

学 位 論 文 の 要 旨

学 位 の 種 類	博 士	氏 名	山 本 憲 志
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p>Spinal cord transection inhibits HR reduction in anesthetized rats immersed in an artificial CO₂-hot spring bath.</p> <p>脊髄切断は麻酔下ラットにおける人工炭酸泉水浴中の心拍数減少を抑制する</p> <p>共 著 者 名 橋 本 眞 明</p> <p>International Journal of Biometeorology 51巻</p> <p>研 究 目 的</p> <p>日本では古来、湯治と称し温泉浴が民間療法に利用されてきたが、ヨーロッパでは専門医の処方に基づく温泉療法として確立している。その生体機能への効果に関する記載は多いが、作用メカニズムについては未解明な部分も多い。炭酸温泉（1000 mg・l⁻¹以上の遊離炭酸ガスを含む温泉）を用いた炭酸泉療法は長く心臓脈管系疾患の改善に臨床応用されてきた。炭酸泉浴は動脈血圧の低下や除脈、また、皮膚血管拡張による皮膚血流量の増加を引き起こすことが知られている。しかしながら、実験中、浴水温度と炭酸ガス濃度の維持を両立させ、浴槽を満たす十分量の炭酸泉水を短時間に人工的に作ることが困難で、源泉付近以外での研究を妨げていた。最近、これらの要求を満たす人工炭酸泉作製装置が開発された。我々は先行研究により、この人工炭酸泉水がヒトの炭酸泉浴時に報告されていると同様にラットの浸漬部皮膚血流を増加、血管抵抗を減少させ、その効果が天然炭酸泉と同様であったことを報告した。さらに、水温35℃では浴水の含有炭酸ガス濃度に依存して皮膚血流量が増加すること、血圧の顕著な変化はないが同温度の水道水浴と比べ心拍数が減少することなどから、ヒト炭酸泉浴解析の実験のモデルとなり得る。この心拍数の減少は副交感神経の亢進よりも交感神経の抑制による可能生が高いことも報告した。炭酸泉浴中の心拍数減少を引き起こすメカニズムの中で、遠心性機構に比べ、求心性機構については明らかにされていない。浴水中の高濃度炭酸ガスが経皮的に侵入する事は明らかであり、それにより皮膚またはその近傍で生じた情報が、何らかのルートで脳へ運ばれるはずである。本研究では、同温水道水と比べ、人工炭酸泉浴中の心拍数減少を引き起こすメカニズムの求心路について、血液により運ばれる情報と神経ルートを通して脳へ伝達する情報のいずれが主かを検討するため、人工炭酸泉と実験室動物を用いて検討した。</p>			

