

温連浴による血漿成分の変動

妹 尾 敏 伸

岡山大学温泉研究所温泉内科学部門

(指導：森永 寛教授)

(1981年1月6日受付)

序 言

温浴を行うとき生体には温熱作用、水による物理的作用(静水圧、浮力など)等がもたらされるが、特に温熱作用が大きな影響を及ぼすと考えられる。小型の哺乳動物を用いて、温度適応と交感神経系の機能との関係を検討した報告は多いが、そのほとんどは寒冷の適応についてのものであり、温熱について検討したものは少ない(JONES・MUSACCHIA, 1976, PETROVIĆ・MARKOVIĆ・GIAJA, 1973, SHUM *et al*, 1969). PETROVIĆ *et al*, (1976)によれば、30日間連続して暑熱に曝露させたラットでは尿中へのノルアドレナリン(NA)の排泄が減少することから、交感神経機能が抑制されていることを示唆している。また SHUM *et al*, (1969)は同様なラットについて、尿中のカテコールアミン(CA)代謝産物を検討し、NAの生合成が低下していることを示唆している。ところで、ラットやマウスが寒冷に繰り返し曝露された際の適応は、寒冷環境に連続して曝露したときと異なることが報告されている(LEBLANC *et al*, 1971)。

著者はラットを用いて温連浴を行い、温熱刺激の反復による交感神経-副腎髄質系への影響、さらに温連浴によってもたらされるそれ以外の作用について検討するために、最近交感神経-副腎髄質系の機能を知る上で、きわめて有用な指標になりうると考えられるようになった血漿中のCA量(三浦, 1979)、さらに血漿中の遊離脂肪酸とグルコース量の測定を行った。

実験方法

実験動物として6週令のWistar系雄ラットを用い、1群5匹として対照非入浴群、34°C温浴群そして40°C温浴群の3群に分け共に湿度約50%、室温22±1°Cの下で飼料(日本クレア CA-I)と水道水を自由に与えて7:00~19:00の人工照明下で飼育した。入浴は1日1回、10分間、2週間と4週間にわたり13:00~15:00の間に水道水を用いて行った。なお非入浴群も実験操作に馴らすように努めた。最後の入浴の翌日、9:00~11:00の間にラットを速かに断頭し、頸断端より流出する血液

をシリコン処理しヘパリンを加えた試験管に受けただちに冷却した後、遠心分離し血漿を得た。

血漿カテコールアミン(CA)定量のための血漿の前処理は今泉ら(1958)の方法を一部取り入れ以下のごとく行った。血漿2mlを試験管にとりこれに0.2M CH₃COONaを等量加え、さらに0.5MEDTA 0.5ml, 0.1M Na₂S₂O₃ 0.1mlを加え攪拌した。次に精製した活性アルミナ0.2gを加え攪拌しながら0.1M Na₂CO₃を滴加し、pH 8.4とした。2分間攪拌した後遠沈して上清をすて、蒸留水で2回アルミナを洗浄した。吸着したCAは0.1M H₃COOH, 1mlで溶出した。CAの分離検出は高速液体クロマトグラフィーを用いた trihydroxyindole 法による友田ら(1979)の方法に従った。血漿中へ、ノルアドレナリンとアドレナリンをともに9.25ng添加した際の回収率の平均は、それぞれ、77%、71%であった(Table 1)。また試料を5回連続測定したときの変動係数(C.V)はノルアドレナリンでは6.6%、アドレナリンでは6.1%であった(Table 2)。なお測定値は補正せずに示した。

血漿中の遊離脂肪酸、グルコースはそれぞれ、和光純薬工業の Reagent-Kit による Duncombe 法(DUNCOMBE, 1964)の変法とO-アミノピフェニル法(柴田・北村, 1964)とによって測定した。

結 果

1) 温連浴の体重への影響

Table 3 に2週間と4週間の温連浴後の体重の変化を示した。2週間の連浴より34°Cと40°Cの温浴群は、対照非入浴群に比較して体重増加の抑制傾向が認められ、4週間では推計学上有意な差を示した(P<0.05)。しかし温度差による変化は認められなかった。

