

肺NO産生能からみた短期高地トレーニングの効果

名古屋大学 宮村実晴
(共同研究者) 豊橋技術科学大学 安田好文
同 青木克之
信州豊南女子短期大学 檜村修生
東京大学 小林寛道

Effect of Short Term High-Altitude Training on the Production of Nitric Oxide in Exhaled Air

by

Miharu Miyamura

Nagoya University

Yoshifumi Yasuda, Katsuyuki Aoki

Toyohashi University of Technology

Osamu Kashimura

Shinshu Honan Women's College

Kando Kobayashi

University of Tokyo

ABSTRACT

Since endothelium-derived relaxing factor (EDRF) was identified as nitric oxide (NO), numerous studies have been performed for determining the cellular origin and the physiological role of NO. Up to now, it has been reported that various kinds of cells, including endothelium, neuron, mucosal epithelium, smooth muscle, skeletal muscle and macrophage can generate NO, and this endogenous NO has wide physiological roles, such as control of vascular tone,

neurotransmission, host defense, etc.

On the other hand, high altitude training has been used for the improvement of aerobic work capacity in various kinds of athletic sports, such as marathoning, swimming, skating and bicycling. It has been found that a hypoxia induces pulmonary vasoconstriction, and that endothelium derived NO reduces pulmonary vasoconstriction.

In the present study, therefore, the effect of high-altitude training both on the NO production in the exhaled air during ramp exercise in humans, and on the pulmonary circulation and an isolated vascular reaction to vasoconstrictor agents in rats were investigated.

High altitude training for 5 weeks improved arterial oxygenation during inhalation of hypoxic gas at rest, but induced no significant change in VO_2 , VE and exhaled NO output (VNO) during ramp exercise in humans. In the animal study, a normoxic running training or a hypoxic running training could reduce pulmonary blood pressure to exercise or hypoxia. The constrictor tone of the isolated pulmonary artery to vasoconstrictor agents was reduced in hypoxic running trained rats.

It suggests that running training or hypoxic running training could improve pulmonary vasoconstriction to exercise or hypoxia. However, exhaled NO output may not reflect the pulmonary vasodilator activity of NO.

要 旨

本研究では、肺血管内皮細胞由来の一酸化窒素 (NO) が、短期高地トレーニングによって変化するか否かを検討した。

人を対象とした実験では、5週間に渡る高地トレーニング前後にランブ負荷運動を行わせ、呼気NOが増大するか否かを検討した。その結果、高地トレーニングにより呼気NO量は変化しないことが明らかとなった。

またラットを用い、低酸素下において8週間の持久性トレーニングを行わせた後、肺血管を摘出し、各種血管作動物質に対する収縮反応を対照群と比較した。その結果、低酸素トレーニングは肺血管の収縮物質に対する反応を抑制した。このことは、血管内皮細胞由来の血管拡張物質 (NO) の産生が、低酸素下のトレーニングにより亢進したことを示唆するものである。

以上の結果から、低酸素下のトレーニングは、

血管内皮細胞由来の拡張物質の産生を亢進し、肺循環を改善することが示唆される。しかしながら、このような肺血管由来のNOの作用を呼気ガスから推定することには問題があると考えられる。

緒 言

血管内皮細胞に由来する血管弛緩物質 (endothelium dependent relaxing factor: EDRF)¹⁾ が一酸化窒素 (NO) であることが、Palmerら (1987)²⁾ により明らかにされて以来、生体のNOの産生源およびその生理的な意義について多くの研究が行なわれてきた。これまでの研究成果を要約すると、NOは血管内皮細胞、神経細胞、血管平滑筋、骨格筋、マクロファージなど様々な細胞から産生されること、その意義についても血管拡張作用、神経伝達、生体防御など多様な生理作用を有することが明らかにされている³⁾。内皮細胞におけるNOの産生には、細胞内カルシウム濃度の上昇がトリガーとなり、可溶性グアニレー

トサイクラーゼ (SGC) が活性化され、これが NO 合成酵素 (NOS) を活性化させ、細胞内 L-アルギニンを酸化して NO を生成する。NO は低分子ガス状物質であり、細胞膜を容易に通過することができるため、近接する血管平滑筋細胞に拡散し、細胞内のグアノシン三リン酸 (GTP) に作用し、サイクリック GMP (cGMP) を生成し、これが平滑筋を弛緩させる。このことから血管内皮細胞由来の NO は、局所の循環だけでなく、全身の血圧調節にも重要な働きをしていることが明らかにされている。

一方、メキシコオリンピックを契機として始められた高所トレーニングは、当初の高地対策の意義を超え、平地でのパフォーマンス、特に有酸素性持久力の改善のために、いろいろな競技種目において広く行われるようになってきている。しかしながら、その効果、トレーニング方法についてはこれまで必ずしも一致した見解は得られていない。高地、すなわち低酸素環境は、肺血管を収縮させ、肺高血圧を招来させることも明らかであり、同時に肺血管由来の NO が、この作用を抑制していることも、最近明らかにされつつある。

そこで本研究では、短期高所トレーニングが呼気 NO、さらには肺循環系に及ぼす影響を検討することを目的として、以下の 3 条件において研究を行なった。すなわち、

1. 化学発光式 NO 分析計の測定精度の検証
 2. 短期高所トレーニングが呼気 NO 量に及ぼす影響
 3. 運動および高所トレーニングがラットの肺循環系に及ぼす影響
- である。

1. NO 分析計の精度の検証

1. 1 目的

現在、一酸化窒素 (NO) の測定法には大別して二種類ある。一つは NO の酸化物である NO₂-

または NO₃⁻ を測定する方法 (間接法) であり、もう一つは NO を直接測定する方法である。最近では後者の方法が主流となっており、中でもオゾン化学発光法を原理とした NO 分析法は、最も信頼できる測定法の 1 つである。

オゾン化学発光法は、NO とオゾンとを反応させることにより励起状態の NO₂^{*} を生成し、この高エネルギー活性種が可視光および近赤外領域の化学発光を示す性質を利用して測定する。



この方法の利点は、第一に光学測定なので超高感度であり検出限界がかなり低いこと、第二にこの反応は気相中でおこるため、NO を相移動させずに NO を直接測定できる点である^{4,5)}。

本研究では、この化学発光式 NO 分析計 (NOA280, Sievers) を用い、その測定精度について検証実験を行なった。

1. 2 実験方法とその結果

化学発光式分析器を用いて NO を測定する方法として、連続してサンプルガスを流す方法 (連続法) と少量のサンプルガスを注入する方法 (マイクロインジェクション法) がある。本研究では、両方法を用いた測定法上の問題点について検証した。

1. 2. 1 連続法

本法では連続的にサンプリングを行い、NO 分析器の直線性、時間ドリフトおよび出力信号の振動の大きさとその周波数特性を調べた。直線性のテストは NO 標準ガス (420ppb) および純 N₂ ガスを分割器 (STEC GAS DIVIDER/SRG) を通して、NO 標準ガスがそれぞれ 0, 20, 40, 60, 80, 100% の比で混合したものを順次 NO 分析器で測定した。このテストを 12 時間の間隔において 3 回実施した。なお測定条件は室温 21℃、各ボンベ圧 0.12kg/m²、分析器内圧 5.3torr であった。

