

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：13903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K11126

研究課題名(和文) トレーニングが皮膚ガス中一酸化窒素濃度に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effect of exercise training on skin-gas nitric oxide

研究代表者

伊藤 宏 (ITO, HIROSHI)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10203168

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：自転車を用いた全身運動時の皮膚ガス中一酸化窒素(nitric oxide：NO)濃度変化とPWV(pulse wave velocity：脈波伝搬速度)変化に相関関係があるか否かを明らかにしようとした。健康な男子大学生15人を対象に、最大心拍数の60%の自転車運動を行った。自転車運動によって、毛細血管を含めた全身血流量の増大に伴うeNOS(endothelial NO synthase)由来のNO生成を亢進して皮膚ガス中NO濃度を上昇させ、皮膚ガス中NO濃度の上昇がPWVの変化と負の相関関係があることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

皮膚から放出されるガス(皮膚ガス)の中にNOが含まれることを発見し、高感度、高精度な皮膚ガス中NO濃度分析システムを構築することに成功している(平成18-20年度科学研究費補助金 基盤研究C)。皮膚ガス中NO濃度測定は、非侵襲かつ非観血的で、非常に微量なガスから瞬時に実施できるという特徴がある。また、これまでにやってきた測定では、ヒトの皮膚ガス中NO濃度の再現性は高く、生体情報モニターとして安定した成績を得られることを確認している。このように、皮膚ガスの研究は他では行われていないため学術的独自性がある。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to confirm relationship between skin-gas NO concentration and PWV(pulse wave velocity) during 60%HRmax cycle exercise. Significant negative relationships were found between skin-gas NO concentration and PWV in this study. These results suggests that an increase in shear stress on vessels might be much more effective for an increase in skin-gas NO concentration during the whole body exercise. Furthermore, sympathetic nervous activity, circulating hormones, exercised muscle-derived metabolites including reactive oxygen species might also affect the production of NO during the exercise. Thus increased NO production during exercise decreased PWV.

研究分野：運動生理学

キーワード：一酸化窒素 運動 皮膚ガス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

今年度は自転車を用いた全身運動時の皮膚ガス中一酸化窒素 (nitric oxide : NO) 濃度変化とPWV(pulse wave velocity : 脈波伝搬速度)変化に相関関係があるか否かを明らかにしようとした。また、全身運動時の皮膚ガス中 NO 濃度変化と血流パラメータ変化および呼気ガス中 NO 濃度変化との関係についても比較、検討した。

2. 研究の目的

皮膚ガス中 NO 濃度は様々な要因に影響されるが、血漿中の NOx 濃度を調査する方法とは違い、非侵襲的かつ簡易である。一方で PWV は血管の硬さを直接反映する指標である。仮に皮膚ガス中 NO 濃度と PWV との間に有意な相関関係が認められれば、皮膚ガス中 NO 濃度変化は血管内皮の NO 濃度変化をモニターするより良いバイオマーカーになりうると考えられる。

以上、本研究では自転車を用いた全身運動時の皮膚ガス中 NO 濃度変化と PWV 変化に相関関係があるか否かを明らかにしようとした。また、全身運動時の皮膚ガス中 NO 濃度変化と血流パラメータ変化および呼気ガス中 NO 濃度変化との関係についても比較、検討した。

3. 研究の方法

3.1 被験者

被験者は、非喫煙者かつビタミン剤などの特別な薬物を服用していない健康な男子大学生 15 名 (22.6 歳 ± 1.2 ; Mean ± SD) とした。被験者には名古屋工業大学倫理委員会で承認 (29-020) された本研究の目的や実験内容を十分に説明し同意を得た。

3.2 運動方法および手順

被験者は、測定開始前に手をハンドソープで洗浄し、座位で 30 分間安静にしてから運動による測定を行った。運動は自転車エルゴメーター (エアロバイク 900U、コンビウエルネス株式会社、日本)を用いて行った。

被験者には実験開始約 1 週間前に自転車エルゴメーターに慣れるために、50wat, 70rpm の 3 分間隔で 20wat ずつの漸増負荷による最大下運動を行って 60%HRmax の強度を決定した。実験当日、被験者は 30 分間座位で安静後、事前に決定した負荷により 60%HRmax に約 10 分で達するように負荷を漸増させ、その後 30 分まで一定負荷で運動を行った。

