

平成 18 年度「重力レベルに対する哺乳類（ヒトを含む）の生体反応：身体組成および機能に対する重力の役割を追求する研究」活動報告書

代表者所属 氏名： 大阪大学医学系研究科 大平 充宣

1. 構成メンバー

氏 名	所属
大平充宣	大阪大学
長岡俊治	藤田保健衛生大学
中井直也	大阪大学
河野史倫	大阪大学
山崎将生	福島県立医科大学
大石康晴	熊本大学
後藤勝正	豊橋創造大学
須藤正道	東京慈恵会医科大学
今泉和彦	早稲田大学
福永哲夫	早稲田大学
石原昭彦	京都大学
宇佐美真一	信州大学
肥塚 泉	聖マリアンナ医科大学

2. 本年度 WG 会合開催実績

- (1) 第 1 回：平成 19 年 1 月 10-11 日
- (2) 第 2 回：平成 19 年 3 月 1 日

3. 活動目的

地球上の生体は 1-G の環境下で誕生・発育し、機能や代謝を維持している。ところが、無重量や加重環境に暴露されることによって骨格筋の形態や性質、神経筋活動などの変化が生じ、生体の機能や代謝は著しい影響を受ける。また、水棲動物が陸上での生息を始めたことに伴い、身体組成や機能に大きな変

化が生じた。したがって、生体の身体組成や機能特性は、重力レベルに応じた機構により調節されていることが示唆されている。ところが、その詳細なメカニズムは明らかでない。

これまでに、我々は陸上種である、ほ乳類（ヒト、ラット、ブタ）、鳥類（鶏）、水陸両棲である両生類（ウシガエル）と爬虫類（クサガメ）および水棲種である魚類（金魚、コイ）について心電図を計測し、それらの比較生理学的解析から、呼吸に同期して心電図に見られる心拍変動には種差があり、陸上種では生後発達が著しいことを発見した。また、両生類、爬虫類および魚類では、呼吸性に同期した心拍変動は見られないこともわかった。陸上種での呼吸性心拍変動の生後発達は、さらに動物種により大きく異なり、ラットにおいては約 1 ヶ月が必要だが、ブタ胎仔では数日と生後発達が早く、人正常児はこの中間であった。

陸上種での呼吸性心拍変動は、肺からの迷走神経求心路を介した体循環（心臓血管系）調節へのフィードバック系であり、これは胎児（胎仔）が羊水中（＝無重力環境）から大気中（＝重力環境）に出て、肺呼吸を開始するとともに急激に形成が始まる。一方、魚類におけるエラ運動（呼吸運動）は陸上種のような呼吸性心拍変動を全く伴わず、肺を有する両生類、水棲爬虫類などの水中種においても同様である。したがって、哺乳類、鳥類など、陸上種に見られる呼吸性心拍変動の起源は、肺でのガス交換がトリガーとなって生じてきたものではなく、むしろ無重力に近い水中環境から、直接重力に曝される陸上環境に移行する際必要な機能として発達したものと推測される。その理由は、陸上では避けがたい重力方向への体液分布や、姿勢、運動に伴う変動を補償するためのフィードバックと、肺でのガス交換を効率化するため、呼吸運動と肺（体）循環との間のフィードバックが必要となったと考えられるからである。我々は、

陸上種に見られる、呼吸性心拍変動の生後発達の起源が、肺がガス交換を開始したことで発達を開始するのか、あるいは身体が重力環境に直接曝されたことが原因なのか確かめるため、高重力（2-G）環境下において出産、成長したラットの心電図を通常環境で飼育したものと比較解析すること明らかにしようとした。

本研究WGでは、ヒトを含む哺乳類の生体反応に及ぼす重力の影響を追求する研究を企画している。whole bodyにおける生体システム(身体組成および機能)に及ぼす重力の影響を解明するために、特に神経(運動神経、自律神経を含む)および筋の発育・発達における重力の役割を追求するが、これらの研究は主にラットおよびマウスを使って行う。本提案は、平成16年度選定WGを継続・発展させたものである。これまで、会合開催に合わせて実験も実施してきた。妊娠中または授乳期の1-Gまたは2-G負荷が仔ラットの発育に及ぼす影響を追求する実験を実施した。

4. 活動内容

前述したように、会合は大阪大学で開催したが、その日程に合わせて大阪大学で動物の飼育・出産等を行った。

方法

妊娠4日目のラットを1-Gまたは2-G下で飼育・出産させ、出産2日目に身体組成や呼吸・循環器系の神経活動の記録を行った後で解剖し、各種臓器をサンプリングした。その後湿重量測定後、それぞれの分析用に保存した。残りでは、それぞれの群を同じ重力下または重力レベルを反転させ授乳させる群に分けて飼育し、21日後に同じような測定とサンプリングを行った。動物用遠心機は、餌および水の補給、クリーニングのため毎日約30分止めたが、それ以外は連続して回転させた。上述したように、WG会合スケジュールに合わせた計画であるので実験には時間を要したが、各時点における仔ラット数は最低5匹に揃った。各臓器の分析にも着手したが、まだ未完了である。そこで、ここでは一部の結果の報告にとどめる。