分析器からのアナログ信号は、一旦データレコーダ (RD-120TE TEAC) に収録し、実験終了後

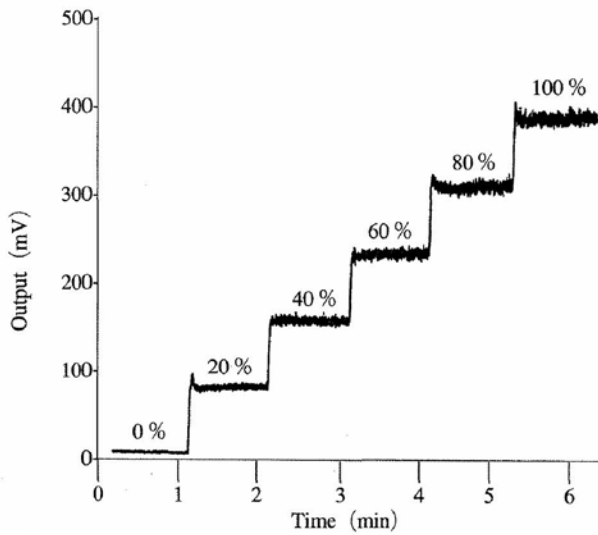


図1 異なる濃度のNOガス測定時における分析器の出力特性

にA/D変換器を用いてサンプリング周波数100Hzでコンピュータに取り込み、データファイルを作成した。その結果を図1に示す。各条件下における平均NO濃度 (ppb) とその標準偏差 (SD) はそれぞれ0%で 10.9 ± 0.79 , 20%で 88.1 ± 2.25 , 40%で 165 ± 2.93 , 60%で 244 ± 3.57 , 80%で 323 ± 4.46 , 100%で 401 ± 4.87 であり、NO濃度の上昇に伴って振幅も上昇した。各混合比における出力値の安定した22秒間のデータを平均し、代表値とした。各ガス混合比とNO分析結果との間にいずれの測定時においても高い直線性 $R^2 \geq 0.999$ が認められた。

しかしながら、1回目の測定と、2回目、3回目との間にはNO分析器の明らかな感度のドリフトが認められた。

図2に、図1のデータの内NOガスの混合比0, 40, 100%時の出力値のスペクトル解析結果を示す。いずれの条件においても10Hz以下の不規則な振動と40Hzの周期的な振動が観察された。

1. 2. 2 マイクロインジェクション法

本方法は少量のサンプルガスをNO分析器に注入しその出力値の積分値から濃度を判定する。本研究ではマイクロシリンジを用いてガスサンプルを4ml摂取し、これを分割器に1-1.5秒の間に注

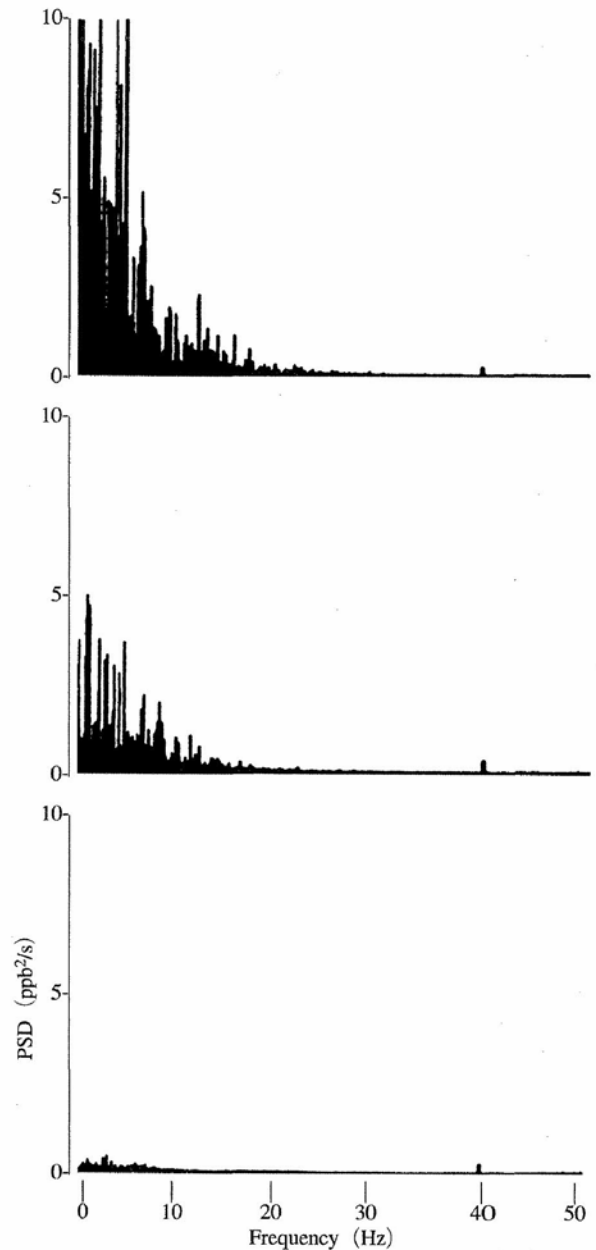


図2 3種類のNO混合ガス測定時における分析器出力のスペクトル解析結果

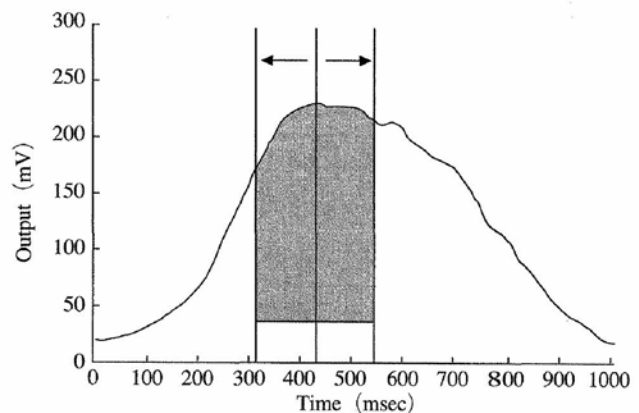


図3 マイクロインジェクション法によるNO測定結果とその積分値の算出法

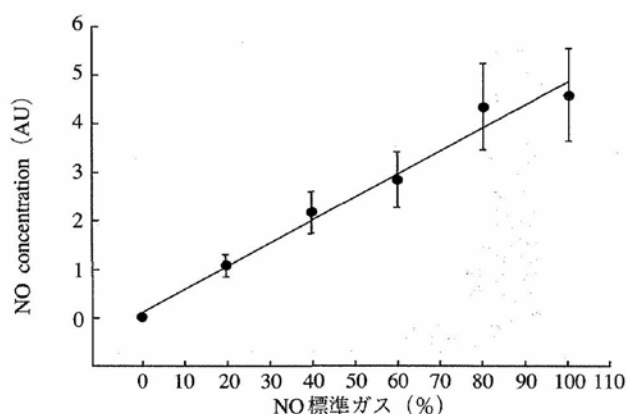


図4 マイクロインジェクション法による直線性の検討結果

入する方法を用いた。図3に出力波形の一例とその積分値の求め方について示す。得られた波形データからその最大出力値の点を中心にその前後125msec間の積分値(斜線部)を求めた。250msec間の積分値を求めた理由は本分析器の応答性(99%応答時間が250msec)から決定した。なおデータにおいて明らかなピークが認められない場合、ピークが2個以上に認められる場合、ベースライン付近での変動が大きい場合はデータから削除した。

最初に連続測定法で行ったように混合比を変えたNO標準ガスを用い、各混合条件下で3回の測定を行い、各測定の積分値の平均を求めた。図4にその結果を示す。全体としては高い直線性($R^2 = 0.98$)は認められたものの、誤差も大きく、不安定性が目立った。続いてNOガスの時間に伴う減衰性について検証した。ここではNOが酸素と結合しNO₂が生成されることによるNOの減少を確認することが目的である。呼気ガスと少量のNO標準ガスを混合し、3Lアクリル容器に封入する。そのガスをマイクロシリンジを用いて1回につき4ml、2回採取し、分析器に注入した。得られたピークを先と同様の方法によりその積分値を算出し、時間経過に伴うNO濃度変化を調べた。その結果を図5に示す。NO濃度は2分後に減少しその後10分までは上昇し、ピークを示すが、

