ISSN 2432-602X

日本健康開発雑誌39

Japanese Journal of Health and Research



平成30年6月

June 2018

一般財団法人　日本健康開発財団

Japan Health and Research Institute

巻　頭　言



一般財団法人日本健康開発財団
理事長
栗原　茂夫

日本健康開発雑誌第39発刊にあたって

2017年度から従来の研究年報の名称を変更し、助成研究発表論文に加え、査読付き論文の投稿も受付ける日本健康開発雑誌（Japanese Journal of Health & Research）として新しい歩みを始めています。本巻では2本の原著論文（査読付き）と7本の助成研究報告論文を掲載しております。

助成研究は「温泉・入浴を活用した健康づくり」を中心とした基礎・応用研究としていますが、原著論文につきましては、健康づくりに関係する幅広い研究を掲載しています。査読付きの論文投稿は随時受け付けを行い、採択が決定次第オンライン掲載をする体制をとっています。紙媒体での印刷は従来通り6月とさせていただいています。

2018年度の助成研究では、従来に加えて2017年度に立ち上げたメディカル＆ヘルスケア事業部との業務関連も考慮して、ヘルスツーリズムに関する研究課題も対象にしています。温泉・入浴を基礎にした上で、時代に合った幅広い研究への協賛を行っていきたいと考えています。

当財団の主要業務の1つである温泉利用型健康増進施設の認定申請においては、2016年3月に認定要件が緩和されてから、2つの温泉施設が連携型施設（運動施設・温泉施設分離型）として認定を受け、成果をあげています。昨今の健康に対する関心の拡大に伴って、健康増進施設に関する問合わせ、認定申請依頼は増加傾向にあり、自治体等における温泉の研究、実験等の問合わせや依頼も増えております。

また、環境省の「平成29年度地域資源を活かした温泉地活性化に関する調査業務」では、当財団の温泉研究の経験から、温泉利用の効果測定調査に向けた実施モデルの提言を行いました。2018年度は環境省「新・湯治」効果測定調査プロジェクトに主体的に関わる等、温泉地活性化に関しても積極的な対応をしております。

さらに、人材育成に関しましては、厚生労働省の定めた実施要項に準拠し、2017年度末までに温泉利用指導者（累計491名）・温泉入浴指導員（累計5,389名）を養成しています。これらの方々は「健康増進のための運動・温泉利用プログラムを適切に提供する能力」を有すると認定されていますので、国民の健康増進の牽引役としての活躍が期待されています。そのような人材の新たな育成に関わる講習会の実施も、継続していく所存でございます。

最後になりますが、改めまして当財団を支えていただいております皆様に御礼申し上げます。

2018年度も引き続きご指導、ご協力賜わりますようよろしくお願い申し上げます。

目　次

巻頭言　　一般財団法人日本健康開発財団　理事長　栗原　茂夫

（原著論文）

1．入浴後皮膚乾燥と入浴中塗布化粧品の保湿効果……1
　研究代表者　一般財団法人日本健康開発財団 温泉医科学研究所　早坂　信哉

2．ストレス解消入浴法は体温を1.1℃上げる ……6
　研究代表者　株式会社バスクリン　石澤　太市

（助成研究）

1．酸化ストレスを制御する泉質の探索…… 16
　研究代表者　高崎健康福祉大学 薬学部 薬学科 細胞生理化学研究室　坂井　隆浩

2．海藻風呂に関する研究－カジメ類の抗酸化性－…… 22
　研究代表者　東京海洋大学学術研究院食品生産科学部門　久田　　孝

3．温熱による抗腫瘍効果の真の標的解明と臨床・創薬への応用 …… 30
　研究代表者　東京大学大学院医学系研究科・疾患工学センター・
　放射線分子医学部門　榎本　　敦

4．都市部地域住民を対象とした入浴とメタボリックシンドローム罹病リスクとの
関係に関する追跡研究…… 37
　研究代表者　国立循環器病研究センター予防健診部　小久保喜弘

5．温熱療法にともなう体温に依存した遺伝子発現のコントロール…… 46
　研究代表者　東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻　程　久美子

6．温熱効果を高めるシャワー方法の検討…… 54
　研究代表者　北海道大学大学院教育学院　秋山　雅代

7．冷え性の病態と原因に関する研究
－舌下温、体表温、静脈血ガスとタダラフィル内服の効果－ …… 62
　研究代表者　鹿児島大学　田中　信行

原　著　論　文

原　著

入浴後皮膚乾燥と入浴中塗布化粧品の保湿効果

Dry skin after bathing and effect of skin inbath-moisturizer

早坂信哉[1,2)]　後藤康彰[1)]　栗原茂夫[1)]

1) 一般財団法人日本健康開発財団　温泉医科学研究所
2) 東京都市大学人間科学部

（連絡先）
〒103-0027 東京都中央区日本橋3-1-4　画廊ビル8F
一般財団法人日本健康開発財団温泉医科学研究所　早坂信哉

Key words: 入浴　皮膚乾燥　化粧品　保湿

抄録

背景・目的　入浴は身体に対する利点も多いが、入浴後の皮膚乾燥が指摘されていた。本研究は、保湿化粧品の無塗布状態で入浴前後における角層水分量の変化を観察し、さらにこの保湿化粧品を塗布することによる入浴時の皮膚の保湿効果を明らかにすることを目的とした。

方法　同一被験者内ランダム化比較試験を行った。20-49歳の女性14名に40℃の湯に7分間全身浴をさせ、左右の前腕に無作為で一方に保湿化粧品を塗布しさらに3分入浴させた。浴後1分～60分までの間、経時的に両側の前腕の角層水分量を測定し、無塗布の対照側で入浴前後の角層水分量の推移を観察した。加えて保湿化粧品の塗布の有無で角層水分量を比較した。

結果　無塗布の対照側では入浴で急速に角層水分量が増加したのち急速に減少し出浴10分を過ぎると入浴前値程度になった。保湿化粧品を塗布すると浴後1分～60分までの間のすべての測定値で無塗布と比較し角層水分量が有意に増加した。

考察　保湿化粧品は入浴後の皮膚の乾燥を防ぐ一定の効果があると考えられた。

Ⅰ. 背景・目的

入浴は重要な生活習慣であり、温熱効果による血流改善、疼痛緩和、関節の可動性の拡大などの他、血流改善や清浄作用により、皮膚の新陳代謝を活発化し、皮膚疾患を予防しその機能を正常に維持する効果も期待できる[1,2)]。一方、以前より入浴により皮膚から皮脂の損失や保湿成分である細胞間脂質や天然保湿因子の流失による出浴後の皮膚乾燥が指摘されており、出浴後の皮膚乾燥を予防することは入浴の健康を考えるにあたり重要な課題であった[1,3)]。特に出浴後は一旦角層含有水分量（以下、角層水分量）

が上昇するものの、出浴後短時間で入浴前値程度に減少することが観測されており、出浴後早期に保湿する必要が指摘されていた[3]。

このような背景を受け、入浴中に使用することで効率よく効果的に皮膚保湿をすることを目的とした泡状保湿化粧品（以下、保湿化粧品）が販売されることとなった[4]。入浴中の使用で入浴後の皮膚乾燥を予防することを主目的とした泡沫状化粧品は著者らの知る限りではほとんどない。本研究は、まず、保湿化粧品の無塗布状態で入浴前後における角層水分量の変化を観察し、さらにこの保湿化粧品を塗布することによる入浴時の皮膚の保湿効果を明らかにすることを目的とした。

II．方法

１．対象

皮膚病変のない健常な20-49歳の女性（年齢構成は20代2名、30代1名、40代11名）で、研究参加の同意が得られた者とした。研究に際し、研究内容や起こりえるリスク等を文書及び口頭にて説明したのち、書面に署名の上研究への同意を得た。本研究は一般財団法人日本健康開発財団倫理委員会の承認を得て（承認番号201701）、臨床研究としてUMIN-CTRへ登録した（R000032157）。

２．研究方法（図１）

本研究は同一被験者内ランダム化比較試験である。

1)　2017年7月に鉄筋コンクリート造りの居室（ハウススタジオ）にて実施した。室内はエアコンで22℃、湿度40％に維持した。脱水予防のため自由に飲水をさせた。

2)　研究に先立ち、前述の通り、事前に血圧・体温計測し体調を確認し研究について説明し同意書を得た。血圧計はEW-BW10（Panasonic製、日本）、体温計はMC-1078W（Omron製、日本）を用いた。

3)　通例の測定法[5]に従い測定部を両前腕屈側肘関節より5cm遠位とし、メイク・日焼け止め等を落とし30分安静し環境への馴化を行った。測定部の角層水分量）を皮表角層水分量測定装置（SKICON-200EX:ヤヨイ製、日本）にて測定した。測定は1か所計5回行い、最大値、最小値を除いた3値の平均を求めてその時点での角層水分量とした。

4)　水着に着替え浴室に入る直前に各測定部の角層水分量を測定し、通常の入浴動作の再現としてかけ湯、測定部を石鹸で洗浄した。

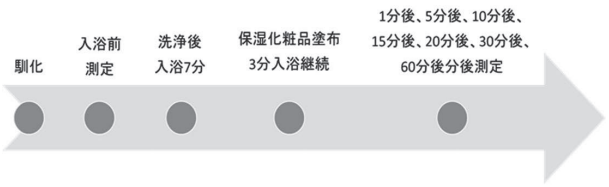
5)　40℃の湯に7分間全身浴を行った。体調不良がある場合は研究を中止することとした。

6)　保湿化粧品を左右のうち片方の前腕に塗布した。塗布する側は被験者ごと無作為に決定した。使用する保湿化粧品は泡状で、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（薬機法）に従い製造・届け出された「化粧品」であり、この化粧品の標準的な使用方法（浴槽で湯に浸かった後、浴槽内で体幹を湯に浸けながら湯から出ている非浸水部の皮膚に3分間塗布する）として用いた。塗布後、前腕は湯から出したまま3分間入浴を継続した。

7)　塗布3分後、保湿化粧品はシャワーを用いて湯で洗い流して浴室から出た。

8)　水着からバスローブに着替え、出浴後の1分後、5分後、10分後、15分後、20分後、30分後、60分後分後で各測定部位の角層水分量を測定した。

図１　研究フローチャート



3．統計処理

はじめに、保湿化粧品塗布のないデータから、入浴前の角層水分量へ戻る時間帯を求めるため、入浴前と出浴後の各測定値の平均を、paired-t検定で比較した。その後、保湿化粧品の塗布の有無別に2群とし、化粧品の無塗布側を対照として各群別に各測定時期の角層水分量の平均を求め、群間で対応のあるpaired-t検定を用いて比較した。統計処理には統計ソフトSPSS ver 21.0（IBM, Japan）を用い、統計学的有意水準を5%とした。

Ⅲ．結果

被験者全員が問題なくすべての測定を完了した。結果は各群すべてn=14である。

1．入浴前後の角層水分量の変化

保湿化粧品を塗布しない場合（無塗布）の角層水分量の平均と標準偏差を求めその経時的変化をグラフで示した（図2）。また、入浴前と出浴後の各測定値をpaired-t検定で比較した。

保湿化粧品を塗布しない場合、入浴直後は一旦急速に角層水分量が増加した後、速やかに減少した。入浴前と出浴後のそれぞれの測定時間の比較の結果を示した。入浴前と比較し、出浴1分後（$p=0.001$）、5分後（$p<0.001$）、10分後（$p=0.005$）はそれぞれ角層水分量が多く、統計学的有意差が認められた。以降、15分後では有意差が無くなり入浴前値と同程度まで減少した（$p=0.168$）。20分後も有意差がなく（$p=0.613$）、時間を追うと、さらに出浴後30分後、出浴60分後では角層水分量が減少し、入浴前と比較して有意に減少していた（それぞれ、$p=0.003$、$p<0.001$）。出浴後1分では被験者における角層水分量に個人差が見られた。

