



ISSN 1349-113X  
JAXA-SP-06-031

# 宇宙航空研究開発機構特別資料

JAXA Special Publication

---

## ISS科学プロジェクト室 神経生理研究プロジェクト 研究開発報告書

—筋萎縮に対する高気圧・高濃度酸素の影響—

石原 昭彦

2007年 3 月

宇宙航空研究開発機構

Japan Aerospace Exploration Agency



# ISS 科学プロジェクト室 神経生理研究プロジェクト 研究開発報告書

## — 筋萎縮に対する高気圧・高濃度酸素の影響 —

石原 昭彦<sup>\*,\*\*</sup>

### Report of Neurophysiology Research Project in ISS Science Project Office

— Effects of Hyperbaric Exposure with High Oxygen Concentration on Muscle Atrophy —

By

Akihiko ISHIHARA<sup>\*,\*\*</sup>

**Abstract:** Effects of hyperbaric exposure with high oxygen concentration on the physical activity and neuromuscular system of developing male rats were investigated. Five-week-old male rats were exposed to an atmospheric pressure of 1.25 with an oxygen concentration of 36% for 12 h (7:00-19:00) and exercised voluntarily for 12 h (19:00-7:00) daily for 8 weeks. The voluntary running distances were compared with those in age-matched rats without hyperbaric exposure. Furthermore, the properties of the soleus and plantaris muscle fibers and their spinal motoneurons were examined. The voluntary running distances of rats with or without hyperbaric exposure with high oxygen concentration increased during development. However, the mean voluntary running distances were 1.44-fold longer in rats with hyperbaric exposure than in those without hyperbaric exposure. The oxidative enzyme activities of the soleus and plantaris muscle fibers and their spinal motoneurons increased following hyperbaric exposure with high oxygen concentration. It is suggested that adaptations of neuromuscular units to hyperbaric exposure with high oxygen concentration enhance the oxidative metabolism and thus the function of neuromuscular units is promoted.

**Key Words:** high oxygen concentration, hyperbaric exposure, oxidative capacity, physical activity, rat, skeletal muscle fiber, spinal motoneuron

### 概 要

高気圧・高濃度酸素への曝露がラットの活動量と神経・筋の特性にどのような影響を及ぼすのかを検討した。生後5週齢の雄ラットを午前7時から午後7時まで12時間にわたって1.25気圧、酸素濃度36%の環境に曝露し、午後7時から午前7時までは回転車輪の附属した運動装置で飼育した（高気圧群）。また、対照群のラットは、午前7時から午後7時までは普通飼育を行い、午後7時から午前7時までは回転車輪の附属した運動装置で飼育した。8週間後に走運動量、ヒラメ筋と足底筋の筋線維の特性、それらの筋線維を神経支配する脊髄の運動ニューロンの特性を検討した。高気圧群の走運動量は、対照群と比較して1.44倍であった。ヒラメ筋と足底筋の筋線維と

\* 京都大学大学院 (Kyoto Univ.)

\*\* 宇宙航空研究開発機構 ISS 科学プロジェクト室 (JAXA ISS Science Project Office)

それらを神経支配する運動ニューロンで酸化系酵素活性が増大した。本研究で用いた高気圧・高濃度酸素は有酸素代謝を増大させ、その結果、神経・筋の酸化能力が向上して走運動量が増大したと推察される。

## 1. はじめに

骨格筋は、大きな力を発揮して素早く収縮する速筋線維と持久的に活動する遅筋線維から構成されている。微小重量への曝露は、骨格筋線維（特に遅筋線維）の萎縮や遅筋線維から速筋線維へのタイプ移行を引き起こす [1]。さらに、新しいミオシン重鎖成分を発現する。同様に、骨格筋を神経支配する脊髄の神経細胞（運動ニューロン）の特性も影響を受けて、酸化系酵素活性の低下が生じる [2-4]。微小重量への曝露による運動ニューロンの酸化系酵素活性の減少は、遅筋線維を神経支配する運動ニューロンで選択的に認められる。

