

気管支喘息児に及ぼす水泳負荷の影響に 関する基礎的研究

— 気管支滑筋および心筋のカテコラミン含有量
に及ぼす水泳負荷の影響 —

国際武道大学 黒川 貞生
(共同研究者) 東京慈恵会医科大学 栗原 敏
同 小西 真人

Fundamental Study in Effect of Swimming on Patients with Bronchial Asthma — Effect of acute physical training by swimming on tracheal smooth muscle and heart catecholamine content in rats —

by

Sadao Kurokawa
The International Budo University
Satoshi Kurihara, Masato Konishi
Department of Physiology,
The Jikei University School of Medicine

ABSTRACT

The effect of acute and strenuous swimming on catecholamine (norepinephrine, epinephrine, dopamine) content of the tracheal smooth muscle and cardiac ventricular wall was studied in rats. In this experiment, 10-week-old male Wistar strain rats were swum for 3 hours in 35°C warm water and the results were compared with the data of age-matched sedentary controls. There were no difference in protein content of tracheal smooth muscle and ventricular wall. There were highly significant decreases in norepinephrine content of tracheal smooth muscle and ventricular wall (tracheal smooth muscle, control rats: 305.6ng/g wet tissue, swum

rats: 128.8ng/g wet tissue, ventricular wall, control rats: 671.4±92.1ng/g wet tissue, swum rats: 316.8±77.7ng/g wet tissue).

In contrast, a swimming for 3hr. resulted in significantly increased content of epinephrine and dopamine of tracheal smooth muscle and ventricular wall (tracheal smooth muscle, control rats: EP, 2.03ng/g wet tissue, DM, 23.6ng/g wet tissue, swum rats: EP, 4.7ng/g wet tissue, DM, 42.3 ng/g wet tissue, ventricular wall, control rats: EP, 19.4±6.8ng/g wet tissue, DM, 12.4±2.9ng/g wet tissue, swum rats: EP, 28.9±6.5ng/g wet tissue, DM, 79.4±9.5ng/g wet tissue). Furthermore, we investigated the effect of isoproterenol on acetylcholine-induced tension of rat tracheal smooth muscle experimentally. Acetylcholine-induced tension revealed a tendency of decrease in presence of isoproterenol. It is suggested that an increased dopamine content in each tissue might be a manifestation of an adaptation to the increased demands upon the each tissue in rats subjected to acute and strenuous swimming. It is concluded that prolonged swimming will be available therapy for asthma since there are possibility which prolonged swimming by adequate condition will increase norepinephrine content in tracheal smooth muscle, and its increased content will induce relaxation of trachea.

要 旨

喘息の発症の場である気管平滑筋のカテコラミン含有量に及ぼす1回水泳負荷の影響について研究した。

10週齢のwistar系雄性ラットを2群に分け、安静対照群と水泳負荷群とした。水泳負荷群のラットには、温水中で3時間の遊泳を負荷させた。安静対照群は安静状態で、水泳負荷群は遊泳終了後ただちに気管平滑筋および心筋を摘出し、カテコラミンの定量に供した。

安静対照群と比較して、水泳負荷群の気管平滑筋内カテコラミン含有量はノルエピネフリン(NE)で58%の有意な減少を示し、エピネフリン(EP)およびドパミン(DM)では2.3および1.8倍とおのおの有意な増加を示した。心筋内カテコラミン含有量もおのおの、気管平滑筋内カテコラ

ミン含有量と同様の変動を呈した。

一方、実験的に求めた、気管平滑筋のアセチルコリン誘発性張力はイソプロテレノールによって張力が抑制される傾向であった。

このようなことからすると、今回の実験で用いたような水泳負荷は、気管平滑筋および心筋でのNEの消費を増加させ、さらにDMからのNE合成を促進させるものと考えられる。したがって、適切な負荷条件での持続的な水泳は両組織のNEレベルを上昇させる可能性があり、気管平滑筋を弛緩させるという意味で喘息の原因療法としての水泳の有効性が示唆された。

緒 言

気管支喘息の治療の一環として水泳を行っている児童は多く、効果も大きいと言われている²⁾。気管支喘息児に水泳が推奨される理由の一つは、

水圧に抗して呼吸を行うことによって呼吸筋を強化することである²⁾。気管支喘息の本態そのものがまだ明らかでないため、原因療法というまでには至っていないが、対症療法としては適切と思われる。

