

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：13904

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500779

研究課題名(和文) 運動およびトレーニングが内因性一酸化炭素産生に及ぼす影響

研究課題名(英文) Effect of exercise training on endogenous carbon monoxide exhalation in humans.

研究代表者

安田 好文 (Yasuda, Yoshifumi)

豊橋技術科学大学・工学部・教授

研究者番号：70126952

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ガス状伝達物質として注目されている一酸化炭素に着目し、運動時における一酸化炭素呼気排出量を計測するとともに、血中の一酸化炭素含量を定量化するための測定法の開発、さらにはマウスを用いて運動・トレーニングによる筋組織におけるヘムオキシゲナーゼ活性の変化について検証することを目的とした。呼気一酸化炭素排出量は、ランブ負荷運動中直線的に増大し、運動終了後速やかに回復することが明らかになった。また、多波長の光源を複合的に用いることにより経皮的に一酸化炭素ヘモグロビン濃度を計測する装置の開発と基礎実験を完了した。さらに、一過性走運動によりマウス腓腹筋のヘムオキシゲナーゼ活性の上昇を確認した。

研究成果の概要(英文)：In the present study we aimed to measure exhaled carbon monoxide (CO) during and after exercise in smokers and non-smokers. We could observe that exhaled carbon oxide increased relative to exercise intensity and decreased rapidly after exercise. The amounts of CO exhalation in smokers were significantly larger than those of non-smokers. We also attempted to develop a prototype model to estimate carboxyhemoglobin concentrations (COHb) transcutaneously in the blood using multi-wavelength optical sources. The COHb could be continuously measured by a prototype model, however problems relevant to the stability and resolution still remained. Furthermore, we also measured the expression of heme oxygenase-1 and -2 which are the enzymes producing CO in mice, and found that the expression of these enzymes in the skeletal muscles increased with acute exercise and strength training.

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学

キーワード：ガス状伝達物質 一酸化炭素 硫化水素 ヘムオキシゲナーゼ パルスオキシメータ カーボライザー

1. 研究開始当初の背景

2000年代に入るとWuとWangによる一酸化炭素(CO)に関する優れた総説(Pharmacol Rev, 2005)に続いて、Ryterのグループ(Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2006)やMannとMotterlini (Chem Commun, 2007)による総説が発表され、一酸化窒素(NO)に続くこのガス状伝達物質に世界中の関心が寄せられるようになってきた。一方、呼気ガスを生体情報のバイオマーカーとして、病気の診断等に利用する試みも広く行われるようになってきており、事実、気道、肺等の炎症性疾患により呼気NO、COが増大することも報告された。これらの一連の動きの中で、運動により呼気CO排出量が増大することも示唆された(Horváth et al, 1999, Wyse et al, 2005)。しかしながら、運動時の呼気CO動態を詳細に検討した報告は行われておらず、また運動時の呼気CO測定の意義についても明らかにされてこなかった。

申請者である安田は、これまで主に運動時の呼吸・循環機能に関する研究を行って来ており、1990年代後半に呼気NO排出量を高所トレーニング効果の視点から測定した実績を有する。

以上のようなCO研究の世界的な高まりと、運動生理学、呼吸生理学から見て呼気NO、COを測定する必要性が高まったことが、研究申請の背景となった。

2. 研究の目的

一酸化炭素(CO)は、生体内で内因性に生成され、神経情報伝達、活性酸素に対する防御作用、血管トーン調節、動脈硬化防御、平滑筋や線維芽細胞の増殖抑制、抗炎症作用など、多様な生理・病理作用に関係する。これらの作用は、運動・トレーニングにも関係すると考えられるが、これまで体系的なアプローチは行われてこなかった。そこで本研究では、ヒトを対象としてCO産生を定量的かつ連続的に計測・評価するシステムの開発を行い、それを用いて、各種運動・トレーニングによるCO産生への影響とその生理学的意義を明らかにするとともに、COとその他のガス(NOおよびH₂S)との関係についても検討することを目的とする(研究計画調書)