高気圧・高濃度酸素への曝露は、体内の酸素濃度や血流量を増大させる。特にリンパ液や血液中に溶け込む溶存酸素が増大する。酸素濃度や血流量の増大は、末梢における細胞の有酸素的な代謝を向上させる。その結果、血糖や血圧の上昇を抑制したり、乳酸の減少を促進する [5, 6]。

高気圧・高濃度酸素への曝露は、萎縮した骨格筋（および筋線維）や変性した運動ニューロンを効果的に回復させると考えられる。本研究では、高気圧・高濃度酸素の環境で飼育したラットに自発走運動を行わせて、走運動量及び神経・筋の特性がどのように変化するかを検討した。

## 2. 実験方法

実験には、生後5週齢のWistar系雄ラット（20匹）を用いた。10匹を午前7時から午後7時まで高気圧・高濃度酸素に曝露した。研究室で開発した酸素チャンバーを用いて、1.25気圧、酸素濃度36%の環境に曝露した [7]。これらのラットは、午後7時から午前7時まで回転車輪の附属した飼育ケージで飼育する群（5匹, H-Ex群）と一般の飼育ケージで飼育する群（5匹, H群）に分けた。他の10匹は対照群として、午後7時から午前7時まで回転車輪の附属した飼育ケージで飼育する群（5匹, C-Ex群）と一般の飼育ケージで飼育する群（5匹, C群）に分けた。午前7時から午後7時までを消灯した。餌と水は自由摂取とした。

8週間の飼育後にネブタール麻酔下（50mg/体重1kg）で2%濃度の蛍光色素（nuclear yellow）を左側のヒラメ筋に10 $\mu$ l、右側の足底筋に15 $\mu$ l注入した。注入2日後、ネブタールのオーバードースによりラットを犠牲にして、両側のヒラメ筋と足底筋、脊髄腰膨大部を摘出した。筋と脊髄を液体窒素で凍結したイソペンタン内で急速凍結し、-75℃のフリーザーに保存した。

筋については、秤量後、クリオスタットを用いて厚さ20 $\mu$ mの連続横断切片を作成した。切片には、ATPase染色とsuccinate dehydrogenase (SDH)染色を施した [8, 9]。ATPase染色から筋線維をtype I, type IIA, type IIB, type IICに分類した。SDH染色を施した切片から画像処理装置を使用して筋線維の横断面積とSDH酵素活性を分析した [8, 9]。ヒラメ筋、足底筋ともに筋腹中央部の約100本の筋線維を分析した。

脊髄については、クリオスタットを用いて厚さ20 $\mu$ mの連続横断切片を作成した。蛍光顕微鏡を用いて、ヒラメ筋または足底筋を神経支配する運動ニューロンを同定した。その後、切片には、succinate dehydrogenase (SDH)染色を施した [8, 9]。SDH染色を施した切片から画像処理装置を使用して支配運動ニューロンの総数、ニューロンの野横断面積、SDH酵素活性を分析した [10]。横断面積が500 $\mu$ m<sup>2</sup>以上の運動ニューロンを錘外筋線維を神経支配する $\alpha$ 運動ニューロン、500 $\mu$ m<sup>2</sup>未満の運動ニューロンを錘内筋線維を神経支配する $\gamma$ 運動ニューロンとした。