2．保湿化粧品の有無による角層水分量の比較

保湿化粧品の有無による角層水分量の違いについて保湿化粧品を塗布した場合、しない場合のそれぞれの角層水分量の平均と標準偏差を求めその経時的変化をグラフで（図3）に示した。また、各測定時間における同時間の角層水分量を塗布、無塗布でpaired-t検定で比較した。無塗布のグラフは図2の再掲である。塗布群では

図2　入浴前後の角層水分量の変化（無塗布）

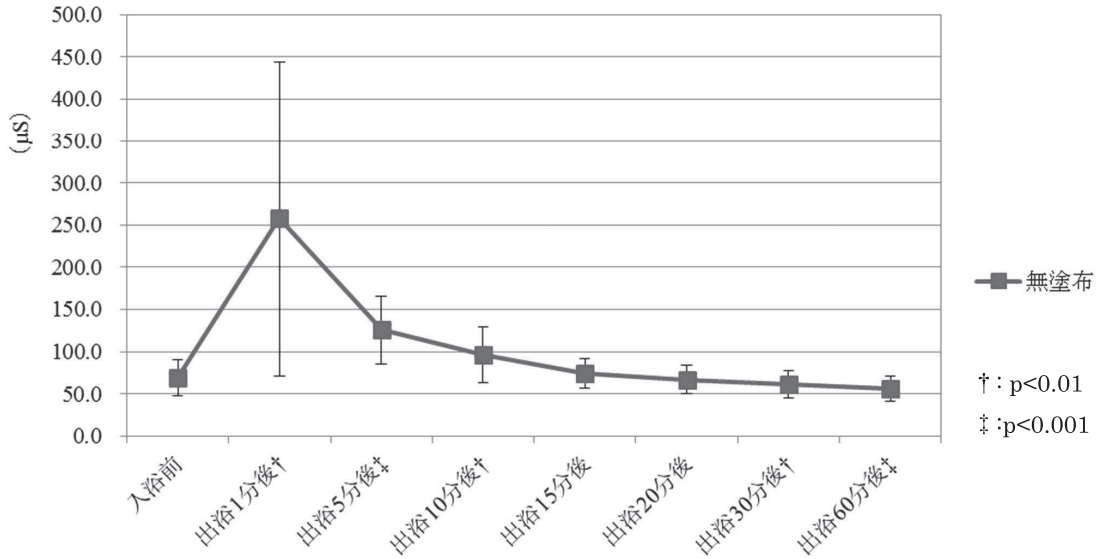
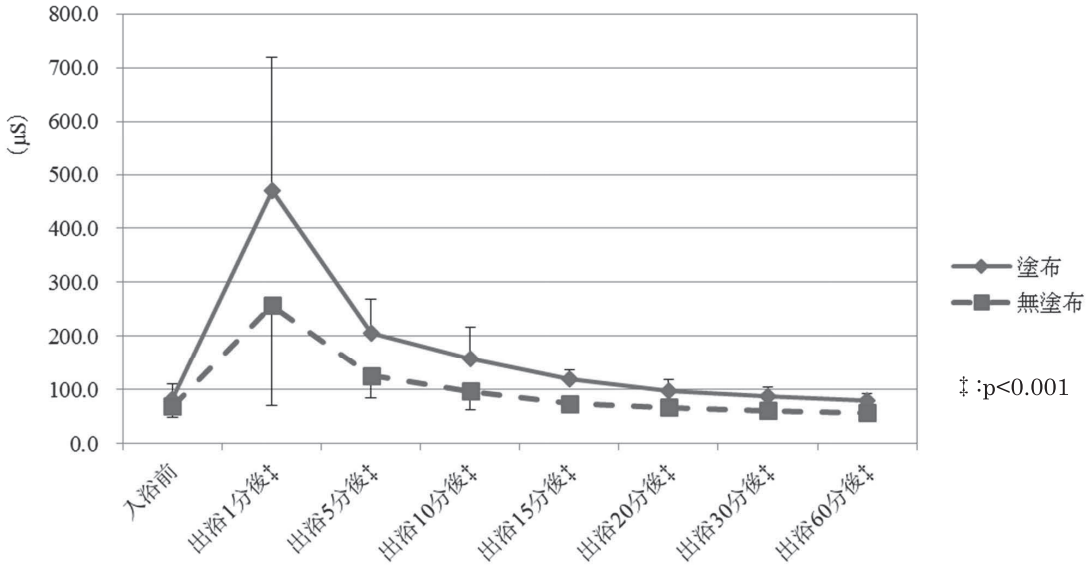


図３保湿化粧品の有無による角層水分量の比較



出浴後１分から大幅に角層水分量が増加し、出浴１～60分後のすべての測定値で無塗布群と比較して統計学的有意に角層水分量が多かった（いずれもp<0.001）。保湿剤塗布による角層水分量の増加は被験者によって差が大きく、増加の多い者では角層水分量は出浴後１分では10倍以上となったが増加の少ない者では２倍程度に留まった。

Ⅳ．考察

成人女性を対象に、入浴前後の角層水分量の経時的推移を測定し、出浴後の一旦上昇した角層水分量が入浴前値より低下する変化を観察した。さらに同一被験者内で一方の前腕に無作為に保湿化粧品を塗布し、保湿化粧品の塗布の有無で角層水分量を比較し、入浴時の皮膚の保湿効果を明らかにすることを目的として実験を行った。

角層水分量の入浴前値は過去の正常値の報告と比較しほぼ同程度だった[5]。角層水分量の入浴前後での変化は図２の通り、出浴後一旦急速に角層水分量が増加した後、急速に低下していくことが観測され、30分後以降には入浴前値よりも有意に低下していた。これは以前の報告[3]と同様の動向であった。本研究では出浴後10分までは入浴前値と比較して角層水分量が多いことが観測されたが、出浴後15分では入浴前値と有意な差は認められなかったため、出浴後10分を超えると入浴前値とほぼ同程度の角層水分量に戻っていたと考えられる。保湿ケアの観点で言えば、皮膚の水分量が保たれているうちに保湿ケアをすべきことは以前からも指摘されており[5]、出浴後の皮膚の過乾燥を予防するには出浴後10分以内に保湿ケアをするのが効果的であると考えられた。

保湿化粧品の有無による角層水分量の比較では、塗布群で、出浴後すべての測定値で無塗布群より角層水分量が有意に高かった。本保湿化粧品の利用は、出浴後の皮膚乾燥予防に対して効果的であると考えられた。本研究で用いた保湿化粧品は入浴中に泡沫状で塗布し、出浴前に浴室内で洗い流すという利便性の高い商品であるが、入浴中に用いる保湿化粧品は極めて少なく、その保湿効果を解析されているものは見

当たらなかった。本保湿化粧品は細胞のイオンチャネルの正常化によって皮膚の正常化に寄与する可溶化フィブロリン（加水分解シルク）を添加しておりこのことで保湿性を高めている[6]。フィブロリンは皮膚機能の改善作用も報告されており[7]これらの成分によって出浴後の皮膚の過乾燥を予防できた可能性がある。

本研究の限界として、本研究は、14名の20～40歳代の女性だけを対象にして行ったものである。そのため、男性や乳幼児、高齢者での角層水分量の動向は明らかにできていないことが挙げられる。今後、年齢や性別の異なる被験者での観察が必要と考えられる。

Ⅴ．結論

本研究では、出浴後10分を超えて経過すると角層水分量が入浴前値程度まで減少することが分かった。また本保湿化粧品は出浴後皮膚乾燥の予防に効果的であると考えられた。

利益相反：本研究は株式会社インテグレートからの受託研究である。

文献

1) 阿岸祐幸編. 入浴の事典. 東京：東京堂出版. 2013;39-58,184-185.
2) 早坂信哉. たった１℃が体を変えるほんとうに健康になる入浴法. 東京：KADOKAWA.　2014；12-14,54-55.
3) 石澤太市. 入浴法および入浴習慣が心身に及ぼす影響に関する研究. 金沢市：金沢大学. 2014；18-22.
4) スキンケアの新習慣　今日からお風呂で簡単”泡パック”「専科」パーフェクトホイップマスク発売 ～2017年9月中旬発売 ～https://prtimes.jp/main/html/rd/p/000000908.000005794.html（2017年8月11日アクセス可能）
5) 田上八朗. スキンケアの科学. 東京：南山堂. 2015;87-113.
6) 資生堂. ニュースリリース「外部刺激を瞬時に伝える　表皮細胞の新しい情報伝達システムを解明」2004.6.10
7) Yamada H, Igarashi Y, Takasu Y, et al. Identification of fibroin-derived peptides enhancing the proliferation of cultured human skin fibroblasts. Biomaterials 2004; 25(3): 467-472.

原　著

ストレス解消入浴法は体温を1.1℃上げる

Raising body temperature by 1.1°C during bathing decreases stress

石澤太市[1)]　伊藤要子[2)]　鳥居和樹[1)]　綱川光男[1)]　谷野伸吾[1)]

1) 株式会社バスクリン
2) 一般社団法人 HSPプロジェクト研究所

（連絡先）
〒305-0033 茨城県つくば市東新井29-9　株式会社バスクリン　石澤太市

Key words: 入浴、体温、リラックス、ストレス解消、唾液アミラーゼ

抄録

背景・目的　入浴の目的は、身体の清浄、温熱、疲労回復等が主で、中でもリラックスすることへの期待が大きい。リラックスする入浴法として、ぬるめの湯に入浴し副交感神経活動を優位にすることが知られている。また、入浴剤使用によりリラックスすることの報告も多い。しかし、若年者と高齢者では暑熱刺激に対する反応が異なることが知られており、各年代に応じたリラックスするための入浴法は示されていない。そこで、若年者から高齢者までの男女を対象として、リラックスするための入浴法を提案することを目的に、入浴時の体温の変化量と唾液アミラーゼ活性値から検討した。

方法　20から69歳までの男女58名を対象に、日常の入浴習慣や健康状態等について質問した後、40℃の湯に15分間の全身入浴を行い、浴後30分間安静に保った。試験開始から終了までは、5分毎に舌下温度を測定し、試験前と終了時に唾液アミラーゼ活性値測定および主観評価を行った。

結果　入浴15分後の体温の変化量をもとに、低値群・中央群・高値群の3群に分け、唾液アミラーゼ活性値の変化との関連を解析した。その結果、試験後の唾液アミラーゼ活性値は、体温変化が1.14℃上昇した中央群のみ低下し、主観評価のリラックス感も他群と比較し有意に高かった。また、体温変化が1.62℃上昇した高値群は、他群と比較し有意に息苦しさを感じた。入浴による体温の変化量への影響は、年齢と有意な負の相関を認め、性別では、男性が女性と比較し有意に体温上昇が高かった。

考察　唾液アミラーゼ活性値は交感神経活動由来のストレス指標である。中央群でのみ入浴後に唾液アミラーゼ活性値が有意に低下した。このことより、入浴時の体温が約1.1℃上昇することがリラックスするのに適した入浴法であり、体温が約1.6℃上昇すれば息苦しさを感じることが示唆された。そこで、年代および性別にリラックスすることができる入浴時間を推定することができた。リラックスに適した入浴時間を知ることは、入浴の効果を実感することができるばかりでなく、安全な入浴にも繋がると考えられる。

Ⅰ．背景・目的

入浴の目的や期待は、身体の清浄・温熱・疲労回復・リラックスするが主であり[1)]、実感することもできる。リラックスするためには、ぬるめの湯に入浴し副交感神経活動を優位にすることが知られている[2,3)]。さらに、入浴剤の香りが、リラックスする効果をもたらす報告も多い[4,5,6)]。しかし、入浴法の実態は、ぬるま湯から高温までの湯温の違い、カラスの行水から長めの湯までの時間の違い、半身浴や全身浴の水位の違い、シャワーと浴槽浴の形態の違い等、ヒトそれぞれである。