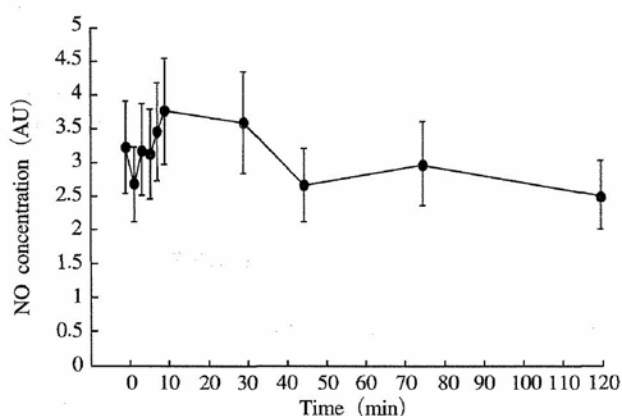


図5 容器内に封入したガス中のNOガス濃度の経時的変化

その後は緩やかに減少した。

1.3 考察

本実験では、主に呼気ガス分析用に開発された化学発光法式NO分析器(NOA 280 SIEVERS)の測定精度等について検証を行った。連続的な測定では高い直線性が認められ、100ppb以下の低濃度のNO測定においても十分に測定可能であることが明らかとなった。しかしながら分析器からの信号には大きな振動成分が含まれており、その幅は0ppb付近で ± 0.94 ppb、80ppb付近で ± 4.4 ppbであり、より高精度の測定を行う上で大きな問題点であろう。この振動は装置の原理的な機構に依存していると考えられるため、メーカーとの連携を図りながら改善する方向で検討しなければならないだろう。また、時間に伴う装置の特性変化(drift)については、3回の測定において回帰直線の傾きに変化は見られず、主に0点の変化に依存したものであった。このことは、測定の前に1点、あるいは2点の較正を行うことにより装置の正確な較正が評価できることを示している。しかしながら、室内空気中のNO濃度が、純窒素ガス中のNO濃度より低値を示しており、0レベル補正を行う上での問題点も残された。

一方、マイクロインジェクション法についてはデータ間に大きなばらつきが認められた。その原因として分析器への注入スピードあるいは注入量、

出力データの処理方法などが関係していると考えられる。NOの時間にもなう変化については、非常に複雑な挙動を示すことが確認された。この現象がNO本来の特性か、あるいは測定上の誤差に起因するものかについては今後の検討課題である。

2. 短期高所トレーニングが呼吸機能および呼吸NO量に及ぼす影響

2.1 目的

メキシコオリンピックを契機として始まった高地トレーニングは、今や陸上長距離、水泳、スキー、自転車など主に持久力強化を目指す様々なスポーツトレーニング法として定着しつつある。しかしながら、その効果については、これまで一致した見解は得られていない⁶⁾。すなわち、短期間の高地トレーニングにより、平地帰還後の競技成績の改善、あるいは最大換気量、最大酸素摂取量の増大や、赤血球、ヘモグロビン値、2, 3-DPGの増加などを観察した報告は多いが、高地トレーニングは個人差も大きく、有意な効果を認めなかったとの報告も多い。

一方、呼吸に含まれるNOには、下部気道および肺血管が関与していることが示唆されている。低酸素は肺動脈血管を収縮し、肺高血圧を招来することが知られている。NO生成の阻害剤であるL-メチルアルギニン (L-NMMA) 投与により低酸素暴露下の肺高血圧症が促進することから、肺血管由来のNOが肺血管のトーンスの維持に重要な働きをしていることが示唆されている。しかしな

がらこれまで、高地トレーニングにより、NO生成能が改善したか否かについて検討した報告は見当たらない。そこで国内の一流女子長距離選手を対象とし、約5週間の高地トレーニングが、呼吸NO量および呼吸機能に及ぼす影響について検討した。

2.2 方法

被験者は、某実業団チームに所属する女子長距離選手6名(表1)である。いずれの被験者もこの数年間厳しいトレーニングを積んできており、国内のトップレベルあるいはそれに準ずるレベルにある。このチームは、例年春のシーズンが終了した8月に高地合宿を実施しており、本年も7月下旬から8月下旬までの約5週間中国雲南省昆明(海拔1,870m)にて高地トレーニングを行なった。実験は、高地トレーニングの前後、すなわち6月19日および9月2日に、座位安静下における低酸素吸入テスト(実験1)と、自転車エルゴメータによる最大ランプ負荷テスト(実験2)を行なった。

実験1では、十分な安静後に座位姿勢にて低酸素(11.95% O₂)吸入を7分間行ない、その間の酸素飽和度と心拍数をパルスオキシメーター(OLV-1200, 日本光電)を用いて1分ごとに測定した。

実験2では、自動制御式自転車エルゴメータを用い、5分間の無負荷ペダリングに続いて、20W/minの負荷上昇率のランプ負荷運動を疲労困憊に至るまで行なわせた。

表1 被験者の身体特性と競技記録(1997.6.19日現在)

Subjects	Age (yrs)	Ht (cm)	Wt (kg)	1500mR (m' s")	5000mR (m' s")	$\dot{V}O_{2max}/BW$ (ml/kg/min)
N・T	23	159	44.5	4'31"70	16'58"03	54.9
T・O	21	167	47.5	---	16'10"09	61.2
A・K	19	156	40.5	4'15"71	15'55"40	53.0
M・K	19	159	42.0	4'24"00	15'55"82	55.9
H・O	21	165	47.5	---	15'35"49	62.7
M・H	25	159	44.0	4'25"95	16'14"20	49.6
Mean	21	161	44.3			56.2
(SD)	(2.3)	(4.2)	(2.8)			(5.0)

$\dot{V}O_{2max}/BW$ は6・19の実験データを示す

被検者にはフェイスマスクを装着し、最大作業であることを考慮し、鼻気道からの呼吸も可能な条件とした。ペダル回転数は被検者の好みの回転数で行なった。運動中の換気ガス交換データは、ミクシングチェンバー法を用い、20秒間隔で測定した。呼気ガス中の一酸化窒素 (NO) をNO分析装置 (NOA-280, Sievers) を用い連続的に測定し、実験後20秒間隔の平均データとして算出した。吸気と呼気中のNOの濃度差 (Δ FNO), および呼気NO排出量を求めた。同時に胸部誘導法により心拍数の測定を心電モニターを用いて行なった。

2. 3 結果

図6に7分間の低酸素 (O_2 : 11.97%) 吸入時および3分間の回復期における動脈血酸素飽和度 (SaO_2), 毎分心拍数 (HR) の変化を示す。低酸素ガス吸入前の SaO_2 には有意の差は認められない。低酸素ガス吸入により SaO_2 は急激に低下するが、明らかに高地トレーニング後ではその低下が抑制された。そして低酸素ガス吸入後4-6分の値に、有意の差が認められた。HRは低酸素吸入中および回復時とも有意の差は認められないものの、高地トレーニング後の値が常に高い傾向を示した。低酸素ガス吸入により、両条件ともおよそ10拍/分の上昇が認められた。

図7に最大作業持続時間、最大酸素摂取量、最大換気量、最高心拍数および呼気中の最大NO排出量の比較

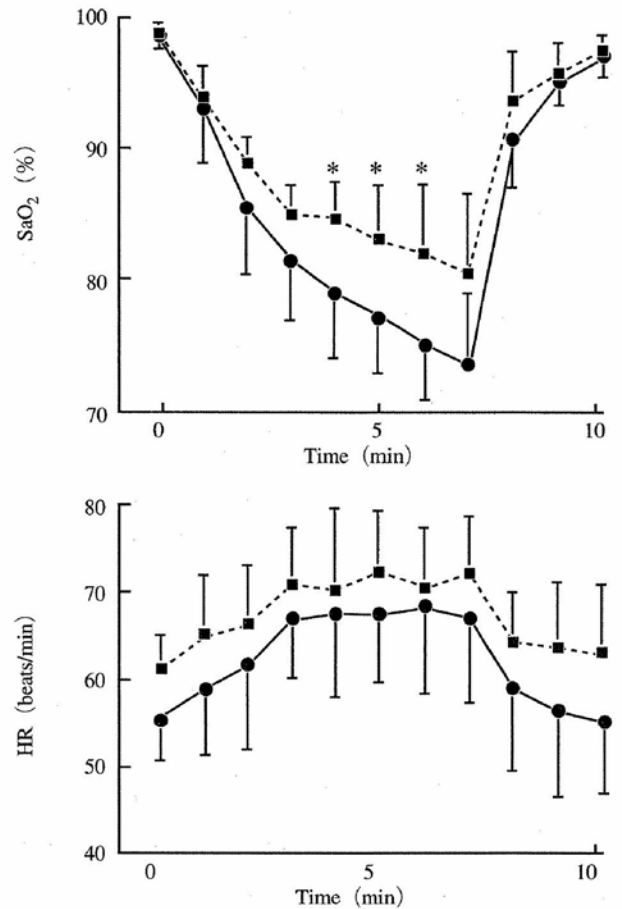


図6 低酸素ガス吸入時のパルスオキシメータによる酸素飽和度と心拍数の変化
●: 高地トレーニング前, ■: トレーニング後

出量の平均値を示す。最大作業時間、最大酸素摂取量は6名の被検者の内5名が高地トレーニング後で上昇したが、1名は逆に低下し、両条件間に有意の差は認められなかった。また最大換気量に