## 3. 結果

### 走運動量

C-Ex群、H-Ex群ともに発育に伴う走運動量の増大が認められた（図1）。しかしながら、H-Ex群はC-Ex群と比較

して1日あたりの走行距離が1.44倍であった。

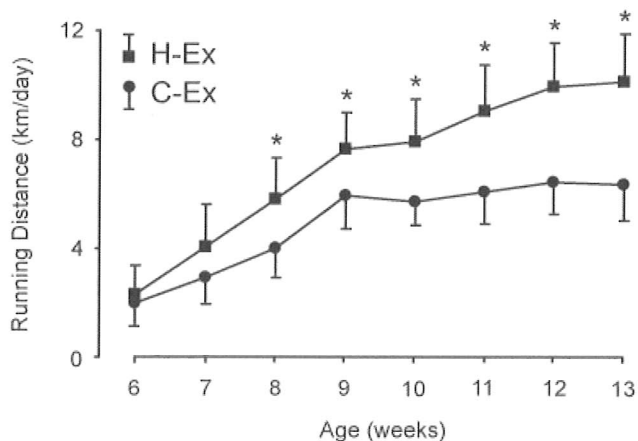


Fig. 1. Voluntary running distances on wheels of rats with (H-Ex) or without (C-Ex) hyperbaric exposure. Values are expressed as mean and standard deviation from 8 animals. \* $p < 0.05$  compared with the values of the C-Ex group.

#### 体重及び筋重量

4群間で体重に差は認められなかった (C群,  $392 \pm 16$ g,  $n = 8$ ; C-Ex群,  $379 \pm 18$ g,  $n = 8$ ); H群,  $387 \pm 17$ g,  $n = 8$ ; H-Ex群,  $378 \pm 19$ g,  $n = 8$ ). 同様に, ヒラメ筋と足底筋の重量についても差が認められなかった (図2). 体重あたりの筋重量については, ヒラメ筋, 足底筋ともにC-E群とH-Ex群がC群とH群に対して高い値を示した.

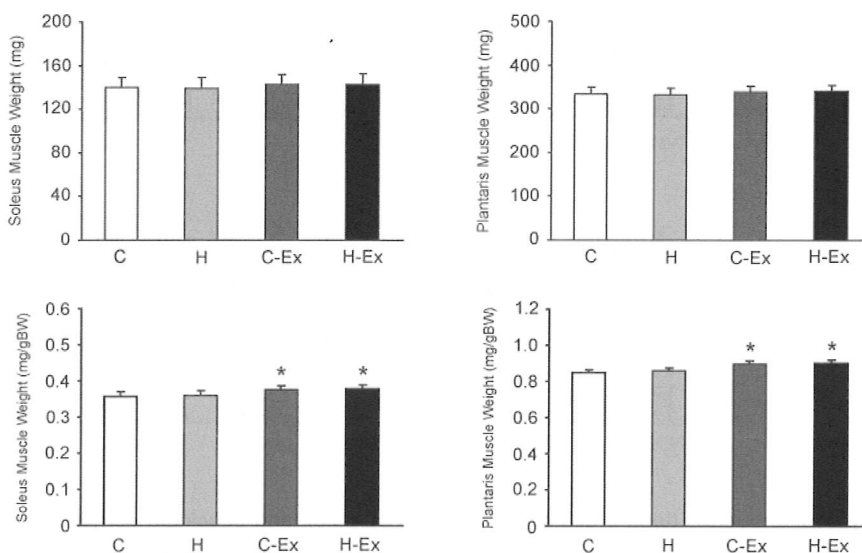


Fig. 2. Soleus (left) and plantaris (right) muscle weights. C, non-exercise without hyperbaric exposure; C-Ex, exercise without hyperbaric exposure; H, hyperbaric exposure without exercise; H-Ex, hyperbaric exposure with exercise; mg/gBW, muscle weight per unit body weight. Values are expressed as mean and standard deviation from 8 animals. \* $p < 0.05$  compared with the values of the C and H groups.

#### 骨格筋線維

ヒラメ筋では, H群とH-Ex群がC群とC-Ex群に対してタイプIIA線維とタイプIIC線維の割合が高く, タイプI線維の割合が低い値を示した (図3). 一方, H群とH-Ex群, C群とC-Ex群の間では, 筋線維タイプ構成比に違いは

認められなかった。

足底筋では、H群とH-Ex群がC群とC-Ex群に対してタイプIIA線維の割合が高く、タイプIIB線維の割合が低い値を示した(図3)。一方、H群とH-Ex群、C群とC-Ex群の間では、筋線維タイプ構成比に違いは認められなかった。