材 料 ・ 方 法

実験にはWistar系雄ラット（体重 269-345 g; n=18）を用い、血液ガス分析実験（n=6）、脊髄切断後の浸漬実験（n=6）、切断実験の評価（n=6）の3グループに分けられた。動物は実験を通してウレタン麻酔（ $1.39-1.60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ）され、腋窩より下の体毛を電気バリカンにて刈られた。左大腿動脈に動脈血圧（BP）測定用、右大腿動脈に採血用のカニューレをそれぞれ挿入・留置した。浸漬部皮膚と結腸の温度測定には細線型電熱対を用いた。浸漬部皮膚血流量（ BF_{skin} ）の測定にはレーザー・ドップラー式組織血流計を用いた。心拍数（HR）は血圧脈波から計測した。ラットは水平より約30度に傾斜したプラスチック格子板に頭部を上にして伏臥位とし、腋窩、腹部臀部、尾をビニールテープで緩く固定、浴槽へ入れた。浴水面から発散される炭酸ガスの吸入を防ぐため、顔面を覆うマスクへ新鮮な空気が供給された（ $0.3 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ）。浸漬中の心循環機能に対する過剰炭酸ガスの影響を検討するため、 CO_2 混合ガス（5% CO_2 , 20% O_2 , 75% N_2 ）がマスクに供給され、血液ガスパラメーター（pH, PaO_2 , PaCO_2 ）を測定した。室温下で各測定記録が安定したところで試料水に腋窩まで浸漬した。試料水は、 35°C の水道水（ CO_2 濃度；11~20 ppm）と人工炭酸泉水（ CO_2 濃度；1137~1307 ppm）であった。試料水は約30分ごとに交換し、交換後10分以降20分間の測定値を平均し、その試料水に対する反応値とした。脊髄の切断（SCT）は、事前に脊髄切断部付近の椎骨や筋組織などを除去し、 T_4 - T_5 間の硬膜へのアクセスを容易にした。水道水及び人工炭酸泉水への応答を確認した後、プラスチック格子ごとラットを浴槽から引き上げ、ワイヤーナイフで脊髄を切断、切断後の水道水及び人工炭酸泉に対する応答を記録した。切断前後に浸漬部の皮膚をpinchingし、痛覚反射の消失から入力路の遮断を推定した。また、実験後に切断部位を解剖学的に確認した。BPを BF_{skin} で除算して皮膚血管抵抗（ VR_{skin} ）の指標とした。心交感神経活動に対する当該部位でのSCTの影響を評価するため、15秒間の両側総頸動脈結紮（CAO）による圧反射の修飾を検討した。人工炭酸泉の作成には、MRE-SPA実験室モデル（三菱レイヨン・エンジニアリング、東京）を用いた。統計学的検定にはtwo-way ANOVAを用い、下位検定としてNewman-Keuls post-hoc testが行われた。有意水準は、 $p < 0.05$ とした。

成 績

水道水浸漬と比較して、炭酸泉浸漬中、 BF_{skin} は有意に増加し（ $28.2 \pm 5.0\%$ ）、HRは有意に減少（ $4.3 \pm 1.1\%$ ）したが、BPは変化しなかった。

血液ガス（pH, PaO_2 , PaCO_2 ）には、新鮮な空気を吸引中の動物では水道水浸漬と炭酸泉浸漬間で差がなかった。5% CO_2 ガスを5分間吸入させると、水道水浸漬中のラットでは PaO_2 が $29.9 \pm 4.3\%$ 、 PaCO_2 が $36.8 \pm 3.9\%$ それぞれ増加し、pHは 0.15 ± 0.04 有意に低下した。同様に炭酸泉浸漬中では $29.0 \pm 2.5\%$ （ PaO_2 ）、 $27.1 \pm 3.0\%$ （ PaCO_2 ）それぞれ増加し、pHは 0.10 ± 0.02 有意に低下した。 CO_2 吸入による血液ガス変化には水道水浸漬と人工炭酸泉浸漬の間で差がなかった。 CO_2 吸入によりHRは $25 \pm 8 \text{ bpm}$ 有意に増加した。

SCT前には、水道水浸漬と比較して炭酸泉浸漬中でHRの有意な減少、 BF_{skin} の有意な増加、 VR_{skin} の有意な減少が観察されたが、SCT後にはそれらの有意差が消失した。

SCTの心機能への影響を評価するために行った圧反射実験において、アトロピン ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ body weight、副交感神経遮断) の静脈投与はHRを約6%増加させ、BPは変化しなかった。アトロピン処理下で行ったCAOによりHRは11.8%増加し、SCT後に行ったCAOによっても10.2%増加し、両者間に有意差は無かった。この反射はアテノロール ($100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $100 \mu\text{l}$ 、心交感神経遮断) 投与後に消失した。

考 案

同温水道水浴と比較し、炭酸泉浴中には、皮膚を通じて流入すると推定される炭酸ガスが、 PaO_2 も PaCO_2 も変化させず、水道水と比較しHRの減少を引き起こした。また、混合ガス吸引時には PaO_2 、 PaCO_2 が有意に増加、pHは有意に低下し、HRを増加させた。従って、炭酸泉浴中のHR減少はこれらの血液性因子を通じて引き起こされるものではないことが示唆された。