2) 血漿代謝物質の変化

Table 4 に温連浴の、交感神経系と血漿代謝物質への影響を調べた結果を示した。血漿のノルアドレナリン(NA)レベルは2週間の温連浴により、非入浴群よりも減少したが有意ではなかった(p>0.1)。

Table 1. Recovery rate of noradrenaline (NA) and adrenaline (A) added to plasma

NA in plasma (ng / 2 ml)	NA (ng / 2 ml)		Recovery rate (%)	A in plasma (ng / 2 ml)	A (ng / 2 ml)		Recovery rate (%)
	Added	Found			Added	Found	
8.96	9.25	16.00	76.1	12.16	9.75	18.80	69.1
8.96	9.25	16.10	77.2	12.16	9.75	19.30	73.2
Average			76.7	Average			71.2

Table 2. Reproducibility of the determination of noradrenaline (NA) and adrenaline (A) in plasma

No	NA (ng/ml)	A (ng/ml)
1	3.52	9.17
2	3.31	9.68
3	3.35	8.30
4	2.96	9.60
5	3.45	8.89
Mean	3.32	9.13
S.D	0.22	0.56
C.V(%)	6.6	6.1

4週間の温連浴では非入浴群との間に差は認められなかった。一方アドレナリン(A)レベルは2週間の温連浴により、NAとは逆に非入浴群よりも僅かな増加を示したが有意ではなかった($p > 0.1$)。また4週間の温連浴ではNAと同様に非入浴群との間に差は認められなかった。遊離脂肪酸(FFA)については、温浴群は非入浴

群に比較して2週間連浴、4週間連浴ともに増加する傾向を示し、特に34°Cの4週間連浴群は有意の増加を示した($p < 0.05$)。グルコースレベルは、2週間の連浴では非入浴群に比較して増加する傾向がみられ、特に40°C連浴においてその傾向は強かったがなお有意とはいえなかった($0.05 < p < 0.06$)。

Table 3. The changes in body weight (g)

	initial	2 weeks	4 weeks
Non-treated controls	155.5±11.9 (10)	254.3±16.9 (10)	334.0±20.3 (5)
34°C-serial bathing group	159.0±10.7 (10)	244.8±15.7 (10)	302.2±15.9 (5)*
40°C-serial bathing group	160.8± 8.9 (10)	246.7±12.2 (10)	305.0± 6.2 (5)*

Values are mean ± standard deviation.

Number in the parenthesis indicates the number of the rats.

P vs non-treated controls; * < 0.05

Table 4. Effects of serial bathing on plasma catecholamines (NA, A), free fatty acid (FFA) and glucose concentrations.

	NA (ng/ml)	A (ng/ml)	FFA (μ Eq/l)	Glucose (mg/ml)
2 weeks-serial bathing				
non-treated controls	2.5 \pm 0.8	8.0 \pm 2.1	188.4 \pm 57.7	136.6 \pm 8.1
34°C-bathing group	2.2 \pm 0.5	10.1 \pm 1.0*	229.2 \pm 66.6	147.4 \pm 9.0
40°C-bathing group	1.6 \pm 0.6	9.0 \pm 1.9	228.2 \pm 67.2	152.0 \pm 14.2
4 weeks-serial bathing				
non-treated controls	1.8 \pm 0.5	6.7 \pm 1.3	201.4 \pm 17.2	139.8 \pm 11.2
34°C-bathing group	1.9 \pm 0.5	6.4 \pm 0.7	263.0 \pm 35.0*	135.2 \pm 5.1
40°C-bathing group	1.6 \pm 0.8	6.9 \pm 2.6	227.2 \pm 65.4	134.6 \pm 8.2

Values are mean \pm standard deviation.

P vs non-treated controls: * $<$ 0.05

考 察

ラットを温入浴させた場合、生体には温熱作用、水の物理的作用そして入浴という不慣れな刺激に対する精神的ストレス等がもたらされると考える。

一般に冷、温の入浴は新陳代謝を亢進するため体重は減少するのであるが、本実験でも連浴4週間で体重増加の著明な抑制が認められた。しかし34°Cという不感温度でも認められたことから、温熱以外の因子も大きく影響していると思われる。