一方、心臓は自律神経の支配下であり、交感神経節後線維終末から分泌されるカテコラミンは心拍数、心室筋の収縮力、収縮速度を増強することが知られている^{4,15)}。さらに、心筋組織内カテコラミン含有量は運動により変化し、交感神経活動を反映しているという報告は多い^{9,14,16)}。

気管平滑筋も心筋と同様に自律神経によって制御されており、交感神経刺激により弛緩することが知られているが、気管平滑筋内カテコラミン含有量、カテコラミン感受性などに及ぼす運動の影響に関する報告は少ない。栗原ら⁵⁾は持続的に水泳負荷で心筋内カテコラミン含有量が増加したと報告しているが、気管平滑筋においても組織内カテコラミン含有量が水泳によって増加すれば、気管支および気管の弛緩を促し、水泳による呼吸筋の強化とは別に気管支喘息の直接的治療としての有効性を裏づけるものと考えられる。

そこでわれわれは、まず基礎的研究として、ラットを用いて気管平滑筋の組織内カテコラミン含有量に及ぼす1回水泳負荷の影響、および気管平滑筋のアセチルコリン誘発性張力に及ぼすβ-受容体刺激剤の効果について検討した。

実験方法

1) 気管平滑筋の組織内カテコラミン含有量に及ぼす1回水泳負荷の影響について
10週齢の wistar 系雄性ラット 16匹を2群に分け、1群は安静対照群、もう1群は水泳負荷群とした。水泳負荷は水温 33°C—35°C の温水を満たした表面積 0.12m²、深さ 50cm のタンクを2つ用いて、おのおののタンクに4匹のラットを入れて行わせた。気管平滑筋摘出のために必要な時間

を考慮して、15分ごとに遊泳を開始させ、その遊泳時間は3時間とした。遊泳終了後、撲殺し気管および心臓を摘出した。

気管については、実体顕微鏡下で粘膜および脂肪組織を除去後、気管平滑筋を切出した。組織重量を秤量後、各群の気管平滑筋をそれぞれ1プールとし、カテコラミンおよびタンパクの定量に供した。心臓については、心房を除去し、心室のみの重量を秤量後カテコラミンおよびタンパクの定量に供した。カテコラミンの定量は Iriyama ら³⁾の方法に基づいて高速液体クロマトグラフィーを用いて、またタンパクの定量は Lowry ら¹⁰⁾の方法を用いて図1に示したような手順で行った。

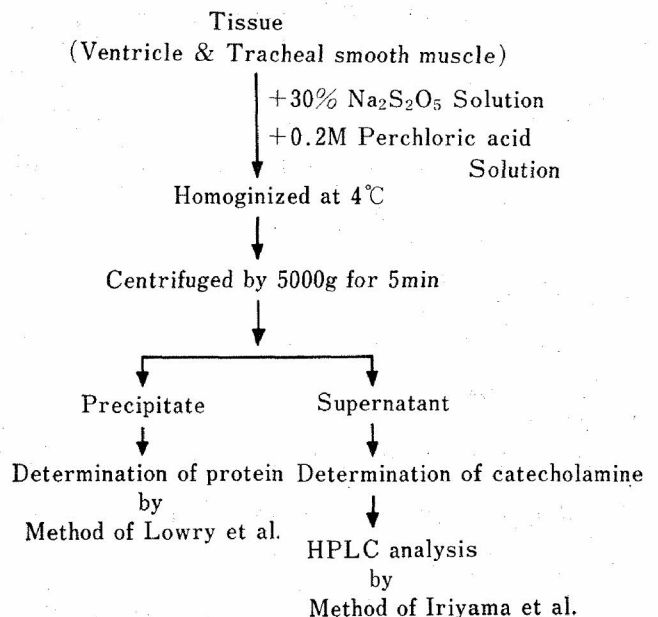


図1 Flow sheet of procedure for determination of catecholamine and protein in tracheal smooth muscle and ventricle obtained from rats.

