

高気圧・高濃度酸素への曝露がラットヒラメ筋線維のサイズと酸化系酵素活性に及ぼす影響

京都大学大学院人間・環境学研究科 石原昭彦、永友文子

大阪大学大学院医学系研究科 大平充宣

Effects of hyperbaric exposure with high oxygen concentration on size and oxidative enzyme activity of soleus muscle fibers in rats

Akihiko Ishihara, Fumiko Nagatomo

Graduate School of Human and Environmental Studies, Kyoto University, Kyoto 606-8501

E-Mail: ishihara@life.mbox.media.kyoto-u.ac.jp

Yoshinobu Ohira

Graduate School of Medicine, Osaka University, Toyonaka 560-0043

Abstract: Eight-week-old rats were subjected to hyperbaric exposure (950 mmHg) with high oxygen concentration (36%) for 2 weeks, followed by hindlimb unloading for 2 weeks. The fiber type distributions, cross-sectional areas, and oxidative enzyme activities in the soleus muscles of these rats were compared with those of hindlimb-unloaded rats without hyperbaric oxygenation. A type shift of fibers from type I to type IIA and decreased fiber succinate dehydrogenase (oxidative enzyme) activity of the muscle exposed to hyperbaric oxygenation were inhibited after hindlimb unloading. In contrast, the fiber cross-sectional area of the muscle was not influenced by hyperbaric oxygenation. It is concluded that hyperbaric exposure with high oxygen concentration used in this study is effective to inhibit a decrease in oxidative metabolism of skeletal muscles, which is induced by unloading.

Key words: Cross-sectional Area, High Oxygen Concentration, Hindlimb Unloading, Hyperbaric Exposure, Recovery, Soleus Muscle, Rat

I. 緒言

微小重量への曝露は、骨格筋線維の萎縮や酸化系酵素活性の低下、遅筋線維から速筋線維へのタイプ移行を引き起こす [1]。微小重量への曝露によって生じる筋線維の萎縮や変性を抑制したり、早期に回復させるには、微小重量への曝露の前後、または微小重量への曝露中に何らかの対抗措置を施す必要がある。

高気圧・高濃度酸素への曝露は、溶存酸素や血流量（血流速度）の増大、血管の拡張を引き起こすので、骨格筋の萎縮・変性を効果的に抑制・改善できると考えられる。我々は、気圧を上昇させて、さらに酸素濃度を増大できる酸素チャンバーを開発した [2]。発育期のラットを 1.25 気圧、36% の酸素濃度に 1 日に 1 回、12 時間にわたり曝露したところ、4 週間後に神経・筋の酸化系酵素活性と運動能力に増大が認められた [3]。

微小重量をシミュレーションできる後肢懸垂によって筋線維の萎縮、タイプ移行、酸化系酵素活性の減少が認められる [4]。本研究では、生後 8 週齢のラットを 2 週間にわたって高気圧・高濃度酸素に曝露、その後、2 週間にわたって後肢懸垂を施した。すなわち、高気圧・高濃度酸素への曝露によって、その後の後肢懸垂により生じる筋線

維のタイプ構成比、横断面積、酸化系酵素活性がどのような影響を受けるのかを検討した。

II. 実験方法

生後 8 週齢の Wistar 系雄ラットを 2 週間にわたり普通飼育する群 (NC 群と NS 群) と酸素チャンバーを用いて高気圧・高濃度酸素に曝露する群 (HC 群と HS 群) に分けた (各群 6 匹)。その後、2 週間にわたって後肢懸垂を施して、後肢の骨格筋に負荷が加わらないようにする群 (NS 群と HS 群) と普通飼育する群 (NC 群と HC 群) に分けた。酸素チャンバーで飼育する群については、1 日に 1 回、12 時間にわたり 1.25 気圧、36% の酸素濃度の環境に曝露した。すべての群に対して餌と水は自由に摂取させた。

ネンブータル麻酔下でヒラメ筋を摘出した。その後、液体窒素で冷却したイソペンタン中で急速凍結した。クリオスタットにより厚さ 20 μm の連続切片を作成した。切片には、アルカリ (pH 10.4) と酸性 (pH 4.3 と pH 4.5) での前処理の ATPase 染色を施した。さらに酸化系酵素 (succinate dehydrogenase, SDH) 染色を施した。

