

機関番号：37116

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20500589

研究課題名（和文） 体温調節性皮膚血管運動に対する抗酸化ビタミン投与の効果とその作用機序の解明

研究課題名（英文） The influence and action of antioxidant vitamin supplementation on thermoregulatory vasomotion in human skin

研究代表者

山崎 文夫（YAMAZAKI FUMIO）

産業医科大学・産業保健学部・講師

研究者番号：80269050

研究成果の概要（和文）：人の体温調節性皮膚血管運動機能に及ぼす抗酸化ビタミン投与の効果とその作用機序を明らかにするために、ビタミンCとともに血管作用性薬剤を前腕皮膚内に投与し、温熱ストレスに対する薬剤投与部の皮膚血管反応を検討した。その結果、抗酸化ビタミン投与により、全身加温時の皮膚血管拡張反応は増加するが全身冷却に対する皮膚血管収縮反応は変化しないこと、一方局所皮膚冷却時の皮膚血管収縮反応はアドレナリン受容体機能の変化を介して抑制されることが示唆された。

研究成果の概要（英文）： To elucidate the influence and action mechanism of antioxidant vitamin supplementation on thermoregulatory vasomotor function in human skin, we administered vasoactive agents with and without vitamin C in forearm skin and examined the vasomotor responses at the treated skin sites during thermal stress. The present study suggests that antioxidant vitamin supplementation increases the vasodilator response during whole-body heating but does not alter the vasoconstrictor response during whole-body cooling, while it inhibits the vasoconstrictor response to local skin cooling through adrenoceptor-dependent mechanism.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	600,000	180,000	780,000
2009 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：運動生理学、環境生理学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学 スポーツ科学

キーワード：アスコルビン酸、皮膚血流量、暑熱負荷、寒冷負荷、活性酸素

1. 研究開始当初の背景

高温環境でのスポーツや労働時には、常温環境に比べて深部体温がより上昇し、生体負担は増大する。体温が過度に上昇した場合には熱中症発生の危険性が高まるが、通常は皮

膚血管運動や発汗による熱放散機能が動員されて過度の体温上昇は防がれる。体温上昇時の皮膚血管拡張反応には、能動的血管拡張システムの活性化と血管収縮神経活動の抑制が関与するが、前者の貢献が後者より 4-5

倍大きい。能動的血管拡張システムの全容はまだ解明されていないが、一酸化窒素(NO)がその血管拡張に関与することが報告されている。

近年、運動時の体温の上昇に伴い生体内で活性酸素が増加することが報告された。すなわち体温の上昇は生体に対して酸化ストレスとしても作用する。我々はこれまでに高酸素吸入による活性酸素の増加が皮膚血管を収縮させること、さらに酸化ストレスが皮膚の血管内皮機能を損傷して、血管拡張を抑制することを明らかにしている。高酸素吸入時の皮膚血管収縮反応には、活性酸素の増加によるNO合成酵素(NOS)活性の低下が関与する。したがって体温上昇に伴う生体内の活性酸素の増加は、暑熱下における皮膚血管拡張を抑制するように作用すると考えられる。もしそうならば、抗酸化ビタミンであるビタミンC(アスコルビン酸)を皮膚内に投与することによってNOS活性の低下が抑制されて、高体温時の皮膚血管拡張反応は増大すると推測される(仮説1)。

スポーツや労働は寒冷環境下でも行われる。寒冷暴露時の皮膚血管の収縮は低体温を防ぐ重要な生理的反応の1つである。寒冷刺激による皮膚血管収縮には、神経性要因と非神経性要因が関与する。神経性要因にはアドレナリン作動性神経の活動亢進と α_2 アドレナリン受容体の感受性亢進が含まれる。マウスの皮膚血管平滑筋細胞を用いた研究において、冷却は細胞内の活性酸素を増加させ、これがRho酵素活性を介して α_2 アドレナリン受容体の感受性を亢進させることが示されている。これは冷却が酸化ストレスとして皮膚の血管平滑筋に作用し、血管収縮を増強することを示唆している。このメカニズムが人の皮膚血管運動調節にも関与しているならば、冷却による α_2 アドレナリン受容体感受性の亢進はビタミンCを皮膚内に投与することによって抑制されて、寒冷暴露時の皮膚血管収縮反応は減少されると推測される(仮説2)。

