

健常ヒトボランティアにおける 炭酸ガス経皮吸収による脂肪量, 筋肉量の変化

神戸大学大学院 酒井良忠

The Effect of Transcutaneous Application of Carbon Dioxide on Fat and Lean Volume in Healthy Human Subjects

by

Yoshitada Sakai

*Division of Rehabilitation Medicine,
Kobe University Graduate School of Medicine*

ABSTRACT

We previously reported that our novel transcutaneous CO₂ application device cause artificial Bohr effect, muscular strength augmentation, increase of mitochondria quantity, neovascularization effects. In this study, we investigated the effects of transcutaneous CO₂ application on muscle and fat volume in non-exercise condition. 25 normal adults with informed consent by written were enrolled this study. We divided the transcutaneous application for 10 min onto their right leg into five times a week and once a week, and conducted it for three months. The results showed that the quadriceps strength were significantly increased in once a week group and hamstrings strength were significantly increased in five times a week group. The muscle volume were significantly increased in both group, however, fat volume were significantly decreased slightly in once a week group. Our novel weekly transcutaneous application of CO₂ increased muscle strength and muscle volume, and decreased fat volume under non-exercise condition.

要 旨

今まで我々は、新開発の高濃度炭酸ガス経皮吸収デバイスが体内で人工ボア効果を引き起こし、筋力増強、ミトコンドリア量の増加、血管新生作用等を報告している。今回我々は非運動下における炭酸ガス経皮吸収の筋肉量、脂肪量への影響について検討した。対象は文書で同意が得られた健康成人 25 名。右下肢に 10 分間の炭酸ガス経皮吸収を週 1 回施行群と週 5 回施行群に分け、3 か月間施行した。施行前と 1 か月毎、3 か月まで筋力と MRI にて両大腿部の筋肉量、脂肪量を測定し、その左右差と経時的変化を計測した。その結果大腿四頭筋力は週 1 回群で有意に増加し、ハムストリングス筋力は週 5 回群で有意に増加した。筋肉量は週 1 回群、週 5 回群ともに増加したが、脂肪量は週 1 回群のみ有意に低下し、週 5 回群では有意差を認めなかった。炭酸ガス経皮吸収は週 1 回の施行で、非運動下において筋肉量を増加させ、脂肪量を減少させる効果があることが判明した。

緒 言

炭酸ガス経皮吸収は、炭酸ガスを経皮的に吸収させることにより、主にその血管拡張作用、血流増加作用をもとに治療効果を得る方法である。現在まで、天然炭酸泉や人工炭酸泉が血行障害^{1,2)}や、皮膚潰瘍³⁾、に用いられており、炭酸ガス皮下注射が形成外科的分野^{4,5)}に、天然炭酸泉由来ガス浴が慢性閉塞性動脈硬化症⁶⁾やレイノー現象⁷⁾に用いられ、その効果が報告されている。

しかしながら、人工炭酸泉はその炭酸ガス濃度が低いこと、皮下注射は感染のリスク、天然炭酸泉由来ガス浴は、ガスの入手に困難があるのが問題である。我々はこれらの問題を解決した、ネオケミア株式会社が開発した純炭酸ガスと吸収促進ハイドロゲル、アダプターを用いた高濃度炭酸ガ

ス経皮吸収デバイスを用いて、基礎研究を行ってきた。純炭酸ガスを用いることで、ガス入手の容易さと、高濃度の経皮吸収を可能とし、ハイドロゲルを用いることで、簡便かつ感染のリスクなく経皮吸収を行うことが可能である(国際公開番号: WO2004/002393)。

我々は、この装置を用いて、実際にヒトにおいて、炭酸ガスが経皮吸収され、組織内 pH が低下し、またヘモグロビンの酸素解離を促進させ、人工ボア効果をもたらすことを証明した⁸⁾。さらに、遅発性筋痛からの筋力、疼痛、身体パフォーマンスの回復を報告している⁹⁾。またラットにおいては、非運動下で筋重量の増加、ミトコンドリア量の増加、ミトコンドリア関連因子の発現増加、血管新生、筋線維の移行を報告し¹⁰⁾、さらには回転かごを用いた運動トレーニング下での検討では、運動パフォーマンスの向上、有酸素運動効果の増強を報告している¹¹⁾。

これらの結果から、実際にヒトにおいても炭酸ガス経皮吸収は非運動下で有酸素運動効果があることが推察される。スポーツの現場において、トレーニング効果や疲労回復効果、さらにはダイエット効果の可能性が示唆されるが、実際にヒト生体内の筋肉量や脂肪量において、どのような影響をもたらしているかは検討がおこなわれていない。