3. 研究の方法

(1)ランブ負荷運動時の呼気CO動態の計測
 ・被験者は健康な男性被験者16名(8名は喫煙者、残りは非喫煙者)とする。
 ・自作の自転車エルゴメータを用い、ランブ負荷法による漸増負荷運動を毎分心拍数が170 beats/min 超えるまで実施させた。
 ・換気ガス交換データの測定には、Mixing chamber法を用い、測定間隔30秒ごとに測定した。呼気CO濃度の測定には、カーボライザー(mBA-2000, タイヨウ)を用い、サンプルガスはmixing chamberより吸引させた。

呼気CO排出量(VCO)の計算方法は

$$VCO = V_{E(STPD)} \times (F_{ECO} - F_{ICO})$$

とした。
 ・呼気ガスの測定は、安静2分、無負荷運動3分、ランブ負荷運動中、および運動終了後5分間行った。

(2)ランブ負荷運動時の呼気H₂S排出量

・被験者は、健康な男性8名とした。
 ・実験方法は、前述(1)方法に倣い実施した。運動の終了は、心拍数が180 beats/minを超えるか、あるいは急激な換気の増大が観察された時点とした。
 ・呼気H₂Sの測定にはハリメータ(RH17K, Interscan)を用いた。ハリメータのアナログ出力値にはノイズが含まれており、10Hzのローパスフィルター処理後、移動平均法によりデータの平滑化を行った。

(3)運動・トレーニングがマウス骨格筋ヘムオキシゲナーゼ活性に及ぼす影響

・12週齢のICR雄マウスを用い、30 m/minの速度で一過性の運動(10, 20, 30分)による腓腹筋内のヘムオキシゲナーゼ-1、および-2(HO-1, HO-2)の免疫活性を蛍光免疫組織染色法で調べた(実験A)。また同マウスを対象に、腓腹筋、ヒラメ筋の腱を切除したことによる影響を足底筋で調べた。この実験は、対象筋である足底筋への機械的負荷が増大するため、筋力トレーニングモデルとして考えられている(実験B)。

(4)一酸化炭素ヘモグロビンの光計測

・動脈中の一酸化炭素ヘモグロビンの光計測法の確立に向け、光学的諸問題への理論的アプローチとともに、prototypeの設計・製作、およびヒトを対象とした検証実験を行った。

4. 研究成果

(1)ランブ負荷運動時の呼気CO動態の計測

・ランブ負荷運動中、呼気CO濃度は漸減し、呼気CO排出量は、ほぼ直線的に増大した。運動終了後およそ5分以内で、呼気CO濃度、および呼気CO排出量は、安静時レベルに回復することを確認した。
 ・ランブ負荷運動中の呼気CO排出量と酸素摂取量との間には、高い相関性が存在することを確認した(図1)。

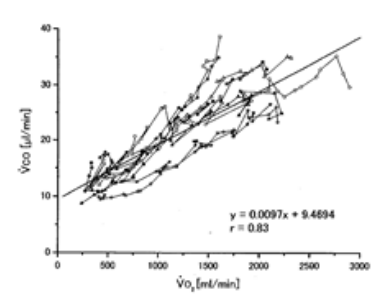


図1. 非喫煙者における運動時の酸素摂取量と呼気CO排出量との関係

- ・喫煙者の安静時および運動時の呼気 CO 濃度、および呼気 CO 排出量は、非喫煙者に比べ有意に高い値を示すことを確認した。
- ・これらの結果は、論文、および学会発表で報告した。

