

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500800

研究課題名(和文) 暑熱曝露下運動による熱中症発症および予防に対する 酸化系脂質代謝の関与

研究課題名(英文) Effects of beta-oxidative lipid metabolism on onset and prevention of heat stroke by the heat exposure at exercise

研究代表者

櫻村 修生 (Kasimura, Osamu)

東京農業大学・国際食料情報学部・教授

研究者番号：40161020

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、まず、熱中症発症モデルラットを作製し、熱中症の発症時の組織代謝について検討した。次に、そのモデルラットを用いて、熱中症予防法について検討して。その結果、熱中症発症時には、骨格筋、小腸、心筋、腎臓、肝臓の順に熱ストレスが負荷され、さらに、酸化系脂質代謝の酵素活性が低下することがわかった。また、熱中症の発症を抑制するため、暑熱曝露下運動前に、リノレイン酸を豊富に含む食品を投与すると、組織熱ストレスが軽減され、組織における脂質代謝の低下が抑制されることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：At first study, we made the heat stroke onset model rats, and this study examined tissue metabolism at onset of the heat stroke. Then, using those model rats, next study examined heat stroke prophylaxis. As the results, at the heat stroke onset, heat stress was burdened in order of the skeletal muscles, small intestine, cardiac muscle, kidney and liver, and that enzyme activities of the fat metabolisms beta-oxidation decreased more. Also, when it gave the Reno lane acid-rich food before exercise under heat exposure, it was found that to inhibit the onset of the heat stroke, tissue heat stress and the decrease of the fat metabolism in the tissue.

研究分野：運動生理学

キーワード：熱中症 酸化系脂質代謝 ヒドロアシルCoA脱水素酵素活性 熱ショックタンパク質72

1. 研究開始当初の背景

2010年および2011年夏、日本の猛暑は多くの熱中症患者や死亡者を出した。消防庁統計によると、近年、熱中症による救急搬送者数および死亡者数は、児童生徒や成人では運動や労働場面で急増している。また、2011年3月の東日本大震災による原発事故は、夏の節電熱中症や原発事故修復にともなう労働者の熱中症を多発させ、改めて熱中症が注目されることとなった。熱中症の発症タイプには2つあり、暑熱曝露のみによる発症と、暑熱曝露に筋活動が加わる発症に分けられる。とくに、暑熱曝露下運動は体温の上昇も著しくエネルギー消費も多いことから、熱中症の重症度は増すとされるが発症のメカニズムの検討は少ない。一方、2011年、行岡らは熱中症の新しいリスクファクターとして熱不安定性フェノタイプ症が存在することを発表した。これは、重症化した熱中症患者では、高熱にともないカルニチンアシル基転移酵素 (CPT) 活性が顕著に低下し、血管内皮細胞や臓器において脂肪酸をエネルギー基質とする酸化系代謝が低下し多臓器損傷・不全に進行するものであり、熱中症発症の新しいメカニズムとして世界で注目されている。

2. 研究の目的

ラットを用い、暑熱曝露下運動時による熱中症発症時の各組織の CPT 活性にともなう脂肪酸酸化酵素の関与について検討するとともに、代謝不全時に生じる血管内皮障害による熱ストレスタンパク質発現を検討することである。

3. 研究の方法

1) 暑熱曝露時と暑熱曝露下運動時の組織酸化系脂質代謝および組織損傷の比較検討 (櫻村と星が分担して実施、大学院博士後期課程院生・原健太が実験補助) 実験動物として SD ラット、12週齢 40匹を用いる。ラットは、あらかじめ小動物用トレッドミル (シナノ製作所) において、1日 15分間ランニング練習を1週間実施し慣れさせる。その後、ラットは、無作為に 10匹ずつ 4群に分ける。

