

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：34310

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26650175

研究課題名(和文)低温・低酸素暴露下での呼吸-循環-体温システムの環境適応

研究課題名(英文) the linkage among respiration, circulation and thermoregulation during combined cold and hypoxic exposures

研究代表者

福岡 義之 (Fukuoka, Yoshiyuki)

同志社大学・スポーツ健康科学部・教授

研究者番号：20265028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では低温・低酸素暴露時の呼吸-循環-体温調節機構の全身的協関と機能的潜在性について検証した。1)低温の寒冷刺激を行いながら間欠的低酸素に対する換気促進や低酸素換気応答の亢進が中温において観察された。低温刺激を緩徐に行うことによっても緩徐な呼吸亢進を観察し、低酸素換気応答と深部体温との間には直線関係を有した。2)繰り返しの低温暴露後の持続性低酸素刺激に対する換気抑制作用は1回目より2回目で抑制され、ノルアドレナリン分泌は2回の浸漬によって有意に増大した。3)間欠的低酸素暴露で観察された換気促進は、アスリートが非アスリートよりも高く、低酸素換気応答もアスリートが有意に高値を示した。

研究成果の概要(英文)：We designed three experiments to investigate the linkage among respiration, circulation and thermoregulation during combined cold and hypoxic exposures. First, combined cold intermittent hypoxic (IH) exposures in ventilatory responses with normal temperature (34deg) and low temperature (11deg) was designed. At 34deg, IH induced long-term facilitation of ventilation (vLTF) was remarkable observed during isocapnic condition. A significantly reduction in body temperature at 11deg was related to the augmented VE during isocapnic IH ($p < 0.01$). Secondly, we investigated effect of repeated cold exposure to depressed hypoxic ventilatory decline (HVD) and the secretion of noradrenalin (NAd). Repeated cold stimulus promoted the secretion of NAd, HVD was significantly depressed compared to 1st hypoxia. Third, we investigated that the characteristics of athlete in vLTF during the IH exposure. The athlete showed a significantly greater vLTF compared to the untrained individuals.

研究分野：応用人類学

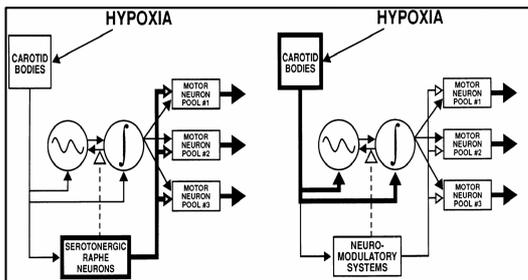
キーワード：全身的協関 機能的潜在性 低温 低酸素

1. 研究開始当初の背景

高地では低温と低酸素という2つの環境ストレスが共存し、ヒトの高地順化に関する研究はこの2つの環境ストレスに対する同時適応と考えてよい。環境順化は人類の大きな課題であり、人類が獲得した合理的な適応能力と将来のライフスタイルへの適応を考察するためには、それに関わる生理機能の全身的協働の研究が不可欠である。つまり、低酸素と低温の複合環境適応 (cross adaptation) は複雑な生理機能 (呼吸、循環、体温) を発揮され、その根幹は自律神経系である。自律神経機能は呼吸・循環・体温調節に修飾するが、これまでは呼吸—循環—体温の横断的な協働については無視されてきた。

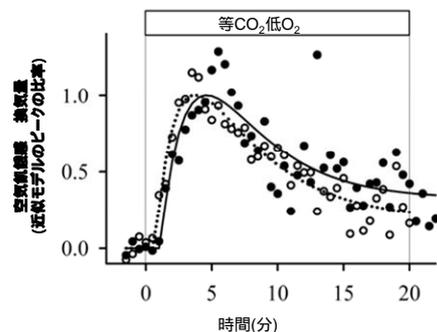
2. 研究の目的

通常低酸素は頸動脈小体を刺激し、呼吸中枢の発火パターンや呼吸リズムを発生させ、種々の呼吸筋の運動ニューロンプールを活性させる。その結果換気が亢進する低酸素換気感受性 (hypoxic ventilatory responsiveness: HVR) がみられる。これが低酸素換気感受性の仕組みである。一方、(Long-term facilitation: LTF)は頸動脈低酸素感受性を変えずに呼吸筋の運動モータニューロンのセロトニン促進を介して起り、延髄呼吸ニューロン群セロトニン神経の直接効果と考えられる (下図)。