2) 気管平滑筋のアセチルコリン誘発性張力に及ぼすβ-受容体刺激剤の効果
10週齢の wistar 系雄性ラットを撲殺後、気管を摘出した。気管軟骨の一分節を切り出して、平滑筋を含む切片を作成し図2に示したように organ bath の中に水平に置き、一端をフックに他端を張力トランスジューサーに固定し Tyrode 液で灌流した。Tyrode 液の組成 (mM) は、93NaCl,

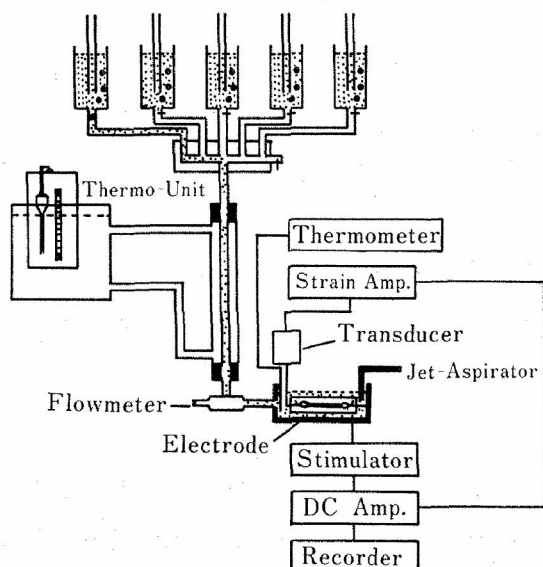


図2 Experimental apparatus.

5KCl, 2.5CaCl₂, 20NaHCO₃, 1Na₂HPO₄, 1MgSO₄, 20Na acetate, 10glucose, 5UI insuline で, 95% O₂, 5% CO₂ ガスで溶液をバブリングして pH を 7.4~7.5 とした. なお溶液の温度は恒温槽を用いて 35°C に保った.

続いてアセチルコリン濃度とそれによって誘発される張力との関係を観察するために, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ (g/ml) のアセチルコリンを含んだ Tyrode 液で灌流し張力を記録した. 各アセ

チルコリン溶液で最大張力発揮後は, Tyrode 液で灌流し張力が消失するまで標本を洗った. さらに続いて, アセチルコリン誘発性張力に及ぼす β-受容体刺激剤の影響を観察するために, 10⁻⁶M のイソプロテレノールを含む Tyrode 液で 30 分間前もって灌流してから 10⁻⁶M のイソプロテレノールおよび 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ (g/ml) のアセチルコリンを混入した Tyrode 液で灌流し発揮される張力を記録した. 各溶液で最大張力発揮後, 10⁻⁶M のイソプロテレノールを含む Tyrode 液で洗い張力を消失させた.

実験結果

安静対照群と水泳負荷群の体重, 気管平滑筋および心室の組織重量は表 1 に示したとおりであり, 2 群間で有意な差は認められなかった.

表 2 は 2 群の気管平滑筋と心室筋のタンパク含有量を示したものである. 気管平滑筋のタンパク含有量は, 安静対照群で 160.61mg/g wet tissue, 水泳負荷群で 158.68mg/g wet tissue であり, 両群ともほぼ等しい値を呈した. また心室筋についても, 2 群間で有意差がみられなかった.

表 1 Body weight and tissue weight.

	Number of rats	Body weight (g)	Tracheal weight (g)	Ventricle weight (g)
Sedentary	8	306.75±4.51	0.018±0.002	0.838±0.033
Swimming	8	311.38±6.58	0.021±0.004	0.825±0.032

Values are mean±SD

There were no significant differences in body weight and each tissue weight between sedentary control group and swimming group.

表 2 Protein content in tracheal smooth muscle and ventricle.

	Number of rats	Tracheal proteins (mg/g tissue)	Ventricle proteins (mg/g tissue)
Sedentary	8	160.61	214.58±22.36
Swimming	8	158.68	196.12±48.73

Values are mean±SD respectively.

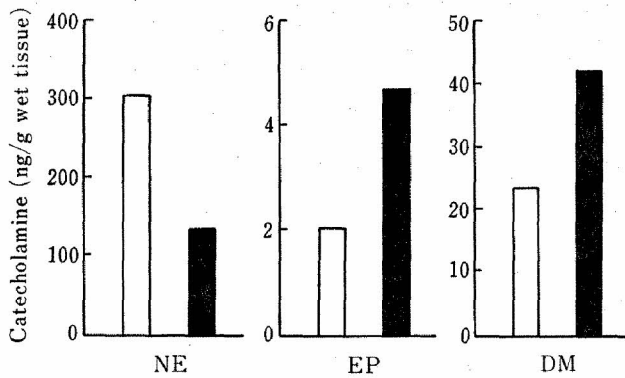


図3 Catecholamine content in tracheal smooth muscle. Open column indicates sedentary control group, and closed column indicates swimming group respectively.