心電図計測：高重力環境下で出産、成長した

2日目と23日のラットについて心電図を計測した。心電図の計測は、ステンレス製小型スパイラル電極を胸部皮下に刺入して行った。23日齢ラットの電極刺入はイソフルレン吸入麻酔下にて行った。心電図の解析は、R-R間隔より心拍トレンドを算出し、これより自己相関関数を求めさらにこれを高速フーリエ変換することでパワースペクトルを求めた。このパワースペクトルから呼吸周波数に一致した心拍変動成分の面積を求め、比較検討した(長岡)。

骨格筋特性の分析：大腿四頭筋における筋線維タイプおよびサイズ、それにheat shock protein (HSP)およびcalcineurin発現を分析した(大石)。

結果および考察

安静時平均心拍の生後変化

2-G環境下の生後2日目ラットの安静時平均心拍(240 ± 7) (1-G環境で計測)は、1-G環境下の生後2日目のラットの安静時平均心拍(326 ± 20.7)と比較し、優位に低かった。2-G環境下の生後23日目ラットの安静時平均心拍(463 ± 30) (1-G環境で計測)は、1-G環境下の生後23日目のラットの安静時平均心拍(491 ± 39)と比較し、やや低い傾向が見られた。

呼吸性心拍変動の生後変化

2-G環境下の生後2日目ラットと1-G環境下の生後2日目のラットではともに、パワースペクトル上には呼吸性心拍変動のピークはほとんど認められなかったが、2-G環境下で成長したラットの呼吸性心拍変動の方がわずかに大きい傾向を示した。生後23日目ラットにおいては2-G環境下の、1-G環境下ともに、呼吸性心拍変動は明確となり、2-G環境下で生育したラット心拍変動の方が1-G環境下でのものより明らかに大きい値を示した。

このことは、2-G環境はラットの心循環調節反射自体が高重力下ですでに発達していることを示しており、心拍変動それに伴い変化したことを示唆していた。このことは、我々の仮説、重力が心肺循環調節反射の生後発達に強く影響を与えていることを示唆している。

今回の実験ではまた十分な引数の個体について計測を行っていないため今後更に引数を増やすと共に、生後 2 週間前後の生後発達途中の個体を用いて 1-G 群と比較する必要があると考えられる。

大腿四頭筋の特性

筋線維組成：コントロール群の大腿四頭筋では遅筋線維と速筋線維がそれぞれ約 10%、90%認められた。一方、2-G 群でも同様な組成がみられ、2-G 飼育の影響は認められなかった。

筋線維横断面積：筋線維タイプ別の筋線維横断面積を分析した結果、コントロール群に比べ2-G 群の速筋線維では20~25%の萎縮がみられた。一方、遅筋線維では有意な差はみられなかった。

HSP および calcineurin 発現量：Hsp60 と Hsp72、およびカルシニューリン発現量は、コントロール群に比べ 2-G 群で減少傾向がみられた。

このように、両群間に特に顕著な差は認められなかった。我々は、胎児に対する外部 G の影響は非常に少ないが、生後の G レベルは発育に有意な影響を及ぼすという仮説に基づいて本研究に着手した。それに基づく、妊娠中の G レベルに対する結果は妥当であるのかもしれない。しかし、1-G および 2-G におけるデータから m-G 環境における生体反応を正確に推定できるとは思えない。従って、m-G の影響に興味を持っている我々としては、(全臓器にかかる G を μ -G にすることは不可能であるが) 少なくとも抗重力筋活動を抑制する(生後の)後肢懸垂の影響も考慮する必要があるという同意に達した。今後はこれについての検討にも着手する予定である。

5. 成果

1. 大平充宣、河野史倫、中井直也、後藤勝正、肥塚泉、長岡俊治、今泉和彦、福永哲夫、石原昭彦、山崎将生、大石康晴、須藤正道、宇佐美真一. 妊娠または授乳期の重力変化がラットの発育・発達に及ぼす影響. Space Utiliz. Res. 23: 248-249, 2007.
2. Ohira Y., Yoshinaga T., Ohara M., Kawano F., Wang X.D., Higo Y., Terada M., Matsuoka Y., Roy R.R., and Edgerton V.R. The role of neural and mechanical influences in maintaining normal fast and slow muscle

properties. Cells Tissues Organs 182: 129-142, 2006.

2. Lan Y.B., Terada M., Higo Y., Kawano F., Matsuoka Y., Wang X.D., Nakai N., and Ohira Y. Effects of mechanical and/or neural stimuli on the properties of soleus muscle fibers in *mdx* mice. Jpn. J. Aerosp. Environ. Med., in press.
3. Kawano F., Matsuoka Y., Oke Y., Higo Y., Terada M., Wang X.D., Nakai N., Fukuda H., Ohmi S., Ohira Y. Role(s) of nucleoli, phosphorylation of ribosomal protein S6 and/or HSP27 in the regulation of muscle mass. Am J Physiol Cell Physiol., in press. 他