

肺気腫モデルラットに対する Mild Hyperbaric Oxygen Therapy が骨格筋に及ぼす影響

嘉摩尻伸 (PT, MS)¹⁾²⁾, 後藤 淳 (PT, MS)¹⁾,
西田亮一 (PT, MS)¹⁾, 岡田圭佑 (PT, MS)¹⁾,
森 拓也 (PT, PhD)³⁾, 寺山奨悟 (PT)¹⁾,
白波瀬未萌 (PT, MS)¹⁾, 藤田直人 (PT, PhD)⁴⁾,
今北英高 (PT, PhD)⁵⁾

¹⁾ 畿央大学大学院 健康科学研究科

²⁾ 岸和田リハビリテーション病院

³⁾ 京都大学 医学部附属病院

⁴⁾ 広島大学大学院 医系科学研究科

⁵⁾ 埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究科

キーワード：肺気腫モデルラット, Mild Hyperbaric Oxygen Therapy, 骨格筋

はじめに

慢性閉塞性肺疾患 (Chronic Obstructive Pulmonary Disease; 以下, COPD) は慢性気管支炎や肺気腫 (Pulmonary Emphysema; 以下, PE) を伴う疾病の総称である。COPD は, 呼吸機能の低下や呼吸困難感の増大をはじめ, 栄養障害, 心血管疾患など多数の併存疾患を引き起こす¹⁾。また, 様々な要因が絡み合い COPD 患者は骨格筋萎縮や骨格筋機能異常を呈する。これらに対して呼吸リハビリテーションでは, 日常生活動作能力や骨格筋機能改善において, 運動療法のエビデンスが示されている。しかし, 重度呼吸困難感を呈する患者では呼吸リハビリテーションが円滑に進行できない場合がある。そこで, 呼吸困難感を惹起させず, 骨格筋機能を改善させる新たな治療法を確立することは重要である。

そこで我々が注目したのが軽度高圧酸素療法 (Mild Hyperbaric Oxygen Therapy; 以下, MHBOT) である。MHBOT は 1.3 絶対気圧 (Atmospheres Absolute; 以下, ATA) の高圧酸素環境にすることでガス圧縮効果や酸素運搬効率が改善する。1.3ATA の高気圧環境では圧外傷や活性酸素種の過剰発現などの副作用のリスクが少なく²⁾, 糖尿病モデルラットでは MHBOT により, 骨格筋機能異常の改善や筋線維タイプ移行の抑制などの効果³⁾ が報告されている。これらのことから, MHBOT は好氣的代謝能力の改善効果が期待されている。

本研究では PE モデルラットに対して MHBOT を実施し, 骨格筋に及ぼす影響を調査した。

対象と方法

10 週齢の wistar 系雄性ラットに, 生理食塩水を気管内に噴霧投与する Control 群 (n=6) と, タバコ煙溶液とリポポリサッカライド溶液を噴霧投与する PE 群

(n=8) を作製し肺組織および骨格筋に及ぼす影響を調査した。その後 PE 群に対し, 1 時間/日または 8 時間/日の MHBOT を実施する PE1h 群 (n=8) と PE8h 群 (n=8) に分類し介入効果を検証した。MHBOT は 1.3 気圧, 酸素濃度 36% にて週 6 回の頻度で噴霧投与開始 2 週間後から実施し, 噴霧投与開始から 4 週間で実験に供した。分析項目は飼料摂取量, 体重変化量, 最大歩行距離, 肺組織学的観察, ヒラメ筋・長趾伸筋の筋湿重量・筋張力, ヒラメ筋の Citrate Synthase 活性 (以下, CS 活性) とした。統計学的分析は R version 4.1.0 を用い, Control 群と PE 群の 2 群間比較は Mann-Whitney U test, PE モデルラットの 3 群間比較には Kruskal-Wallis test を実施し, Bonferroni 法を用いて多重比較を行い, 有意水準は 0.05 とした。本研究は畿央大学動物実験倫理委員会の承認 (承認番号 R01-01) を得て, 畿央大学動物実験管理規定にしたがい行った。

