

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：33501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500623

研究課題名(和文)人工炭酸泉浴による筋機能回復・亢進機序の解明と回復期リハビリへの適用可能性の検討

研究課題名(英文)Recovery and improvement of muscle functions by bathing with artificially made high concentration CO2 water

研究代表者

橋本 眞明 (HASHIMOTO, MASAOKI)

帝京科学大学・医療科学部・教授

研究者番号：30156294

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：二酸化炭素を豊富に含む(1000ppm以上)人工炭酸泉に入浴すると、35 程度の水温でも皮膚血管が拡張、皮膚血流が増加する。動物実験により、この血管拡張にプロスタグランジンPGE2が関与することがわかった。同じく血管を拡張させる作用のあるPGE1やPGI2は関与していない可能性も示された。これら3種のPGはそれぞれ異なる酵素の作用で産生される。各酵素の遺伝子発現量の変化を調べたが、30分程度の水浴中には変化が見られなかった。酵素の発現量ではなく酵素活性の変化で、調節されているらしい。この時、水面下の骨格筋血管も拡張することが確認され、これによる血流の増加が筋機能を亢進する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Skin blood vessel is dilated at the water temperature of around 35 degrees Celsius when we take a bath in carbon dioxide-rich (more than 1000ppm) hot-spring, and skin blood-flow increases. Animal experiments revealed that prostaglandin E2 (PGE2) is involved in this vasodilatation. In contrast, PGE1, PGI2 nor nitric oxide may not contribute to the vasodilation. Expression of enzymes contributing to the final step of the biosynthesis of those PGs was not changed during CO2-water bathing for 30 min. The results suggest that bathing with CO2-water may affect not the amount but the activity of the enzyme in the skin. On the other hand, the blood vessels in skeletal muscle of underwater body part was dilated, which produced increase of blood flow. Muscle soreness and hardness after resistance exercise was recovered by bathing with CO2-water more quickly than that with normal water. The result suggest that the CO2-water bath may improve a myofunction.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：人工炭酸泉 二酸化炭素の血管作用 皮膚血管拡張 筋血管拡張

1. 研究開始当初の背景

療養温泉としての二酸化炭素泉(CO₂泉)は1000ppm以上の遊離CO₂を含む温泉と定義され(環境省鉱泉分析法指針)ヨーロッパでは、古くから心・循環器系疾患の治療目的に利用されてきた。日本国内では泉源が少なく医療への応用は限られている。さらに、実験中の浴水温を維持しつつCO₂を高濃度に維持することが難しく、泉源付近の研究施設以外での実験的解析が困難であり、その作用メカニズムの解析は進んでいない。作用に関する科学的根拠の不足は臨床応用への普及をさらに妨げていた。このような中で、最近、人工透析などに利用される中空糸膜フィルターを用いた人工CO₂泉の作成装置が開発された(特開番号:2001-113289(P2001-113289A))。温水と高圧CO₂があれば、水温とCO₂濃度、その他の水溶成分を自由に制御できるため、泉源の有無によらずCO₂泉浴の作用メカニズムの解析が可能となった(2007,Int.J. Biometeorol.52:109)。