左: LTFの構造モデル、 右: HVRの構造モデル

そこで intermittent hypoxia (IH) は中枢性の呼吸調節(LTF)を定量評価でき、一方、持続的な低酸素暴露 (continuous hypoxia: CH) では抑制性神経伝達物質によって低酸素換気抑制 (Hypoxic Ventilatory Depression: HVD) が起こる (下図)。



20分の低酸素環境刺激に対する2相性換気応答(○)と空気飢餓感(□)の経時変化

このように相反する中枢性の呼吸調節への低温 (寒冷) 暴露について (1) IH 条件と (2) CH 条件で観察した。さらに、IH において (3) 身体トレーニング状況について観察した。

3. 研究の方法

低温暴露時の IH 刺激後の換気応答の LTF と中心循環調節の変容

(1) 被験者: 健康な成人 9 名 (平均年齢: 22.6 ± 3.3 歳) であった。

(2) プロトコール: IH は低酸素 - 常酸素を各 4 分としてこの繰返しを 7 回行った (HY1~HY7, NR1~NR7)。なお、低酸素濃度は 10% とし、安全管理上酸素飽和度 (SpO₂) が 70% を下回ったとき低酸素暴露は解除した。次に、低温暴露のプロトコールは還流水温 11 °C にて実験終了まで寒冷刺激を継続した。対照実験として中温 34 °C にてスーツ内を還流させた。

(3) 測定項目: プロトコール中を通して、以下の項目を連続的に測定する。

肺でのガス交換諸量: breath-by-breath 測定装置 (既設) で酸素摂取量 (VO₂)、二酸化炭素摂取量 (VCO₂)、換気量 (V_E)、呼吸数 (Bf)、一回換気量 (VT) など。

CO₂ 分圧 (PCO₂) のレギュレート: 低酸素暴露では過換気によって PaCO₂ が低下し、hypocapnic hypoxia の状態になるのでこの状況を解消する。breath-by-breath にガス濃度をガスマスによってモニターし、ある基準 (安静時等) の呼気終末 CO₂ 分圧 (P_{ET}CO₂) を保持 (isocapnia 状態) するように、マスフローメーターを用いて (Kofloc 社製、既設) フィードバック制御した。さらに、高 CO₂ 条件として、定常時 CO₂ よりも 3~4mmHg 程度の高い CO₂ 吸入をすることで hypercapnia 状態で同様な IH を行った。したがって、温度 2 条件 (低温・中温) × CO₂ 2 条件 (isocapnia / hypercapnia) の 4 条件を被験者に負荷した。

体温関連諸変数: 深部体温として直腸温 (Tre) を測定した。また、皮膚温にはサーミスターを用いて前額、胸部、前腕、手裏、大腿、すね、足の甲、中指、足の指の 4 箇所を計測する (データログ使用 (LT-8, Gram 社))。各皮膚温から平均皮膚温 (T_{sk}) および平均体温 (T_b) を算出した。

皮膚血流量: レーザードップラー血流計 (ALF21 Advance 社製) を用いて皮膚血流量 (BF_{sk}) を上肢・下肢 (1 か所) で測定し、皮膚血管収縮や熱放散抑制を評価した。

(4) 解析方法: HVR は 1~7 回での V_E 変化量 / SpO₂ 変化量 (ΔV_E / ΔSpO₂) を算出した。さらに、LTF は安静時から IH 終了後の回復における V_E 変化量と定義した。