若年者を対象とした研究において、入浴で快適感を得るには40℃の湯に約10分間の入浴を推奨する報告がある[7)]。しかし、本研究のような湯温と入浴時間を具体的に示した報告は少なく、体温の変化量との関係を示す報告はない。入浴等の温熱刺激による体温調節機能は、若年者と高齢者は異なるため[8)]、年代別に体温の変化量とリラックスすることの関係を明らかにすることは、高齢化社会となった今日では重要である。

今回、リラックスするために最適な入浴法を提案するにあたり、若年者から高齢者の男女を対象として検討を行った。体温の変化量とリラックスすることの関係を主観と客観指標から検証し、さらには、体温の変化量に影響のある因子を見出し、因子に対応したリラックスすることに適した入浴時間を明らかにすることを目的とした。

Ⅱ．方法

被験者は、20から69歳までの健康な男女を対象とし、各年代および男女比を含めて人数が均等になるように募集し、58名で試験を行った（表1）。被験者は、事前調査として日常の入浴状況や入浴条件について質問紙に記入し、舌下温度（婦人用電子体温計　OMRON MC-683L）および血圧測定（オムロンデジタル自動血圧計　HEM-6022）と自己申告による現在の健康状態から被験者として適していることを確認した。その後、気分プロフィール検査（POMS - 2短縮版）、睡眠健康調査票（SHRI）、自己診断疲労度テスト、体脂肪率測定（マルチ周波数体組成計　MC-780A）を行った。

試験前に、温湿度を制御した人工気候室（25.0 ± 0.2℃、50 ± 2%RH）で約30分間馴化した後、入浴前値として舌下温度、唾液アミラーゼ活性値（以下：SAA（NIPRO DM - 3.1））を測定した。約30分間の馴化中においては、飲料水を含む全ての飲食を禁止した。その後、水着に着替え室温約25℃に保った浴室にて40℃の湯に肩が隠れる程度の全身入浴を15分間行った。湯温は、約40℃（平均40.2 ± 0.2℃）に保つように、必要に応じて追い焚きを行った。入浴中は、5分毎に舌下温度を測定し、血圧および心拍数（オムロンデジタル自動血圧計　HEM-6022）、酸素飽和度（パルオキシメータ　SAT-2200）を確認した。

入浴終了後は素早くスエットスーツに着替え、人工気候室で安静を保ち、舌下温度を入浴後30分まで5分毎に測定した。試験終了後、SAAの測定と温熱感やリラックス感等の7項目について主観評価を行った。入浴開始から試験終了までの間は、脱水防止のために常温の飲料水を準備した（結果的には誰も飲水を行わなかった）。

体温は、日内変動により午後に高くなることは知られているが、体温の変化量は試験時間帯に影響されないことを先行研究で確認している[9)]。そのため、解析に用いた体温は、入浴前値からの変化量で行った。解析は、IBM SPSS statistics version 22を用いてpearsonの相関係数および2要因の分散分析法（ANOVA）を行った。また、群別の平均の解析は、Student's t-testを行った。有意水準は、5%未満を有意差

ありとした。本研究は、修文大学倫理委員会の承認の基、被験者本人に説明し同意を得て実施した。試験は、株式会社バスクリン製品開発部内の浴室および人工気候室にて行い、試験期間は2015年9月から11月の午前から夕方に掛けて実施した。臨床試験登録はUMIN臨床試験登録システムにて行った（UMIN試験ID：000030552）。

表1：被験者の構成

年代	男性（人）	女性（人）	合計（人）	年齢（平均 ± S.D.）
20 代	4	3	7	22.4 ± 2.8
30 代	5	4	9	34.7 ± 1.5
40 代	5	4	9	46.4 ± 2.0
50 代	5	6	11	54.3 ± 2.1
60 – 64 歳	6	6	12	61.3 ± 1.3
65 – 69 歳	5	5	10	66.7 ± 1.2
合 計	30	28	58	49.8 ± 14.6

Ⅲ. 結果

1. 入浴時の体温の変化量と唾液アミラーゼ活性

被験者58例の入浴時の体温の変化量を低値から順番に並べ、対象者数が均等になるように3群（低値群：n=19、中央群：n=20、高値群：n=19）に分け、SAAとの関係を解析した。SAAは、機器の取扱説明書を参考として、測定範囲（10–200 kIU/L）から外れた値を精度の信頼性が低いと判断して棄却した。そのため、n=46（低値群：n=17、中央群：n=16、高値群：n=13）を有効例数として解析した。その結果、入浴15分後の体温は、低値群で0.78 ± 0.03℃（S.E.）、中央群で1.14 ± 0.02℃（S.E.）、高値群で1.62 ± 0.06℃（S.E.）上昇し、全ての群間において有意な差を認めた（p<0.01、ANOVA）。また、入浴開始から45分（入浴後30分）までの変化量においても、低値群と高値群との間に有意な差を認めた（p<0.01、ANOVA）（図1）。

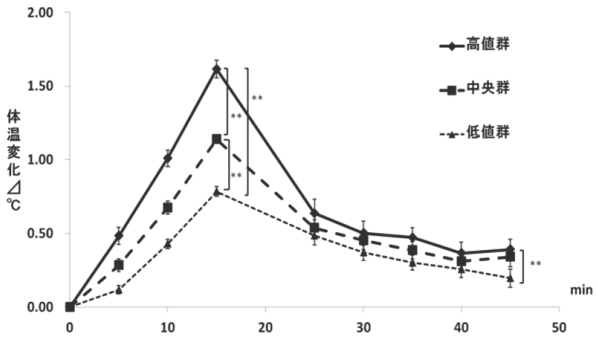


図1：体温変化別の入浴時体温変化（mean ± S.E.）

0-15min：高値群 VS 低値群 **p<0.01，　高値群 VS 中央群 **p<0.01，中央群 VS 低値群 **p<0.01（ANOVA）
0-45min：高値群 VS 低値群 **p<0.01，高値群 VS 中央群 N.S.　　中央群 VS 低値群 N.S　（ANOVA）

低値群の65歳以上の高年期者の占める割合は41.2%あり、中央群（6.3%）および高値群（0%）と比較して高く、高年期者は低値群に多く分類された。各群の平均年齢においても、低値群で55.7 ± 13.3歳（S.D.）、中央群で49.3 ± 13.5歳（S.D.）、高値群で38.7 ± 14.4歳（S.D.）であり、低値群と高値群の間に有意な差を認めた（p<0.01、t-test）。しかし、中央群と他の群との間には有意な差を認めなかった。

低値群における入浴前のSAAは、47.12 ± 7.74 kIU/L（S.E.）に対し、中央群は55.44 ± 10.40 kIU/L（S.E.）、高値群は23.73 ± 3.11 kIU/L（S.E.）であり、低値群と高値群の間に有意な差を認めた（p<0.05、t-test）（図2）。pearsonの相関係数を解析した結果において

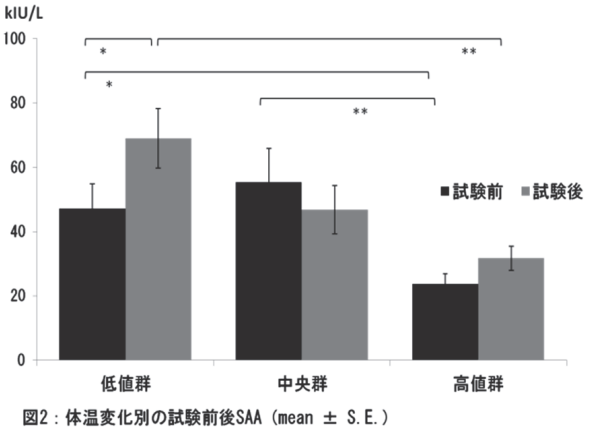


図2：体温変化別の試験前後SAA（mean ± S.E.）

*p<0.05，**p<0.01，（t-test）

も、試験前のSAAと入浴時体温の変化量との間に有意な負の相関を認め（r=-0.263, p<0.05, n=58）、入浴前のSAAが低いと入浴による体温の上昇が高い結果であった。

入浴における体温の変化量と試験前後のSAA変化量とを比較した。低値群のSAAの変化は22.00 ± 9.64 kIU/L（S.E.）、中央群で-8.56 ± 5.86 kIU/L（S.E.）、高値群で8.04± 4.46 kIU/L（S.E.）であった。試験前後のSAAの変化は、中央群で低下したが低値群および高値群で上昇し、中央群と比較してそれぞれ有意な差を認めた（p<0.05、t-test）（図3）。

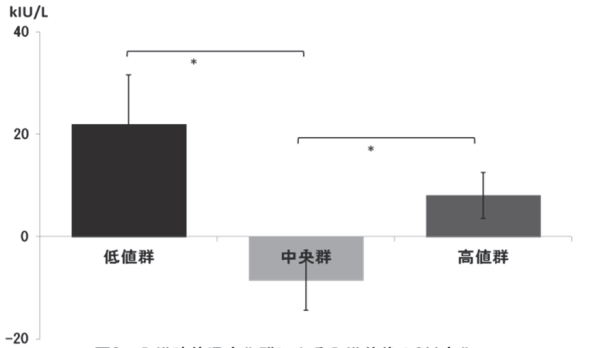


図3：入浴時体温変化群による入浴前後のSAA変化
（mean ± S.E.）
*p<0.05,　（t-test）

2．入浴における体温の変化量と主観評価

試験終了時に温熱感・元気感・リラックス感・リフレッシュ感・疲労感・息苦しさ感・発汗の程度の7項目において、「感じた」から「感じない」の4件法にて主観評価を行った。体温上昇別の低値群、中央群、高値群で比較した結果、体温が1.14℃上昇した中央群は、0.78℃上昇した低値群と比較し有意にリラックス感を感じた（p<0.05、t-test）。また、1.62℃上昇した高値群では、低値群と比較し有意に息苦しさを感じた（p<0.05、t-test）（図4）。

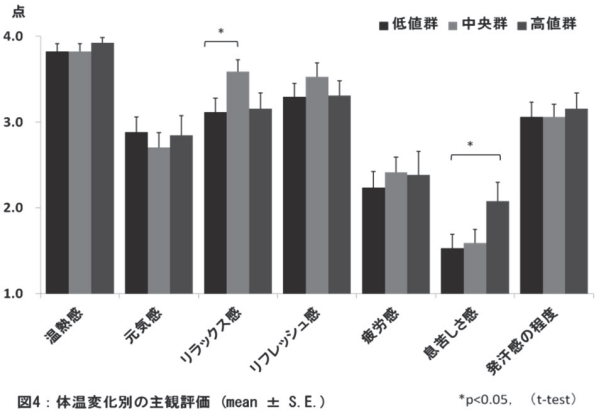


図4：体温変化別の主観評価（mean ± S.E.）
*p<0.05,　（t-test）

3．入浴における体温の変化量に影響を及ぼす因子

被験者の年齢、体脂肪率、性別について、入浴時の体温上昇との関係について解析した。

(1) 年齢と入浴における体温の変化量

被験者の年齢と入浴時の体温の変化量についてpearsonの相関係数を解析した結果、年齢と入浴5分、10分、15分の体温変化の間に有意な負の相関を認めた（p<0.01）（表2）。

また、健康日本21の分類を参考に、20から44歳を青・壮年期（n=18）、45から64歳を中年期（n=30）、65歳以上を高年期（n=10）に分けて各年代における体温の変化量を比較した。その結果、入浴15分後の体温の変化量は、青・壮年期で1.41 ± 0.08℃（S.E.）、中年期で1.11± 0.05℃（S.E.）、高年期で0.88 ± 0.08℃（S.E.）の上昇を認めた。入浴15分後の体温の変化量において、青・壮年期と中年期および高年期の間に有意な差を認めた（p<0.05、p<0.01、ANOVA）（図5）。

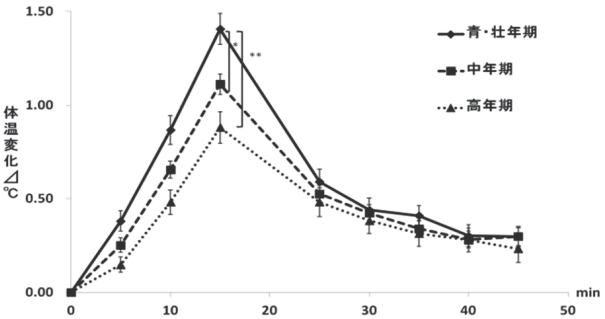


図5：年代別の入浴時体温変化 (mean ± S.E.)