冷却時の皮膚血管収縮反応に関与する非

神経性要因として、皮膚の直接的冷却によるNOS活性の抑制が関与する。上記のように活性酸素はNOS機構を介して皮膚血管を収縮させる可能性がある。皮膚冷却時のNOS活性の抑制が活性酸素の増加によるならば、ビタミンCを皮膚内に投与することによってNOS活性の低下が抑制されて、寒冷暴露時の皮膚血管収縮反応は減少すると推測される(仮説3)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、人の体温調節性皮膚血管反応に及ぼすビタミンC投与の効果およびその作用機序を明らかにすることである。具体的には、以下の疑問点を検討する。

(1) 全身加温時の皮膚血管拡張反応はビタミンCの投与によって増加するか。(仮説1の検証)

(2) 全身および局所冷却時の皮膚血管収縮反応はビタミンCの投与によって減少するか。減少するとすれば、それはアドレナリン受容体の感受性亢進を抑制させるためであるのか、それともNOS活性の低下を抑制させるためであるのか、あるいはその両者の機序が関与するのか。(仮説2と3の検証)

3. 研究の方法

(1) 被検者 :

健康な大学生ボランティア、総数35名。

(2) 薬剤の投与 :

薬剤の投与のために被検者の前腕皮膚に微小透析膜を留置した(皮膚内マイクロダイアリシス法)。シリンジポンプによって $4\mu\text{l}$ /分の速度で連続的に薬剤を投与した。使用した薬剤とその濃度は以下の通りであった。

① ビタミンC(L-アスコルビン酸(Asc)、10 mM)

② NOS 抑制剤(N^6 -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)、20 mM)

③ α アドレナリン受容体遮断薬(ヨヒンビン(YOH)、5 mM)

④ β アドレナリン受容体遮断薬プロプラノロール(PRO)、1mM)

⑤ NO 供与剤(ニトロプルシッド(SNP)、28 mM)

(3) 実験手順 :

①加温実験：被検者は全身の皮膚温をコントロールするための水循環スーツを着用し、ベッドで仰臥位安静を維持した。皮膚血流量の測定にはレーザードップラー血流計を用い、そのセンサーは前腕2カ所に留置した微小透析膜の直上の皮膚表面に設置した。まず32-34℃の水をスーツに循環させて正常体温状態（平均皮膚温：35-36℃）を約90分間維持した。すべてのマイクロダイアリスプローブに生理食塩水を流し、皮膚血流量が安定した後にベースライン測定を5分間行った。続いてプローブの1つにAscを約60分間環流した。その後薬剤を環流させたまま水温を45-49℃に上昇させて（平均皮膚温：約39℃）、食道温を約1℃上昇させ、高体温状態を30-40分間維持した。全身加温後に皮膚血流量の最高値を求めるために、すべてのプローブに28mMのSNPを20-40分間環流させた。

②冷却実験：冷却実験は3つのパートからなり、それぞれ別の日の同一時間帯に行った。いずれのパートの実験においても微小透析膜を前腕皮膚2カ所に留置し、正常体温状態（平均皮膚温：35-36℃）を約90分間維持した。すべてのマイクロダイアリスプローブに生理食塩水を流し、皮膚血流量が安定した後にベースライン測定を5分間行った。続いて以下の組み合わせで薬剤を約60分間環流させた。パート1：生理食塩水、Asc
パート2：L-NAME、L-NAMEとAscの混合物
パート3：YOHとPROの混合物、YOH、PROおよびAscの混合物

その後薬剤を環流させたまま局所温度コントローラーを用いて、皮膚血流測定部周囲（6.3cm²）の局所温度を34℃から24℃に低下させ、20分間維持した（局所冷却）。局所冷却に続いてスーツの水温を15-18℃に低下させて平均皮膚温を約33℃にして、全身を10分間冷却した（全身冷却）。全身冷却からの回復後に、各部位における皮膚血流量の最高値を求めるために、すべてのプローブに28mMのSNPを30-40分間環流させた。

(4) 測定および解析

実験中、微小透析膜留置部2カ所の皮膚血

流量、血圧、心拍数、食道温あるいは舌下温および皮膚温を連続測定した。皮膚血管コンダクタンス(CVC)は皮膚血流量を平均血圧を除いて求め、各部位におけるCVCの最高値に対する相対値(%max)および負荷前ベースライン値からの相対値(%)で示した。