繰返し低温暴露の持続性低酸素刺激 (CH) による換気抑制作用 (HVD) と自律神経ホルモンの変容

(4) 被験者: 健康男性 8 名であった (平均年

齢 20.9±0.4 歳)であった。

(5) プロトコール: continuous hypoxia では、低酸素濃度は 10%とし、安全管理上酸素飽和度(SpO2)が 70%を下回ったとき低酸素暴露は解除する。継続時間を 20 分として、前年で用いた P_{ET}CO₂ のフィードバック制御を行う。低温暴露のプロトコールは水温 25 度にて 15 分間浸漬した後 continues hypoxia プロトコールを実施する。その後、2 回目の低温暴露(25 度、15 分間)し、2 回目の continues hypoxia プロトコールを実施する。

(6) 測定項目: 1) ~ 4)までは平成 26 年と同様である。浸漬後採血を行って、カテコラミン系ホルモン(ノルアドレナリン: NAd、アドレナリン: Ad 濃度)の測定を行った。

(7) 解析方法: continuous hypoxia プロトコールでは、刺激初期の低酸素換気感受性(HVR)とその後の緩徐な換気減衰(HVD)について 1 分毎の平均値(SD)を算出する。さらに、並列な指数関数モデルによる応答特性シミュレーションを行った。

持久性トレーニングを積んだアスリートの IH に対する HVR および LTF

(8) 被験者: 健康な非アスリート 8 名(年齢 22.5±0.5 歳、体重 65.0±2.3 kg、身長 172.25±1.2 cm、最大酸素摂取量 39.53±1.11 ml/min/kg)と、日頃持久的なトレーニングを行っている中長距離選手 7 名(年齢 20.6±0.4 歳、体重 53.49±1.7kg、身長 168.37±2.1cm、最大酸素摂取量 59.14±1.7 ml/min/kg)であった。

(9) プロトコール及び測定項目は IH 実験とほぼ同様

(10) 解析方法も IH 実験と同様

4. 研究成果

低温暴露時の IH 刺激後の換気応答の LTF と中心循環調節の変容

環流スーツを着用し、中温(34)と低温(11)の水を環流させて、皮膚温の低下から冷ニューロン刺激の寒冷刺激を行った。その結果、34 での中温において LTF や HVR の亢進が観察された(図 1)。

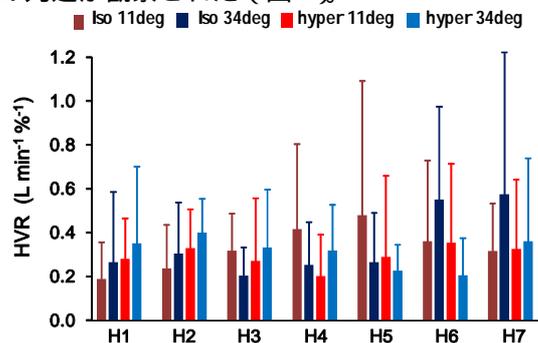


図 1 4 条件での繰り返し IH による HVR の変容と差異

また、11 の低温刺激を緩徐に行うことによって緩徐な呼吸亢進を観察し、このときの HVR と深部体温(直腸温)との間には直線関係を有し、体温低下の影響を敏感に反応することを明らかにした。さらに追加実験として、hypercapnia 条件では 3~4mmHg の CO₂ 吸入によって換気がさらに亢進するが、システムとして換気調節系の安定性を図れた(図 2)。