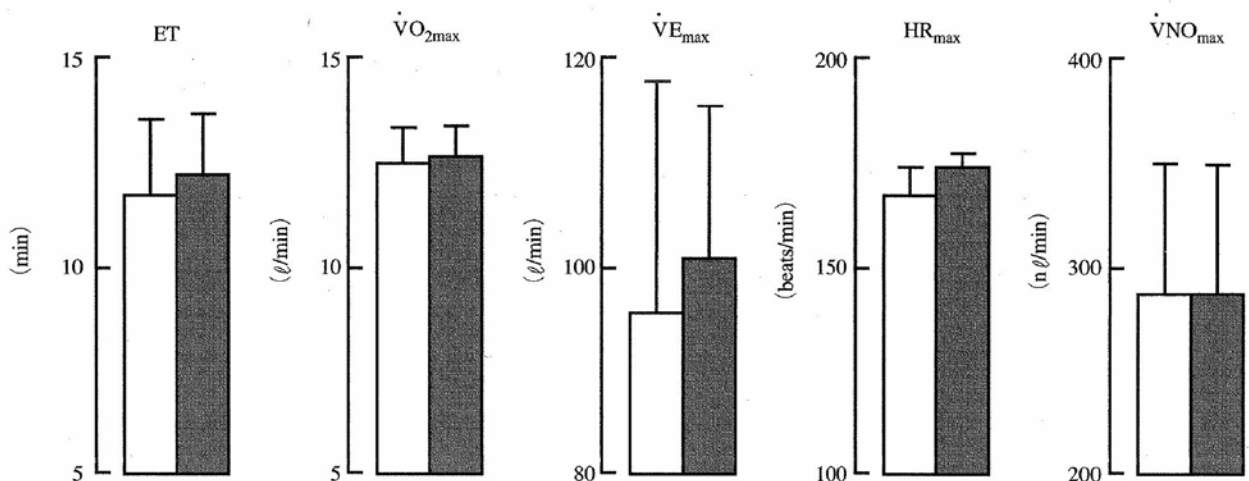


図7 高地トレーニング前後における最大作業時間、最大酸素摂取量、最大換気量、最高心拍数、最大呼気NO排出量の比較

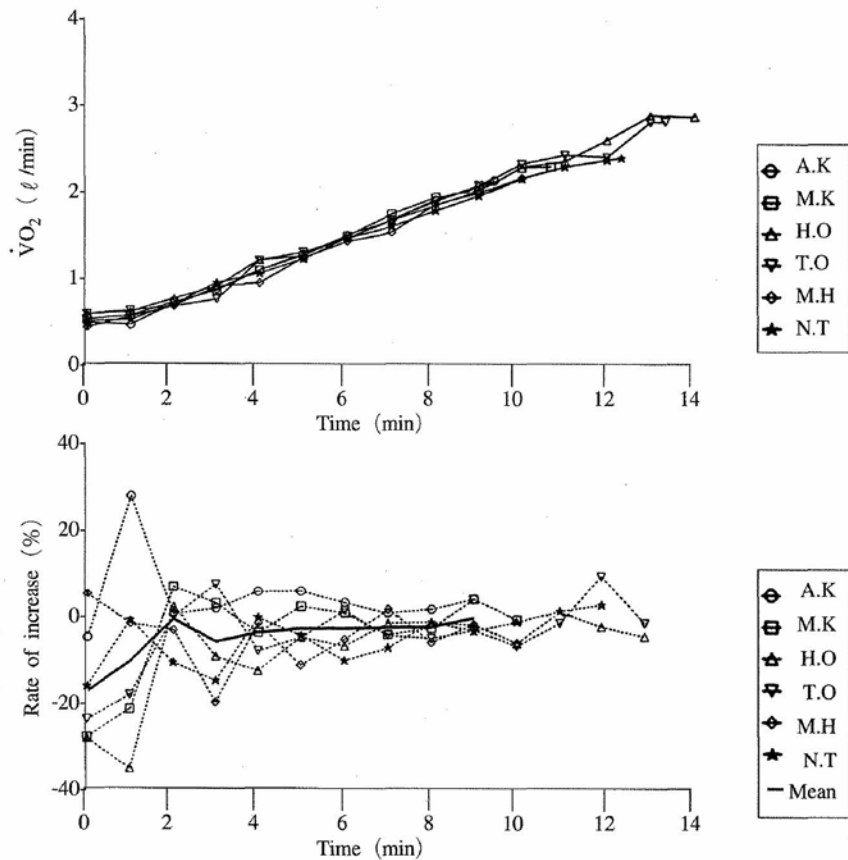


図8 高地トレーニング前におけるランプ負荷運動時の酸素摂取量の経時変化（上段）と高地トレーニング後のトレーニング前値に対する相対的關係（下段）

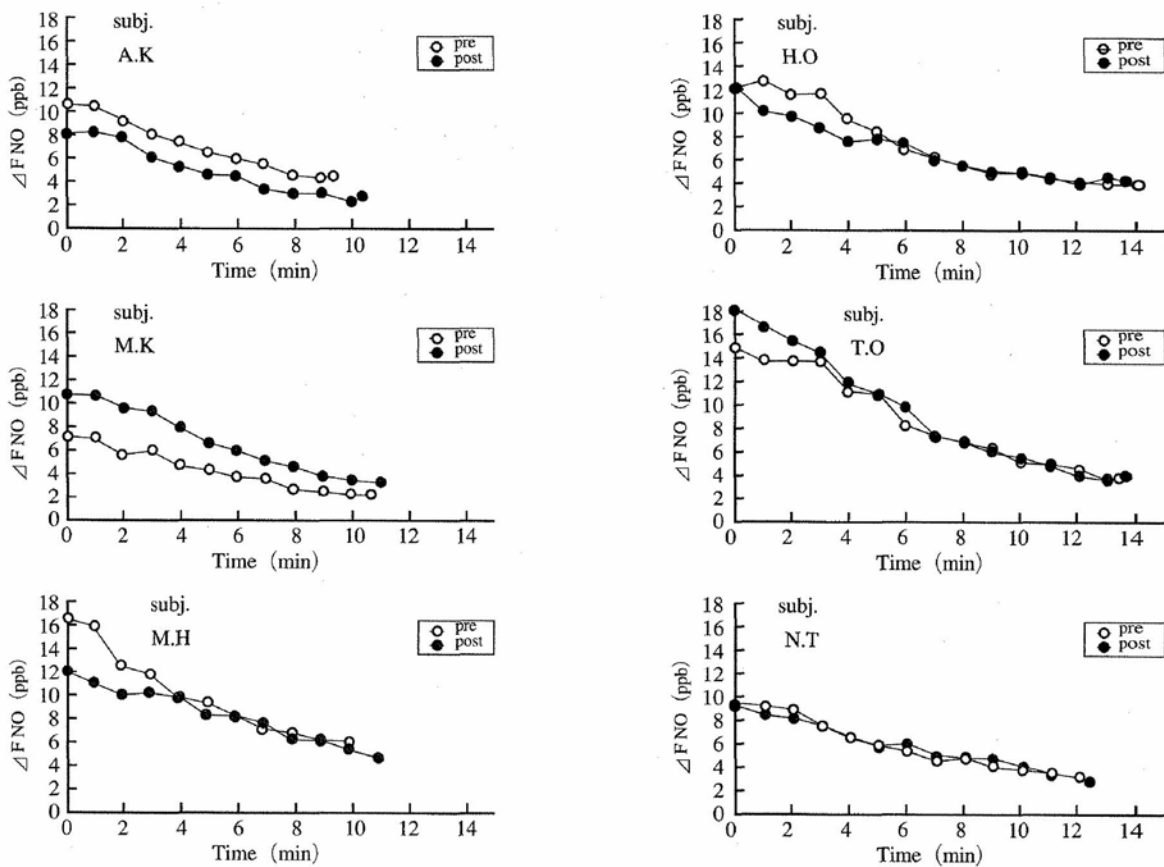


図9 高地トレーニング前後におけるランプ負荷運動時の呼気NO濃度の比較
○高地トレーニング前，●高地トレーニング後

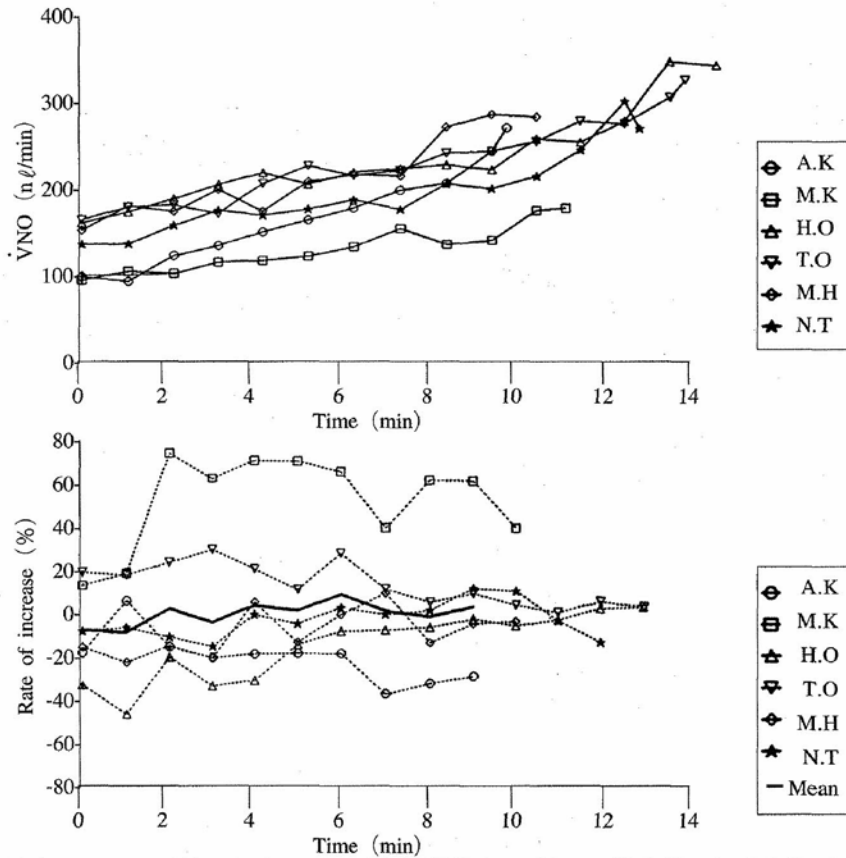


図10 高地トレーニング前におけるランプ負荷運動時の呼気NO排出量の経時変化（上段）とそのトレーニング後の値との相対比較（下段）

ついても増大する傾向が認められたが、有意の差ではなかった。しかしながら最高心拍数は高所トレーニングの後の値がトレーニング前値に比べ有意 ($p < 0.05$) に高かった。

図8の上段に高所トレーニング前のランプ負荷運動時の酸素摂取量を、下段に高所トレーニング後の結果をトレーニング前との相対値として示す。ランプ負荷運動時の酸素摂取量は負荷の増大に伴ってほぼ直線的に増大した。同一負荷時の酸素摂取量は高所トレーニング前に比べトレーニング後は低くなる傾向を示したが、両条件間に有意の差は認められなかった。

図9に全被検者高地トレーニング前後のランプ負荷運動中の呼気NO濃度（ただし吸気中のNO濃度を補正したもの）の変化を示す。ランプ負荷運動時の呼気NO濃度は、運動強度の増大に伴い逆に減少した。トレーニング前後の比較では1名は増大、1名が減少傾向を示し、他の4名につい

ては大きな違いはなく、従って両条件間に有意な差は認められなかった。図10は、ランプ負荷運動中のNO産生量をトレーニング前後で比較した結果を示すが、両条件間に有意の違いは観察されなかった。

2.4 考察

本実験では、約1ヶ月に及ぶ高地トレーニングにより、ランプ負荷運動時の呼気中の一酸化窒素(NO)が増大するか否かについて、他の呼吸循環機能と対比させて検討することを目的とした。その結果、高地トレーニングにより、明らかな呼気NO量の増大を観察することはできなかった。また最大酸素摂取量、最大換気量、最大作業時間についても有意の改善を認めることができなかった。しかし低酸素吸入時の動脈血酸素飽和度 (SaO_2) テストにおいて有意の変化を観察することができた。

以上の結果から、日頃からよくトレーニングさ