CO₂泉浴では、30~35の水温でも数分間で浸漬部皮膚に顕著な紅潮が生じる。局所的皮膚血流の増加、皮膚血管抵抗の減少が示唆されていたが、上記装置で作成された人工CO₂泉を用いた研究からその仮説が証明された(2002,Eur.J.Appl.Physiol.87:337)。浴用水としては比較的低い温度でも、同じ温度の真水(水道水)と比べ温感が強く、これらは浴水中の高濃度CO₂の作用であると考えられている。申請者らは、人工CO₂泉を用いた研究から、実験用動物でも泉浴中の皮膚血管抵抗減少、心拍数減少など、ヒトと同様な反応が観察できることを確認している(2004,J.Appl.Physiol.96:226)。脳血管培養液のCO₂濃度増加で引き起こされる血管拡張が、シクロオキシゲナーゼ阻害で消失することが知られている(1988,Circ.Res.62:10190)。この機構の関与を想定した同阻害剤投与実験により、CO₂泉浸漬による皮膚血管反応には、局所で産生される血管拡張性プロスタグランジン(PG)が関与し、一酸化窒素(NO)の関与は確認できなかった(2009,日生気誌46:S40)。皮膚組織中のPGを定量した予備実験の結果、強力な拡張性が知られるPGI₂は変化無く、PGE₁の変化も検出されなかったが、PGE₂が増加していた。CO₂泉浴中の皮膚組織ではpHが減少している可能性があり、浸漬部の皮膚で低pHの刺激も一因としてPGE₂合成酵素を選択的に発現、または活性化する可能性があると考えた。

一方、CO₂泉浴中に観察される心拍数減少についても、交感神経系の活動減少による可能性が高いことを動物実験で明らかにした(2004,J.Appl.Physiol.96:226)。ヒトでも同様な減少が報告され、心電図R-R間隔変動解析から心交感神経の活動抑制、

副交感神経の活動亢進の可能性が指摘されている(2009,Int.J.Biometeorol.53:25)。CO₂泉の全身浴では血液中のカテコラミン濃度が減少すると報告されているが(1987,Z.Phys.Med.Baln.Med.Klim.16:278)、血圧には大きな変化が無く、全身性に交感神経系の活動が抑制されているとは考え難い。皮膚の血管反応は局所性であるが、この心臓作用については、CO₂水との接触が刺激となり皮膚で生じた神経情報が脊髄を上向き、自律神経系を介して心臓や副腎機能を変調する可能性を示す証拠を得ている(2007,Int.J. Biometeorol.51:201)。しかし、この神経情報が心臓・副腎のみならず、他の自律機能効果器や体性効果器である骨格筋にどのような影響を及ぼすのかは未知である。

申請者らは、近赤外線分光分析法により被験者前腕部を人工CO₂泉に浸漬すると浸漬部の骨格筋血流量が増加する可能性を示す結果を得た(2008,J.Physiol.Sci.58:S106)。さらに、運動後にCO₂泉浴を行うと、主動筋の筋硬度減少が促進される(2009,J.Physiol.Sci.59:S355)、筋疲労回復を促進させる可能性も指摘した。筋に蓄積した代謝産物の洗い流しが促進された可能性があり、浸漬部筋血流量を増加させる可能性を示唆した前述の結果を支持する。運動後の筋硬度増加の一部に筋の強縮が関与するとの報告も多い(2008,Physiol.Rev.88:287)。さらに、運動持続可能時間は血中の代謝産物よりも、体温上昇が大きな制限因子であることなども示唆されている(2007,Eur.J.Physiol.100:727;2008,Med.Sport.Sci.53:89)。CO₂泉浴による脳を介した心機能への作用を考えると、運動後のCO₂泉浴による筋硬度減少の促進に、
- 連関を変調することで筋の柔軟性を促進させる可能性、即ち中枢神経系を介した機構の関与も推定させる。

糖尿病などの慢性疾患に付随する血管障害・組織の壊死で四肢を失う患者は多い。失われた後のQOL向上には、装具着用を前程としリハビリが主となるが、問題点は多い。本研究は、四肢が失われる前に、血管再生や血流改善により、筋機能の維持・亢進につながる可能性を追求する点に特徴がある。加温により温度依存性の血流改善は可能であるが、全身性の代謝亢進をもたらす可能性が高く、急性炎症期や呼吸器疾患、心疾患をもつ患者への適用は難しい。前述のとおり、CO₂泉浴では、体温を上昇させない水温でも皮膚血流を増加させることが明らかで、筋血流増加の可能性も指摘されていることから、筋血流の増加・筋機能の亢進が確認できれば、運動機能障害からの回復に役立つ療法の確立につながると期待される。動物実験では、人工的に引き起こした後肢の血管障害に対し、障害

