CP-H 群に対して type I 線維の割合が多く、type IIA 線維は存在しなかった。筋線維タイプ別にみた横断面積については、WR、CP、CP-H の 3 群間で有意な差は認められなかった。筋線維タイプ別にみた酸化系酵素 (SDH) 活性については、type I 線維と type IIC 線維において、WR = CP-H > CP であった。

本研究では、軽度高気圧酸素への滞在によって、メタボリックシンドロームの発症を抑えることができた (実験 1)。軽度高気圧酸素は、メタボリックシンドロームの発症を効果的に予防できると判断する。さらに、軽度高気圧酸素への滞在によって、すでに発症したメタボリックシンドロームを軽減することができた (実験 2)。これは、軽度高気圧酸素への滞在による高インスリン血症の改善と関係していると考えられる。

軽度高気圧酸素への滞在は、メタボリ

ックシンドロームを発症するラットの空腹時および常時血糖、総コレステロール、中性脂肪の増加を抑制して、骨格筋での酸化系酵素活性の低下を抑制した。これは、軽度高気圧酸素の滞在によって有酸素的な代謝が改善されたことによるものと結論する。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

Takemura A, Ishihara A. Mild hyperbaric oxygen inhibits growth-related decrease in muscle oxidative capacity of rats with metabolic syndrome. J Atheroscler Thromb, 24: 26-38, 2017.

[学会発表](計 件)

[図書](計 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石原 昭彦 (ISHIHARA, Akihiko)

京都大学・人間・環境学研究科・教授

研究者番号：90184548

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()