れた選手の、短期高地トレーニングは、平地での有酸素性作業能の指標に明らかな改善をもたらす可能性は低いことが示唆される。しかしながら、風邪で体調を崩した1名を除くと、最大作業時間が平均で5%、最大酸素摂取量が平均で4%の増大を認め、この5名だけの結果では統計的に有意の上昇であった。したがって、高地トレーニングの有酸素性作業能に及ぼす有効性は必ずしも否定できないと考えられる。

一方、ランブ負荷運動時の呼気NO排出量については、高地トレーニングによる変化を認めることができなかった。これまで、低酸素性肺高血圧がNO合成阻害剤で促進すること (Spragueら, 1992)⁷⁾、さらにはNO吸入が低酸素性肺高血圧を抑制すること (Frostellら, 1991)⁸⁾ が明らかにされていることから、高地トレーニングにより肺血管におけるNO合成が促進され、これが肺におけるガス交換の改善をもたらすことが予想される。事実低酸素トレーニングにより肺血管の血管作動物質に対する収縮反応が抑制され、これに内皮細胞由来のNOが関与していることが示唆されている (後述)。

しかしながら、本結果はこれらの仮説を否定するものであった。この理由として、次の可能性が考えられる。すなわちOgataら (1997)⁹⁾ の摘出還流肺の実験によれば、肺血管内皮細胞由来のNOは血液中のヘモグロビンと強力に結合し、肺でのガス交換により気道へ流出する可能性は低いという。また本実験において、低酸素吸入テストにおいてSaO₂の低下が高地トレーニングにより有意に改善されたことから、肺血管由来のNOの産生が亢進し、肺におけるガス交換を改善した可能性も予想される。以上の点を考慮すると、短期高所トレーニングにより肺血管内皮細胞由来のNOにより肺循環系の改善が図られた可能性は高い。しかしながら肺血管内で生成されたNOを呼気で測定することは、大きな問題を含んでいる可

能性があり、測定方法も含め、今後の検討課題としたい。

3. 平地および高地における持久性トレーニングが肺血管反応に与える影響

—とくに内皮細胞由来弛緩因子の

関与について—

3.1 目的

肺循環系は、酸素運搬機能として重要な役割をもち、とくに運動時のように骨格筋において酸素需要が多量になる場合、その役割は非常に重要となる。運動トレーニングにより運動成績が向上する場合には、先行研究からより激しい運動にも適応できるような肺循環系の変化が生じることが予想される。しかし、肺循環系、とくに運動トレーニングによる肺血管の変化に関する報告は少ない。そこで本実験では、ラットを用い、平地および高地における運動トレーニングによる肺血管内皮細胞由来弛緩因子の変化について検討した。