そこで今回我々は、この新しい炭酸ガス経皮吸収が、実際に筋肉量や脂肪量に対して影響を与えるかについて検討を行うこととした。

1. 研究方法

1.1 対 象

当研究は神戸大学大学院医学研究科医学倫理委員会承認実験である。

対象は 24 名(平均年齢 34.5 歳, 男性 12 名)で、研究前に特に健康状態に問題のないことを確認したのち、文書による十分な説明と同意を得た。

高濃度炭酸ガス経皮吸収デバイス

炭酸ガス経皮吸収は、過去の報告の通りハイドロゲル、アダプター (Neochemir Inc., Kobe, Japan), 純炭酸ガス (Kobe-Sanso Inc., Kobe, Japan) を用いて、右下肢 (大腿近位端から足部まで) のみに施行した。

対象を2群に分け、片方は週1回、高濃度経皮炭酸ガス吸収を10分間右下肢に施行 (13名)。もう一群は週5回、同様に施行した (11名)。両群間に男女差、年齢差はないように設定した。実施中に特に有害事象は認めなかった。施行期間は3ヶ月とした。

1.2 筋力測定

施行前、施行後1, 2, 3ヵ月後に両側の大腿四頭筋、ハムストリングス筋の筋力測定を、筋力測定器を用いて (Myolet RZ-450, Kawasaki Heavy Industries Ltd., Kobe, Japan) 行った。

MRIを用いた脂肪量、筋肉量の測定

施行前、施行後1, 2, 3ヵ月後に1.5T MRI (Gyrosan NT-Intrera; Phillips Medical Systems, Best, The Netherlands) にて0.5ミリスライスで両下肢の撮像を行った。

得られたDICOM画像是三次元画像処理解析ソフトウェアである、Centricity AW Suite (GE Healthcare, Little Chalfont, United Kingdom) を用いて、膝蓋骨上端より、40スライス (20センチメートル) の大腿領域において、輝度の差により、関心領域を設定したのち、筋肉と脂肪の体積を測定し、各時点での左右比 (左側を対象として) を算出した (図1A, B: 縦線部)。

1.3 統計処理

統計処理はOne-way repeated measure ANOVAを用い、下位検定はBonferroni法を用いた。有意水準は5%とした。

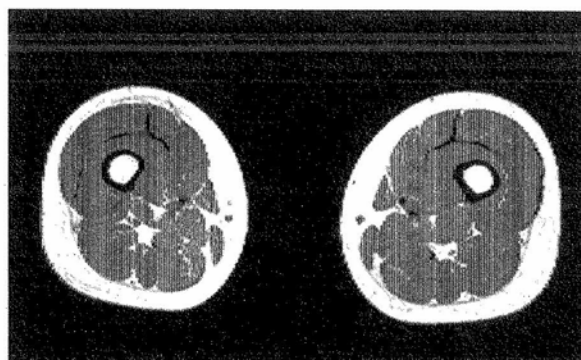


図1A 筋肉量測定時の関心領域設定 (縦線)

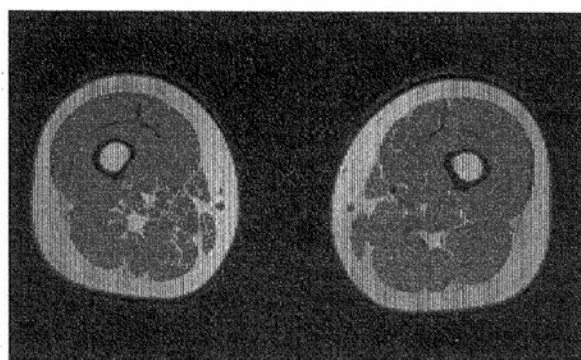


図1B 脂肪量測定時の関心領域設定 (縦線)

2. 実験結果

2.1 筋力の変化

大腿四頭筋力の左右比は開始前を100%として、週1回群で開始1か月116.5%、2か月126.2%、3か月117.8% (図2)、週5回群で開始1か月99.2%、2か月104.8%、3か月115.7%あり、有意に増加した (図3)。またハムストリングス筋力の左右比は開始前を100%として、週1