筋線維横断面積については、ヒラメ筋、足底筋ともに4群間で差は認められなかった(図3)。

筋線維の酸化系酵素活性については、ヒラメ筋、足底筋ともに筋線維のタイプに関係なくH群とH-Ex群がC群とC-Ex群に対して高い値を示した(図3)。

#### 脊髄運動ニューロン

運動ニューロン数と横断面積については、 $\gamma$ 、 $\alpha$ 、総数( $\gamma + \alpha$ )のいずれにおいても4群間で差は認められなかった(図4)。

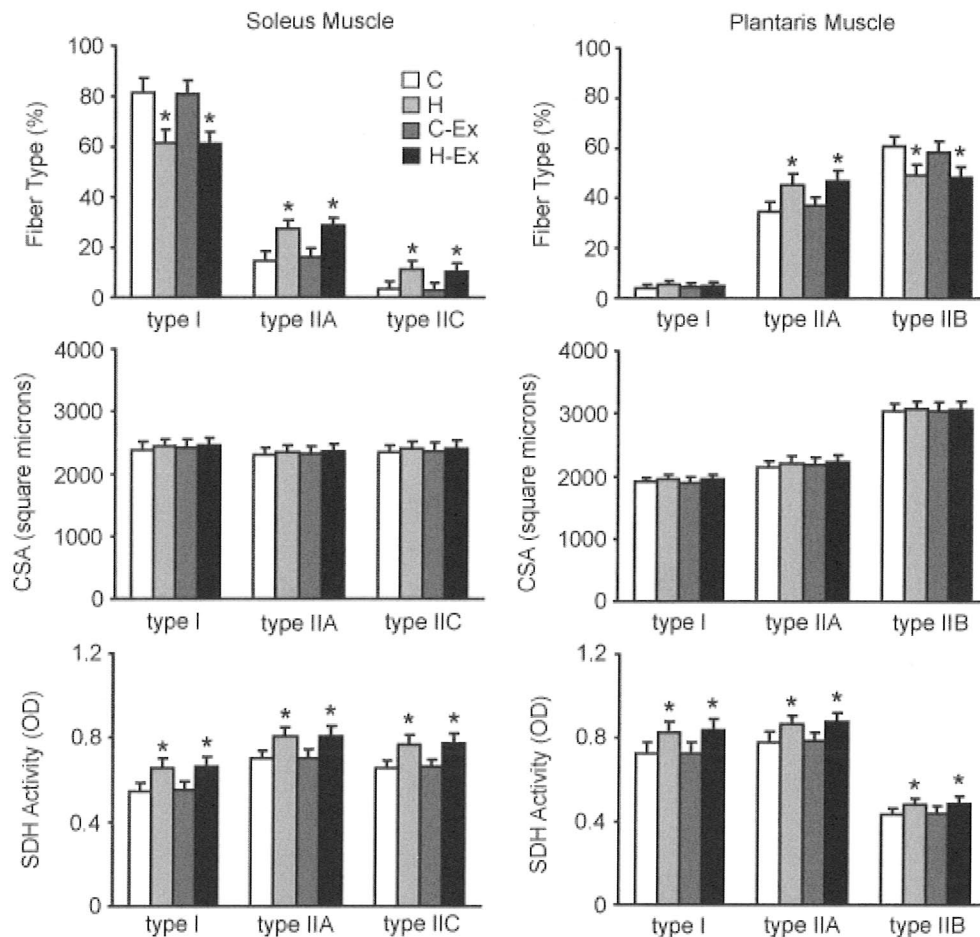


Fig. 3. Fiber type distributions (top), cross-sectional areas (middle), and succinate dehydrogenase activities (bottom) of the soleus (left) and plantaris (right) muscles. C, non-exercise without hyperbaric exposure; C-Ex, exercise without hyperbaric exposure; H, hyperbaric exposure without exercise; H-Ex, hyperbaric exposure with exercise; CSA, cross-sectional area; SDH, succinate dehydrogenase; OD, optical density. Values are expressed as mean and standard deviation from 8 animals. \* $p < 0.05$  compared with the values of the C and C-Ex groups.