2) 暑熱曝露および暑熱曝露下運動の実験 (櫻村が中心で実施、院生・原が補助) 下記の4群に分け実験を行う。とくに、とこの群は、直腸温が 40 (熱中症が発症する下限閾値) まで上昇する同じ条件とする。なお、各曝露には、小動物用人工気候室 (YHS社) を用い、相対湿度は約 30% に調節し、気温はそれぞれ 22 および 38 に調節する。運動は、先行研究より相対運動強度 50% に相当するランニングスピード 20m/min で実施する。

気温 22 曝露 60分間

気温 38 曝露 60分間 (我々の先行研究より直腸温がほぼ 40 になる条件)

気温 38 曝露下運動 30分間 (我々の先行研究より直腸温がほぼ 40 になる条件)

気温 22 曝露下運動 30分間

3) 曝露中の測定 (櫻村が中心で実施、院生・原が補助)

各曝露中の直腸温は、ラット肛門から直腸温測定用サーミスタ-を約 4cm 挿入固定し、30秒間隔で測定する。なお、ラットがサーミスタ- (タカラ) 挿入に慣れるよう、実験前 (ランニング練習期間) 1週間毎日挿入固定を 1時間おこなう (サーミスタ-挿入練習)。

4) 曝露終了後の測定 (櫻村が中心で実施、星が酵素活性分析を担当、院生・原が補助)

組織の摘出と保存: ラットは、上記の4条件曝露終了直後、麻酔下で脱血採血死させ、直ちに脳幹、右心室壁と左心室壁、肺、腎、肝、腓腹筋を摘出し液体窒素にて凍結し -80 で保存する。

血液分析: 脱血した血液は、直ちに血球測定装置 (セルタック、日本光電) において、脱水の指標となるヘマトクリット等を測定する。

組織の分析: 凍結保存した組織は、ホモジネート後遠心分離し上澄み液を抽出し、酸化系脂質代謝に關与する酵素反応は分光光度計 (340~412nm) を用いて測定し、組織ストレスや損傷に關与するタンパク発現は、Western blot 法 (電気泳動装置、アト-) で解析する。CPT 活性: Abel の方法を用い、酵素反応を測定する。3-ヒドロキシアシル-CoA 脱水素酵素 (HAD) 活性: Bass らの方法を用い、酵素反応を測定する。クエン酸合成酵素 (CS) 活性: Srere の方法を用い、酵素反応を測定する。熱ショックタンパク質 (HSP72) 発現を解析する。

4. 研究成果

本研究は、無麻酔・無拘束下ラットを用い自律性体温調節が機能する状態において、暑熱曝露時の組織での熱ストレスタンパク 72 (Hsp72) 発現を解析した。ラットは、22 曝露群、39 曝露群、40 曝露群、41 曝露群、42 曝露群に分け、左心室壁、視床下部、肝臓、腎臓およびヒラメ筋における Hsp72 発現を解析した。暑熱曝露終了後の直腸温は、22 群と比較して 39 から 42 群で有意に上昇したが ($p < 0.05$)、暑熱曝露群間において差はなかった。ヒラメ筋 Hsp72 発現は、22 群と比較して 41 および 42 群で有意に増大した ($p < 0.05$)。各内臓における

Hsp72 発現は、各群で差は認められなかった。以上より、無麻酔・無拘束下ラットにおける暑熱曝露実験では、末梢組織における循環血流量増加および唾液分泌・塗布行動による熱放散から直腸温の過度の上昇が抑制され、内臓での Hsp72 発現は増大せず骨格筋でのみ増大した。これより、自律性体温調節が正常に機能し、暑熱曝露ラットの熱射病発症を防いだと推察される。また、骨格筋 HAD 活性および LDH 活性は、HEX が他条件に比較して有意に低値を示した。しかし、CS 活性には、4 条件で差はなかった。

まとめ：熱中症発症モデルラットは、体温の上昇が 6°C 以上、脱水率 3% 程度の状態で、Hsp72 発現量が Cont 条件の約 16 倍になり、骨格筋 HAD および LDH 活性は低下を示した。つまり、重度の熱中症の発症時には、骨格筋で熱ストレスが増大し脂質および糖質代謝が低下し、ATP の産生が減弱していることが推察され、臓器不全の招く可能性のあることが確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

榎村修生, 星秋夫: 日常生活における熱中予防, 公衆衛生, 査読有, 79, 2-7, 2014.