0-15min：青・壮年期VS 中年期 *p<0.05，　青・壮年期 VS 高年期 **p<0.01　（ANOVA）
0-45min：青・壮年期VS 中年期　N.S.　　青・壮年期 VS 高年期 N.S　　（ANOVA）

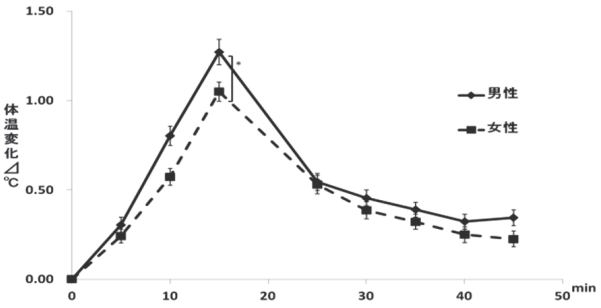


図6：性別の入浴時体温変化(mean ± S.E.)

0-15min：男性 VS 女性 *p<0.05　（ANOVA）
0-45min：男性 VS 女性　N.S　　（ANOVA）

(2) 体脂肪率と入浴における体温の変化量

被験者の体脂肪率と入浴における体温の変化量についてpearsonの相関係数を解析した結果、体脂肪率と入浴5分、10分、15分の体温の変化量との間に有意な負の相関を認めた（表2）。

表2：年齢および体脂肪率と入浴時体温変化の相関

		入浴5分後	入浴10分後	入浴15分後
年　齢	Pearson 相関係数	−0.413	−0.458	−0.505
	有意水準	p<0.01	p<0.01	p<0.01
	度数	58	58	58
体脂肪率	Pearson 相関係数	−0.303	−0.467	−0.431
	有意水準	p<0.05	p<0.01	p<0.01
	度数	58	58	58

(3) 性別と入浴における体温の変化量

入浴における体温の変化量を性別で比較した。その結果、入浴15分後の体温の変化量は、男性（n=30）で1.27 ± 0.07℃（S.E.）、女性（n=28）で1.05 ± 0.05℃（S.E.）であり有意に男性が高かった（p<0.05、ANOVA）（図6）。

(4) 事前調査結果と入浴時の体温の変化量

試験前に実施した被験者の気分プロフィール検査、睡眠健康調査票および自己診断疲労度テストと入浴における体温の変化量の関係についてpearsonの相関係数を解析した。その結果、気分プロフィール検査において、活気および友好と正の相関を認め、活気ある者ほど体温上昇が高かった。睡眠健康調査票は、SHRI総得点と負の相関を認め、睡眠状態が良好な者ほど体温上昇が高かった。自己診断疲労度テストは、疲労度との負の相関を認め、疲労のない者ほど体温上昇が高かった（表3）。

表3：POMS、SHRI、疲労度と入浴時体温変化の相関

		入浴5分後	入浴10分後	入浴15分後
気分プロフィール検査 POMS-2：活気	Pearson 相関係数	0.293	0.276	0.16
	有意水準	p<0.05	p<0.05	N.S
	度数	58	58	58
気分プロフィール検査 POMS-2：友好	Pearson 相関係数	0.387	0.378	0.265
	有意水準	p<0.01	p<0.01	p<0.05
	度数	58	58	58
睡眠健康調査票 SHRI：総得点	pearson 相関係数	−0.299	−0.246	−0.323
	有意水準	p<0.05	p<0.1	p<0.05
	度数	58	58	58
自己診断疲労度テスト 総　計	Pearson 相関係数	−0.228	−0.268	−0.254
	有意水準	p<0.1	p<0.05	p<0.1
	度数	58	58	58

４．年代・性別による入浴時間の推定

入浴前後でSAAが低下した中央群の体温の変化量から、1.14℃上昇するまでの入浴時間を、年代別・性別に推定した。入浴時間の推定には、入浴5分から15分までの時間と体温の変化量から導いた回帰直線式から求めた。年代別のリラックスすることに必要な入浴時間を図7のグラフから求め、青・壮年期で12.49分、中年期で15.42分、高年期で18.70分であった。性別についても同様な方法で回帰直線式を求め、体温が1.14℃上昇する時間を男性で13.60分、女性で16.41分を算出した（図8）。

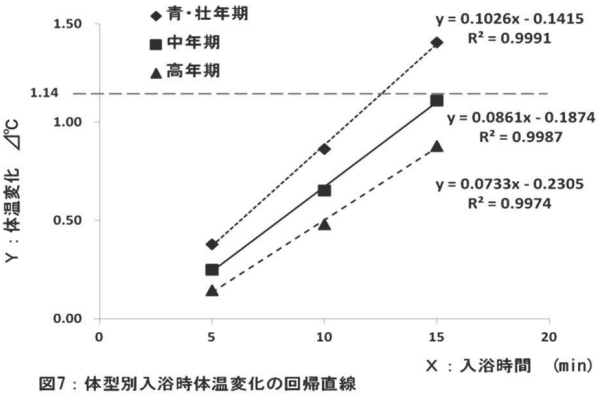


図7：体型別入浴時体温変化の回帰直線

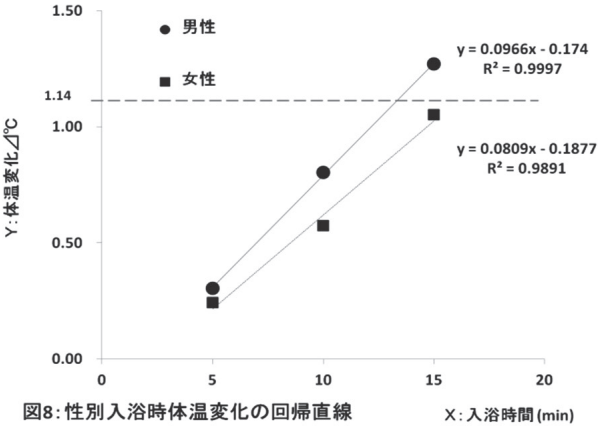


図8:性別入浴時体温変化の回帰直線

Ⅳ．考察

SAAは、交感神経活動由来のストレス評価の指標となることが報告されている[10]。入浴前のSAAが低いと入浴における体温の変化量が大きいことは、リラックスした状態で入浴することで、血管拡張等が関与して体温の上昇が速かったと考えられる。また、試験前の気分状態において、活気や友好が高く、睡眠状態が良好で、疲労度合いが低い者ほど入浴時の体温上昇が高いことを認めた。つまり、入浴前において心身の健康状態が良くリラックスしている者ほど入浴による体温上昇が高いと言える。しかし、体温上昇とともに血行動態の変化に惹起され血液粘度が高まることの報告がある[11]。また、主観評価において、体温が1.62℃上昇した高値群では0.78℃上昇の低値群と比較し有意に息苦しさ感じており、体温が高ければ良いとは言えない。そこで、体温変化の度合いを低値群、中央群、高値群の3群に分けて解析し、SAAの試験前後の差と体温の変化量との関係を解析した。SAAは、体温が1.14℃上昇した中央群において試験前より後において低下し、有意なストレスの減少を認めた。また、主観評価においても、中央群は低値群と比較し有意にリラックスすることを感じていた。このことより、ストレス解消に適した入浴における体温の変化量は、1.14℃の上昇が適していると考えられる。尚、各群の平均年齢は、低値群は高値群よりも有意に高く、高年期者の多くが低値群に存在した。しかし、中央群と他群との間に有意な差を認めなかったこと、年齢および性別とSAAの試験前後の差の間に有意な相関を認めなかったことより、リラックスするための体温の変化に年齢および性別の影響はないと考えられる。そこで、体温の変化量に影響を及ぼす因子毎に検討した。

入浴における体温の変化量に影響を及ぼす因子は、年代および性別であった。年齢においては、体温上昇との間に負の相関があり、加齢により体温が上昇し難くいことが認められた。性別では男性が女性より上昇し易いことが認

められた。そこで、体温が1.14℃上昇するに必要とする時間を、影響を及ぼす因子毎に推定した。入浴における体温の変化量は、時間に依存して大きかったが、入浴直後は、皮膚血流以外の全身血行動態の変化より[12]、体温上昇度合いが小さかった。そのため、入浴5分から15分の時間に対する体温の変化量から回帰直線式を求め1.14℃上昇するまでの時間を算出した。その結果、年代別では44歳以下である青・壮年期者で12.49分であるのに対し、65歳以上の高年期者は18.70分要することが推測された。これは、加齢に伴う脂肪量の増加や筋量の減少が蓄熱性の低下を引き起こすこと、加齢による循環血液量減少が血液対流による核心温上昇効果を減弱すること[13]が報告されており、加齢による体温調節機能の反応性が低くなったために体温上昇も低下したと考えられる。日常における入浴時の湯温度をアンケートで質問した結果、年齢と入浴温度に有意な正の相関が認められ（$r=0.428$、$p<0.01$、$n=58$）、高齢者は熱めの温度の湯で入浴している実態も明らかとなった。高齢者の入浴時の湯温度が高いことは、皮膚からの体温調節中枢への刺激伝達機能低下による温度感覚の鈍化によるものと考えられる。また、体温上昇速度が遅いために、高い温度の湯に入浴していると考えられる。しかし、入浴温度が高いことは、身体の消費エネルギーが大きく疲労を招くことに繋がる[14]。

淺川らは、高齢者における入浴時の心・血管反応について検討し、入浴時の注意を促しているが[15]、本結果による高齢者の体温上昇の鈍化は、入浴時間が長くなることが懸念される。高温や長時間の入浴は、身体への負荷が大きくなるために、注意喚起を行う必要があり、負荷を抑えながら体温を上げることを提案することが望まれる。負荷を軽減出来る入浴法としては、毎日の入浴を繰り返すことで入浴時の体温が高まり易くなること[16]や入浴中の加温法[17]が報告されている。また、入浴剤使用による方法もある[18,19]。

また、性別による体温が1.14℃上昇するまでに必要とする時間は、男性が13.60分に対し女性が16.41分であった。男性の平均体脂肪率は19.97 ± 0.84%（S.E.）であり、女性は25.77 ± 1.07%（S.E.）と有意に女性で高く、体脂肪率と体温上昇が負の相関を示したことより、性別の違いは体脂肪率が関係していると考えられる。

入浴でリラックス感を得るための湯温度や時間の入浴条件を把握しておくは、入浴によるリラックスする効果を実感するために必要なことである。本研究では、日本人の一般的な入浴温度である40℃の条件下における入浴時間を推定することができた。年代および性別による最適な入浴条件を示すことで、有意義かつ安全な入浴を行うことができると考える。

Ⅴ．結論

入浴への期待はリラックスすることが最も高い。しかし、そのための最適な入浴条件を示す情報は少なく、さらに個人により差があるということは知られていない。本研究結果から、体温が約1.1℃上昇することがリラックスするに適した入浴法であることを見出した。さらに、入浴時の体温上昇は年代別、性別に異なることから、40℃の湯に入浴した際にリラックスすることができる入浴時間について推測することができた。しかし、長すぎる入浴時間は、身体への影響も否定できず、体温が約1.6℃上昇で息苦しさを感じる。特に高齢者は、感覚の鈍化により入浴時の湯温度が高く入浴時間も長くなる傾向にある。これらのことを事前に把握し、身体への負荷の少ない効率よい体温を上昇させる入浴法の提案をすることで、高齢者の入浴事故を防げることが可能である。リラックスすることはストレス解消の同義語として捉えられており、本研究結果で得た入浴法は、ストレス解消