$\alpha$ 運動ニューロンの酸化系酵素活性については、H群とH-Ex群がC群とC-Ex群に対して高い値を示した(図4)。一方、H群とH-Ex群、C群とC-Ex群の間では $\alpha$ 運動ニューロンの酸化系酵素活性に違いは認められなかった。 $\gamma$ 運動ニューロンの酸化系酵素活性については、4群間で差は認められなかった。

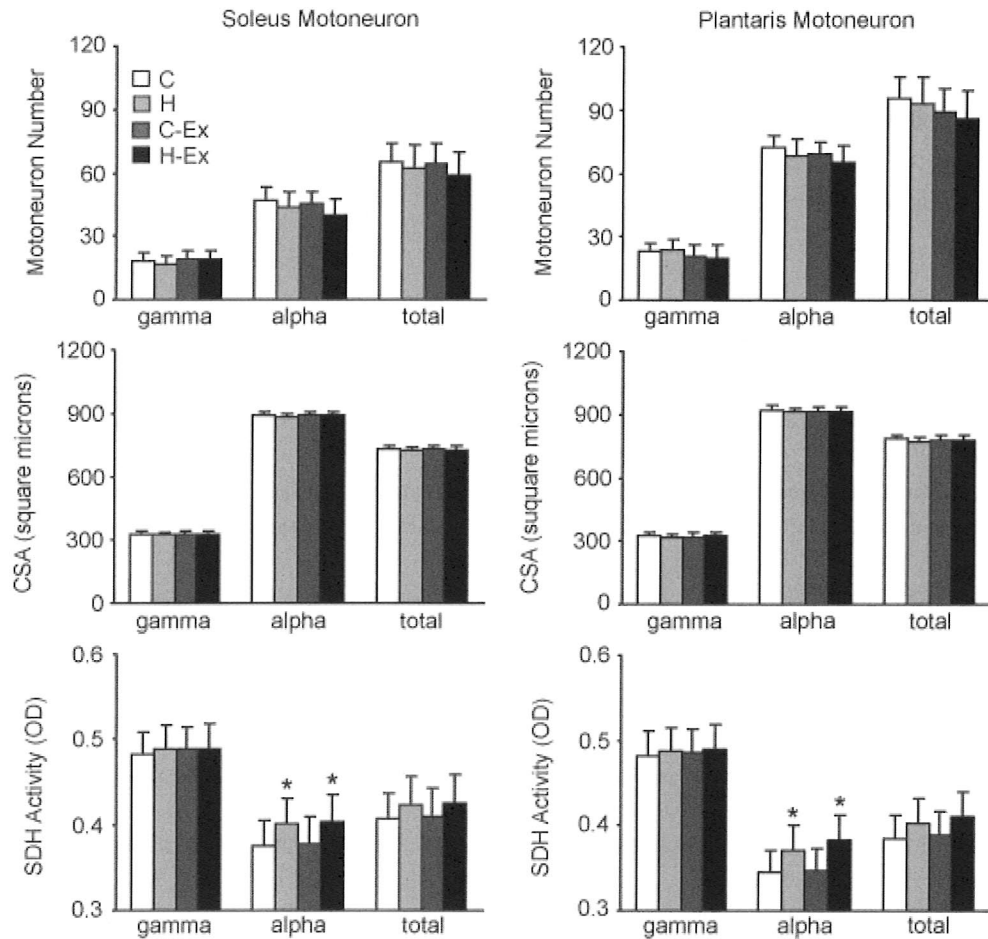


Fig. 4. Numbers (top), cell body sizes (middle), and succinate dehydrogenase activities (bottom) of gamma, alpha, and entire (gamma + alpha) motoneurons innervating the soleus (left) and plantaris (right) muscles. C, non-exercise without hyperbaric exposure; C-Ex, exercise without hyperbaric exposure; H, hyperbaric exposure without exercise; H-Ex, hyperbaric exposure with exercise; CSA, cross-sectional area; SDH, succinate dehydrogenase; OD, optical density. Values are expressed as mean and standard deviation from 8 animals. \* $p < 0.05$  compared with the values of the C and C-Ex groups.