3.3 皮膚ガスの採集

3.3.1 採集時間

安静時および運動終了後 0, 15, 30, 60 分に手の皮膚ガスを採集した。安静時の皮膚ガスは連続して 3 回採集し、運動後は各 1 回の採集とした。

3.3.2 採集方法

右腕の手首から末梢において皮膚表面から放出されるガスを採集した。皮膚ガス採集には、ポリエチレン製手袋(ポリエチレン手袋; 大創産業製)を加工した採集手袋を用いて行った。

皮膚ガス採集では、交換用ミニバルブ付きスリーブ(ジーエルサイエンス社製)を装着した袋に手を入れ、外からパラフィルムを巻くことにより密閉した。採集装置のバルブに三方活栓を連結させて、シリンジに吸引した皮膚ガスをサンプルバックに採集した。サンプルバッグはテドラフィルム(ジーエルサイエンス社製)を加工し作成した。

採集袋を装着した後、シリンジでキャブ内の空気を十分に抜き、窒素ガスを 150mL 注入した。一度そのガスを抜き、再び窒素ガス 150mL 注入後 1 分間安静にし、皮膚表面から放出されたガス 150mL をサンプルバッグに採集した。

3.4 呼気ガスの採集

3.4.1 採集時間

安静時および運動終了後 0, 15, 30, 60 分に呼気ガスを採集した。安静時の呼気ガスは連続して 3 回採集し、運動後は各 1 回の採集とした。

3.4.2 採集方法

肺胞内から放出される呼気ガスを肺活量として採集した。呼気ガス採集にはポリエチレン製キッチンパック(ポリエチレン袋; 大創産業製)を加工した採集袋を用いて行った。

被験者には、椅子に深く腰をかけ背筋を伸ばし姿勢よく座るよう指示した。一度大きく息を吐いてから、大きく息を吸い込み、採集袋のコックに口をつけて鼻をつまみ、ゆっくりと限界まで肺胞内の呼気を採集袋に吐いた。シリンジを用いて、採集袋に吐かれた呼気ガス 150mL をサン

ルバッグに採集した。サンプルバッグに採集後、採集袋内のガスをシリンジで抜き、肺活量を測定した。

3.5 心拍数

運動中の心拍数は、自転車エルゴメーター付属の HR モニターにて被験者の左耳より測定した。安静時および運動後の心拍数は、血圧脈波検査装置（バセラ VS-1000、フクダ電子株式会社、日本）を用いて測定を行った。

3.6 ガス中一酸化窒素濃度の測定

ガス中の NO 濃度の測定は、オゾン化学発光検出器（有限会社ピコデバイス）を用いて行った。本検出器は、オゾンを用いた化学発光法を原理としている。化学発光法とは、採集サンプル中の一酸化窒素とオゾンが反応することによって生成される励起状態の二酸化窒素が、基底状態に戻る際の発光強度を測定することによって一酸化窒素濃度を測定する方法である。NO 濃度 100ppb（太陽日酸株式会社）の標準ガスを基に 3 つの NO 濃度の異なるスタンダードガス（2.5，5.0，10 ppb）を調製し、作成した検量線を用いて皮膚ガスサンプルの NO 濃度を算出した。

3.7 組織血流量測定

組織血流量は、レーザー組織血流計（FL0-C1、オメガウェーブ株式会社、日本）を用いて、被験者の非利き手人差し指の腹から測定した（図 6(A)）。レーザー組織血流測定法の基本原理は、レーザー光が組織で散乱され、その一部が赤血球に照射され、赤血球量と赤血球流速に応じたレーザー光の周波数の変調がされる。これらの散乱光の一部を検出した後に光検出器で光電変換した信号を演算処理することで組織血流量を得た。

3.8 毛細血管血流速度測定

毛細血管血流速度は、血流スコープ（Bscan-Z、株式会社 徳、日本）を用いて、被験者の非利き手薬指の爪郭部から動画を撮影し、画像解析ソフト（Capimetrics、KK Technology、イギリス）を用いて測定した。動画の撮影時は、血流スコープの倍率を 370 倍に設定し、非利き手薬指の爪郭部から約 10 秒の動画を撮影した。

