

トレッドミル走行運動を用いたラットの運動負荷量の検討

EVALUATION OF EXERCISE INTENSITY BY TREADMILL RUNNING IN RATS

大和田 宏 美¹⁾ ・ 丹 信 介²⁾

Hiromi OWADA ・ Nobusuke TAN

キーワード：ラット、トレッドミル運動、運動負荷、血中乳酸濃度

Key words : Rats, Treadmill Running, Exercise Intensity, Blood Lactate

要 旨

脳卒中や虚血性心疾患患者における運動負荷量の測定は、理学療法の適応や効果を評価するために重要である。本研究の目的は、疾患モデルとして有用なラットのトレッドミル走行運動において、運動負荷強度と血中乳酸濃度との関連を検討することである。雄 Wister ラットに対して外頸静脈にカテーテルを留置後、トレッドミルによる異なる運動負荷（走行スピード：10 m/min から30 m/min）を施行し、さらにトレッドミル走行運動中に採取した血液中の乳酸値を測定した。ラットの血中乳酸値は、走行スピード20 m/min では、大きく変化を示さなかったものの、22.5 m/min で上昇し始め、さらに25 m/min では更に増加した。このことから乳酸性閾値（lactate threshold：LT）は22.5 m/min であると示唆された。以上の結果は、様々なラット疾患モデルに対する運動強度による評価をトレッドミル走行運動を用いて行う上で、LT が運動負荷指標上有用である可能性を示している。

Abstract

Measurement of exercise intensity in the patients suffering from cerebral stroke and /or cardiovascular disease is critical for the physical therapy. The purpose of this study is to examine the lactate threshold (LT) as an indicator of exercise intensity in the rat treadmill running exercise. Male Wister rat was cannulated via jugular vein for sampling the blood, and subjected to the different levels of treadmill exercise (10 m/min-30 m/min). Blood lactate was measured in the sampled blood, and LT was determined. Blood lactate levels did not show any changes at 20 m/min compared with control. However, it was significantly elevated at 22.5 m/min, and further increased at 25 m/min. Taken together, in the rat treadmill exercise, LT is a useful marker for evaluation of exercise intensity, and further studies using various disease models are warranted.

1) 仙台青葉学院短期大学リハビリテーション学科理学療法学専攻、2) 山口大学教育学部保健体育講座
受理日：2015年7月31日

I. はじめに

運動が生活習慣病の予防や認知症の予防、海馬における神経新生などに関連していることが近年報告されている。神経細胞は運動などの適度の刺激を受ければ受けるほど、より活性化され、脳の可塑性が引き起こされる。ひとくちに運動といっても、散歩レベルから走行やスポーツレベルまでさまざまであるが、どのような運動様式、運動強度、運動時間、運動頻度が生活習慣病の予防や脳の可塑性に影響を及ぼすのかの詳細については、未だ明らかになっていない。運動が持つ種々の疾患に対する効果を検証するにあたっては、動物モデルにおいて正確な運動強度の設定（定量化）が重要になってくる。

運動強度の指標は、酸素摂取量や換気量、心拍出量、血圧、血中乳酸濃度、自覚的運動強度（ratings of perceived exertion : RPE）などが用いられる。特によく用いられるのは、心拍数と血圧、血中乳酸濃度である。この中で血中乳酸濃度は、ある一定の運動強度までは、運動強度が増加しても上昇しないが、ある運動強度から血中乳酸値が急激に上昇する。この急激な血中乳酸濃度が上昇する運動強度を乳酸性閾値（lactate threshold : LT）と呼び、疲労にいたる激しい運動強度に切り替わる境界点で、運動強度を決定する指標となっている。これは、筋細胞内のミトコンドリアへの酸素供給が不足あるいは追いつかなくなり、好氣的代謝が不完全になった結果、無酸素性代謝である解糖系代謝が亢進し、その最終産物である乳酸が活発に産生されると考えられている¹⁾。