入浴法といえる。ストレス社会と言われる現代において、毎日の入浴によって効果的なストレス解消を行うことができる情報は、人々にとって有意義である。しかし、体調に注意しながら入浴することは必要である。

引用文献

1) 風呂文化研究会. 風呂文化研究会が考えるニッポンのお風呂. 2017. www.toshiken.com/bath/japanesebath/pdf/vol4.pdf (2017年8月29日アクセス可能)
2) 渡邊智, 石澤太市, 谷野伸吾. 入浴, 香りが自律神経系に及ぼす影響. AROMA RESEARCH 2010；11(4)：52-57.
3) 光延文裕, 谷崎勝朗. 温泉入浴と自律神経機能. 谷崎勝朗, 他編. 新温泉医学. 東京：日本温泉気候物理医学会. 2004：p 212-218.
4) 渡邊智, 石澤太市, 谷野伸吾. 入浴, 香りが生体に及ぼす影響－脳波での検討－. AROMA RESEARCH 2012；13(4)：68-73.
5) 綱川光男. ラベンダーの浴剤への応用と効果. Aromatopia 1993；Winter：549-551.
6) 鈴木直幸, 太刀川雅美, 石澤太市, 他. 浴用剤によるリラックス評価研究. 日本感性工学会第3回春季大会予稿集　2007；B32.
7) 美和千尋, 岩瀬敏, 小出陽子, 他. 40℃入浴20分間によるヒトの生理的変化と心理的変化の関係. 総合リハ 1997；25(8)：737-742.
8) 入来正躬. 老人の体温調節. 臨床生理 1977；7(5)：388-395.
9) 石澤太市. 入浴法および入浴習慣が心身に及ぼす影響に関する研究. 博士論文. 石川：金沢大学学術リポジトリ. 2014.
10) 山口昌樹, 吉田博. 唾液アミラーゼ活性による交感神経モニタの実用化. CHEMICAL SENSORS 2005；21(3)：92-98.
11) 小原翔太, 内山三郎. 温泉入浴における唾液アミラーゼ活性の応答および喫煙の影響の予備的調査. 岩手大学教育学部研究年報 2013；72：11-17.
12) 永坂鉄夫. 皮膚血管反応. 中山昭雄編. 温熱生理学. 東京. 理工学社. 1981；122-134.
13) 美和千尋, 杉村公也, 川村陽一, 他. 40℃入浴時の循環動態と体温調節機能の変化における加齢の影響. 日温気物医誌 2002；65(4)：187-193.
14) 大塚吉則, 中谷純. 温泉入浴と糖、脂質、尿酸代謝. 谷崎勝朗, 他編. 新温泉医学. 東京：日本温泉気候物理医学会. 2004：p 189-193.
15) 淺川康吉, 高橋龍太郎, 遠藤文雄. 高齢者における浴槽入浴中の心・血管反応. 理学療法科学　2006；21(4)：433-436.
16) 伊藤要子, 石澤太市, 綱川光男. シャワー浴、全身浴の継続がその後の温熱刺激に与える影響. 日本ハイパーサーミア学会第30回大会要旨集　2013：p 120.
17) 美和千尋, 長江悦史, 鈴木彰. 加温入浴における循環動態と体温の変化. Proceedings of the 39 Symposium on Human-Environment System 2015；1-4.
18) Satoshi WATANABE, Nobuyuki IMANISHI, Taichi ISHIZAWA, et al. The Effects of Bathing with Inorganic Salts and Carbon Dioxide on Body Temperature, Systemic Circulation, and Food Ingestion and Absorption. J Jpn Soc Balneol Climatol Phys Med 2006; 69:167-178.
19) 下堂薗恵, 二宮宏ニ, 松元秀次, 他. 無機塩含有人工炭酸ガス泉入浴が身体の柔軟性と筋硬度、自覚症に及ぼす影響について. 日温気物医誌 2011；74(4)：227-238.

Raising body temperature by 1.1 °C during bathing decreases stress

Ishizawa Taichi[1)], Itoh Youko[2)], Torii Kazuki[1)], Tsunakawa Mitsuo[1)], Yano Shingo[1)]

1) Products Development Department, Bathclin Corporation
2) HSP Project Laboratory Association

Abstract

[Background]

Taking a hot bath with a bath additive is known to be relaxing. However, differences in body temperature change between young adults and the elderly and details of their bathing methods are not known. Therefore, we investigated their method of bathing for relaxation.

[Methods]

Participants were 30 men and 28 women aged 20 to 69 years. They took a full bath in 40°C water for 15 min and rested for 30 min afterward. Sublingual temperature was measured every 5 min from the start to the end of bathing. Salivary amylase activity and subjective relaxation were measured before and after bathing.

[Results]

The participants were divided into three groups by body temperature change after bathing for 15 min: low, moderate, and high. Saliva amylase activity decreased in only the moderate-change group after bathing, and subjective relaxation was higher in the moderate-change group than in the other groups. Body temperature change due to bathing was negatively correlated with age and body fat percentage. The increase in body temperature was higher in men than in women.

[Discussion]

Raising body temperature by about 1.1 °C during bathing was a relaxing bathing method. Changes in body temperature during bathing were affected by age, body shape, and sex, and so the time needed for a relaxing bath with a 1.1 °C body temperature increase was estimated based on these factors. Understanding the appropriate bathing time for relaxation can contribute to the safety of bathing by preventing heat-related illness.

Key words: Bathing, Body temperature, Relax, Stress reduction, Saliva amylase activity

助　成　研　究

助成研究

酸化ストレスを制御する泉質の探索

Search for spring quality regulating oxidative stress

坂井隆浩（さかいたかひろ）[1)]

1) 高崎健康福祉大学 薬学部 薬学科 細胞生理化学研究室

（連絡先）
〒370-0036　群馬県高崎市中大類町60

Key words: 酸化ストレス　活性酸素種　泉質　温泉療法

抄録

背景・目的　温泉療法は、酸化ストレスに関連する疾患の症状を改善する効果がある。そのため、温泉には酸化ストレスを制御する作用があることが推測される。このことから、本研究では、*in vivo*において酸化ストレスを定量化できる実験方法により、10種類の泉質が酸化ストレスに与える影響を検討した。

方法　10種類の泉質に、酸化ストレスを誘導したマウスを25℃および41℃の温度条件で10分間入浴した。これを24時間間隔で合計3回行った後、*in vivo*イメージングにより酸化ストレスを検出し、温熱と泉質が酸化ストレスに与える影響を評価した。

結果　温熱によって誘導されたHSP72は、酸化ストレス抑制効果がある可能性に加え、硫黄泉（硫化水素型）は酸化ストレス抑制効果、単純放射能泉は酸化ストレス誘導効果があることが示唆された。

考察　硫黄泉（硫化水素型）の酸化ストレス抑制効果は、硫化水素とHSP72を介する抗酸化酵素の相互作用によることが推測される。その一方で、単純放射能泉の酸化ストレス誘導効果は、ラドンがROSを生成することに起因すると考える。

Ⅰ. 背景・目的

活性酸素種（ROS）は、ミトコンドリアの電子伝達系、NADPHオキシダーゼ等の生体内ROS産生系や、タバコや紫外線等の環境因子から生成される[1)]。生体内のROSは、スーパーオキシドジスムターゼ、ペルオキシダーゼ、カタラーゼ等の抗酸化酵素、ビタミンCやアセチルシステイン等の抗酸化物質による還元反応によって、速やかに消去される[2, 3)]。我々の生体内では、ROSの生成と消去のバランスが保たれることによって、ROSによる酸化損傷が抑制されている。酸化ストレスとは、このROSの生成と消去のバランスが崩れ、生成に傾くことで、抗酸化酵素や抗酸化物質に消去されなかったROSが、細胞を構成するDNA、脂質、タンパク質を酸化損傷することにより、細胞は機能障害

を引き起こす[4]。このことから酸化ストレスは、生活習慣病、神経変性疾患、がん等の多くの疾患の発症や悪化に関与するだけでなく、老化にも多大な影響を与えることが知られている[5-7]。

温泉療法は、酸化ストレスが関与する疾患である糖尿病、高血圧症、動脈硬化等の疾患において、症状の改善に効果があることが知られている[8-10]。そのため、温泉療法は、酸化ストレスを制御する作用があることが推測される。しかしながら、温泉療法に用いられる泉質は、含有物質の違いにより複数の種類があることに加え、疾患に対する泉質の効果は、未だに不明瞭な点が多い。そこで本研究では、酸化ストレス可視化マウス（OKD48-Tgマウス）を利用し、10種類の泉質が酸化ストレスに与える影響を検討した。

Ⅱ．方法

本研究では、表1に示した10種類の泉質が酸化ストレスに与える影響を評価するために、まず初めに、OKD48-Tgマウスに、ROS誘導剤であるArsenite（ASN）（10mg/kg）を腹腔内に投与することによって酸化ストレスを誘導した。次に、ASNを投与してから3時間後に、イソフルランによる麻酔導入を行い、25℃または41℃の温度条件で10分間、各泉質に入浴させた。その後、同様の条件で、24時間および48時間に入浴を行い、50時間目にD-Luciferin（0.15g/kg）を腹腔内投与し、IVIS Lumina Ⅱを用いた*in vivo*イメージングにより、酸化ストレスを可視化および定量化した。さらに、顎骨後部の静脈から採血を行い、血清ライセートを作製した後、これを試料とし、抗HSP72抗体を用いたWestern Blotting法により血清中のHSP72を検出した。

表1. 本研究に用いた泉質

掲示用新泉質名	新泉質名
単純温泉	単純温泉
塩化物泉	ナトリウム－塩化物泉
炭酸水素塩泉	ナトリウム－炭酸水素塩泉
硫酸塩泉	硫酸塩泉
二酸化炭素泉	単純二酸化炭素泉
含鉄泉	鉄泉
酸性泉	単純酸性泉
硫黄泉	硫黄泉
硫黄泉	硫黄泉（硫化水素型）
放射能泉	単純放射能泉

Ⅲ．結果

1．HSP72の酸化ストレス抑制効果

Heat shock protein（HSP）72は温熱によって誘導され、抗酸化酵素を増加させる[11]。このことから、泉質が酸化ストレスに与える影響を調べる前に、温熱によって誘導されるHSP72が、酸化ストレスに与える影響を検討した。酸化ストレスを誘導したマウスを25℃および41℃の蒸留水に入浴させ、HSP72の発現と酸化ストレスの抑制効果を検討した結果、41℃の入浴は、25℃の入浴よりも酸化ストレスを抑制した（図2a）。これに加え、41℃の入浴ではHSP72の発現が亢進した（図2b）。これらのことから、41℃の入浴によって誘導されるHSP72は、酸化ストレスを抑制する可能性があることが示唆された。

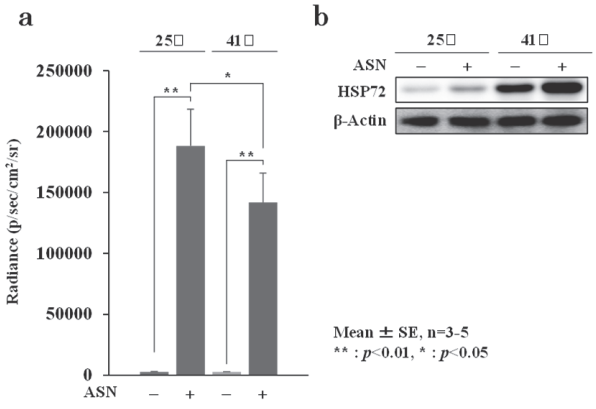


図2. 温熱による酸化ストレス抑制効果(a)とHSP72の発現(b)