3.2 平地および高地運動トレーニングの内容

実験動物として8週齢雄SDラットを用い、ランニングトレーニングを実施させた。トレーニングは、小動物用トレッドミルを用い、走行速度30m/min、1日40分間、週5回、8週間実施した。高地運動トレーニング (低酸素運動トレーニング) は、平地運動トレーニングと同条件でランニングトレーニングを実施した。この際、小動物用トレッドミル内を低酸素 (16% O₂) に設定した。この運動トレーニングをしたラットは、下記の (2) から (4) の実験で用いられた。

3.3 カテーテル挿入による実験

3.3.1 方法

麻酔 (ペントバルビタールおよびケタミン) 下において頸静脈から右心房、右心室を経て肺動脈までカテーテル (ビニールチューブ、内径0.28mm) を挿入し、皮下を通して首背部に慢性留置した。なお、挿入は、圧波形をモニターによ

り観察しながら実施した。このカテーテルを圧トランスデューサーに接続し、安静時および運動時の肺動脈圧の測定を実施した。

3. 3. 2 結果と考察

図11（上図）に、平地運動トレーニングによる安静時および運動時の平均肺動脈圧（Ppa）の変化を示した。Ppaは、運動の開始により急激に上昇し、運動強度の増大にともないPpaの上昇は増大した。このPpaの上昇には、肺血流量の増加（心拍出量の増加）と運動による血管作動性物質の分泌増加（たとえばnorepinephrine）による肺血

管収縮の両者が関与すると思われる。しかし、運動トレーニング群における運動によるPpa上昇量は、対照群に比較して少なかった。この抑制には、毎日の運動の繰り返しによる血管拡張物質の関与、すなわち血液量の増加に伴いずり応力が増し、内皮細胞由来弛緩因子（EDRF）の放出が促進し、これが肺血管を弛緩させたと考えられる。また、運動にともない血管作動性物質、たとえばnorepinephrine（NE）、epinephrine（E）等の分泌増加が運動トレーニングにより減少したり、肺血管に対するNEおよびEの収縮反応が脱感作を生じることも原因として考えられる。

図11（下図）は、2500mの低圧低酸素暴露下において、安静および運動時のPpaを対照群と運動トレーニング群で比較したものである。安静時および運動時のPpaは、有意に運動トレーニング群で低く、さらに運動強度の増大にともなうPpaの上昇は、運動トレーニング群で小さかった。つまり、運動トレーニング群のPpaは、中等度低圧低酸素環境下において安静および運動時とも抑制された¹⁰⁻¹²。

以上の結果から、平地運動トレーニングは、運動および低酸素による肺血管収縮を抑制し、肺血管においてより多くの血流量を確保するために貢献していることが推測された。おそらく、肺血管床の容量増加や、血流量の増加にともなう血管再疎通の増加も関与しているであろう。運動トレーニングにより肺でのガス交換は、低圧低酸素環境下や運動時でより効率良く確保され、肺血管は酸素摂取能力を改善するように変化する可能性が考えられる。

3. 4 摘出灌流肺装置を用いた実験

3. 4. 1 方法

実験装置にはMcMurtryら（1976）が開発した人工呼吸器による呼吸器系システムと定量ポンプによる肺循環系システムを組み合わせたものを用いた。とくに、本実験では定圧の肺換気と定流量

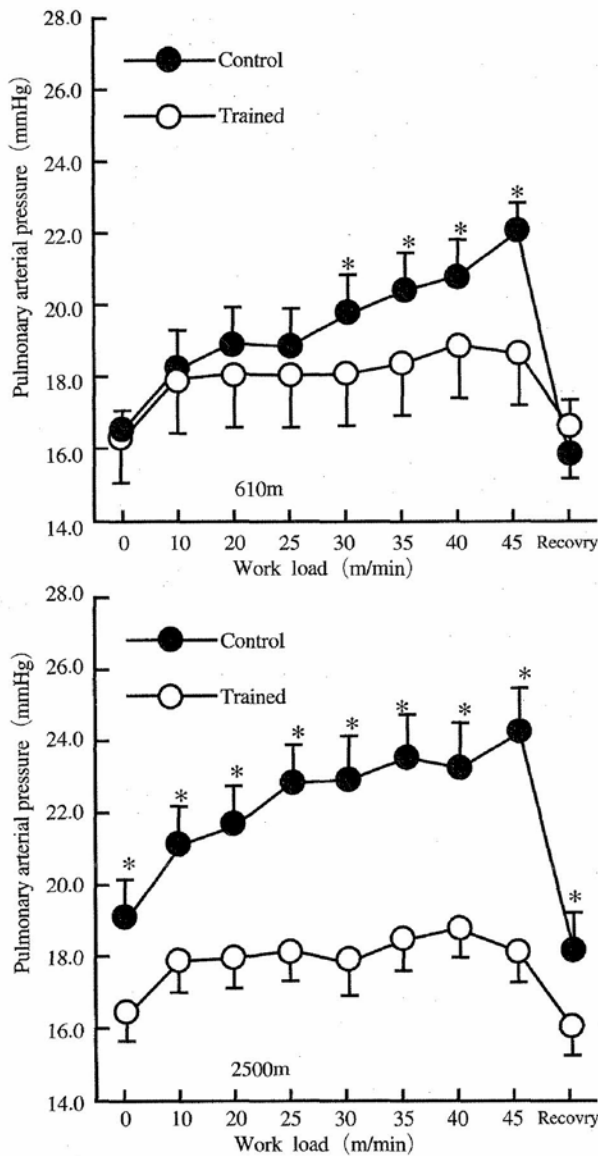


図11 平地（上図）および高地（下図、標高2500m相当の低圧低酸素下）における安静および運動時の平均肺動脈圧変化
●：安静飼育対象群，○：平地運動トレーニング群

による肺循環を組み合わせるにより、肺血管全体の収縮弛緩状態をモニターした。持久的運動トレーニングラットと対照ラットを用い、上述した装置で、低酸素性肺血管収縮 (hypoxic pulmonary vasoconstriction:HPV) と angiotensin II による肺血管収縮 (以下 AII 収縮) 状態を比較検討した。