安静対照群および3時間の遊泳を负荷した直後に測定した水泳负荷群の気管平滑筋内カテコラミン含有量は図3に示すごとくである。安静対照群では、ノルエピネフリン (NE); 305.6ng/g wet tissue, エピネフリン (EP); 2.03ng/g wet tissue, ドーパミン (DM); 23.6ng/g wet tissue であった。一方、水泳负荷群では、NE; 128.8ng/g wet tissue, EP; 4.7ng/g wet tissue, DM; 42.3 ng/g wet tissue であり、1回の水泳负荷により、NE では約58%の減少、EP および DM ではおのこの2.3倍および1.8倍の増加がみられ

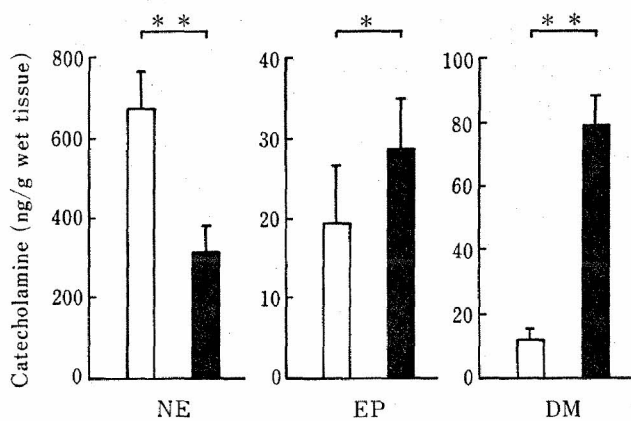


図4 Catecholamine content in ventricle. Open column indicates sedentary control group, and closed column indicates swimming group respectively. Significance of the difference between sedentary control group and swimming group is indicated according to t test as follow.

* p<0.05 ** p<0.01

た。

図4は安静対照群と水泳负荷群の心筋内カテコラミン含有量を示したものである。安静対照群では NE; 671.4±92.1ng/g wet tissue, EP; 19.4±6.8ng/g wet tissue, DM; 12.4±2.9ng/g wet tissue であった。水泳负荷群では NE; 316.8±77.7ng/g wet tissue, EP; 28.9±6.5, DM; 79.4±9.5ng/g wet tissue で、安静対照群に比較して、NE では1%水準で有意な減少が、また EP および DM ではおのこの5%および1%水準で有意な増加が観察された。さらに各組織の単位タンパク重量当りのカテコラミン量を示したものが図5および図6である。気管平滑筋については、安静対照群および水泳负荷群でおのこの NE; 1.90 μg/g protein および 0.81 μg/g protein, EP; 0.01 μg/g protein および 0.03 μg/g protein, DM; 0.15 μg/g protein および 0.27 μg/g protein で、安静対照群に比して、NE では低下の傾向が、EP および DM では増加の傾向がうかがわれた。

心室筋についても、気管平滑筋同様におのこの NE; 3.17±0.64 μg/g protein および 1.71±0.60 μg/g protein, EP; 0.09±0.03 μg/g protein および 0.16±0.07 μg/g protein, DM; 0.06±0.01 μg/g protein および 0.42±0.08 μg/g protein

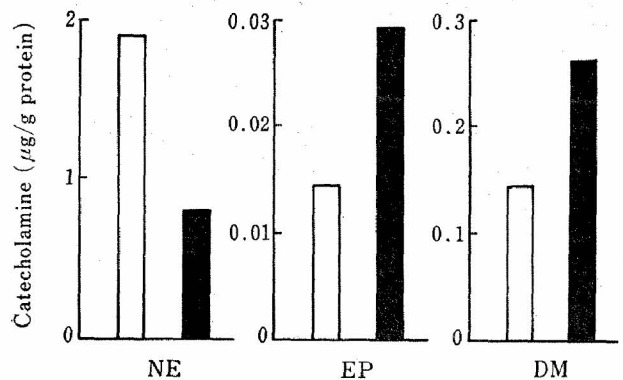


図5 Catecholamine content in tracheal smooth muscle. Open column indicates sedentary control group, and closed column indicates swimming group respectively.