脳卒中モデルや神経変性モデルとして基礎的研究に用いられるラットでは、しばしば運動負荷としてトレッドミル走行運動が用いられている^{2),3)}。トレッドミルの運動強度の身体指標での定量化には、運動時リアルタイムでの心拍数や血圧などの測定が考えられるが、いずれも大型かつ高価な機器が必要とされるため困難な場合が多い。さらにこれらの指標は、非常に変動が激しいため、細胞

の代謝状態を安定して反映でき、簡便に測定できる運動強度の指標が求められている。

そこで本研究では、ラットのトレッドミル走行運動において、運動速度と運動中の血中乳酸濃度からLTレベルを決定し、ラットでの運動強度の指標となる可能性について検証した。

II. 研究方法

1. 実験動物および飼育条件

10～12週齢のWister系雄ラット（SLC）、体重280～300gの6匹を用いた。ラットの飼育は、室温26℃、湿度55～60%、12時間の明暗サイクルで行い、市販飼料を用いた餌（CE-2、日本クレア）および水は自由に摂取させた⁴⁾。

2. 外頸静脈内カテーテル留置術

意識下のラットで無麻酔・無拘束下で運動時の採血を可能にするために、トレッドミル走行トレーニング期間終了後、麻酔（ペントバルビタール、40mg/kg）下で外頸静脈カニューレーションを行い、右心房内にカテーテルを留置した⁵⁾。手術後、最低2日間の回復期間を経て、走行負荷テストを実施した（図.1）。



図. 1 外頸静脈よりカテーテル留置をしたラット

Ⅲ. 運動トレーニング

1. トレッドミル走行運動トレーニング

トレッドミル走行運動トレーニングを実施する前に、ラットをトレッドミル走行運動に慣れさせるために、週3日の頻度で7～10日間トレーニングを実施した。角度0度のトレッドミルを用いた走行運動を実施し、徐々に走行量（10～30分）を増加していった（図.2）。

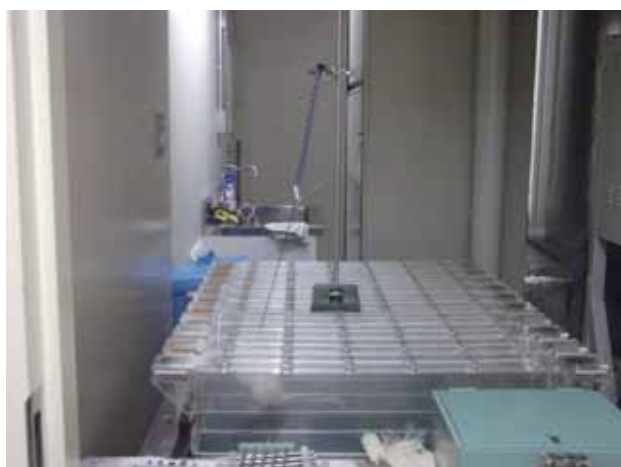


図. 2 ラットのトレッドミル装置

2. トレッドミル走行運動条件

トレッドミル走行運動の条件は、warming up から速度10m/min、速度15m/min、速度17.5m/min 速度20m/min、速度22.5m/min、速度25m/min、速度27.5m/min、速度30m/min まで走行させ、トレッドミルの速度を5分毎に漸増させる走行漸増負荷テストを実施した（図.3）。