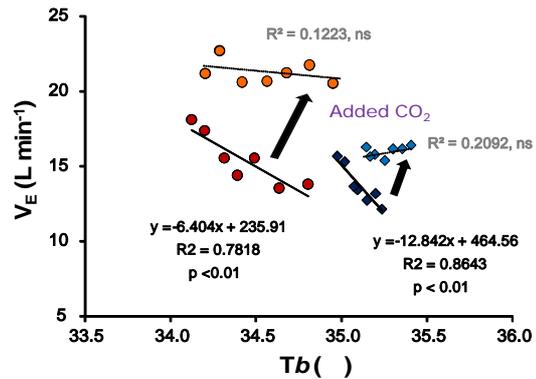


図 2 平均体温(Tb)と V_E との関係

繰返し低温暴露の CH による HVD と自律神経ホルモンの変容

一方、CH での HVD は 1 回目 4.72±1.3 L/min であり、2 回目の低酸素の HVD は 2.79±1.1 L/min と有意に小さかった(図 3)。

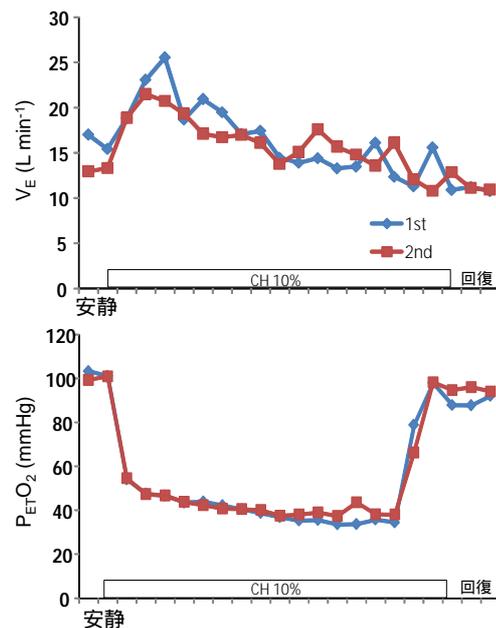


図 3 10%CH での換気応答(HVD)と P_{ET}O₂

カテコラミン系のノルアドレナリン分泌は安静時(0.28±0.06 ng/ml)より浸漬によって有意に増大した(0.45±0.14 ng/ml)。低酸素呼吸時に一旦低下し、2 回目の浸漬後はさらに増大した(0.80±0.37 ng/ml)。2 回目の低酸素呼吸後は 0.46±0.27 ng/ml まで低下したが、高値

を保持した(図4)。



図4 ノルアドレナリン(NAd)濃度の変容
浸漬(WI)、持続性低酸素暴露(CH)、
*,** p<0.05,0.01 vs Basal

深部体温の直腸温(Tre)は1回目の浸漬及び低酸素では大きく変化しなかったが、2回目の浸漬以降緩徐な低下が継続した。これらのことから、ホルモン由来の自律神経活動は持続的に亢進し続け、換気応答抑制(HVD)は逡減したと考える。寒冷刺激の繰り返しより体温低下を招き、低体温はノルアドレナリンによる交感神経系の賦活を持続的に促していた。このような低温暴露の影響は低酸素に対する呼吸抑制をも制限し、持続的な呼吸調節を維持しようと働いたものと推察される。

持久性トレーニングを積んだアスリートのIHに対するHVRおよびLTF

図5にVT, Bf, およびVEのIHに対する経時変化について示した。前半のVTでは非アスリートにおいて有意に高い値を示したが、後半では両群で有意な差はみられなかった。Bfではアスリートの方が後半有意に高い値を示した。両パラメータの積であるVEは低酸素条件では両群で顕著な差はみられなかったが、低酸素後の常酸素1,2,5,6回目(NR1, NR2, NR5, NR6)において、アスリートで有意に高かった。それ以外は両群間で有意差はなかった。本研究のアスリートの特徴として、VTよりもBfが大きく、繰り返しの低酸素後の常酸素において換気亢進が保持されているようである。

LTFは両群で観察され、LTFはアスリートの方が非アスリートよりも有意に高かった(図6)。このことから、日常的に身体トレーニングを行っているアスリートは、IH刺激によってLTFをより亢進できる可能性が示唆された。また、身体トレーニングによって中枢性呼吸調節を介して換気亢進を誘発しているようである。