染色後の組織像をコンピュータに取り込んで画像処理装置により解析した。ATPase 染色の反応が

ら筋線維を type I、type IIA、type IIC の 3 タイプに分類した [5]。その後、筋線維のタイプ別に横断面積を測定した。また、SDH 染色の反応から筋線維のタイプ別に酸化系酵素活性を測定した [6]。

III. 結果

筋線維のタイプ構成比：type I 線維の割合は、NC 群 > HC 群 = HS 群 > NS 群であった。一方、type IIA 線維の割合は、NC 群 < HC 群 = HS 群 < NS 群であった。type IIC 線維の割合については、各群で違いはみられなかった。

筋線維の横断面積：NS 群と HS 群では、すべてのタイプの筋線維で横断面積の減少が認められた。

筋線維の酸化系酵素活性：NS 群では、すべてのタイプの筋線維で酸化系酵素活性の減少が認められた。一方、HS 群では、いずれのタイプの筋線維でも酸化系酵素活性に変化はみられなかった。

IV. 考察

2 週間の後肢懸垂によって、遅筋線維から速筋線維へのタイプ移行、すべてのタイプの筋線維で萎縮と酸化系酵素活性の減少が認められた。これらの研究成果は、先行研究の結果と一致している [4]。

先行研究 [7] では、後肢懸垂により生じた筋線維のタイプ移行、筋線維の萎縮や酸化系酵素活性の減少を回復期に行う走運動によって効果的に回復させることに成功している。このような効果は、走運動が筋線維の有酸素的な代謝を増大させたことによるものと考えられる。

高気圧・高濃度酸素への曝露によって神経・筋の代謝が増大することが報告されている [3]。したがって、走運動と同様に後肢懸垂からの回復期に高気圧・高濃度酸素に曝露することによって骨格筋の変性・萎縮からの早期回復が期待できる。

本研究では、ラットを 2 週間の高気圧・高濃度酸素の環境に曝露した後、2 週間にわたって後肢懸垂した。その結果、後肢懸垂によって生じる酸化系酵素活性の減少を抑制することができた。したがって、高気圧・高濃度酸素への曝露で骨格筋の有酸素的な代謝を向上できたことによって、その後の後肢懸垂中に骨格筋線維の酸化系酵素活性

を維持できたと推察される。一方、筋線維のタイプ移行と横断面積の減少は、高気圧・高濃度酸素への曝露の影響を受けなかった。これについては、さらに検討が必要と考えられる。

本研究は、日本宇宙航空研究開発機構、日本宇宙フォーラムの助成を受けた。

文献

- [1] Ohira Y. Neuromuscular adaptation to microgravity. *Jpn J Physiol* **50**: 303-314, 2000.
- [2] Ishihara A, Kawano F, Okiura T, Morimatsu F, Ohira Y. Hyperbaric exposure with high oxygen concentration enhances oxidative capacity of neuromuscular units. *Neurosci Res*, **52**: 146-152, 2005.
- [3] Matsumoto A, Okiura T, Morimatsu F, Ohira Y, Ishihara A. Effects of hyperbaric exposure with high oxygen concentration on the physical activity of developing rats. *Dev Neurosci*, **29**: 452-459, 2007.
- [4] Ishihara A, Oishi Y, Roy RR, Edgerton VR. Influence of two weeks of non-weight bearing on rat soleus motoneurons and muscle fibers. *Aviat Space Environ Med*, **68**: 421-425, 1997.
- [5] Ishihara A, Itoh K, Itoh M, Hirofuji C. Effect of hypobaric hypoxia on rat soleus muscle fibers and their innervating motoneurons: a review. *Jpn J Physiol*, **50**: 561-568, 2000.
- [6] Nakatani T, Nakashima T, Kita T, Ishihara A. Cell size and oxidative enzyme activity of type-identified fibers in rat hindlimb muscles: a review. *Acta Histochem Cytochem*, **36**: 105-114, 2003.
- [7] Ishihara A, Kawano F, Ishioka N, Oishi H, Higashibata A, Shimazu T, Ohira Y. Effects of running exercise during recovery from hindlimb unloading on soleus muscle fibers and their spinal motoneurons in rats. *Neurosci Res*, **48**: 119-127, 2004.