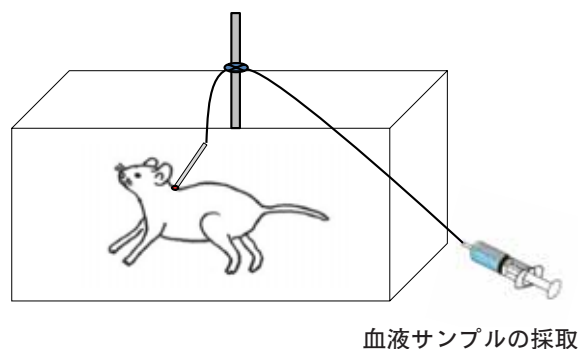


図. 3 カテーテル留置をしたラットのトレッドミル走行運動

3. 血中乳酸値の測定

トレッドミル走行運動の条件ごとに、外頸静脈内に留置したカテーテルから走行運動中に0.1ml ずつの採血を行い、簡易血中乳酸測定器ラクテート・プロ（アークレイ社製、東京）を用いて、血中乳酸値を測定した。血中乳酸値の測定範囲は、0.8～23.3mM であり、測定機器の検出感度以下（0.7mM 以下）は low とした。

4. 統計学的手法

各サンプルから得られたデータをもとに、トレッドミル走行運動のスピードごとに平均値と標準偏差を算出し、Excel を用いてグラフ化した。

Ⅳ. 倫理的配慮

本研究は、山口大学動物実験指針に従い、山口大学農学部動物実験委員会の審査を受け、承認のもと実施した。

Ⅴ. 結果

トレッドミル走行運動中の血中乳酸値は、運動負荷が漸増するにつれて血中乳酸値が増加する傾向にあった（図.4）。各ラットの血中乳酸値の傾きから、LT は、血中乳酸濃度が安静時以上に上昇する点として定義されている⁶⁾ ので、トレッドミル速度が22.5m/min であることが推測される（図.4）。このことから、20m/min 以下のトレッドミル速度で運動した時の運動強度は、低強度の運動であり、反対に、25m/min 以上のトレッドミル速度で運動した時は、高強度の運動であると

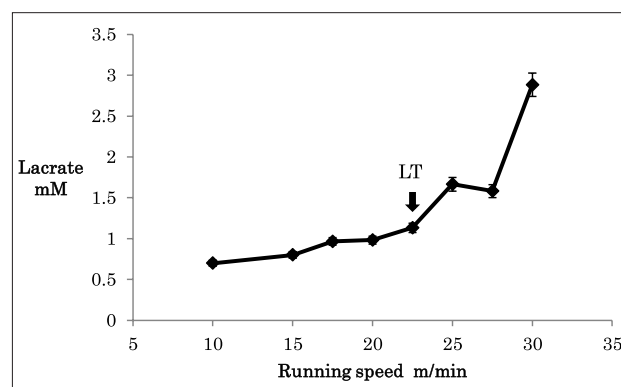


図. 4 トレッドミル走行運動時の乳酸閾値の経時的変化

ということが推測できる。

VI. 結論

本研究の目的は、ラットトレッドミル走行運動において、運動時の血中乳酸濃度を用いて運動負荷強度を検討することである。今回の実験結果から、ラットのLTは、トレッドミル速度が22.5m/minの時であり、低強度の運動は20m/min以下、高強度の運動は25m/min以上のトレッドミル速度で行う運動強度であることが推測された。岡本⁷⁾によると、予備実験として同様の実験を実施しているが、LTは20m/minの時であると報告している。また、熊谷ら⁶⁾は、血液サンプリングをカッティングした尾静脈より採取し、血中乳酸濃度を指標とした運動強度の評価を行ったが、明確なLT値を検出することができなかったと報告している。我々の実施した実験では、外頸静脈にカテーテルを留置することで、運動中の血液をカテーテルよりサンプリングすることができたため、より正確な血中乳酸値の測定が可能となった。

一般的に、運動負荷による乳酸の過剰な蓄積は、筋細胞内のpHを低下させ、むしろ筋活動を低下させてしまうため、運動療法ではLT以下のマイルドな運動負荷量が望ましいとされる。しかしながら実際の人を対象とした治療現場では、乳酸値測定によるLT値の算出が煩雑であるため、主観的訴えや心拍数などの変化を運動強度の指標として使っているのが現状である。また乳酸の蓄積や代謝は、疾患差や個人差が大きいいため、基準の設定が困難であることもLT値が指標として定着しない一因だと考えられる。しかし筋細胞の代謝状態を鋭敏に反映するLT値が簡便かつ非侵襲な方法で測定することが可能になれば、患者の治療においても、より客観的で有用な運動強度指標として役立つ可能性は大きい。