肢を断続的に高濃度 CO₂ 水に浸漬することで、筋中の毛細血管が再生、増殖したとの報告も有る (2005, Circ. 111:1523)。既存血管の血流増加のみならず、血管新生による筋のパフォーマンス改善効果も期待される。

本研究により、皮膚血流や筋機能に対する人工 CO₂ 泉浴の効果とその作用機序が明らかと成れば、回復期リハビリテーションにおける水治療に新たなツールを提供できる。さらに、運動パフォーマンスの向上が期待されることから、より小さな運動負荷で機能回復・向上を図れる可能性もあり、理学療法のみならず、スポーツ医学領域など他分野への波及効果も期待される。

2. 研究の目的

前述の背景をふまえ、本研究は回復期リハビリテーションへの人工 CO₂ 泉応用の可能性を探るための基礎資料を得るべく企画された。人工 CO₂ 泉に浸ると、浸漬部皮膚血管が拡張する。この血管拡張を引き起すメカニズムについて、血管作用を持つ体内因子の挙動と関連遺伝子情報の発現を動物実験により明らかにする。また、浸漬部皮下の骨格筋血流も増加すると示唆されていることから、被験者を用い筋への影響を明らかにし、動物実験により介在するメカニズムを明らかにする。これらを総合し、筋機能亢進や運動後の筋疲労回復に対する CO₂ 水浸漬の効果について検討するを目的とした。

3. 研究の方法

動物実験

実験には、これまでに基礎データの蓄積がある Wistar 系オス・ラットを用いた。ウレタンで麻酔 (1~1.1g/kg, ip) し、浸漬部 (胸骨以下) の体毛をバリカンで除去した。必要に応じ、血圧 (大腿動脈)、皮膚温、水温測定用の熱電対プローブ、皮膚組織血流と筋組織血流測定用のレーザードップラー・プローブを浸漬部の皮膚、および皮下の骨格筋表面に留置した。人工 CO₂ 泉浸漬により皮膚組織血流の増加が確認された個体を用い以下の解析を行った。

人工 CO₂ 泉浸漬による皮膚血管拡張作用の媒介物質として、予備実験で関与の可能性が示された 3 種の PG のうち PGE₂ 関与を確認すべく浸漬中の皮膚からサンプリングした皮膚ホモジェネートを ELISA 法による定量を繰返した。

人工透析用中空糸膜フィルター繊維を用いて微量透析用プローブを作成し、皮下に留置、生理食塩水を透析液として灌流し、人工 CO₂ 泉浸漬中の皮下の組織液 pH を計測した。

3 種の PG 生合成の最終段階を媒介する酵素の発現量変化を、皮膚ホモジェネ

ートから抽出・精製した totalRNA を cDNA マイクロアレイチップを用いて比較定量した。

レーザー・ドップラー法により、背腰部の皮膚組織血流と同時に大臀筋組織血流を測定した。

被験者実験

連携研究者との協力により、健康成人を被験者として人工 CO₂ 泉浸漬による筋疲労回復促進の可能性を検討した。

被験者に 100 回つま先立ち運動を負荷し、運動前後に腓腹部最大径、筋硬度を測定、筋痛程度を Visual Analog Scale で評価した。運動後に下腿を 10 分間 35 ° の人工 CO₂ 泉浸漬した群、同温の水道水に浸漬した群、室温で放置した群に分け、各パラメーターの変化を 5 日間追跡した。

4. 研究成果

予備実験結果から推定された通り、3 種の血管拡張生 PG の中で、同温の水道水浴中と比べ、CO₂ 泉浴中に PGE₂ のみ増加した。

CO₂ 泉浴中に皮膚血管拡張が確認された実験条件下で、皮下灌流液の pH は 7.4 から 7.2 まで減少した。

酵素蛋白質発現量に相当すると考えられる遺伝子発現量には変化が見られなかった。ただし、例数が水道水、CO₂ 泉とも十分ではないので、確定的な結論を導くには至っていない。