2．酸化ストレスを抑制する泉質

図2から、HSP72が誘導されない25℃の温度条件において、表1に示した泉質が酸化ストレスに与える影響を調べた。その結果、全ての泉質は酸化ストレスに影響を与えなかった（図3a）。その一方で、HSP72が誘導される41℃の温度条件では、硫黄泉（硫化水素型）が酸化ストレスを抑制した（図3b）。これらのことから、硫黄泉（硫化水素型）は、25℃の入浴においては酸化ストレスを抑制しないが、41℃の入浴においては酸化ストレスを抑制する効果があることが示唆された。

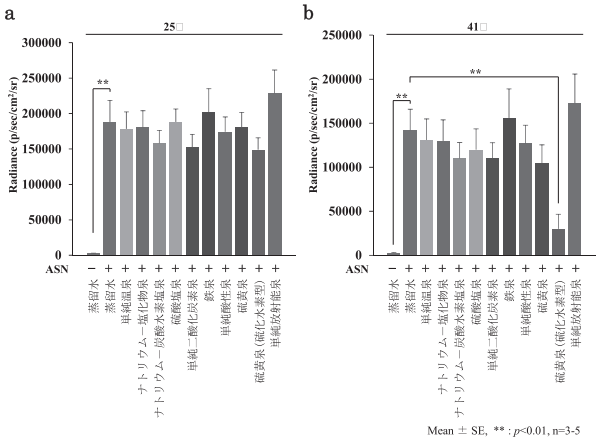


図3. 泉質が酸化ストレスに与える影響。(a) 25℃および(b) 41℃の入浴。

3．酸化ストレスを誘導する泉質

図3a、bに示した結果から、鉄泉と単純放射能泉は、25℃および41℃の入浴において、酸化ストレスを亢進させる傾向があった。このことから、酸化ストレスを誘導しないOKD48-Tgマウスを25℃および41℃の鉄泉と単純放射能泉に入浴させ、これらの酸化ストレス誘導効果を検討した。その結果、25℃および41℃の入浴では、鉄泉は酸化ストレスを誘導しなかったが、単純放射能泉はどちらの入浴温度においても酸化ストレスを誘導した（図4）。さらに、単純放射能泉の酸化ストレス誘導効果は、25℃の入浴よりも、41℃の入浴において低下した。このことから、単純放射能泉は、酸化ストレスを誘導する作用があることが明らかになった。また、41℃の温度条件の入浴は、単純放射能泉によって誘導された酸化ストレスを低下する作用が示唆された（図4）。

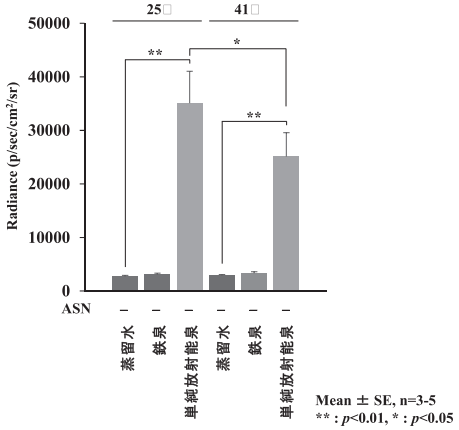


図4. 酸化ストレスを誘導する泉質

Ⅳ．考察

本研究では、*in vivo*において、酸化ストレスを定量化できる実験方法を利用し、10種類の泉質が酸化ストレスに与える影響を検討した。その結果、硫黄泉（硫化水素型）は、酸化ストレスを抑制する効果がある一方で、単純放射能泉には、酸化ストレスを誘導する効果があることが示唆された。

硫黄泉（硫化水素型）で認められた酸化ストレス抑制効果は、硫黄泉（硫化水素型）の含有物質である硫化水素のROS還元作用が影響すると考える。しかしながら、硫黄泉（硫化水素型）は、41℃の入浴において、酸化ストレスを抑制したが、25℃の入浴では酸化ストレスを抑制しなかった。これに加え、硫化水素のROSに対する還元力は、弱いことが知られている。このことから、硫黄泉（硫化水素型）の酸化ストレス抑制効果は、硫化水素の還元作用だけでな

く、温熱刺激によって誘導されるHSP72を介した抗酸化酵素との相互作用によって生じる可能性が高いことが推測される。

その一方で、単純放射能泉の酸化ストレス誘導効果は、単純放射能泉に含有しているラドン等の放射線同位体が放射能を放出し、これが細胞内の水分子を励起してROSを発生させることに起因すると思われる。また、単純放射能泉の41℃の入浴は、25℃で見られた酸化ストレスの誘導を低下させた。これは、HSP72の発現を介する生体内抗酸化酵素の増加によって、単純放射能泉に誘導された酸化ストレスが抑制されたと考える。

本研究では、これまで不明瞭であった酸化ストレスに影響を与える泉質を明らかにした。しかしながら、本研究の結果は、1つの実験条件に基づいた知見である。このことから、酸化ストレスに影響を与える正確な泉質の情報を得るには、異なる実験条件や方法によって、さらなる詳細な検討を行わなければならない。そのため、本研究の知見だけでは、酸化ストレスに影響を与える泉質を断定することは不可能である。これらのことから、本研究で得られた知見が、誤った解釈に発展することや誤解を生じる可能性があることを考慮し、本研究に用いた泉質の採取地等の記載は控えさせていただいた。

また、今後、酸化ストレスが関与する種々の疾患のモデル動物を用いたアプローチにより、それぞれの泉質が疾患に与える影響を解明し、これらが新たな知見に発展することを期待している。

Ⅴ．結論

*In vivo*において酸化ストレスを定量化し、温熱と10種類の泉質が酸化ストレスに与える影響を検討した。その結果、温熱によって誘導されたHSP72には、酸化ストレス抑制効果がある可能性に加え、硫黄泉（硫化水素型）には、酸化ストレス抑制効果、単純放射能泉には酸化ストレス誘導効果があることが示唆された。

文献

1) Michael Schieber, Navdeep S. Chandel. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. Curr Biol 2014; 24: 453-462.
2) Li Y, Schellhorn HE. New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. J Nutr 2007; 37: 2171-2184.
3) Curtin JF, Donovan M, Cotter TG. Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. J. Immunol. Methods. 2002; 265: 49-72.
4) Betteridge DJ. What is oxidative stress?. Metabolism 2000: 49: 3-8.
5) Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. Curr Neuropharmacol. 2009; 7: 65-74.
6) Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact. 2006; 160: 1-40.
7) Romano AD, Serviddio G, de Matthaeis A, et al. Oxidative stress and aging. J Nephrol. 2010; 23: 29-36.
8) Aydemir K, Tok F, Peker F, Safaz I, Taskaynatan MA, Ozgul A. The effects of balneotherapy on disease activity, functional status, pulmonary function and quality of life in patients with ankylosing spondylitis. Acta Reumatol Port. 2010; 35: 441-6.

9) Sukenik S, Abu-Shakra M, Flusser D. Balneotherapy in autoimmune disease. Isr J Med Sci. 1997; 33: 258-61.
10) Nasermoaddeli A, Kagamimori S. Balneotherapy in medicine: A review. Environ Health Prev Med. 2005; 10: 171-9.
11) Henstridge DC, Bruce CR, Drew BG, et al. Activating HSP72 in rodent skeletal muscle increases mitochondrial number and oxidative capacity and decreases insulin resistance. Diabetes. 2014; 63: 1881-94.

Research for effects of spring quality upon oxidative stress

Takahiro Sakai

Faculty of Pharmacy, Takasaki University of Health and Welfare

Abstract

[Background]

Since balneotherapy are available for ameliorating symptoms of oxidative stress related diseases, hot springs have some effects for reduction of oxidative stress. In this study, we examined the effect of 10 types of spring quality upon oxidative stress by estimating the intensities of oxidative stress *in vivo*.

[Methods]

Oxidative stress-induced mice were bathed in ten kinds of hot spring quality at 25 ° C and 41 ° C for 10 minutes. After three times of bathing with 24 h intervals, effects of spring quality were estimated by the intensity of oxidative stress of each mouse, which were determined by *in vivo* imaging system.

[Results]

We found induction of HSP72 by hot spring waters, which might be responsible for suppression of oxidative stress. In addition, we identified that sulfur containing spring (hydrogen sulfide type) showed reduced oxidative stresses. On the contrary simple radioactive spring showed increased oxidative stresses.

[Conclusion]

Our results strongly suggest that the oxidative stress control effect of sulfur spring (hydrogen sulfide type) is caused by the interaction between hydrogen sulfide and HSP 72-induced antioxidant enzyme. In contrast, simple radioactive fountain can cause oxidative stress by radon-induced ROS.

助成研究

海藻風呂に関する研究－カジメ類の抗酸化性－

Study of marine algae bath － Antioxidant properties of kajime bath

久田（くだ） 孝（たかし）

1) 東京海洋大学学術研究院食品生産科学部門

（連絡先）
〒108-8477 東京都港区港南4-5-7　東京海洋大学学術研究院食品生産科学部門　久田 孝

Key words: 海藻風呂、カジメ類、アラメ、抗酸化性

抄録

背景・目的　日本国内の沿岸地域で、海藻風呂、特にカジメ風呂が伝統的に利用されてきた。カジメ類はミネラル、海藻ポリフェノール含量が高く、機能性食品の素材として非常に有望である。これらの機能性成分は海藻風呂でも有効と考えられるが、まだ詳細な検討はされていない。そこで本研究では、これらの機能性成分について、海藻風呂濃度での生理活性を明らかにすることを目的とした。

方法　文献やウェブ情報より全国で海藻風呂を提供している機関、使用法、現地の様子を調査した。乾燥アラメ*Eisenia bycyclis*の熱水抽出液について、海藻風呂濃度における表皮菌数、肌水分に及ぼす影響、また抗酸化特性を検討した。

結果　千葉県、茨城県、三重県、石川県などでカジメ風呂が提供されており、太平洋側ではアラメが多く使用されている。アラメ風呂の濃度において、粘度、抗菌性、肌水分に及ぼす影響は顕著ではなかったが、抗酸化性、特にスーパーオキシドアニオン(O_2^-)ラジカル消去能は顕著であった。

考察　O_2^-ラジカルは生体内で最初に発生する活性酸素で、その抑制が活性酸素による様々な損傷から細胞を保護すると考えられている。今回示されたカジメ風呂濃度でも十分にその機能が期待できることから、今後、表皮におけるO_2^-ラジカル消去能が実際の肌および身体全体の健康に及ぼす影響について検討する必要がある。

Ⅰ．背景・目的

能登半島や房総半島をはじめ、全国の沿岸地域で、海藻風呂、特に浜に漂着したカジメ類（カジメ、ツルアラメ、アラメ、クロメ）の葉状部を風呂に入れ利用することが、伝承されている。カジメ風呂の効果として特に保湿性があげられるが、その有効成分は褐藻類の水溶性多糖類：主に増粘剤としても利用されるアルギン酸が考えられる[1,2]。