血中にみられるCAのうち、Aのほとんど全部は副腎髄質から分泌されたものであり、NAの分泌源は主に交感神経終末端である(EULER, 1954)。副腎髄質からA、NAが分泌されるときは、貯蔵顆粒から直接細胞外に放出され、従って副腎から分泌されたCAは活性のまま血中に分泌されることが証明されている(山田, 1967. 吉利, 1969)。一方、交感神経終末端から分泌されるNAは、副腎髄質と異なりまず顆粒から細胞質液へ分泌され、細胞膜と結合する。そして神経刺激により細胞膜を通過して細胞外へ分泌されるという(吉利, 1969)。従って、血中のCAレベルは交感神経—副腎髄質系の機能を知る上で、有用な指標となると考えられる。

著者の実験では、血漿のNAレベルは2週間の温連浴により減少する傾向が認められ、交感神経機能の抑制が考えられる。ところで血中CAレベルと尿中のそれとは多くの場合平行するといわれ、特に比較的短時間の尿をとって検討するときは血中レベルと平行することが多いという(三浦, 1979)。PETROVIĆ *et al.*, (1976)は、暑熱馴化のラットの尿中へのNAの排泄が減少することから、交感神経の機能の抑制を示唆したが、これは著者の見解と一致するものである。従ってNAを指標とする

限りでは交感神経機能に及ぼす影響は、温熱の継続刺激馴化と温浴刺激の反復との間に本質的な差はみられないようである。しかしながら、4週間の温連浴ではNA、Aともに非入浴群との差が認められなかった。これは入浴の“馴れ”に基づいた現象であると考えられよう。

KHANNA and SHARMA (1971)によれば数回の冷浴による寒冷刺激を与えたラットでも血中のAレベルは僅かに増加し、1月1回、20日間の寒冷刺激ではほとんど変化がなかったという。

非入浴群のCAレベルが4週間目に減少傾向を示したが、SHUM *et al.*, (1969)が22°Cで飼育したラットの1日当りの尿中CAレベルを、1週間毎に測定した結果では最高40%程度の変動が観察されており、さらに採血する際の条件(動物の固定、実験室の温度等)の違いなどから、血中CAレベルも変動することが推測される(CARRUTHERS *et al.*, 1970)。ヒトでは血中CAレベルの逐日変動の変動係数は $\pm 12\sim 15\%$ であったという報告もある(一二三ら, 1979)。そこで非入浴群、入浴群の2週間目と4週間目の血中レベルの平均経過の比較を行ったが、時間的経過の型の違いは認められなかった($p > 0.1$)。

暑熱馴化のラットでは、血中のFFA、グルコースレベルが低下し、糖・脂質代謝の抑制が起きている。しかし著者の実験した範囲ではこれらの物質のレベルは、変化しないか、あるいは増加する傾向を示し脂肪組織からのFFAの動員、糖新生あるいは糖原分解が促進していることが示唆された。また有地(1973, 1974)も1回の入浴によりFFAの結合組織での減少、血清中での増加を報告しており、入浴によってもたらされる生体の反応であると考えられる。

血漿中の CA レベルの変化と FFA, グルコースレベルの変化との関連は見いだされなかったが, CA レベルはその生合成, 血中への分泌と利用, 分解とに基づいた相対的な量であるため, CA の動態と意義とを検討するためには, その代謝回転率, 代謝回転速度, CA に対する生体の感受性についてさらに検索する必要がある。

結 語

ラットを用いて 2 週間および 4 週間の温連浴 (浴温は 34°C と 40°C) を行い, 血漿成分への影響を検討した。

体重の増加は対照非入浴群に比較して抑制され, 特に 4 週間で著明であった。しかし浴温による差は認められなかった。血漿のノルアドレナリン (NA) レベルは 2 週間の温連浴では非入浴群に比較して抑制されたが, 有意ではなかった。アドレナリンレベルは NA とは逆に 2 週間の連浴では増加する傾向にあったが有意ではなく, 4 週間の連浴では変化は認められなかった。血漿遊離脂肪酸は入浴群に比較して, 2 週間と 4 週間の温連浴においてともに増加の傾向を示し, 特に 4 週間では有意な増加を認めた。血漿グルコースレベルは, 2 週間の温連浴では僅かに上昇したが有意ではなく, 4 週間では変化はなかった。