脊髄切断前後における総頸動脈結紮による圧反射実験結果から、 T_4 - T_5 でのSCTにより交感神経心臓枝への出力は大きな影響を受けていない事が示唆される。一般的に、ラットの心交感神経節前神経はこの切断部より高い脊髄レベルにあるとされている。結紮による圧反射性のHR増加は、アトロピンによる副交感神経遮断により影響されず、アテノロールによる心交感神経遮断で消失したことから、本実験条件下でのHRの反射性増加は交感神経活動の亢進によるものであったと考えられる。従って、このレベルでの脊髄切断は心交感神経に大きな影響を与えていなかった可能性が高い。

炭酸泉浸漬中に見られたHRの減少は T_4 - T_5 でのSCT後に消失した。これらの結果から、炭酸泉浸漬中に皮膚で増加したと推定される CO_2 により皮膚近傍で生じた何らかの刺激情報が神経性に脊髄を上向して脳へ伝達され、心交感神経活動を減少させHRを減少させたと推察できる。

ネコの皮膚における冷ニューロン活動が CO_2 によって抑制され、ラットの視床下部視索前野の温ニューロン活動が CO_2 により促進されると報告されている。また、末梢や中枢に CO_2 受容機構がある事も良く知られている。これらの報告は CO_2 が直接的、間接的に神経性情報を生ずることを示す。温度入力HRを変調する事も知られており、 CO_2 が皮膚の温度受容器活動を変調してHRに影響したのかもしれない。これら詳細な受容メカニズムについては今後の研究課題である。

結 論

同温水道水と比較し、人工炭酸泉浴中には心拍数が減少し皮膚血流量が増加する。この心拍数減少は、皮膚近傍の炭酸ガス分圧上昇により生ずる変化を受容する何らかの機構があり、その情報が神経性に伝達され交感神経活動を抑制して生じている可能性が高い。本研究の結果は、心循環器系疾患への炭酸泉浴の適用について脊髄損傷のある場合に考慮すべき情報となるであろう。炭酸泉浴の臨床応用を標準化するためにも、作用メカニズムのさらなる解析が重要である。

引用文献

1. Hartmann BR, Bassenge E, Pittler M Effect of carbon dioxide-enriched water and fresh water on the cutaneous microcirculation and oxygen tension in the skin of the foot. *Angiology* 48: 337-343, 1997.
2. Nishimura N, Sugeno J, Matsumoto T, Kato M, Sakakibara H, Nishiyama T, Inukai Y, Okagawa T, Ogata A Effects of repeated carbon dioxide-rich water bathing on core temperature, cutaneous blood flow and thermal sensation. *Eur J Appl Physiol* 87: 337-342, 2002.
3. Toriyama T, Kumada Y, Matsubara T, Murata A, Ogino A, Hayashi H, Nakashima H, Takahashi H, Matsuo H, Kawahara H Effect of artificial carbon dioxide foot bathing on critical limb ischemia (Fontaine IV) in peripheral arterial disease patients. *Int Angiol* 21: 367-373, 2002.

参考文献

1. Hashimoto M and Yamamoto N Physiology of CO₂-hot-spring bathing: analysis using artificially made CO₂-hot-spring water and experimental animals. *Annalen der Meteorologie* 41(1):305-308, 2005.
2. Hashimoto M and Yamamoto N Decrease in heart rates by artificial CO₂ hot spring bathing is inhibited by β_1 -adrenoceptor blockade in anesthetized rats. *J Appl Physiol* 96(1): 226-232, 2004.
3. Kikuch-Utsumi K, Gao B, Ohinata H, Hashimoto M, Yamamoto N and Kuroshima A Enhanced gene expression of endothelial nitric oxide synthase in brown adipose tissue during cold exposure. *Am J Physiol* 282:623-626, 2002.