3.9 血圧および脈波伝搬速度測定

血圧及び脈波は、血圧脈波検査装置（バセラ VS-1000、フクダ電子株式会社、日本）を用いて測定を行った（図 7）。オシメトリック法により四肢に巻いたカフに空気を送り、動脈を圧迫して血流を阻止するまで加圧した。その後徐々にカフ内の空気を排気しながら減圧することにより得られるカフ内圧の微妙な容積脈波を圧センサーで検出し、CPU で脈振動波形パターンを解析して血圧値を決定した。また、カフ内を低圧力にして得られる上腕、足首の脈波と心電図、心音図から得られる脈波伝搬時間と、血管長から脈波伝搬速度（R/L-PWV、B-PWV）を計算した。R-PWV、L-PWV はそれぞれ右腕と右足首、左足首間の PWV であり、B-PWV は心臓と右腕間の PWV である。

4 . 研究成果

運動後において心拍数、組織血流量、毛細血管血流速度は運動後に有意 ($p < 0.001$) に増加した。また、運動直後の皮膚ガス中 NO 濃度が有意 ($p < 0.05$) に上昇した。両腕の収縮期血圧（systolic blood pressure : SBP）は運動直後に上昇し、その後減少傾向が見られ運動後 30 分には安静値を下回り最小値となった後、運動後 60 分には安静値へと回復する傾向が見られた。また、運動前後において皮膚ガス中 NO 濃度と組織血流量、血圧との間に有意 ($p < 0.001$) な正の相関関係が認められた。一方で、呼気ガス中 NO 濃度は運動後で有意な変動が認められなかった。

運動後において B-PWV が有意 ($p < 0.001$) に減少した。また、運動前後の皮膚ガス中 NO 濃度相対値と B-PWV 相対値との間に有意 ($p < 0.01$) な負の相関関係が認められた。

以上、本研究では自転車運動によって、毛細血管を含めた全身血流量の増大に伴う eNOS (endothelial NO synthase) 由来の NO 生成を亢進して皮膚ガス中 NO 濃度を上昇させた。特に、皮膚ガス中 NO 濃度には毛細血管内皮由来の NO 生成量が大きく影響している可能性が示唆された。また、自転車運動後に皮膚ガス中 NO 濃度の上昇が PWV の変化と負の相関関係があることが明らかとなった。これらのことから皮膚ガス中 NO 濃度変化を測定することは、血圧や PWV さらには血管内皮おける NO 生成量のモニターとして活用できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Toya, Y., Eguchi, Y., Goshima, K., Tajiri, N., Tsuda, T., Itoh, H.
2. 発表標題 Shear stress on cutaneous capillary endothelial during whole body exercise increase skin-gas nitric oxide concentration.
3. 学会等名 European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 代谷広一郎、江口勇樹、戸谷友亮、伊藤宏
2. 発表標題 ハンドグリップを用いた局所における最大下反復運動時の皮膚ガス中アセトン濃度変化と血流量変化
3. 学会等名 日本運動生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toya, Y., Eguchi, Y., Goshima, K., Tajiri, N., Tsuda, T., Itoh, H.
2. 発表標題 Shear stress on cutaneous capillary endothelial during whole body exercise increase skin-gas nitric oxide concentration
3. 学会等名 European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Eguchi, Y., Toya, Y., Goshima, K., Tajiri, N., Tsuda, T., Itoh, H.
2. 発表標題 Relationship between skin-gas nitric oxide concentration and capillary velocity following repeated submaximal handgrip exercise
3. 学会等名 European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Itoh, H., Tajiri, N., Kato, H., Utsu, U., Minagawa, A., Kato, A., Tsuda, T
2. 発表標題 Relationship between skin-gas acetone concentration collected from surface of exercised muscles and hand as a non-exercised region following repeated knee-extension exercise
3. 学会等名 European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ayame Kato, Hirota Kato, Yuki Utsu, Ayumu Minagawa, Naotaka Tajiri, Takao Tsuda, Hiroshi Itoh
2. 発表標題 Repeated knee-extension exercise increase skin-gas acetone concentration on surface of exercised leg muscles compared to opposite non-exercised leg muscles
3. 学会等名 European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Toya et al.
2. 発表標題 Shear stress on cutaneous capillary endothelial during whole body exercise increase skin-gas nitric oxide concentration.
3. 学会等名 European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Eguchi et al.
2. 発表標題 Relationship between skin-gas nitric oxide concentration and capillary velocity following repeated submaximal handgrip exercise.
3. 学会等名 European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------