4. 研究成果

暑熱ストレスは、温度という物理量の変化によって生じる生理的なストレスとして生体に作用するが、これに加えて生体内で活性酸素を生じさせるので酸化ストレスとしての特性も合わせ持つ。皮膚の血管運動は人の体温調節に重要な機能の1つであるが、この機能に酸化ストレスがどのように影響するのかについては不明な点が多い。暑熱ストレスが人の生体内でも酸化ストレスとして作用するならば、ビタミンCのような抗酸化物質の皮膚内投与によって投与部の皮膚血管反応は変化すると考えられる。そこで本研究では、まず全身加温時の皮膚血管拡張反応に及ぼすビタミンC投与の効果について検討した。正常体温時において、CVCはビタミンCの投与によって有意に($P<0.05$)増加した(投与部； $16.2 \pm 1.5\%max$ 、非投与部； $12.5 \pm 2.2\%max$)。全身加温中のCVCはビタミンC投与部($59.2 \pm 6.2\%max$)の方が非投与部($54.5 \pm 7.0\%max$)に比べて高い傾向が認められた($P<0.1$)。これらの結果から健康な若齢者において、正常体温時の皮膚血管運動は酸化ストレスによって収縮性に影響されること、および深部体温上昇時の皮膚血管拡張は酸化ストレスによって抑制性に影響されることが示唆された。

次に、局所冷却および全身冷却に対する皮膚血管収縮機能に及ぼすビタミンC投与の効果について検討した。局所冷却により冷却前ベースライン値からのCVC減少はビタミンCの投与によって有意に抑制された(投与部； $-31 \pm 4\%$ 、非投与部； $-56 \pm 5\%$ 、 $P<0.05$)。このビタミンC投与によるCVC減少の抑制は、NO合成酵素抑制剤(L-NAME)の追加投与中にも認められたが、 α および β アドレナリン受容

体遮断薬(YOH+PRO)の追加投与によって完全に消失された。これらの結果より、直接的な皮膚冷却時の皮膚血管収縮反応は抗酸化ビタミンの投与によって抑制され、これはアドレナリン受容体機能の変化によることが示唆された。一方、全身冷却前の値をベースラインとするCVCの相対変化で皮膚血管反応を評価すると、全身冷却に対する皮膚血管収縮反応はビタミンCの投与によって変化しなかった(投与部: $-46 \pm 13\%$, 非投与部: $-47 \pm 14\%$, $P=0.85$)。すなわち全身冷却に伴うアドレナリン性交感神経活動の増加に対する皮膚血管収縮反応は、高濃度抗酸化ビタミンの投与によって影響されないことが示唆された。全身冷却中のCVCレベルはビタミンC投与部の方が非投与部よりも高かったが、これは局所冷却時のCVCの減少がビタミンCの投与によって有意に抑制されたことに起因された。

結論として、温熱ストレスは生体内で活性酸素を増加させる酸化ストレスとして人の皮膚血流量の調節に関与することが示唆された。

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)

①Fumio Yamazaki, Local ascorbate administration inhibits the adrenergic vasoconstrictor response to local cooling in the human skin, *Journal of Applied Physiology*, 査読有、108巻、2010、328-333

[学会発表] (計3件)

①Fumio Yamazaki, Kazuo Takahara, Ryoko Sone, Influence of oral vitamin C on vasoconstrictor response to local cooling in human skin, *Experimental biology* 2010、2010年4月27日、Anaheim, California

②山崎文夫、高原和雄、曾根涼子、局所冷却

時の皮膚血管収縮反応に及ぼすアスコルビン酸投与の影響、第37回自律神経生理研究会、2009年12月5日、東京

③Fumio Yamazaki, Local ascorbate administration inhibits the adrenergic vasoconstrictor response to direct cooling in the human skin, *The 3rd International Symposium on Physiology and Pharmacology on Temperature Regulation*, 2009年7月24日、松江

[その他]

ホームページ等

http://www.uoeh-u.ac.jp/kouza/sninjo/sonne_j.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 文夫 (YAMAZAKI FUMIO)

産業医科大学・産業保健学部・講師

研究者番号: 80269050

(2) 連携研究者

高原 和雄 (TAKAHARA KAZUO)

産業医科大学・産業保健学部・教授

研究者番号: 30163306

石 明寛 (SEKI MEIKAN)

産業医科大学・産業保健学部・教授

研究者番号: 40163092