#### 4. まとめ

ラットは、自発的に間欠的な長距離走行を行う [11]。走行は慢性的であるが、1日あたり4 Km 前後の走行を行う。電気刺激などを使用した強制走行とは異なり、自発的に走行させることによってラットへのストレスが軽減する。自発的走運動は有酸素的な代謝を必要とした持久性運動であるが、骨格筋で解糖系の酵素活性が増大したり、筋線維の肥大が生じることが報告されている [11]。本研究では、C-Ex 群、H-Ex 群ともに発育に伴う走行距離の増大が認められた (図 1)。しかしながら、C 群と C-Ex 群、H 群と H-Ex 群では、いずれも筋線維や運動ニューロンの特性に違いがみられなかったことから、運動による神経・筋の変化は生じなかったと結論される。

先行研究 [12] では、神経・筋活動の増減や低圧性低酸素への曝露によって神経・筋の特性が変化すると報告している。同様に、微小重量への曝露は、骨格筋線維 (特に遅筋線維) の萎縮やタイプ移行を引き起こす [1]。さらに、骨格筋を神経支配する脊髄の神経細胞 (運動ニューロン) の酸化系酵素活性が低下する [2-4]。

高気圧・高濃度酸素への曝露は、体内の酸素量や血流量を増大させる。特に溶存酸素量が増大するが、これは気圧を上昇させることによって気体が液体に溶解込むというヘンリーの法則に従っている。増大した酸素や血流は、末梢の細胞における有酸素的な代謝を向上させる。このような変化は、神経・筋の特性に影響を及ぼし、骨格筋線維や脊髄運動ニューロンの酸化系酵素活性を増大させると考えられる。

本研究では、高気圧・高濃度酸素への曝露によって神経・筋の酸化能力が増大した。したがって、本研究で用いた高気圧・高濃度酸素は、神経・筋の有酸素的な代謝を向上させるのに十分であったと結論される。さらに、このような神経・筋の有酸素的な代謝の向上が H-Ex 群での走運動量の増大に反映したと推察される。

1.25 気圧、酸素濃度 36% の環境に滞在させることによって神経・筋の酸化能力を増大できることが分かった。本研究の成果から高気圧・高濃度酸素に曝露することによって筋萎縮を効果的に回復させることができると期待される。これについては、次年度の研究で検討する予定である。

## 成 果 発 表

### [学術論文]

1. Ishihara A, Yamashiro J, Matsumoto A, Higashibata N, Ishioka A, Shimazu T, Ohira Y. Comparison of cell body size and oxidative enzyme activity in motoneurons between the cervical and lumbar segments in the rat spinal cord after spaceflight and recovery. *Neurochem. Res.*, 31: 411-415, 2006
2. Matsumoto A, Kawano F, Higashibata A, Ishioka N, Shimazu T, Ohira Y, Ishihara A.. Comparison of cell body size and oxidative enzyme activity in motoneurons between the cervical and lumbar segments in the rat spinal cord after spaceflight and recovery. *J Grav Physiol*, 13: 11-12, 2006.
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*, in press.

### [学会発表]

1. Matsumoto A, Kawano F, Higashibata A, Ishioka N, Shimazu T, Ohira Y, Ishihara A.. Comparison of cell body size and oxidative enzyme activity in motoneurons between the cervical and lumbar segments in the rat spinal cord after spaceflight and recovery. 27th Annual International Gravitational Physiology Meeting (Osaka), 23-28 April, 2006.
2. 松本亜希子, 大平允宣, 石原昭彦. 高気圧・高濃度酸素への曝露が酸化ストレス度と抗酸化力に及ぼす影響. 第 61 回日本体力医学会大会, 9 月 22 日～ 24 日, 2006 年.
3. Matsumoto A, Ishihara A. Responses of oxidative stress and antioxidant capacity to hyperbaric exposure with high oxygen concentration. 13th International Conference of Biochemistry of Exercise (Seoul), 20-23 October, 2006.
4. 松本亜希子, 石原昭彦. 高気圧・高濃度酸素への曝露がラットの神経筋単位と運動能力に及ぼす影響. 第 23 回宇宙利用シンポジウム, 1 月 15 日～ 17 日, 2007 年.