3. 4. 2 結果と考察

3% O₂ 肺換気時に生じる HPV は、3回の試行とも運動トレーニングによって抑制された (図12)。また、HPV 時における Ppa も運動トレーニングに

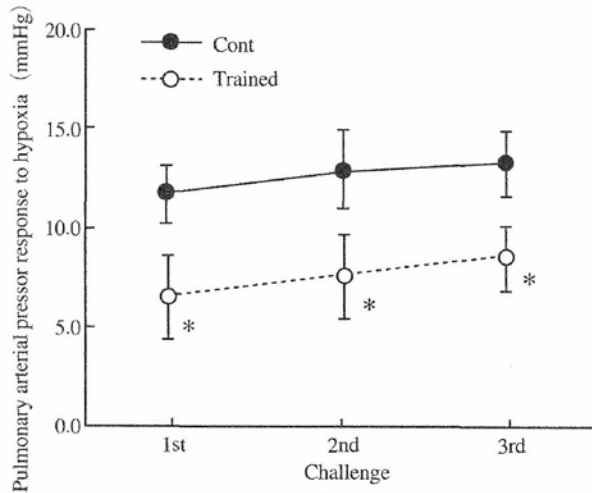


図12 運動トレーニングによる低酸素性肺血管収縮の影響

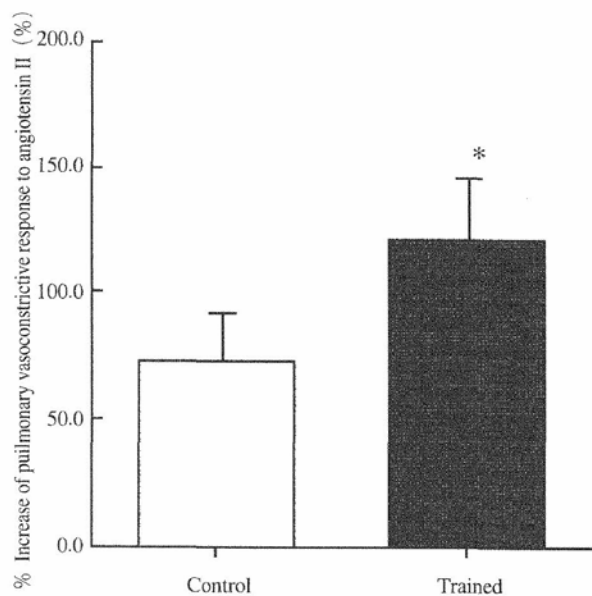


図13 運動トレーニングによる L-NAME 投与後の HPV の変化

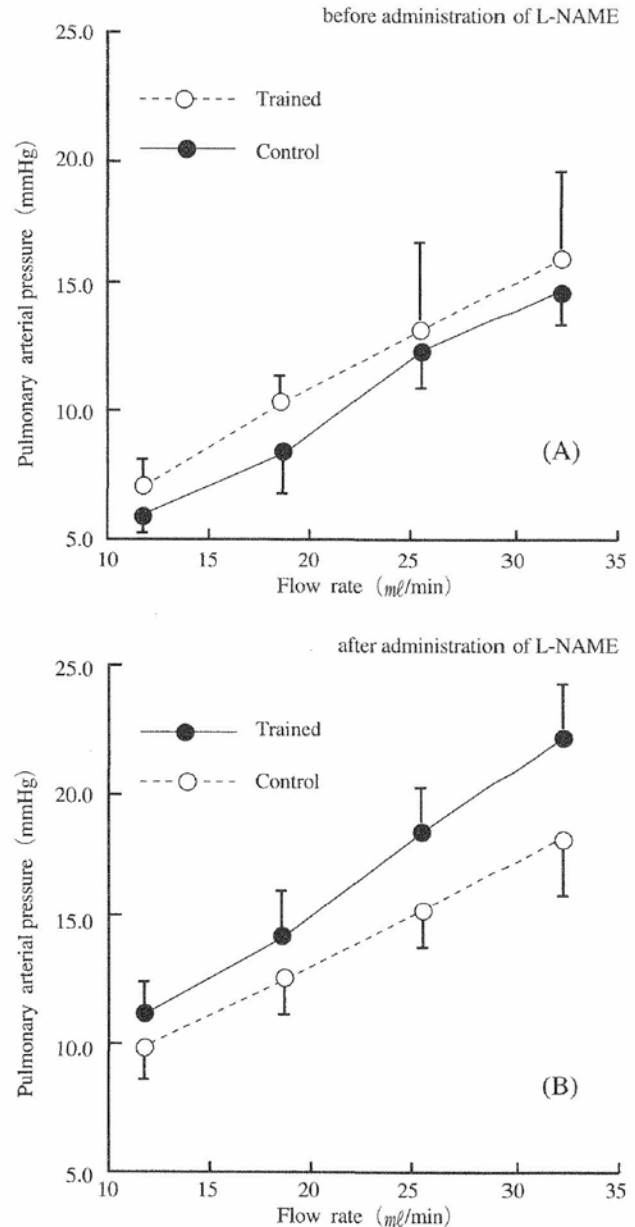


図14 運動トレーニングによる肺流量増大にともなう肺動脈圧上昇の変化

よって低下した。さらに、摘出灌流肺装置を用い、運動トレーニングによる HPV および AII 収縮について、NG-Nitro-L-arginine Methyl Ester · HCl (L-NAME) により EDRF/NO の放出を抑制した場合の変化を検討した結果、L-NAME 投与は、AII 収縮および HPV を促進したが、とくに運動トレーニング群において顕著であった (図13)。また血流量の増大と Ppa の上昇の相関関係を、L-NAME 投与前後で比較したところ、L-NAME 投与後、運動トレーニング群では、血流量の大きな場合に Ppa が有意に増大した (図14) 13)。このことは、

運動トレーニングによる肺血管に対するずり応力のくり返しがEDRF/NOの放出を増大させ、その影響でAII収縮およびHPV時のように血流により血管が顕著に刺激されるような場合でも、肺血管弛緩反応を増大させるものと思われる。しかし本実験において運動トレーニングにより産生が増大したと考えられるNOが、血管内皮に由来するのか、あるいは血管平滑筋に由来するのかは今後の検討課題である。

3. 5 摘出肺血管を用いた張力測定装置による実験

3. 5. 1 方法

本実験では、麻酔下で肺動脈をリング状（長さ4mm）に摘出し、EBSS (sigma) 溶液中において、KCl, phenylephrine (PE), norepinephrine (NE), acetylcholine (Ach) の血管作動性物質による収縮弛緩反応を検討した。

3. 5. 2 結果と考察

α_1 -receptorに依存するPEに対する肺動脈収縮反応を検討した結果、 10^{-7} M PEにおける収縮は、運動トレーニングにより低下した。NEに対する肺動脈収縮反応を検討したところ、 10^{-8} および 10^{-7} M NEにおける収縮は、運動トレーニングにより低下した。運動時にはNE分泌が増大するが、その分泌がトレーニングにより繰り返されるため、血管作動性物質に対する脱感作が生じるものと思われる。この脱感作の原因については、交感神経系受容体の変化、イオンチャンネル数の変化、細胞内メッセンジャー反応の変化、ずり応力の増加による弛緩物質の変化など、様々な要因が考えられる。

運動トレーニングは様々な条件においてEDRFの放出を促進させ、血管を弛緩させるのではないかと推測される。そこで、肺動脈の内皮細胞を剥離し、PEおよびNEに対する収縮反応を検討したところ、PEおよびNEに対する収縮反応は、対照群と運動トレーニング群で差が認められなかった。

また、内皮を剥離することによって、PEおよびNEに対する収縮反応は促進した。つまり、内皮剥離による収縮の促進は、運動トレーニングにより増大することから、運動トレーニングによるPEおよびNEに対する収縮の抑制には、内皮細胞が関与していることが明らかとなった。おそらく、その抑制には、EDRFの放出の促進が影響していると思われる。さらに、Achによる肺血管弛緩反応を対照群と運動トレーニング群で比較した結果、Achによる弛緩反応 (10^{-5} M) は、運動トレーニングにより促進した。EDRFは、Achにより血管内皮細胞から放出され、平滑筋に作用し細胞内でcGMPを産生し筋弛緩をもたらす。運動トレーニングによる血管反応の変化は、ずり応力の増加による血管弛緩物質の変化など、様々な要因が考えられる。

一方、PE (α_1 -受容体に関与) およびNEに対する濃度収縮反応は、対照群に比較して低酸素運動トレーニング (HET) 群で有意に低下した (図15)。血管作動性物質に対する肺血管収縮反応は、低酸素運動トレーニングにより脱感作を生じるが、とくに α_1 -受容体に関与する反応であった。内皮細胞を剥離した肺動脈では、PEに対