PAは両群で観察され、PAはアスリートの方が非アスリートよりも有意に高かった。LTF同様、PAも日常的に身体トレーニングによってさらに助長されることが示唆された(図6)。安静時(Pre)に対するhypercapniaを伴うIH

刺激は、換気応答の全体的を上昇させ、アスリートではそれがより顕著に出現したと考えている。

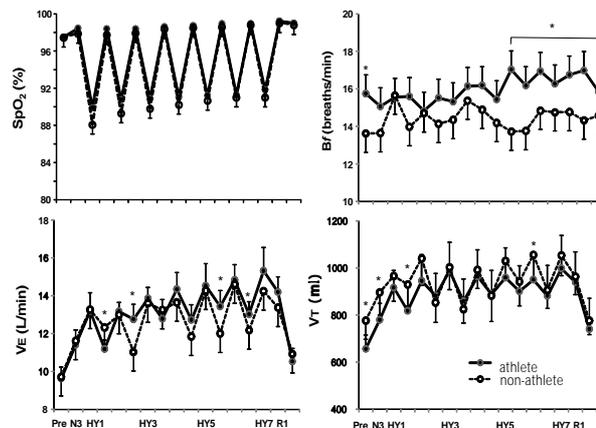


図5 IHにおける \dot{V}_E , VT, Bfの経時変化
*, p<0.05 vs. non-athlete

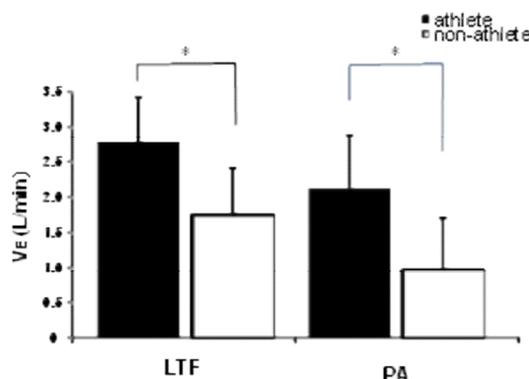


図6 PAおよびLTFの2群間比較
*, p<0.05 vs. non-athlete

HVR($\Delta VE/\Delta SpO_2$)をHY1(first)とHY7(final)の最初と最後で測定した。その結果、HVRはHY1においてアスリートの方が有意に高い値を示したが、HY7では有意ではなかった(図7)。また、HY1のHVRよりもHY7のそのの方が有意に高値となり、繰り返しの低酸素刺激によって化学受容器の感受性は大きく変化することがあきらかとなった。これは、持続性低酸素でみられる現象とは異なる反応であった。

以上のことから、HypercapniaでのIntermittent hypoxiaは低酸素換気感受性を亢進させるだけでなく、中枢性呼吸調節としてのLTFやPAも同時に増幅することが明らかとなった。さらに、アスリートと非アスリートの2群間の比較においてHVR, LTF, PAのすべての換気調節系でアスリートは有意に亢進していることが明らかとなった。

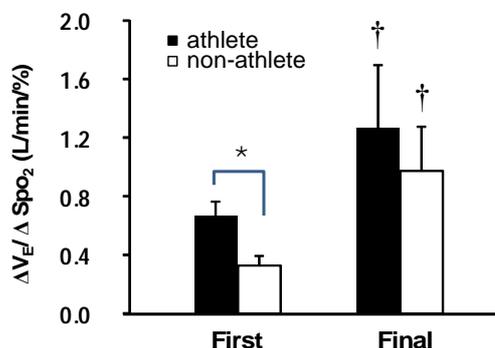


図7 低酸素換気感受性 (HVR) の2群間比較
Firstは低酸素刺激1回目、finalは低酸素刺激7回目

*, p<0.05 vs. non-athlete; †, p<0.05 vs. first

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16件)