CO₂ 泉浴中に水道水浴中と比べ、より大きな皮膚血管拡張が確認された実験条件下では、皮下の骨格筋血管抵抗も減少しており、血管が拡張していた。

筋硬度が高まり、筋痛が生じる運動負荷後に、人工 CO₂ 泉浴をした群では同水温の水道水浴をした群と比べ、筋硬度の回復、筋痛からの回復が早まった。

以上の結果から、人工 CO₂ 泉浴は、少なくとも皮膚組織中では体液を酸性化し、PGE₂ 合成酵素の発現量ではなく、酵素の活性を高めることが示唆された。また、浸漬部の皮膚や筋の血管を拡張することにより、血流を増加させたことから、人工 CO₂ 泉浴は筋疲労からの回復を促進する可能性が示唆され、今後検証すべき仮説を提出することが出来た。

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 件)

Yamamoto, N. and Hashimoto, M. (2011) Bathing with CO₂-rich water improved physical flexibility in male college students. *J. Physiol. Sci.* 61: S240.

Kitao, N., Hashimoto, M. (2011) Brown adipose tissue thermogenesis in

hibernating hamsters – hibernation specific mechanism for cAMP production during arousal from hibernation. *J. Physiol. Sci.* 61: S245.

山本憲志, 根本昌宏, 橋本眞明 (2011) 運動後の人工炭酸泉浴がストレスを軽減させる可能性, *日本生気象学会雑誌* 48: S70.

Kitao, N., Hashimoto, M. (2012) Increased thermogenic capacity of brown adipose tissue under low temperature and its contribution to arousal from hibernation in Syrian hamsters. *Am. J. Physiol.* 302:R118-R125.

Hashimoto, M., Kitao, N. (2012) Hibernation specific BAT activities in the golden hamster. *J. Physiol. Sci.* 62: S52.

Hashimoto, M., Ohinata, H., Kitao, N. (2013) Molecular mechanism of a hamster brown adipose tissue enabling hibernation. *J. Physiol. Sci.* 63: S266.

Hashimoto, M., Ohinata, H., Kitao, N. (2013) Molecular mechanism of a hamster brown adipose tissue enabling hibernation. *J. Physiol. Sci.* 63: S266.

Yamamoto, N., Wada, T., Yanagi, H., Hashimoto, M. (2013) *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 45: S154-S155.

平林菜つ美, 村木香保, 中村綾香, 深田英麿, 大日向浩, 橋本眞明 (2013) 島根県奥出雲地方の鉱水長期投与によるマウスの血中脂質濃度と血糖値への影響, *日本生気象学会雑誌* 50: S58.

村木香保, 平林菜つ美, 中村綾香, 深田英麿, 山本憲志, 橋本眞明 (2013) 麻酔下ラットの人工二酸化炭素泉浸漬による骨格筋血流への効果, *日本生気象学会雑誌* 50: S31.

Fujita, Y., Inoue, K., Amano, H., Uchida, T., Moriyama, S., Hashimoto, M. (2014) Does Jin-Oh-Sui (mineral water) improve serum triglyceride levels? A pilot study. *Shimane J. Med. Sci.* 30: 87-93.

Hashimoto, M., Yamamoto, N. (2014) Candidate mechanism of skin vasodilation caused by contact with high concentration-CO₂-water in the anesthetized rat. *J. Physiol. Sci.* 64: S217.

Yamamoto, N., Hashimoto, M. (2014) High concentration-CO₂-water bath may reduce the muscle hardness and soreness after resistance exercise. *J. Physiol. Sci.* 64: S264.