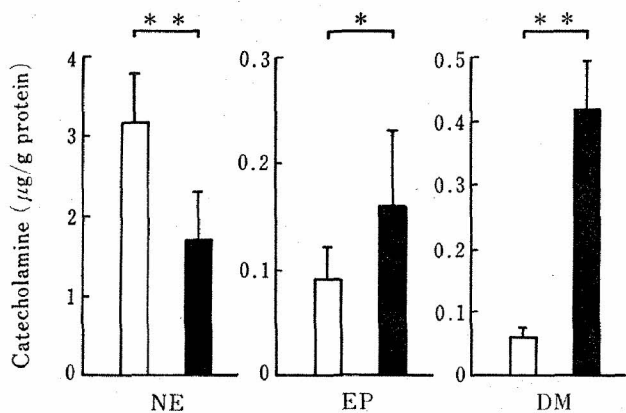


図6 Catecholamine content in ventricle. Open column indicates sedentary control group, and closed column indicates swimming group respectively. Significance of the difference between sedentary control group and swimming group is indicated according to t test as follow.
* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

で、安静対照群に比べ NE では1%水準で有意な減少が、また EP および DM では、それぞれ5%および1%水準で有意に増加していた。

気管平滑筋の各濃度のアセチルコリンによって誘発された張力と $10^{-6}M$ のイソプロテレノールの存在下でアセチルコリンによって誘発された張

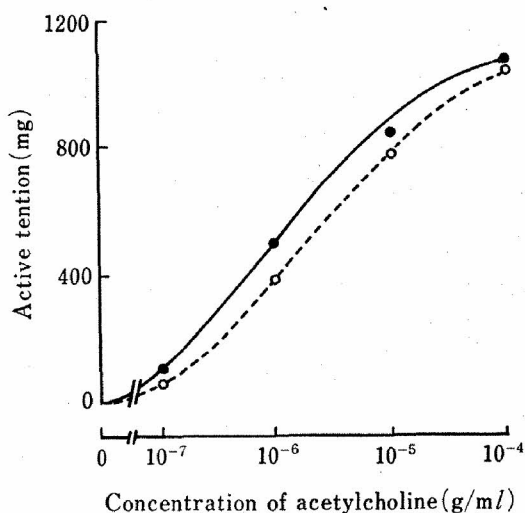


図7 Effect of isoproterenol on acetylcholine-induced tension in rat tracheal smooth muscle. Closed circles represent developed tension induced by acetylcholine. Open circles represent developed tension induced by acetylcholine in presence of $10^{-6}M$ isoproterenol.

力をプロットしたものが図7である。1気管平滑筋標本のデータであるが、イソプロテレノールの影響でアセチルコリン誘発性張力曲線が右側にシフトし、張力の低下傾向が観察された。

考 察

心筋組織内カテコラミン含有量に及ぼすトレーニングやストレスの影響に関する研究は多い。Schryver ら¹⁴⁾は500m/h、持続時間90分、週3回、3ヶ月にわたるトレッドミル走で心筋組織内カテコラミン含有量が減少し、また非運動群ラットに同様の負荷条件のトレッドミル走を1回負荷すると7%の増加を示したと報告している。

一方、Kvelňanský ら⁹⁾は1回のストレス負荷が、交感神経を緊張状態にし、アドレナリン作動性神経末端より分泌される NE を増加させ、そのために心筋内 NE レベルを低下させるのであると、そして反復ストレス負荷は、カテコラミン合成酵素である Tyrosin hydroxylase と Dopamine- β -hydroxylase の活性を抗進させ、カテコラミンの合成を促進させるために NE レベルは変化しないと結論づけている。

われわれの3時間の水泳負荷の実験では、心室筋内カテコラミン含有量は NE で53%の有意な低下がみられ、EP および DM ではおのおの1.5倍および6.4倍の有意な増加を示した。本実験の主題である水泳負荷による気管平滑筋内カテコラミン含有量の変動は、NE では58%の有意な減少を示し、EP および DM は2.3倍および1.8倍とおのおの有意に増加した。カテコラミンの作用の影響を最終的に受けるのは、収縮タンパク系を中心としたタンパクであることから、各組織のカテコラミンを単位タンパク重量当りで表わしてみても、両組織ともにその変動は単位組織重量当りで表わしたカテコラミン含有量の変動と対応しており、同様の傾向を示していた。