カジメ類は、ミネラルや海藻ポリフェノール

表１房総半島海藻乾物製品熱水抽出液*のミネラル含量、炭水化物含量、および相対粘度

	陽イオン（mmol/L）						陰イオン（mmol/L）			炭水化物	多糖類**	相対
	Na	K	NH_4	Ca	Mg	K/Na	Cl	PO_4	SO_4	mg/mL		粘度***
アラメ（１）	**17.1**	**26.6**	**1.96**	**14.7**	**26.2**	**1.56**	**0.52**	**0.08**	**11.9**	**0.6**	**0.5**	**2.4**
アラメ（２）	39.4	26.5	1.53	14	24.5	0.67	1.62	0.12	-	0.2	0.1	1.3
ヒジキ	25.7	110.8	0.28	20	23.7	4.31	4.06	0.06	0.8	0.5	0.4	1.8
アマノリ類	8.6	2.3	2.39	7.7	20.5	0.27	-	0.36	-	0.6	0.5	2.4
フクロフノリ（１）	18.8	-	0.25	10.9	22.0	-	0.84	0.07	-	2.2	1.5	50.1
フクロフノリ（２）	15.4	1.6	0.02	19.1	24.9	0.1	0.18	0.04	54.0	2.4	2.1	70.4
ツノマタ	46.2	2.0	1.69	13.2	6.54	0.04	4.24	0.05	1.7	2.4	2.3	78.8
コトジツノマタ	32.5	11.5	1.71	10.8	5.21	0.35	2.97	0.06	-	1.2	1.0	341
テングサ	6.8	-	0.46	7.8	26.4	-	0.01	0.05	1.3	0.8	0.3	2.8
ヒトエグサ	30.8	0.1	0.08	19.4	26.5	-	1.35	0.04	1.0	2.7	1.0	5.5
オアサ	27.4	0.8	1.51	42.2	29.8	0.03	0.45	0.08	63.8	0.4	0.4	1.5

*乾燥粉末に200mLの蒸留水を加え105℃、15min加熱抽出した液。** 70%エタノールで沈殿する炭水化物
*** 0℃で水の粘度を１とした。値は2回測定した平均値。

（抗酸化性、抗菌性を示す）を多く含み、機能性食品の素材として非常に有望である[3)]。特に抗酸化性は様々な活性酸素による疾病や老化現象の抑制にかかわり、また抗糖化性との相関性[4,5)]からの皮膚の美容・健康の面からも開発が期待される。

これらの機能性成分は海藻風呂においても有効と考えられるが、実際の海藻風呂の濃度で機能性・活性が示されるのかは、まだ不明な点が多い。そこで本研究では、海藻風呂の効能の新たな生理活性および作用機序の開明と、効能の指標を構築するために、代表的な海藻カジメ風呂の材料であるアラメの熱水抽出液について、海藻風呂濃度における皮膚常在菌に対する抗菌性、肌水分に及ぼす影響、また抗酸化特性について検討した。

II．方法

１．海藻風呂の状況

国内で海藻風呂を提供している宿泊施設や公衆浴場等の施設を文献およびインターネット上で検索し、代表的な２種の海藻風呂において採水を行った。

２．海藻乾燥製品のミネラルおよび水溶性多糖類

房総半島で加工販売されている素干し海藻８種10製品（表１）について、粉砕後、40倍量の蒸留水を加え105℃、15分抽出した。抽出液中の主要陽イオン（Na, K, NH4, Ca, Mg）および陰イオン（Cl, PO_4, SO_4）を水質測定試薬（共立理化学研究所）およびNa電極（HORIBA）を用いて測定した。抽出液の全糖量と多糖類含量をフェノール硫酸法とエタノール沈殿法を用いて測定した。また抽出液の粘度を振動式粘度計（Viscomate-VM-1G、山一電機）用いて測定し、水の粘度を１とした場合の相対粘度を求めた。

３．アラメ抽出液の皮膚常在菌に対する抗菌性

銚子海岸に打ち上げられたアラメ*Eisenia bycyclis*を天日乾燥後、葉部と茎部に分け粉砕

した。抗菌性試験を行うため、粉末に4倍量のエタノールを加え4時間室温振とうした抽出液をとり、これを10%加えた普通寒天培地およびGPY（グルコース1%、ペプトン1%、酵母エキス0.5%）寒天培地を調製した。表2に示す皮膚常在細菌3種6株および酵母2種を普通ブイヨンおよびGPYブロスで37℃で24時間前培養し、その0.01mLを各平板培地に滴下した。37℃で24、あるいは48時間培養しコロニー形成を観察した。

4．アラメ風呂の手部皮膚生菌数に対する影響

蒸留水20Lを40℃に保持し、30cm程度に切り分けた乾燥アラメ200g（1%）をときどき攪拌しながら1時間浸漬したものをアラメ風呂のモデルとした。フードスタンプ（ニッスイ）：SMA（一般細菌用）、TGSE（黄色ブドウ球菌用）およびPDA（真菌用）を被験者の手部表皮（n = 12）に3秒あて菌を採取後、40℃のお湯あるいはアラメ風呂（n = 6）に10分間浸漬した。浸漬後水道水で10秒間流した後、風乾し、1時間後に再度フードスタンプで菌を採取した。フードスタンプは37℃で24～48時間培養した。

5．アラメ風呂の手部肌水分に対する影響

上記と同様に準備したアラメ風呂モデルで浸漬前、浸漬後10分および60分後の肌水分を電気抵抗式肌チェッカー（KRD1042, ビューティフルエンジェル）で測定した。

6．アラメ熱水抽出液の抗酸化特性

上記2と同様にアラメ熱水抽出液を調製後、蒸留水で適宜希釈し、総フェノール（ポリフェノール）含量、DPPHラジカル消去能、スーパーオキシドアニオン（O_2-）ラジカル消去能（非酵素NBT法）、鉄還元能を測定した[1)]。

表2．アラメエタノール抽出液*の皮膚常在菌に対する抗菌性

菌名	葉	茎
Staphylococcus aureus NBRC 12732	+	-
Staphylococcus aureus NBRC 14606	w	-
Staphylococcus aureus NBRC 3183	w	-
Staphylococcus epidermidis NBRC 100911^T	-	-
Staphylococcus epidermidis NBRC 12993	-	-
Escherichia coli IAM 1264	w	-
Saccharomyces cerevisiae NBRC 10217^T	-	-
Kazachstania unispora NBRC 0316^T	+	-

* 4倍量エタノールを加え4時間振とう抽出
+: 抗菌性あり、w: 抗菌性弱い、-: 抗菌性なし

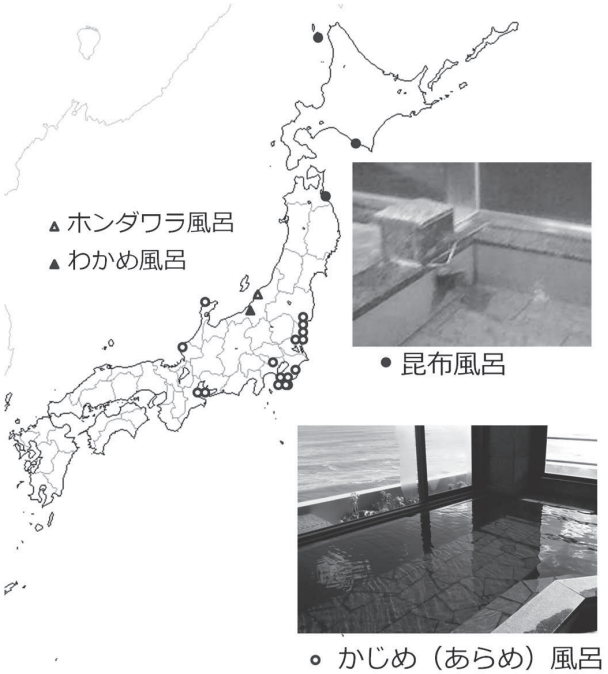


図1　海藻風呂のある地域

Ⅲ．結果および考察

１．海藻風呂の状況

現在千葉県、茨城県沿岸地域で「かじめ風呂」としてアラメの風呂を提供する施設が多く、北海道、青森で昆布風呂がある（図１）。カジメ風呂の場合、天日乾燥した藻体をそのまま使用する施設と、熱水抽出液（煮出し汁）を用いる施設がある。代表的な「かじめ風呂」では、湯舟の水は褐色をおびていたが、「昆布風呂」では目視では違いは見られず、入浴時にかすかに香りがする程度であった。

２．海藻乾燥製品のミネラルおよび水溶性多糖類

表１に海藻熱水抽出液（2.5%乾物当量）の主要ミネラル、全糖、多糖類（水溶性食物繊維）含量および相対粘度を示した。海藻風呂に使用される2年以上のアラメ（１）は、ヒジキについでK含量が高く、Mg、Ca含量も高かった。陰イオンでは硫酸イオンが高く、この組成からアラメ湯はマグネシウム硫酸塩泉（正苦味泉）としての効能が期待できる[6]。

水溶性多糖類による粘性、保湿性は海藻抽出液の特徴であるが、アラメ（１）熱水抽出液の全糖、多糖類含量および粘度はあまり大きくなかった。

３．アラメ抽出液の皮膚常在菌に対する抗菌性

上の結果より、調査対象をアラメとし、以後の試料を調製するため、銚子海岸よりアラメを採取した。この沿岸では時化の翌日には図２Aのように大量のアラメが堆積することがある。放置されるとにおいや景観の劣化のもとになるため、有効利用が望まれている。

表2にアラメエタノール抽出液の抗菌性を示した。今回の実験ではアラメ葉は黄色ブドウ球菌*Staphylococcus aureus* 3株、大腸菌*E. coli*、*Kazachstania unispora*に抗菌性を示した。一方、健常者の皮膚常在菌である*S. epidermidis*



図２　A: 銚子海岸に堆積したカジメ（アラメ）類他の海藻. B: アラメ１個体（全長約 1.5 m）. C-D: 乾燥した葉と茎.

に対する抗菌性は認められなかった。茎部には抗菌性は認められなかった。*S.aureus*は皮膚炎の原因となることはよく知られているが、*S.epidermidis*は皮膚免疫に重要であると考えられており，ヒト皮膚のProbioticsとしての報告もある[7]。

４．アラメ風呂の手部皮膚生菌数に対する影響

乾燥アラメを1%浸漬したお湯に手を10分間浸漬した前後の、皮膚表面の生菌数を図3Aに示した。一般生菌数、黄色ブドウ球菌数ともお湯に浸漬後、水道水でゆすぐことにより減少したが、個体差が大きく有意差は得られなかった。またアラメによる生菌数への影響は認められなかった。

今回の実験では、浸漬前から真菌が検出されない個体（手）が多く、結果は得られなかった。

５．アラメ風呂の手部肌水分に対する影響

４．と同様に処理した際の肌水分の変動を図3Bに示した。お湯浸漬後、１時間ほどは浸漬前より肌水分が高いことが示されたが、アラメに

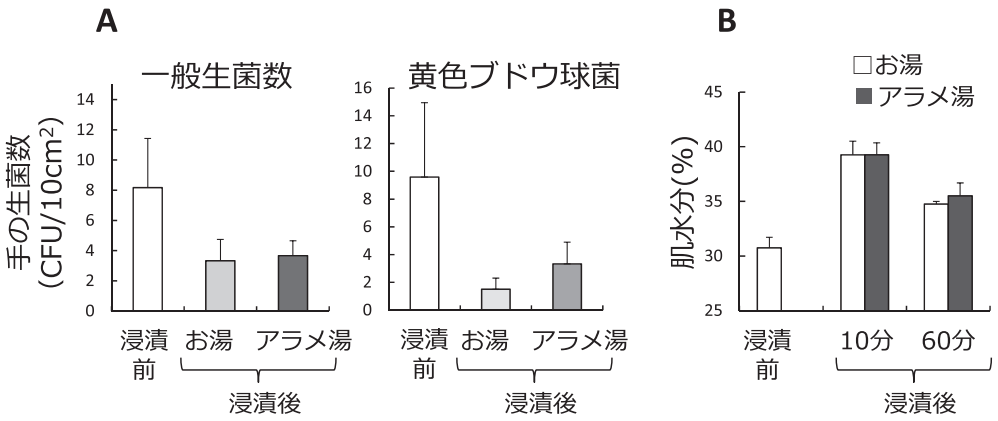


図 3　手部表皮一般生菌数と黄色ブドウ球菌数（A）、および肌水分（B）に及ぼすお湯浸漬の影響.
40℃のお湯に 10 分浸漬後、水道水で 10 秒洗浄した。平均値±SEM (浸漬前: n = 12; 各浸漬群: n =6).