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Ohira Y. Neuromuscular adaptation to microgravity. *Jpn J Physiol*. 50: 303-314. 2000.
- [ 2 ] Ishihara A, Ohira Y, Roy RR, Nagaoka S, Sekiguchi C, Hinds WE, Edgerton VR. Comparison of the response of motoneurons innervating perineal and hind limb muscles to spaceflight and recovery. *Muscle Nerve*, 23: 753-762, 2000.
- [ 3 ] Ishihara A, Ohira Y, Roy RR, Nagaoka S, Sekiguchi C, Hinds WE, Edgerton VR. Succinate dehydrogenase activity in rat dorsolateral ventral horn motoneurons at L6 after spaceflight and recovery. *J Grav Physiol*. 92: 39-48. 2002.
- [ 4 ] Ishihara A, Yamashiro J, Matsumoto A, Higashibata A, Ishioka N, Shimazu T, Ohira Y. Comparison of cell body size and oxidative enzyme activity in motoneurons between the cervical and lumbar segments in the rats spinal cord after spaceflight and recovery. *Neurochem Res*, 31: 411-415. 2006.
- [ 5 ] Yasuda K, Aoki N, Adachi T, Tsujimoto G, Gu N, Matsunaga T, Kikuchi N, Tsuda K, Ishihara A. Hyperbaric exposure with high oxygen concentration inhibits growth-associated increase in the glucose level of diabetic Goto-Kakizaki rats. *Diabetes Obest Metab*. 8: 714-715, 2006.
- [ 6 ] Yasuda K, Adachi T, Gu N, Matsumoto A, Matsunaga T, Tsujimoto G, Tsuda K, Ishihara A. Effects of hyperbaric exposure with high oxygen concentration on glucose and insulin levels and skeletal muscle-fiber properties in diabetic rats. *Muscle Nerve*, 35: 337-343, 2007.
- [ 7 ] 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.
- [ 8 ] Nakatani T, Nakashima T, Kita T, Hirofuji C, Itoh K, Itoh M, Ishihara A. Succinate dehydrogenase activities of fibers in the rat extensor digitorum longus, soleus, and cardiac muscles. *Arch Histol Cytol*, 62: 393-399. 1999.
- [ 9 ] Nakatani T, Nakashima T, Kita T, Hirofuji C, Itoh K, Itoh M, Ishihara A. Cell size and oxidative enzyme activity of different types of fibers in different regions of the rat plantaris and tibialis anterior muscles. *Jpn J Physiol*. 50: 413-418, 2000.



- [10] Ishihara A, Roy RR, Edgerton VR. Succinate dehydrogenase activity and soma size of motoneurons innervating different portions of the rat tibialis anterior. *Neuroscience*, 68: 813-822.
- [11] Ishihara A, Roy RR, Ohira Y, Iyata Y, Edgerton VR. Hypertrophy of rat plantaris muscle fibers after voluntary running with increasing loads. *J Appl Physiol*, 84: 2183-2189, 1998.
- [12] Ishihara A. Plasticity in the Neuromuscular System. In: *Exercise, Nutrition, and Environmental Stress*. Vol. 1 (Nose H, Gisolfi CV, and Imaizumi K, eds.). Cooper Publishing Group, Traverse City, pp. 117-135, 1999.



宇宙航空研究開発機構特別資料 JAXA-SP-06-031

---

発行 平成 19 年 3 月 30 日

編集・発行 宇宙航空研究開発機構

〒182-8522 東京都調布市深大寺東町7-44-1

URL:<http://www.jaxa.jp/>

印刷・製本 (株)フジプランズ

---

本書及び内容についてのお問い合わせは、下記にお願いいたします。

宇宙航空研究開発機構 情報システム部 研究開発情報センター

〒305-8505 茨城県つくば市千現2-1-1

TEL:029-868-2079 FAX:029-868-2956

---

© 2007 宇宙航空研究開発機構

※本書の一部または全部を無断複写、転載、電子媒体に加工すること禁じます。