ここで、心筋と気管平滑筋の NE, EP, DM の

変動が、DM でその程度がいくぶん異なるが、同じようなパターンで生じていたことは興味深いことであり、両組織内で同様のカテコラミン代謝が営まれたものと思われる。また、心筋内 DM の1回水泳負荷に対する著しい増加は小西ら⁷⁾の報告と一致しており、このことについて、彼らは心筋での NE 消費と DM から NE 合成の促進を示唆するものと指摘している。

以上のようなことから勘案すると、本実験で用いられた水泳負荷による気管平滑筋および心筋における NE の減少は、交感神経の緊張による交感神経線維末端からの NE の分泌が亢進したために生じたものと考えられる。そして、DM は Dopamine- β -hydroxylase により NE に変換されることから、両組織における水泳直後の DM 含有量の有意な増加は、NE の合成促進を示唆している。

今回の実験では、NE 含有量は気管平滑筋、心筋ともに約半分に減少したが、Nikkilä ら¹²⁾の報告では、ラットを被験動物として、1回のトレッドミル走で心筋および褐色脂肪組織の NE 含有量が増加したと述べてあり、栗原ら⁶⁾は30分間1回の遊泳の前後では心筋内 NE 含有量に7週間の遊泳負荷群以外で有意な変化が認められなかったと報告している。この不一致は、本実験で用いた水泳負荷がかなり強く、DM から NE への変換速度よりも NE の消費速度が速くカテコラミン代謝の亢進、とりわけ NE の分解が促進されていることを意味するものであろう。

Rupp ら¹³⁾は、ラットに6週間の水泳トレーニングを行わせることによって、心筋組織のアドレナリン合成酵素である Phenylethanolamine-N-methyltransferase とカテコラミン分解酵素であるモノアミン酸化酵素の活性が低下したと報告している。

また栗原ら⁵⁾は持続的な水泳負荷により、心筋内 NE 含有量が有意に増加したと報告している

こと、そして今回の実験で気管平滑筋と心筋のカテコラミンの変動パターンが一致していることからすると、本研究で用いた水泳負荷よりもいくぶん軽度で、DM から NE の合成速度よりも NE の消費速度が遅い負荷条件の水泳を持続的に行えば、上述したような各酵素の活性の低下、とくにモノアミン酸化酵素活性の低下とあいまって、気管平滑筋および心筋内 NE 含有量の増加を招来すると考えられる。

図7に示したように、実験的に求めた気管平滑筋の等尺性張力は、アセチルコリン濃度に依存して大きくなり、イソプロテレノールによりその張力が抑制された。このことは、in vivo の気管平滑筋においても、外部環境に β -受容体刺激剤と同様の作用をする NE 濃度が高まれば喘息における気管および気管支の収縮が抑制されることを示している。すなわち、喘息児に適切な負荷条件で水泳が持続的に処方されれば、気管平滑筋内カテコラミン含有量、とくに NE 含有量が増加し、気管平滑筋の外部環境が喘息緩和にとってよりよい方向に改善されると思われる。

Takeda ら¹⁵⁾は、持続的な水泳負荷によって心筋の β -受容体数が減少したと、また Moore¹¹⁾は不変であったと報告していることから、喘息に対する水泳の有効性を検討するには、気管平滑筋のカテコラミン含有量のみでなく、 β -受容体の数、感受性やアデニールサイクラーゼ活性¹¹⁾などに及ぼす持続的な水泳の効果などについても研究する必要があると思われる。

総 括

3時間の持久的な水泳負荷は、気管平滑筋および心筋の NE レベルを低下させ、DM および EP を有意に増加させるということが明らかになった。このことは、気管平滑筋および心筋での NE の消費と DM から NE の合成が促進されていることを含蓄していると思われる。また、適切な負

荷条件で持続的に水泳負荷を行えば両組織の NE レベルを上昇させるという可能性の存在が考えられた。

一方、摘出気管平滑筋のアセチルコリン誘発性張力はイソプロテレノールによって低下する傾向にあった。したがって、心筋同様に気管平滑筋においても、適切な負荷条件での持続的な水泳は、組織内 NE レベルを上昇させ、さらにそれは気管および気管支を弛緩させると考えられるので、喘息の治療として有効な手段となることが示唆された。