- M Horiuchi, Y Fukuoka, Y Handa, D Abe, H Pontzer. Measuring the Energy of Ventilation and Circulation during Human Walking using Induced Hypoxia. *Sci Rep* 2017 (accept) (査読有)
- Y Fukuoka, M Iihoshi, JT Nazunin, D Abe, Y Fukuba. Dynamic characteristics of ventilatory and gas exchange during sinusoidal walking in humans. *PLoS One* 2017 Jan 11;12(1):e0168517. doi: 10.1371/journal.pone.0168517(査読有).
- M Horiuchi, S Oda, T Uno, J Endo, Y Handa, Y Fukuoka. Effects of short-term acclimatization at the summit of Mt. Fuji (3776 m) on sleep efficacy, cardiovascular responses, and ventilatory responses. *High Alt Med Biol* 2017 doi: 10.1089/ham.2016.0162. (査読有)
- Abe D, Horiuchi M, Fukuoka Y. Muscle Activities of Human Bipedal Locomotion at Energetically Optimal Transition Speed under Normobaric Hypoxia on Gradient Slopes. *PLoS One* 2017 12(3): e0173816. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173816> (査読有)
- Iguchi J, Watanabe Y, Kimura M, Fujisawa Y, Hojo T, Yuasa Y, Higashi S, Kuzuhara K. Risk Factors for Injury Among Japanese Collegiate Players of American Football Based on Performance Test Results. *J Strength Cond Res* 2016 Dec;30(12):3405-3411. (査読有)
- Kida Y, Morihara T, Furukawa R, Sukenari T, Kotoura Y, Yoshioka N, Hojo T, Oda R, Arai Y, Sawada K, Fujiwara H, Kubo T. Prevalence of posterior elbow problems in Japanese high school baseball players. *J Shoulder Elbow Surg* 2016 Sep;25(9):1477-84. doi: 10.1016/j.jse.2016.05.004. (査読有)
- Inoue M, Nakajima M, Hojo T, Itoi M, Kitakoji H. Acupuncture for the treatment of trigger finger in adults: a prospective case series. *Acupunct Med* 2016 Oct;34(5):392-397. doi: 10.1136/acupmed-2016-011068. (査読有)
- Yamabata S, Shiraishi H, Munechika M, Fukushima H, Fukuoka Y, Hojo T, Shirayama T, Horii M, Matoba S, Kubo T. Effects of electrical stimulation therapy in blood flow of different sites for chronic critical limb ischemia following regenerative therapy. *SAGE Open Med* 2016 doi: 10.1177/2050312116660723. eCollection. (査読有)
- Horiuchi M, Handa Y, Abe D, Fukuoka Y. Walking economy at simulated high altitude in healthy young male lowlanders. *Biology Open* 2016 5:1408-1414 doi: 10.1242/bio.019810. (査読有)
- Takakura H, Furuichi Y, Yamada T, Jue T, Ojino M, Hashimoto T, Iwase S, Hojo T, Izawa T, Masuda K. Endurance training facilitates myoglobin desaturation during muscle contraction in rat skeletal muscle. *Sci Rep* 2015 Mar 24;5:9403. doi: 10.1038/srep09403. (査読有)
- Inoue M, Nakajima M, Oi Y, Hojo T, Itoi M, Kitakoji H. The effect of electroacupuncture on tendon repair in a rat Achilles tendon rupture model. *Acupunct Med* 2015 Feb;33(1):58-64. doi: 10.1136/acupmed-2014-010611. (査読有)
- Abe D, Horiuchi M, Fukuoka Y. Economical speed and energetically optimal gait transition speed evaluated by gross and net oxygen cost of transport at different gradients in trained male athletes. *PLoS One* 2015 10(9):e0138154. doi: 10.1371/journal.pone.0138154. (査読有)
- Fukuoka Y, Poole DC, Barstow TJ, Kondo N, Nishiwaki M, Okushima D, Koga S. Reduction of $\dot{V}O_2$ slow component by priming exercise: novel mechanistic insights from time-resolved near-infrared spectroscopy. *Physiol Rep* 2015 3(6). doi: 10.14814/phy2.12432. (査読有)