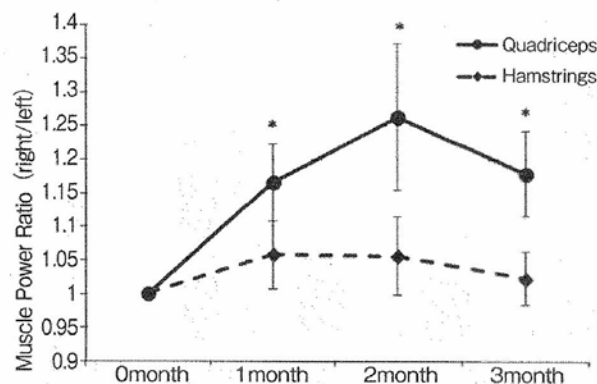


図2 非運動下での炭酸ガス経皮吸収による筋力の変化 (週1回群) (*:p<0.05; vs. 0month)

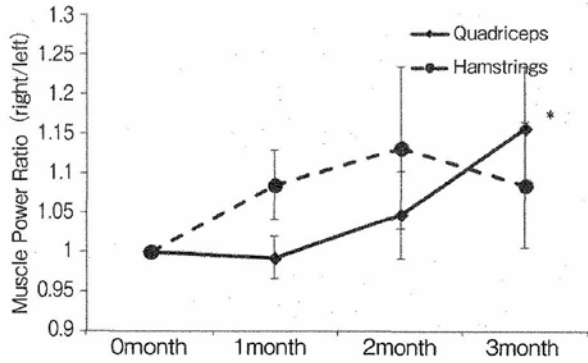


図3 非運動下での炭酸ガス経皮吸収による筋力の変化 (週5回群) (*:p<0.05; vs. 0month)

回群で開始1か月105.7%, 2か月105.5%, 3か月102.2% (図2), 週5回群で開始1か月108.5%, 2か月113.2%, 3か月108.5% (図3)であった。

2.2 筋肉量の変化

筋肉量の左右比は開始前を100%として、週1回群で開始1か月101.7%, 2か月103.3%, 3か月102.9% (図4), 週5回群で開始1か月102.1%, 2か月102.2%, 3か月101.6% (図5)であり、開始前と比べて有意に増加した。

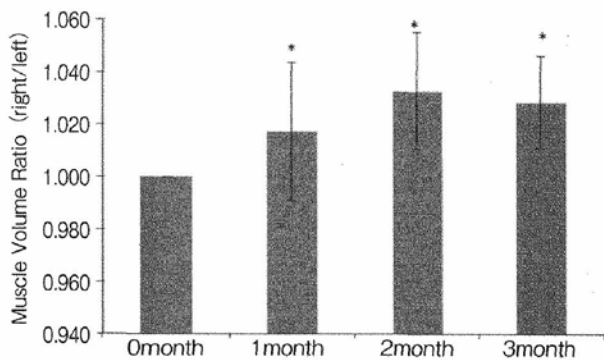


図4 筋肉量の変化 (週1回群 *:p<0.05 vs. 0 month)

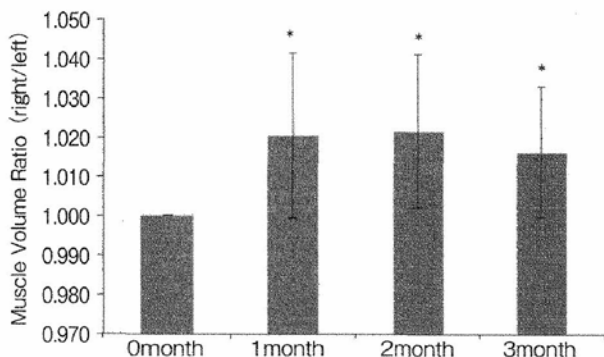


図5 筋肉量の変化 (週5回群 *:p<0.05 vs. 0 month)

2.3 脂肪量の変化

脂肪量の左右比は開始前を100%として、週1回群で開始1か月97.2%, 2か月98.0%, 3か月97.4% (図6)で開始前と比べて有意に低下していたが、週5回群では開始1か月98.7%, 2か月99.4%, 3か月99.1% (図7)であり、有意差を認めなかった。

3. 考察

今回我々は、高濃度炭酸ガス経皮吸収がヒトにおいて、非運動下に筋肉量を増加させ、筋力増強作用があることを証明した。炭酸ガス経皮吸収による筋肉量の増加は、ラットにおける実験においても、筋重量の増加として報告している¹⁰⁾。これは、炭酸ガス経皮吸収がトレーニング効果をもたらすこと、血管密度が増加したこと¹¹⁾、また、ラット骨折後の筋萎縮モデルに対して行った実験において、筋関連タンパク質の増加 (IGF-1) が