(2) ランプ負荷運動時の呼気 H₂S 排出量

- ・無負荷運動の開始に伴い、呼気 H₂S 濃度は安静時に比べ一過性に増加したが、ランプ負荷運動中は漸減した。一方、呼気 H₂S 排出量は、運動終了まで直線的に増大した。
- ・ランプ負荷運動時の呼気 H₂S 排出量と酸素摂取量との間には高い直線性が存在した。しかしながらその傾きには大きな個人差が観察された(図 2)。
- ・唾液を飲み込んだとき、あるいはゲップ時には、一過性の呼気 H₂S 濃度の上昇が観察された。これは主に食道、胃由来と考えられ、今後の研究課題である。
- ・これらの結果は、論文で報告した。

(3) 運動・トレーニングがマウス骨格筋ヘムオキシゲナーゼ活性に及ぼす影響

- ・実験 A では、10 分間の運動によりマウス腓腹筋内の H0-1 が消失したが、30 分の運動では免疫活性が増加した。また H0-2 の免疫活性は一過性の運動による変化は観察されなかった。
- ・実験 B では、トレーニング 4 日目の足底筋内の衛生細胞、筋管細胞において、H0-1, H0-2 の活性の上昇が確認された。さらにトレーニング 6 日目の衛生細胞に H0-2 の活性の上昇が確認されたが、H0-1 は確認できなかった。
- ・これらの結果より、運動・トレーニングにより H0-1, H0-2 の発現様式には違いがあることが示唆された。

(4) 一酸化炭素ヘモグロビンの光計測

- ・多波長光源を有する近赤外光酸素濃度装置の開発を完了するとともに、ウシ保存血と光散乱体を用いた生体模擬試料を対象として検証実験を行い、従来手法に比べ、微小な変化を検出できることを確認した。しかしながら、血液ガス分析装置(Rapidpoint500, Siemens)を用いて測定したヒト静脈血一酸化炭素ヘモグロビン値との相関は 0.45 で低値であった。

(5) 成果報告会

平成 26 年 3 月 7 日に本研究に参加したメンバーによる成果報告会を豊橋技術科学大学で実施した。発表内容は以下の通り。

- 1) ガス状伝達物質の overview (安田)
- 2) 呼気ガス分析と GTs および VOCs(齊戸)
- 3) 運動と呼気 GTs(安田)
- 4) 血中 CO の光計測(庭山)
- 5) 血中 CO の定量化(竹内)
- 6) 運動トレーニングと筋ヘムオキシゲナーゼ(佐久間)

7) 病態と GTs および VOCs(澤野)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 10 件)

安田好文、ランプ負荷運動時における呼気硫化水素排出量の動態、豊橋技術科学大学総合教育院紀要、査読無、36、2014、77-87

Y. Yasuda, Pathophysiological significance of measuring exhaled gasotransmitters during exercise. J. Phys. Fitness Sports Med. 2, 2014, 311-318

DOI:10.7600/jpfsm.2.311

M. Niwayama, T. Yamakawa, Implantable thin NIRS probe design and sensitivity distribution analysis. Electronics Letters, 50, 2014, 346-348

DOI:10.1049/el.2013.3921

T. Yamakawa, T. Inoue, Y. He, M. Fuji, M. Suzuki, M. Niwayama, Development of an implantable flexible probe for simultaneous near-infrared spectroscopy and electrocorticography. IEEE Trans. Biomed. Eng. 61, 2014, 388-395

DOI: 10.1109/TBME.2013.2279888

I. Ueta, Y. Saito, Needle-type extraction device designed for rapid and sensitive analysis in gas chromatography. Analytical Sciences, 30, 2014, 105-110

DOI:10.2116/analsci.30.105

I. Ueta, E.L. Samsudin, A. Mizuguchi, H. Takeuchi, T. Shinki, S. Kawakubo, Y. Saito, Double-bed-type extraction needle packed with activated-carbon-based sorbents for very volatile organic compound. J. Pharm. Biomed. Anal. 88, 2014, 423-428