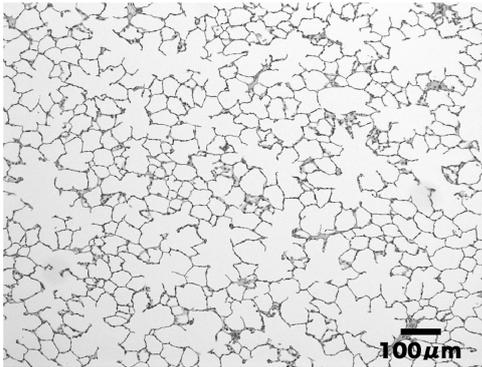
結 果

肺組織学的観察では PE モデルラットにおいて肺の気腫性変化を確認した (図 1)。各分析項目における Control 群と PE 群の結果を示す (表 1)。体重変化量は, Control 群と比較し, PE 群が有意に低値を示した。最大歩行距離では, Control 群と比較し, PE 群が有意に低値を示した。Control 群と PE 群における単位断面積あたりの筋張力測定の結果では, ヒラメ筋単収縮張力とヒラメ筋疲労 (%) において, Control 群と比較し, PE 群は有意に低値を示した。また, CS 活性では Control 群と比較し, PE 群は有意に低値を示した。次に MHBOT の効果検証を実施した PE モデルラットの 3 群間比較の結果を示す (表 2)。CS 活性においては PE 群と比較し, PE1h 群および PE8h 群が有意に高値を示した。しかし, PE1h 群と PE8h 群の間には有意差を認めなかった。

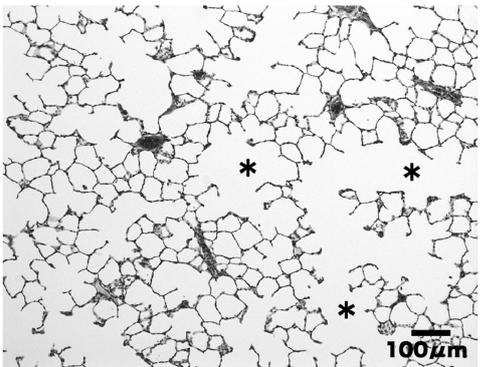
考 察

PE モデルラットにおいて肺組織の気腫化を確認した。これはモルモットで行われた先行研究と同様で⁴⁾, タバコ煙溶液およびリポポリサッカライド溶液の噴霧投与により繰り返す炎症反応が肺気腫を誘発したと考える。また, Control 群と比較し PE 群の体重増加量が低値だった原因として, 肺炎症に由来する全身性炎症と, 呼吸機能低下に由来する呼吸筋の過剰努力により消費エネルギーが増加したことが体重増加を阻害したのではないかと考える。また, 骨格筋機能異常の原因の一つにはミトコンドリア機能異常によるエネルギー産生能力の低下がある。ミトコンドリア活性の指標である CS 活性では, PE 群で有意に低値を示していたことから, ミトコンドリア代謝能力の低下が生じ, それにより最大歩行距離, ヒラメ筋の単収縮張力および筋疲労指数 (%) の低下を誘発した可能性がある。MHBOT の効果を検証し

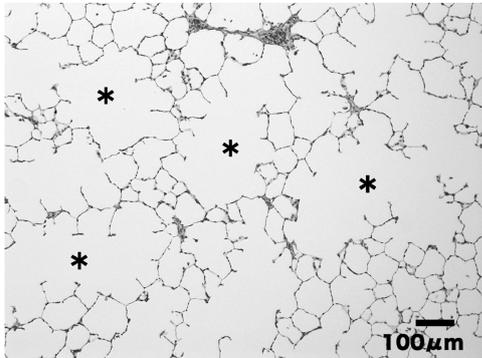
Control 群



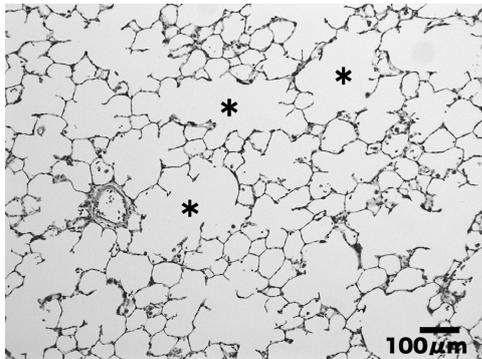
PE 群



PE1h 群



PE8h 群



*肺組織の気腫性変化

図 1 肺組織の Hematoxylin-Eosin 染色画像

た PE モデルラットでは PE 群と比較し、PE1h 群および PE8h 群の CS 活性が有意に高値を示した。このことから、MHBOT は PE モデルラットのミトコンドリア活性の低下を抑制し、骨格筋機能の維持・改善に寄与する可能性が考えられる。一方で、本研究では MHBOT によりミトコンドリア活性の低下を抑制する可能性を示したものの、骨格筋に及ぼす機能・形態変化は認められなかった。これは、MHBOT のパラメーターの調整や、運動療法と組み合わせるなどの介入が必要である可能性がある。また、本研究は動物実験で得られた結果であり、MHBOT の対象が人の場合でも同様の結果が得られるのか検証が必要である。

結 論

本研究は PE モデルラットに対する MHBOT が骨格筋に及ぼす影響を調査した。MHBOT は PE モデルラットのミトコンドリア活性低下を抑制する可能性を示した。一方で、MHBOT により筋張力や最大歩行距離などの機能・パフォーマンスには影響を及ぼさなかった。今後 MHBOT による生理学的、組織学的分析などを実施し、加えて最適な MHBOT のパラメーターを調査するなど多角的な検証が必要であると考えられる。