稿を終るにあたり、本研究に御援助いただきましたデサントスポーツ科学振興財団に深謝いたします。

文 献

- 1) Conolly, M.E., Greenacre, J.K.; The lymphocyte β -adrenoceptor in normal subjects and patients with bronchial asthma, *J. Clin. Invest.*, **58** : 1307—1316 (1976)
- 2) 古橋廣之進, 小野三嗣, 兵藤秀子, 波多野勲; 水泳健康法, 自由国民社, 東京, pp. 142—145 (1978)
- 3) Iriyama, K., Yoshiura, M., Iwamoto, T.; Determination of catecholamines in rat tissue by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, *Jikeikai Med. J.*, **30** : 35—43 (1983)
- 4) Kammereit, A., Medugorac, I., Steil, E., Jacob, R.; Mechanics of the isolated ventricular myocardium of rats conditioned by physical training, *Basic Res. Cardiol.*, **70** : 495—507 (1975)
- 5) 栗原敏, 小林啓三, 小西真人, 富沢直子, 小林康孝, 中村紀夫, 坂口友次朗, 谷論; 発育期ラットの心筋, 胃壁, 脳内カテコールアミン含有量に対する運動負荷の影響, 特定研究 1), 昭和58年度文部省科学研究費研究成果報告書, 105—110 (1983)
- 6) 栗原敏, 小西真人, 小林啓三, 富沢直子, 松根洋右, 川村武, 吉浦昌彦, 岩本武夫, 入山啓治; 発育期ラットの心臓機能に対する遊泳負荷の効果, 体力科学, **34** : Suppl. 113—120 (1985)
- 7) 小西真人, 小林啓三, 富沢直子, 川村武, 栗原敏, 酒井敏夫; 発育期ラットの心筋内カテコールアミン含有量に対する遊泳負荷の影響, 体力科学 **33**(6) : 368 (1984)
- 8) Kvelínský, R., Torda, T.; Change of heart catecholamine levels, metabolism and adrenergic receptors in acutely and repeatedly stressed rats, Cardiac adaptation to hemodynamic overload, training and stress, ed. by R. Jacob, R.W. Gülch, G., Kissling, Dr. D. Steinkopff Verlag, pp. 265—266 (1983)
- 9) Lin, Y.C., Horvath, S.M.; Autonomic nervous control of cardiac frequency in the exercise-trained rat, *J. Appl. Physiol.*, **33** : 796—799 (1972)
- 10) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.L.; Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193** : 265—275 (1951)
- 11) Moore, L.R., Rieby, M., Gollnick, P.D.; Effect of training on β -adrenergic receptor number in rat heart, *J. Appl. Physiol., Respirat. Environ. Exercise Physiol.*, **52**(5) : 1133—1137 (1982)
- 12) Nikkilä, E.A., Torsti, P., Penttilä, O.; Effects of fasting, exercise and reserpin on catecholamine content and lipoprotein lipase activity of rat heart and adipose tissue, *Life Science*, **4** : 27—35 (1965)
- 13) Rupp, H., Bukuhari, A.R., Jacob, R.; Modulation of catecholamine synthesizing and degrading enzymes by swimming and emotional excitation in the rat, Cardiac adaptation to hemodynamic overload, training and stress, ed. by R. Jacob, R.W. Gulch, G., Kissling, Dr. D. Steinkopff Verlag, pp. 267—273 (1983)
- 14) Schryver, C.D., Mertens-Strythagen, J., Becsei, I. and Lammerrant, J.; Effect of training on heart and skeletal muscle catecholamine concentration in rats, *Am. J. Physiol.* **209**(6) : 1089—1094 (1965)
- 15) Takeda, N., Dominik, P., Türck, D., Rupp, H. and Jacob, R.; The influence of endurance training on mechanical catecholamine respon-

siveness, β -adrenoceptor density and myosin isoenzyme pattern of rat ventricular myocardium, *Basic Res. Cardiol.*, **80** : 88—99 (1985)

16) Tipton, C.M.; Training and bradycardia in rats, *Am. J. Physiol.*, **209**(6) : 1089—1094 (1965)