心臓リハビリテーションにおいては、運動療法が推奨されており、主に歩行や自転車走行などの有酸素運動トレーニングとレジスタンストレーニングがあげられる。主な効果は、運動耐容能の増加であり、これに伴い労作時呼吸困難や疲労感な

どの心不全症状や狭心症発作など、日常生活同一労作における諸症状を軽減してQOLを改善する⁸⁾。最近では、嫌気性代謝閾値(anaerobic threshold: AT)レベルの運動強度の有酸素運動が一般的に推奨され、臨床現場では広く普及している。しかし、慢性心不全患者を対象とした高強度インターバルトレーニングについては、高強度(最高心拍数の95%強度)のインターバルトレーニングがATレベル(70%強度)の持続運動よりも運動耐容能を増すことが報告され検討がなされている。このことから、運動負荷量の違いによる効果は未だ研究段階であると言える。

岡本ら⁷⁾の報告によると、ストレスを伴わない低強度のトレッドミル走行運動が海馬の神経新生を増強するということが判明している。運動をすると、認知症の改善や脳の可塑性を促すという諸家の報告はあるが、どれも異なる運動条件によるものであるため詳細は不明である。運動と神経可塑性の関連研究は、ヒトレベルの検討が困難であり、動物モデルを用いた解析が必要不可欠である。

本研究では、ラットトレッドミル走行運動における血中乳酸値から、LT値を推定することができた。今後は、LT値を基準とし脳梗塞や虚血性心疾患さらにはCOPD等の動物疾患モデルにおける運動負荷量(運動強度)を決定していきたい。また、各動物疾患モデルの運動強度の違いによる細胞応答あるいは運動の治療効果の関連について更に詳細な検討を加えていきたい。

VII. 謝辞

本研究はJSPS科研費(24931001、代表：大和田宏美)の助成を受けたものである。

本研究は、利益相反に相当する事項はない。

VIII. 文献

- 1) 橋本健志：運動中の乳酸動態は運動強度の基準となるか？ 臨床スポーツ医学, 2011; 28(10): 1123-1128.
- 2) R-Y Wang, S-M Yu, et al: Treadmill Training

Effects in Different Age Groups following Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats. Gerontology. 2005 ; 51 : 161-165.

- 3) Itoh T, Imano M, et al : Exercise increases neural stem cell proliferation surrounding the area of damage following rat traumatic brain injury. J Neural Transm. 2011 Feb ; 118 (2) : 193-202.
- 4) 丹信介, 熊谷将秀, 他 : 強制走行運動値レーニングが卵巣摘出ラットの空間学習・記憶能力に及ぼす影響. 山口大学教育学部 研究論叢 第3部 芸術・体育・教育・心理. 2010 ; 60 : 205-215.
- 5) 征矢英昭, 吉里秀雄, 他 : 運動適応における運動ストレス反応の変化とその評価 : (ACTH/乳酸) からの検討. 三重大学教育学部研究紀要. 自然科学. 1993 ; 44 : 93-98.
- 6) 熊谷秋三, 西住昌裕 : ラットにおける血中乳酸を指標とした運動強度の評価. 日衛誌. 1986 ; 41 (3) : 648-652.
- 7) Okamoto M, Hojo Y, et al : Mild exercise increases dihydrotestosterone in hippocampus providing evidence for androgenic mediation of neurogenesis. PNAS. 2012. Aug 7 ; 109 (32) : 13100-13105.
- 8) 心血管疾患におけるリハビリテーションに関するガイドライン (2012年改訂版) 班長 : 野原 隆司 掲載 : ホームページ公開のみ : p 8.