14. Abe D, Yoshida T, Ueoka H, Sugiyama K, Fukuoka Y. Relationship between perceived exertion and blood lactate concentrations during incremental running test in young females. *BMC Sports Sci Med Rehabil* 2015 22;7:5. doi: 10.1186/2052-1847-7-5. (査読有)
15. Kida Y, Morihara T, Kotoura Y, Hojo T, Tachiiri H, Sukenari T, Iwata Y, Furukawa R, Oda R, Arai Y, Fujiwara H, Kubo T. Prevalence and Clinical Characteristics of Osteochondritis Dissecans of the Humeral Capitellum Among Adolescent Baseball Players. *Am J Sports Med* 2014 42(8):1963-71. doi: 10.1177 / 0363546514536843. (査読有)
16. Endo MY, Fujihara C, Yamazaki C, Kashima H, Eguchi K, Miura A, Fukuoka Y, Fukuba Y Acute responses of regional vascular conductance to oral ingestion of fructose in healthy young humans. *J Physiol Anthropol* 2014 33:11. doi: 10.1186/1880-6805-33-11.(査読有)

[学会発表](計 8 件)

1. Y Fukuba, Y Kikugawa, A Kondo, K Miura, MY Endo, A Miura, N. Hayashi, Y Fukuoka, S Koga. Effects of period of sinusoidal leg exercises on brachial and middle cerebral artery blood flows. 平成 26 年 3 月 16-18 日 第 91 回日本生理学会大会 (於 鹿児島県・鹿児島市)
2. S Yamabata, H Shiraishi, M Munechika, H Fukushima, S Matoba, Y Fukuoka, T Hojo, M Horii, T Kubo. Effects of electrical stimulation therapy for chronic critical limb ischemia after regenerative therapy. World Confederation for Physical Therapy Congress 1st-4th May 2015/ Singapore
3. Fukuoka Y, Hojyo T, Ebine N. The cross adaptation of lower temperature in ventilatory responses on exposure of hypoxia in humans. 平成 27 年 10 月 27-30 日 12th International Congress of Physiological Anthropology (ICPA2015) (於 千葉県・千葉市)
4. Fukuoka Y, Kimura A, Hojyo T, Nakamura M, Ebine N. The combined exposures between intermittent hypoxia and cold is associated with enhanced respiratory long-term facilitation and peripheral chemoreflex sensitivity with an

elevated CO₂ in human. 21st ECSS Congress 6-9 July 2016 Vienna/AUS.

5. Horiuchi M, Handa Y, Abe D, Fukuoka Y. Energy cost during walking at simulated high altitude in healthy young male lowlanders. 21st ECSS Congress 6-9 July 2016 Vienna/AUS.
6. Fukuba Y, Miura K, Eguchi K, Endo MY, Kashima H, Hayashi N, Fukuoka Y, Koga S. The anti-phasic reponse of brachial artery blood flow to sinusoidal work rate leg exercise. 21st ECSS Congress 6-9 July 2016 Vienna/AUS.
7. Horiuchi M, Fukuoka Y, Handa Y, Abe D, Pontzer H. Measureing the energy of ventilaion and circulation during human walking using induced hypoxia. 22st ECSS Congress 5-8 July 2017 Metropolis Ruhr/Germany.
8. Horiuchi M, Handa Y, Fukuoka Y. Impact of combined cool and hypoxic exposures on energy cost during walking in healthy adults. 平成 29 年 11 月 12-17 日 The 17th International Conference on Environmental Ergonomics (ICEE), Kobe, Japan. (於 兵庫県・神戸市)

[図書](計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

福岡 義之 (FUKUOKA YOSHIYUKI)
同志社大学・スポーツ健康科学部・教授
研究者番号 : 20265028

(2)研究分担者

北條 達也 (HOJO TATSUYA)
同志社大学・スポーツ健康科学部・教授
研究者番号 : 40298740