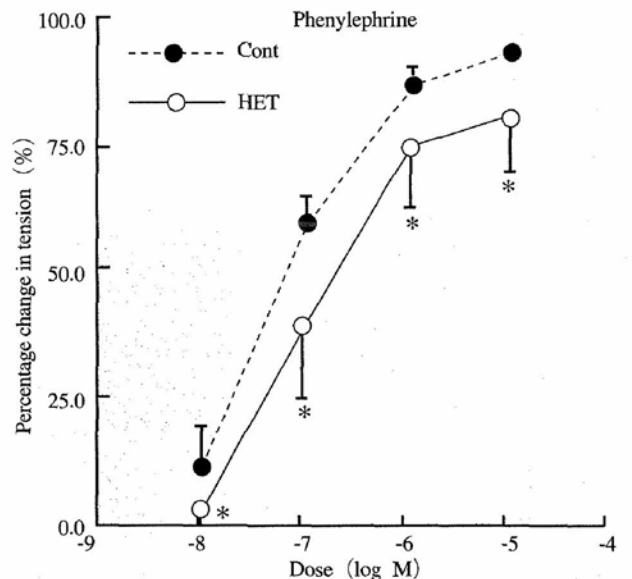


図15 肺動脈における phenylephrine (PE) による濃度収縮反応

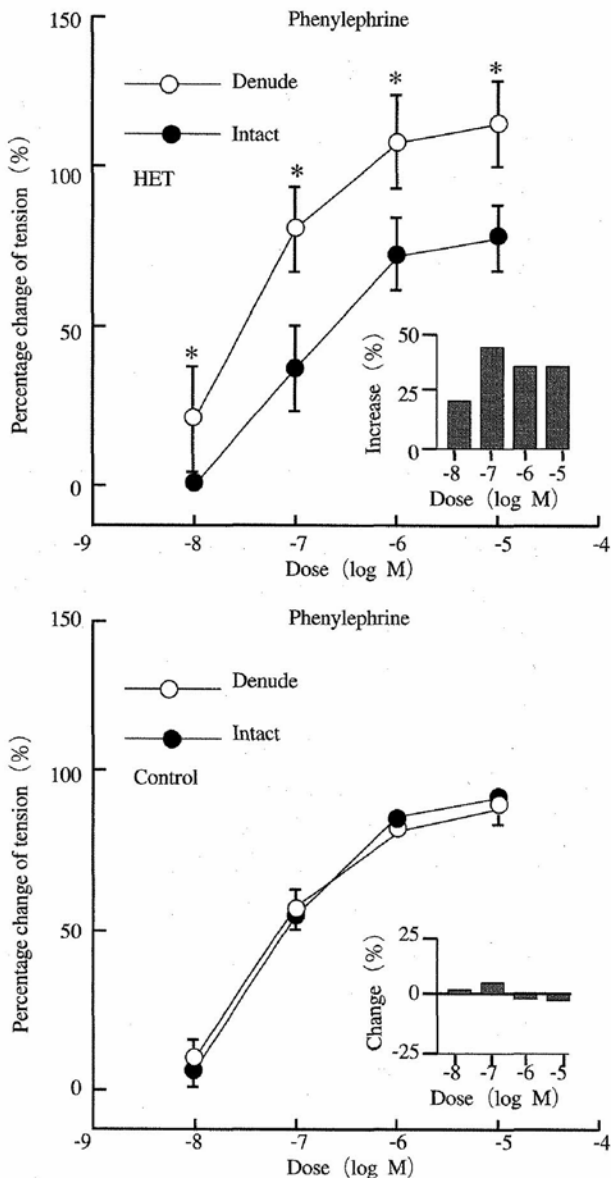


図16 内皮細胞を剥離した肺動脈における phenylephrine による濃度収縮反応

する濃度収縮反応は両群で増大するが、対照群より HET 群で大きかった (図16)。Ach による肺動脈弛緩反応は、対照群に比較して HET 群で有意に増大した。低酸素運動トレーニングにおいて、血管作動性物質に対する収縮反応の低下には内皮細胞が大きく関与し、EDRF が顕著に増加している可能性がある。

以上、3つの実験結果から、平地および高地における運動トレーニングにより、運動時の肺血管において収縮反応の抑制および弛緩反応の促進がみられた。このことから、両運動トレーニングは、運動時における肺のガス交換を改善し、運動成績

改善の要因になりうることが示唆される。

4. 今後の課題

本研究では、低酸素環境下で持久性トレーニングを行なうことにより、肺血管からの NO 産生が亢進し、これが肺血管を拡張させ、肺胞におけるガス交換、ひいては身体パフォーマンスの改善をもたらすか否かを検討した。動物実験の結果から、持久性トレーニング、さらには高地における持久性トレーニングにより、運動さらには低酸素負荷時の肺高血圧が抑制され、肺循環が改善されること、その作用が血管内皮細胞由来の NO によるものであろうことが明らかになった。今後、低地トレーニング群と高地トレーニング群を作り、最大運動時の作業成績、酸素摂取量、動脈血酸素飽和度などを比較することにより、運動に対する肺循環系の役割をより明確に行きたいと考える。

一方、ヒトを対象とした実験においては、5週間の高地トレーニングにより、最大作業時間、最大酸素摂取量は増大する傾向は認められたものの、有意の差ではなかった。また呼気 NO 量からみた高所トレーニング効果も認めることはできなかった。最近、肺血管内皮細胞から産生する NO の内、血液中に放出されるものは、ヘモグロビンと強く結合し、肺におけるガス交換では放出されないことが示唆されている。また呼気ガス中の NO の由来については、諸説があり、特定できる状況にない。これらのことから、呼気ガス中の NO から、肺血管系の NO の働きや高所トレーニング効果を考えることには問題があり、測定方法も含め今後の研究課題と考えられる。

謝辞

本研究は、多くの人たちの協力によって行われた。ここに各研究担当者、協力者のお名前を掲載し、心からのお礼を申し上げたい。

第1章：川口智紀、吉田祥子、青木克之、

安田好文 (豊橋技術科学大学)

第2章: 安田好文, 伊藤智式, 小野隆

(豊橋技術科学大学)

片山敬章, 佐藤靖丈, 宮村実晴

(名古屋大学)

小林寛道 (東京大学)

竹内伸也 (東海銀行)

第3章: 樫村修生 (信州豊南女子短期大学)

また, 第2章の実験の被検者としてご協力いただいた, 東海銀行女子陸上競技部の6人の選手には, 心からのお礼を申し上げます.

最後に, 本研究に助成いただいた, 石本記念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) Furchgott, R. F. and Zawadzki, J. V. ; The obligatory role of endothelial cells in the regulation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288, 373-376 (1980)
- 2) Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. and Moncada, S. ; Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium relaxing factor. *Nature* 327, 524-526 (1987)
- 3) Moncada, S. Palmer, R. M. J. and Higgs, E. A. ; Nitric oxide, physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 43, 109-142 (1991)
- 4) 実験科学講座7 ; 分光Ⅱ, 日本化学会編, pp.160-165 (1992)
- 5) 中原勝儼他 ; 日本分光学会測定法シリーズ6 ; 反応追跡のための分光測定, pp.85-92 (1984)
- 6) 村岡功 ; 高地トレーニングの問題点, *Jap. J. Sports Sci.*, 15, 315-320 (1996)
- 7) Sprague, R. S., Thiemermann, C. and Vane, J. R. ; Endogenous endothelium-derived relaxing factor opposes hypoxic pulmonary vasoconstriction and supports blood flow to hypoxic alveoli in anesthetized rabbits. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 89, 8711-8715 (1992)
- 8) Frostell, C., Fratacci, M. D., Wain, J. C., Jones, R. and Zapol, W. M. ; Inhaled nitric oxide a selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vaso-constriction. *Circulation*, 83, 2038-2047 (1991)
- 9) Ogasa, T., Nakano, H., Iwamoto, J., Ide, H., Takahashi, T., Abe, Y. and Kikuchi, K. ; Blood attenuates flow-dependent increase in exhaled NO in buffer-perfused rabbit lungs. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, 153, A186 (1996)
- 10) Kaneko, M., Sakai, A., Kashimura, O. and Yanagidaira, Y. ; Pulmonary circulation during exercise in rats. *Jpn. J. Physiol.*, 40, 765-768 (1990)
- 11) Kashimura, O. and Sakai. ; Effects of physical training on pulmonary arterial blood pressure during exercise under hypobaric hypoxia in rats. *Int. J. Biometeorol.*, 35, 214-221 (1991)
- 12) Kashimura, O. and Sakai, A. ; Lung cyclic nucleotides in exercise-trained rats attenuate hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Lung*, 173, 363-372 (1995)
- 13) Kashimura, O., Sakai, A. and Yanagidaira, Y. ; Effects of exercise training on hypoxia and angiotensin II-induced pulmonary vasoconstrictions. *Acta Physiol. Scand.*, 155, 291-295 (1995)