榎村修生, 星秋夫: 熱中症とその予防, 繊維機械学会誌, 査読有, 67, 467-474, 2014.

榎村修生, 星秋夫: 日常生活における熱中症予防, 79, 2-7, 2014.

Sarai T, Kashimura O, Kano Y, Li L, Izawa T, Best TM: Role of nitric oxide in muscle regeneration following eccentric muscle contractions in rat skeletal muscle. J Physiol Sci, 査読有, 63, 263-270, 2014.

DOI: 2013.10.1007/s12576-013-0262-y

田中弘之, 榎村修生: 高血圧自然発症ラットにおける内皮型一酸化窒素合成タンパク質およびアンジオテンシン受容体タンパク質の発現に及ぼすカムカム果皮抽出液の影響. 栄養学雑誌, 査読有 72, 33-39, 2014.

Tanaka H, Kashimura O: Induction of endothelial nitric oxide synthase by oral administration of Cume-Cume fruit juice to spontaneously hypertensive rats. 日本健康医学会雑誌, 査読有, 22, 44-50, 2014.

田中弘之, 榎村修生, 鈴木健太, 豊原秀和: 高血圧自然発症ラットにおけるカムカム果汁投与による血圧抑制に内皮型一酸化窒素合成酵素が与える影響, 日本保蔵科学会誌, 査読有, 40, 22-50, 2014.

石橋祐理子, 桜井智野風, 榎村修生: 無拘束ラットにおける暑熱曝露が組織熱ストレスタンパク発現に及ぼす影響, 日本生気象学雑誌, 査読有, 49, 172-180, 2013.

〔学会発表〕(計 7 件)

坂手誠治, 柳沢香絵, 榎村修生: 室内プール利用者の運動時の発汗, 体温及び飲水の実態, 日本スポーツ栄養学会, 2014 年 7 月 12 日-13 日, (早稲田大学)

榎村修生, 齊藤雄司, 桜井智野風: 熱中症発症モデルラットにおける組織熱ショックタンパク質発現および代謝酵素活性の変化, 日本生気象学会, 2014 年 5 月 31 日 (桐蔭横浜大学)

齊藤雄司, 榎村修生, 野田恒行, 桜井政夫: ハウス栽培農業従事者における熱中症発生と生活状況の関連, 2014 年 5 月 31 日 (桐蔭横浜大学)

榎村修生, 野田恒行, 桜井政夫, 齋藤雄司: 夏期暑熱環境下ハウス栽培作業時における温熱生理反応, 日本産業衛生学会, 2014 年 5 月 22 日-24 日 (岡山コンヨンセンター)

齊藤雄司, 榎村修生, 野田恒行, 桜井政夫: ハウス栽培農業従事者における熱中症発生および作業時の水分補給状況, 2013 年 11 月 1 日-2 日 (米子市文化ホール)

榎村修生, 鈴木英悟, 星秋夫, 齊藤雄司: ラットにおける暑熱曝露時の深部体温上昇にともなう組織熱ショックタンパク質発現および血中逸脱酵素の変化. 日本生気象学会, 2012 年 11 月 9 日-10 日 (松本市キッセイホール)

鈴木英悟, 榎村修生, 寄本明, 中井誠一: 中高齢者における夏季暑熱環境下農作業時の体温調節反応の特性, 日本生気象学会, 2012 年 11 月 9 日-10 日 (松本市キッセイホール)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

榎村修生 (Kashimura Osamu)

東京農業大学・国際食料情報学部・教授

研究者番号：40161020

(2)研究分担者

星秋夫 (Hoshi Akio)

桐蔭横浜大学・スポーツ健康科学部・教授

授

研究者番号：20139265