[学会発表](計 15件)

Hashimoto, M., Yamamoto, N. Physiological evidence in spa-sure: cutaneous mediators of improved local blood circulation by CO₂-hot spring water bathing. 19th International

Congress of Biometeorology (ICB2011), 5-8. Dec.. 2011, Auckland, New Zealand.

Yamamoto, N., Hashimoto, M. Bathing with CO₂-rich water improved physical flexibility and muscle stiffness in male college students. 19th International Congress of Biometeorology (ICB2011), 5-8. Dec.. 2011, Auckland, New Zealand.

山本憲志, 根本昌宏, 橋本眞明 運動後の人工炭酸泉浴がストレスを軽減させる可能性, 第 50 回日本生気象学会大会(京都, 2011年11月4-5日)

橋本眞明, 北尾直也 ゴールデンハムスター褐色脂肪組織の冬眠相特異的な活性と冬眠行動におけるその重要性, シンポジウム「新たにわかった褐色脂肪の生体機能とそのメカニズム」, 第 89 回日本生理学会大会(松本, 2012年12月29-31日)

Hashimoto, M., Ohinata, H., Kitao, N., High-performance thermogenesis of brown adipose tissue under hypothermic condition during hibernation in Syrian hamsters. 37th congress IUPS, (Birmingham, UK) 2013.7.21-26.

Yamamoto, N., Hashimoto, M. Bathing with artificial high concentration CO₂-water affected quiet standing posture control. 37th congress IUPS, (Birmingham, UK) 2013.7.21-26.

橋本眞明, 大日向 浩, 北尾直也 冬眠を可能にするハムスター褐色脂肪組織の分子機構, 第90回日本生理学大会(東京, 2013年3月27-29日)

平林菜つ美, 村木香保, 中村綾香, 深田英麿, 大日向浩, 橋本眞明 島根県奥出雲地方の鉱水長期投与によるマウスの血中脂質濃度と血糖値への影響, 第 52 回日本生気象学会大会(米子, 2013年11月1-2日)

村木香保, 平林菜つ美, 中村綾香, 深田英麿, 山本憲志, 橋本眞明 麻酔下ラットの人工二酸化炭素泉浸漬による骨格筋血流への効果, 第 52 回日本生気象学会大会(米子, 2013年11月1-2日)

橋本眞明, 山本憲志 麻酔下ラットの高濃度二酸化炭素水浸漬による皮膚血管拡張と媒介物質, 第 91 回日本生理学会大会(鹿児島, 2014年3月16-18日)

山本憲志, 橋本眞明 人工炭酸泉浴がレジスタンス運動後の筋硬度と筋肉痛を低減させる可能性, 第 91 回日本生理学会大会(鹿児島, 2014年3月16-18日)

[図書](計 3件)

橋本眞明 (2011) 13 章 自律神経系, 彼未・能勢編集「やさしい生理学 改訂第 6 版」, 朝倉書店, 東京, pp.233-244.

Hashimoto, M., Kitao, N., Yamamoto, N., Omega-6-eicosanoid may be involved in the cutaneous vasodilation mechanism of the rat bathing in

CO₂-rich water. F.Maraver & M.Z.Karagülle (Eds) 'Medical Hydrology and Balneology: Environmental Aspects', Publicaciones Universidad Complutense De Madrid, 2012, pp311-312.

Yamamoto, N., Hashimoto, M. High concentration artificial CO₂-water immersion facilitates a recovery from muscle fatigue after submaximal exercise. F.Maraver & M.Z.Karagülle (Eds) 'Medical Hydrology and Balneology: Environmental Aspects', Publicaciones Universidad Complutense De Madrid, 2012, pp336-337.

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 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 0 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

橋本 眞明 (HASHIMOTO, Masaaki)
帝京科学大学・医療科学部・教授
研究者番号：30156294

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

山本 憲志 (YAMAMOTO, Noriyuki)
日本赤十字北海道看護大学・看護学部・准教授
研究者番号：70299329