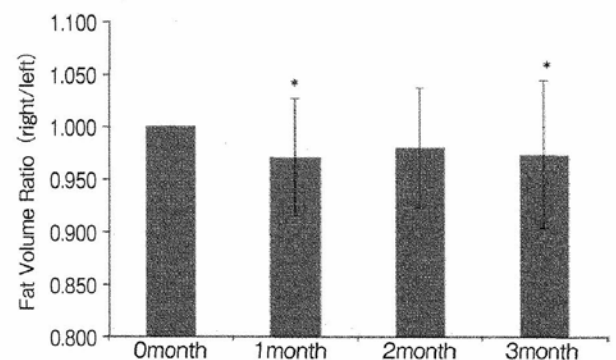


図6 脂肪量の変化 (週1回群 *:p<0.05 vs. 0 month)

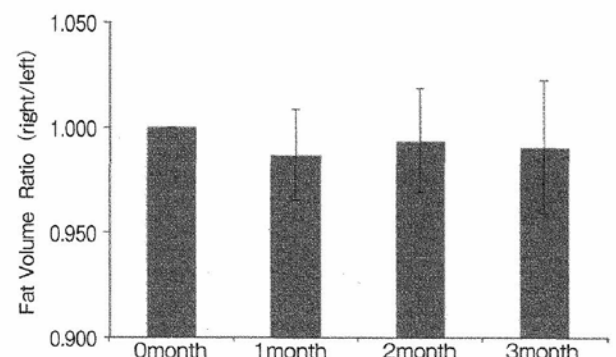


図7 脂肪量の変化 (週5回群 *:p<0.05 vs. 0 month)

みられた¹²⁾ ことなどから、当実験においても、同様の機序が起こっている可能性が示唆される。また、このような筋肉量増加作用が、非運動下における、筋力増強作用についても影響を及ぼしているものと推察される。

ただし、過去の筋力訓練における効果的な頻度の検討¹³⁾ では、初心者で週2-3回、中級者で週3-4回とされており、今回の結果では週1回、10分間という低頻度の炭酸ガス経皮吸収での効果が認められた。この原因として、すべて右脚に行っていること、被験者の運動習慣が検討されていないこと、被験者への盲検が行われていないため、プラセボ効果があること等、バイアスの発声が否定できない。従って、今後炭酸ガス吸収と筋力訓練の直接比較を行う等、検討を進める必要がある。一方で脂肪量については筋肉量に比べてさほど大きな変化は得られなかった。脂肪量の減少については、筋肉内のミトコンドリア量の増加、ミトコンドリア関連タンパク (PGC-1 α など)^{10,11)} の増加がみられ、また筋線維移行から、有酸素系のトレーニング効果が存在するものと示唆されている^{10,11)}。このことから、有酸素系代謝が活性化し、若干の脂肪量低下をもたらしたものと考えられる。

週1回群と週5回群での差があまり見られなかったことは、筋力訓練の最適頻度が初心者で週2-3回である¹³⁾ ように、筋肉に対しては頻回の炭酸ガス経皮吸収がより多くの効果を得るものではなく、適切な頻度測定のための生理、生化学的検討が必要である。現在、炭酸ガス経皮吸収は、筋肉関連のみならず、骨折治癒促進効果¹⁴⁾、抗腫瘍効果^{15,16)} などいくつかの有効な疾患群が想定され始めているが、各疾患ごとに最適な投与時間、投与間隔が存在する可能性がある。今後、各疾患群に対して、至適な投与時間、投与間隔を設定するための研究が必要であると考えられる。

本研究の結果から、非運動下の炭酸ガス経皮吸収

は、筋力を増加させるだけでなく、筋肉量の増加、若干の脂肪量低下をもたらすことが証明された。当方法は、簡便にかつ安全に炭酸ガスを高濃度で経皮吸収させることが可能である。今後、スポーツコンディショニングや、運動制限のあるメタボリックシンドロームやロコモティブシンドロームの患者に有効な治療となりうる可能性が示唆されたと考えている。

4. 結 語

新開発の高濃度炭酸ガス経皮吸収デバイスによる炭酸ガス経皮吸収は、非運動下にヒトの筋力、筋肉量を増加させ、脂肪量を減少させた。当方法はスポーツコンディショニングやメタボリックシンドローム、ロコモティブシンドロームに有用な治療法となる可能性が示唆された。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究助成を賜りました公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に熱くお礼申し上げます。

また、当研究にご協力いただいたボランティアの皆様、ネオケミア株式会社の上羽岳志氏、神戸大学附属病院リハビリテーション部、神戸大学附属病院放射線部の皆様に感謝いたします。