引 用 文 献

- 有地 滋 (1973) 温泉浴の結合織に及ぼす影響. 温気物医誌. 36, 98.
- 有地 滋 (1974) 温泉浴とホルモン感性リパーゼ, C-AMP. 温気物医誌. 37, 99.
- CARRUTHERS, M., TAGGART, P., CONWAY, N., BATES, D. and SOMERVILLE, W. (1970) Validity of plasma-catecholamine estimations. *Lancet*. 2, 62.
- DUNCOMBE, W. G. (1964) The colorimetric micro-determination of nonesterified fatty acids in plasma. *Clin. Chim. Acta*. 9, 122.
- EULER, U. S., FRANKSSON, C. and HELLSTROM, J. (1954) Adrenaline and noradrenaline output in urine after unilateral or bilateral adrenalectomy in man. *Acta Physiol. Scand*. 31, 1.
- 一二三宣秀, 滝本弘明, 本定 晃, 水毛生直則 (1979) 高速液体クロマトグラフィーによる血中カテコロールアミン測定法の検討. 日内分泌会誌. 55, 1209.
- 今泉礼治 (1968) カテコロールアミン. 医学書院. pp. 205.
- JONES, S. B. and MUSACCHIA, X. J. (1976) Norepinephrine turnover in heart and spleen of 7-, 22-, and 34°C-acclimated hamsters. *Amer. J. Physiol.* 230, 564.
- KHANNA, N. K. and SHARMA, V. N. (1971) Effect of cold stress on myocardial and plasma catecholamine level of rat and its modification by eserine, ecamylamine and reserpine. *Indian J. Med. Res.* 59, 627.
- LEBLANC, J., ROBERGE, C., VALLIERE, J. and OAKSON, G. (1971) The sympathetic nervous system in short-term adaptation to cold. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 49, 96.
- 三浦幸雄 (1979) 血中カテコロールアミン濃度と交感神経機能, 医学のあゆみ. 109, 184.
- PETROVIĆ, V. M. and MARKOVIĆ-GIAJA, L. (1973) A comparative study of the calorogenic action of noradrenaline in the rat and ground squirrel adapted to different temperatures. *Experientia*. 29, 1295.
- PETROVIĆ, V. M., DAVIDOVIĆ, V. and JANČIĆ-SIBALIC, V. (1976) Catecholamines and Stress. (ed. by Usdin, E., Kvetnansky, R. and Kopin, I. J.), *Pergamon Press, Oxford, New York, Tront, Sydney, Paris and Frankfurt*. pp. 437.
- SHUM, A., JOHNSON, G. E. and FLATTERY, K. V. (1969) Influence of ambient temperature on excretion of catecholamines and metabolites. *Amer. J. Physiol.* 216, 1164.
- 柴田 進, 北村元仕 (1964) 日常臨床生化学定量法. 現代診断検査法大系. 中山書店. pp. 194.
- 友田 明, 柴田磐夫, 三納光雄 (1979) 高速液体クロマトグラフィーによる組織内カテコロールアミンの分離分析法について. 金医大誌. 4, 99.
- 山田律爾 (1967) 副腎髄質ホルモン. 代謝. 4, 608.
- 吉利 和監訳 (1969) カテコラミン. 医歯薬出版. pp. 24.

EFFECT OF SERIAL BATHING ON PLASMA METABOLITES

by Toshinobu SENO (Director: Prof. H. MORINAGA), *Division of Medicine, Institute of Thermal Spring Research, Okayama University.*

Abstract

The present experiments were undertaken to elucidate the effect of serial bathing on plasma metabolites of rats. The rat took a bath for 10 minutes, 34°C and 40°C in temperature, in a city water once daily for two or four weeks. After serial bathing, the body weight and the catecholamines, free fatty acid (FFA) and glucose contents in plasma were measured.

The results are as follows:

- 1) The body weight showed a marked decrease after four weeks-serial bathing compared with that of the non-treated rats.
- 2) After two weeks-serial bathing, the noradrenaline (NA) content decreased slightly, but the adrenaline (A) content increased slightly compared with those in controls. After four weeks-serial bathing, no changes were observed in NA and A contents.
- 3) Plasma FFA content tended to increase by serial bathing compared with that in controls.
- 4) Although plasma glucose content tended to increase after two weeks-serial bathing, no change was observed after four weeks-serial bathing compared with that in corresponding controls.