文 献

- 1) Barnes PJ: Chronic obstructive pulmonary disease: effects beyond the lungs. *PLoS Med.* 2010; 7(3): e1000220.
- 2) Ishihara A: Mild hyperbaric oxygen: mechanisms and effects. *J Physiol Sci.* 2019; 69(4): 573-580.
- 3) Nagatomo F, Takemura A, *et al.*: Mild hyperbaric oxygen inhibits the growth-related decline in skeletal muscle oxidative capacity and prevents hyperglycemia in rats with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes.* 2018; 10(9): 753-763.
- 4) Mizutani N, Fuchikami J, *et al.*: Development of cigarette smoke solution- and lipopolysaccharide-induced pulmonary emphysema in guinea pigs. *Nihon yakurigaku zasshi.* 2010; 135(1): 25-29.

発表実績

学会発表

- 1) 嘉摩尻伸, 後藤 淳, 西田亮一, 岡田圭佑, 森 拓也, 寺山奨悟, 白波瀬未萌, 藤田直人, 今北英高: 肺気腫モデルラットに対する Mild Hyperbaric Oxygen Therapy が骨格筋に及ぼす影響. 第 26 回日本基礎理学療法学会学術大会, 2021 年 10 月 23 日・24 日

表 1 Control 群, PE 群の結果

	Control 群	PE 群	P 値
飼料摂取量 (g/rat)	453.5 ± 10.3	381.4 ± 9.3	0.28
体重変化量 (g)	36.7 ± 9.0	11.6 ± 14.9	0.01
最大歩行距離 (m)	899.7 ± 34.6	807.3 ± 71.0	0.03
筋湿重量			
ヒラメ筋 (g)	0.126 ± 0.01	0.129 ± 0.01	0.66
長趾伸筋 (g)	0.135 ± 0.01	0.135 ± 0.01	0.66
筋張力			
ヒラメ筋			
単収縮 (g/cm ²)	371.7 ± 68.4	285.5 ± 58.7	0.04
強縮 (g/cm ²)	1,154.0 ± 136.5	1,017.4 ± 126.6	0.08
筋疲労 (%)	60.7 ± 5.6	47.7 ± 10.0	0.04
長趾伸筋			
単収縮 (g/cm ²)	420.9 ± 72.5	432.2 ± 80.5	0.95
強縮 (g/cm ²)	1,228.2 ± 276.5	1,240.7 ± 155.1	1.00
筋疲労 (%)	3.0 ± 1.5	5.2 ± 2.6	0.07
Citrate Synthase 活性 (U/ml)	1.13 ± 0.57	0.50 ± 0.15	0.00

NOTE. Scores are mean ± SD. Mann-Whitney U test. Significance at P < 0.05.

表 2 PE 群, PE1h 群, PE8h 群の結果

	PE 群	PE1h 群	PE8h 群	P 値
飼料摂取量 (g/rat)	381.3 ± 9.3	382.7 ± 8.5	390.7 ± 11.3	ns
体重変化量 (g)	11.6 ± 14.9	7.7 ± 7.5	6.6 ± 7.4	ns
最大歩行距離 (m)	807.3 ± 71.0	838.9 ± 63.7	885.7 ± 85.3	ns
筋湿重量				
ヒラメ筋 (g)	0.129 ± 0.01	0.118 ± 0.01	0.127 ± 0.00	ns
				0.64 (PE-PE1h)
長趾伸筋 (g)	0.135 ± 0.01	0.118 ± 0.01	0.135 ± 0.00	1.00 (PE-PE8h)
				0.04 (PE1h-PE8h)
筋張力				
ヒラメ筋				
単収縮 (g/cm ²)	285.5 ± 58.7	346.3 ± 60.5	366.2 ± 53.6	ns
強縮 (g/cm ²)	1,017.4 ± 126.6	1,141.7 ± 135.2	1,186.3 ± 183.4	ns
筋疲労 (%)	47.7 ± 10.0	49.6 ± 9.4	49.8 ± 21.1	ns
長趾伸筋				
単収縮 (g/cm ²)	432.2 ± 80.5	385.6 ± 76.2	493.4 ± 96.4	ns
強縮 (g/cm ²)	1,240.7 ± 155.1	1,218.3 ± 171.5	1,203.3 ± 147.5	ns
筋疲労 (%)	5.2 ± 2.8	2.9 ± 1.7	4.0 ± 1.7	ns
				0.00 (PE-PE1h)
Citrate Synthase 活性 (U/ml)	0.50 ± 0.15	0.85 ± 0.08	0.99 ± 0.20	0.00 (PE-PE8h)
				0.09 (PE1h-PE8h)

NOTE. Scores are mean ± SD. Bonferroni correction. Significance at P < 0.05.