DOI: 10.1016/j.jpba, 2013.09.028

K. Sakuma, A. Yamaguchi, Serum response factor (SRF)-dependent signaling in regenerating, hypertrophied, and pathological skeletal muscle. Fron. Pathol. Genet, 1, 2013, 1-8

安田好文、竹内隼人、齊戸美弘、ヘッドスペース法を用いた血中一酸化炭素濃度測定の有効性、豊橋技術科学大学総合教育院紀要、35、2013、47-55

M. Niwayama, H. Suzuki, T. Yamashita, Y. Yasuda, Error factors in oxygenation measurement using continuous and spatially resolved near-infrared spectroscopy. J. Japanese College Angiology, 52, 2012, 211-215

Y. Yasuda, T. Ito, M. Miyamura, M.

Niwayama, J. Effect of ramp bicycle exercise on exhaled carbon monoxide in humans. *Physiological Sciences*, 61, 2011, 279-286
DOI: 10.1007/s12576-011-0145-z

〔学会発表〕(計 9件)

木梨公介、安田好文、河村正造、ペダリング技術が自転車運動の伝達効率および酸素摂取量に及ぼす影響、日本体力医学会東海地方会学術集会、2014.3

木梨公介、安田好文、河村正造、田畑昭英、ペダリング技術が自転車運動の力の伝達効率、筋電図、および機械的効率に及ぼす影響、スポーツアンドヒューマンダイナミクス 2013、2013.11

M. Niwayama, Quantitative and convenient measurement of hemodynamics using spatially-resolved infrared spectroscopy. *International Symposium of Interdisciplinary Domain Research* 2013, 2013.11

塩見将平、庭山正嗣、NIRSによる筋組織を対象とした関心領域の酸素濃度測定、平成25年度日本生体医工学東海支部大会、2013.10

佐久間邦弘、山口明彦、サルコペニア(加齢性菌減弱症)の分子メカニズム、第68回日本体力医学会大会、2013.9

水口礼子、植田郁生、川久保進、齊戸美弘、室内空气中の揮発性有機化合物濃縮用の粒子2層充填型抽出針の開発、日本分析化学会第73回分析化学討論会、2013.5

Y. Saito, K Ueta, S. Fujimura A. Ellwood, Miniaturized sample preparation needle for human breath analysis in capillary gas chromatography, *International Breath Research*, 2012.10, USA

野中修一、安田好文、河村庄造、カオス解析を用いた高齢者の歩容に関する研究、医学・工学における逆問題とその周辺研究会、2012.3

Y. Yasuda, T. Ito, M. Miyamura, M. Niwayama, Effect of ramp bicycle exercise on carbon monoxide exhalation in smokers and non-smokers. *International Conference on Breath Research*, 2011.9, Italy

〔図書〕(計 3件)

安田好文、呼吸微量ガス、宮村実晴編、真興交易(株)医書出版部、身体運動と呼吸・循環機能、2012、pp. 126-140

K. Sakuma, A. Yamaguchi, An overview of the therapeutic strategies for preventing sarcopenia. (In) K. Sakuma (Ed), *Nova Science Publishers, Basic biology and current understanding of skeletal muscle*. 2013, pp.87-122、

M. Niwayama, Y. Yamashita, Photon

migration in tissue, (In) J. Thmas, K. Masuda (Eds), *Application of near infrared spectroscopy in biomedicine*. Springer, 2013, pp. 21-35

〔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

安田 好文 (YASUDA Yoshifumi)
豊橋技術科学大学・工学部・教授
研究者番号：70126952

(2) 研究分担者

齊戸 美弘 (SAITO Yoshihiro)
豊橋技術科学大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：00303701

研究分担者

佐久間 邦弘 (SAKUMA Kunihiro)
豊橋技術科学大学・工学部・准教授
研究者番号：60291176

研究分担者

庭山 雅嗣 (NIWAYAMA Masatsugu)
静岡大学・工学部・准教授
研究者番号：40334958