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏名	山本 憲志
<p>審査委員長 菊池 健次郎 ㊞</p> <p>審査委員 伊藤 喜久 ㊞</p> <p>審査委員 高井 章 ㊞</p>			
<p>学位論文題目</p> <p>Spinal cord transection inhibits heart rate reduction in anesthetized rats immersed in an artificial CO₂-hot spring bath.</p> <p>脊髄切断は麻酔下ラットにおける人工炭酸泉水浴中の心拍減少を抑制する</p>			
<p>ヒトにおける炭酸温泉浴は、動脈圧の低下、徐脈、浸漬部皮膚血流増加を起こすことが知られ、心臓血管病の治療に応用されてきた。しかし、これまで実際の炭酸泉浴を再現する実験装置がなくその効果の機序に関する科学的検証については、未解明の点が多く残されていた。</p> <p>本研究は、最近、開発された人工炭酸泉作成装置を用い、ラットにおける先行研究で得られている人工炭酸泉浴による心拍数減少、浸漬皮膚血流増加・皮膚血管抵抗性減少の機序に炭酸ガスの血中移行による経路と、神経系を介する経路のいずれが大きく寄与するのかを明らかにすることを主目的として実施された。</p> <p>実験は、Wistar 系雄性ラットをウレタン麻酔下に、35℃の水道水をコントロールとし、同温の人工炭酸泉(CO₂濃度 1137~1307ppm)に腋窩までを浸漬し、浴水面から発散される炭酸ガスの吸入を防ぐ目的でマスクで新鮮空気を、また過剰炭酸ガスの影響をみる目的で5%CO₂を投与しながら、脊髄を Th₄-Th₅ のレベルでの切断前後で実施された。そして切断前後の心拍数、血圧、浸漬部皮膚血流測定・血管抵抗、血液ガスをモニター解析し、同時に心</p>			

臓交感神経活動への影響を両側頸動脈の結紮による圧反射の変化の面から検討している。

実験の結果、炭酸泉浴により水道水浴に比し、血圧は不変であるが、有意な心拍数の減少、浸漬皮膚血流量の増加・皮膚血管抵抗の低下がみられ、この効果は脊髄切断により消失した。一方、両泉浴間で動脈血ガス分析値に差異は認められず、5%CO₂吸入では心拍数はむしろ増加した。これらの結果から炭酸泉浴による効果が炭酸ガスの浴水面からの発散、吸入あるいは皮膚吸収後の体液性経路を介している可能性は否定的で、炭酸泉浸漬部位からの神経性経路を介する機序が主体と推察された。加えて、炭酸泉浴による心拍数減少の機序を脊髄切断前後における総頸動脈結紮による圧反射の面からの検討し、アトロピン投与によっても圧反射性の心拍数の変動には影響はみられず、 β_1 選択性 β 遮断薬アテノロール投与により消失することから、本実験の条件下での心拍数の反射性の変化には交感神経活動の関与が大きいことが示された。

以上の結果から論文提出者は、炭酸泉浴による心拍数減少には浸漬皮膚で増加したCO₂による何らかのセンサーあるいはリセプターなどを介した脊髄を上行する求心性経路と脳から遠心性に交感神経を抑制する神経性機序の存在を強く推論・結論付けしている。本研究は、これまでの先行研究を含め、周到かつ精密な実験の集積により炭酸泉浴による効果に求心性の神経系が関与することを新たに提示したもので、臨床上、古くから有用性が示されている炭酸泉浴療法の効果に科学的な根拠の一端を与えるもので、今後のこの領域の研究の発展に貢献するところ少なくないと考えられる。審査委員による本論文ならびに関連領域に関する諮問においても論文提出者から明解かつ適切な回答が得られ、高い知識を有することが確認された。以上より、本審査委員会は、本論文は学位(医学博士)授与に十分値するものと判定した。