文 献

- 1) Matz H., Orion E., Wolf R., Balneotherapy in dermatology. *Dermatol. Ther.*, 16:132-140. (2003)
- 2) Hartmann B.R., Bassenge E., Hartmann M., Effects of serial percutaneous application of carbon dioxide in intermittent claudication: results of a controlled trial. *Angiology.*, 48:957-963. (1997)
- 3) 須藤 直美, 野崎 泰代, 重成 勇介, 宮下 裕夫 人工炭酸泉を用いた足浴 糖尿病足病変患者に対しての効果. 未病と抗老化, 22:151-152. (2013)
- 4) Brandi C., D'Aniello C., Grimaldi L., Bosi B., Dei I., Lattarulo P., Alessandrini C., Carbon dioxide therapy in the treatment of localized adiposities: clinical study and histopathological correlations. *Aesthetic.*

- Plast. Surg.*, 25:170-4.(2001)
- 5) Brandi C., D'Aniello C., Grimaldi L., Caiazzo E., Stanghellini E., Carbon dioxide therapy: effects on skin irregularity and its use as a complement to liposuction. *Aesthetic. Plast. Surg.*, 28:222-5.(2004)
 - 6) Fabry R., Monnet P., Schmidt J., Lusson J.R., Carpentier P.H. et al., Clinical and microcirculatory effects of transcutaneous CO₂ therapy in intermittent claudication. Randomized double-blind clinical trial with a parallel design. *Vasa.*, 38:213-24.(2009)
 - 7) Schmidt J., Monnet P., Normand B., Fabry R., Microcirculatory and clinical effects of serial percutaneous application of carbon dioxide in primary and secondary Raynaud's phenomenon. *Vasa.*, 34:93-100. (2005)
 - 8) Sakai Y., Miwa M., Oe K., Ueha T., Koh A., Niikura T., Iwakura T., Lee S.Y., Tanaka M., Kurosaka M., A novel system for transcutaneous application of carbon dioxide causing an "artificial Bohr effect" in the human body. *PLoS One.*, 6:e24137.(2011)
 - 9) 酒井良忠, 大江啓介, 上羽岳志, 三輪雅彦, 新倉隆宏, 李 相亮, 黒田良祐, 黒坂昌弘. 炭酸ガス経皮吸収の筋肉への効果 日本整形外科学会雑誌, 88; 34-39. (2014)
 - 10) Oe K., Ueha T., Sakai Y., Niikura T., Lee S.Y., Koh A., Hasegawa T., Tanaka M., Miwa M., Kurosaka M., The effect of transcutaneous application of carbon dioxide (CO₂) on skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 407(1) :148-52. (2011)
 - 11) 大江 啓介, 酒井 良忠, 上羽 岳志, 新倉 隆宏, 三輪 雅彦, 黒坂 昌弘. 炭酸ガス経皮吸収がラットの運動パフォーマンスと筋肉に及ぼす影響について. *The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine.*, 50:195-201.(2013)
 - 12) Oe K., Niikura T., Sakai Y., Lee S.Y., Koh A., Koga T., Dogaki Y., Ueha T., Kuroda R., Kurosaka M., Miwa M., Transcutaneous Carbon Dioxide (CO₂) Application for Muscle Atrophy after Femoral Shaft Fracture in Rat. *Trans. Orthop. Res. Soc.*, 58; 2255. (2012)
 - 13) 市橋則明, 伊吹哲子. これからの筋力トレーニングのあり方の考える. -筋力トレーニングのエビデンス-, 理学療法 30:947-957 (2013)
 - 14) Koga T., Niikura T., Lee S.Y., Koh A., Dogaki Y., Okumachi E., Ueha T., Sakai Y., Oe K., Kuroda R., Miwa, M., Kurosaka M., Transcutaneous application of CO₂ accelerates fracture repair in Rat. *Trans. Orthop. Res. Soc.*, 58; 1402.(2012)
 - 15) Onishi Y., Kawamoto T., Ueha T., Kishimoto K., Hara H., Fukase N., Toda M., Harada R., Minoda M., Sakai Y., Miwa M., Kurosaka M., Akisue T., Transcutaneous application of carbon dioxide (CO₂) induces mitochondrial apoptosis in human malignant fibrous histiocytoma in vivo. *PLoS One.* 7:e49189. (2012)
 - 16) Harada R., Kawamoto T., Ueha T., Minoda M., Toda M., Onishi Y., Fukase N., Hara H., Sakai Y., Miwa M., Kuroda R., Kurosaka M., Akisue T., Reoxygenation using a novel CO₂ therapy decreases the metastatic potential of osteosarcoma cells. *Exp. Cell. Res.*, 319:1988-97.(2013)