よる水分保持効果への影響は認められなかった。

これらの結果より、アラメ湯浸漬後すぐの効果は検証できなかったが、今後、より長い観察時間や繰り返し浸漬したあとの肌のきめに及ぼす影響などを検討する必要がある。

6．アラメ熱水抽出液の抗酸化特性

使用した乾燥アラメのポリフェノール含量を図 4A に示す。これまでの報告と同様にアラメの葉のポリフェノール含量は高かったが、茎部ではあまり多くはなかった。

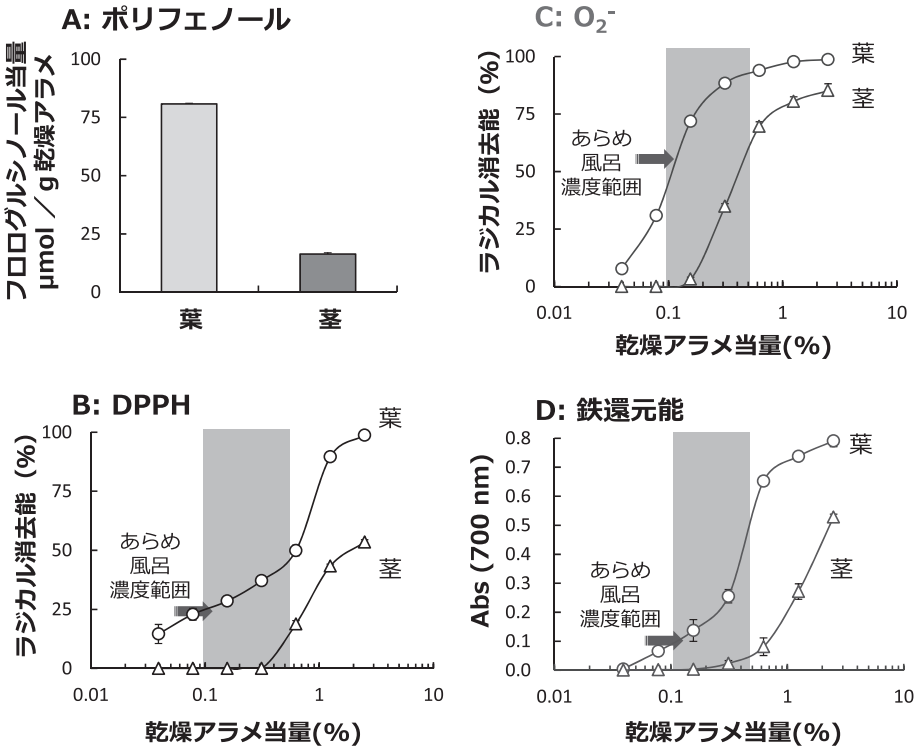


図 4　乾燥アラメのポリフェノール含量（A）と、アラメ熱水抽出液の DPPH ラジカル消去能（B）、スーパーオキシドアニオンラジカル消去能（C）および鉄還元能（D）. 平均値±SEM (n = 3).

アラメ熱水抽出液のDHHPおよびO_2-ラジカル消去能はポリフェノール含量と相関しており、葉部抽出液が高い活性を示した（図4B、C）。鉄還元能はDPPHラジカル消去能と相関していた。

お湯100Lに対して乾物100g～200g（0.1～0.2%）を入れることを想定した場合、DPPHラジカル消去能および鉄還元能よりも、O_2-ラジカル消去能がより明確に認められた。

O_2-ラジカルは体内で最初に生成するラジカルで、これを消去することにより、O_2-から変換生成されるヒドロキシルラジカルや一重項酸素などより毒性の高い活性酸素の発生を抑制することが可能である[8]。また、海藻製品のO_2-ラジカル消去能とBSA-フラクトースモデルにおける抗糖化性と相関しており[4,5]、皮膚健康にも有用であることが示唆される。

Ⅳ. 結論

本研究においては国内の海藻風呂の状況を調べ、代表的な海藻風呂のモデルとしてアラメの熱水抽出液を調製し、機能性について検討した。

その結果、千葉県、茨城県、三重県、石川県などでカジメ風呂が提供されており、太平洋側ではアラメが多く使用されていることが示された。アラメ風呂の濃度において、粘度、抗菌性、肌水分に対する影響は顕著ではなかったが、抗酸化性、特にスーパーオキシドアニオン（O_2-）ラジカル消去能は顕著であることが示された。

O_2-ラジカル消去能は生体内で最初に発生する活性酸素で、その抑制が活性酸素による様々な損傷から細胞を保護すると考えられているため、今回示されたカジメ風呂濃度でも十分にその機能が期待できることから、今後、表皮におけるO_2-ラジカル消去能が実際の肌および身体全体の健康に及ぼす影響について検討する必要がある。

謝辞

本研究は日本健康開発財団の助成を受けて行われた。また使用したアラメは鈴木海苔株式会社、鈴木清一氏から供与された。ここに記して謝意を表する。

文献

1) Kuda T, Ikemori T, Minerals, polysaccharides and antioxidant properties of aqeous solutions obtained from macroalgal beach-casts in the Noto Peninsula, Ishikawa, Japan. Food Chem 2009; 112: 575-581.
2) Kuda, T, Kosaka, M, Hirano S, et al. Effect of sodium-alginate and laminaran on Salmonella Typhimuriuminfection in human enterocyte-like HT-29-Luc cells and BALB/c mice. Carbohydr Polymers 2015; 125: 113-119.
3) Kuda T, Kunii T, Goto H, et al. Varieties of antioxidant and antibacterial properties of *Ecklonia stolonifera* and *Ecklonia kurome* products harvested and processed in the Noto peninsula, Japan. Food Chem 2007; 103; 900-905.
4) Kuda T, Eda, M, Kataoka, M, et al. Anti-glycation properties of the aqueous extract solutions of dried algae products and effect of lactic acid fermentation on the properties. Food Chem, 2016; 192: 1109-1115.
5) Eda M, Kuda T, Kataoka M, et al. Anti-glycation properties of the aqueous extract solutions of dried algae products harvested and made in the Miura Peninsula, Japan, and effect of lactic acid fermentation on the properties. J Appl Phycol 2016; 28: 3617-3624.

6) 長井克介, 渡邊智, 川崎義巳. 水浴における浴用剤成分による生体への作用. 日生気誌 1992; 29: 25-33.
7) Wang Y, Kuo S, Shu M, et al. *Staphylococcus epidermidis* in the human skin microbiome mediates fermentation to inhibit the growth of *Propionibacterium acnes*: Implications of probiotics in acne vulgaris. Appl Microbiol Biotechnol 2014; 98: 411-424.
8) Macdonald J, Gally HF, Webster NR. Oxidative stress and gene expression in sepsis. Br J Anaesth 2003; 90: 221–232.

Study of marine algae bath -Antioxidant properties of kajime bath

Takashi Kuda

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology

Abstract

[Background]

Marine algae baths, especially *kajime* group (*Ecklonia and Eicenia*) algae baths, have traditionally been used in coastal areas in Japan. *Kajime* algae have high content of minerals and polyphenols, and it is promising as a material for functional foods. These functional compounds are thought to be effective also in the marine algae baths, but they have not been clear. Therefore, in this study, to clarify the functional properties, the following experiments were conducted.

[Methods]

From the literature and web information, the local situation the usage methods of marine algae bath were checked. Effects of hot water extract solution (WE) from dried product of "arame" *Eisenia bicyclis* on hand surface (epidermic) viable counts, skin moisture and their antioxidant properties were determined.

[Results]

There are baths with *kajime* group algae are popular in Chiba, Ibaraki, Mie and Ishikawa prefectures. In the Pacific Ocean side, *E. bicyclis* is used for the *kajime* bath. Although the effects of *E. bicyclis* WE on the viscosity, the antibacterial at hand skin, and the skin moisture were not remarkable, the antioxidant property, particularly the superoxide anion (O_2-) radical scavenging capacity was remarkable.

[Conclusion]

O_2- radical is the reactive oxygen that occurs first in body. Therefore, it is considered that O_2-radical scavenging capacity can inhibit other strong reactive oxygens generated from O_2- in body. Further study is necessary to examine the effects of the antioxidant properties of *E. bicyclis* bath on the skin and whole body health.

Key words: Marine algae bath, *kajime* group algae, *Eisenia bicyclis*, Antioxidant property

助成研究

温熱による抗腫瘍効果の真の標的解明と臨床・創薬への応用

Molecular mechanism of anti-tumor effect by heperthermia

榎本 敦（えのもとあつし）[1)]　深澤毅倫（ふかさわたけみち）[1),2)]

1) 東京大学大学院医学系研究科・疾患工学センター・放射線分子医学部門
2) 東京大学医学部附属病院皮膚科

（連絡先）
〒113-0033　東京都文京区本郷7-3-1　東京大学大学院医学系研究科　責任著者名 榎本 敦

Key words: 温熱療法、抗腫瘍効果、プロテオーム解析、タンパク質分解

抄録

背景・目的　古くから温熱療法は抗腫瘍効果や放射線による治療効果を亢進させる働きがあることが知られている。温熱に関してはタンパク質の変性を誘導するものの、何故、再合成や再構成が可能なタンパク質の一時的な構造的変化が細胞致死あるいは放射線増感を引き起こすのかは未解明な点が多い。本研究では、温熱に対して感受性が高く、細胞致死あるいは放射線増感に直結する原因タンパク質を分子生物学的・生化学的アプローチにより同定し、温熱療法の持つ抗腫瘍効果における真の標的を明らかにするとともに創薬に向けた土台を構築する。

方法　様々なヒト培養細胞を用いて温熱処理によるタンパク質の挙動を網羅的に解析し（プロテオーム解析）、温熱処理に感受性があるタンパク質を探索する。次に分子生物学的手法によりそのタンパク質の過剰発現・発現抑制による細胞の増殖・生存への影響を評価し、真の温熱標的因子の同定を目指す。

結果　プロテオーム解析により、温熱特異的に発現量が低下する因子としてSerine-Threonine Kinase 38 (STK38)を同定した。温熱によるSTK38の発現量低下はタンパク質分解酵素の阻害剤であるALLNなどによって抑制された。さらに遺伝子操作によるSTK38の発現抑制は癌細胞の増殖能を低下させることが判明した。

考察　温熱処理によるSTK38の発現低下が増殖能を抑制することから、STK38は温熱による抗腫瘍効果の責任因子の１つである可能性が示唆された。

Ⅰ．背景・目的

古くから温熱療法は抗腫瘍効果や放射線による治療効果を亢進させる働きがあることが知られている[1)]。温熱による効果についてはコンセンサスが得られている知見はまだ少ないものの、温熱の抗腫瘍効果における分子レベルの研究は日進月歩の勢いで進んでいる。例えば、温熱による細胞内環境の変化として、カルシウム濃度の上昇、セラミド代謝の亢進、活性酸素種の産生亢進などが挙げられる[2, 3)]。これらの温熱による細胞内環境の変化は、細胞を構成する生体高分子にどのような影響を及ぼすのであろうか？もちろん、熱によるタンパク質の変性や凝集を思い浮かべる人も多いであろう。近年では、発生した活性酸素種などによりDNA損傷が誘発されることもわかってきた。さらにカルシウムやセラミド濃度の上昇、異常タンパク質の凝集、DNA損傷などの初期イベントがシグナルの起点となり、遺伝子発現やタンパク質の分解系を惹起し、細胞死などの細胞応答を誘導するシグナル伝達という概念が定着しつつある。しかしながら、温熱の抗腫瘍効果における真の標的因子については未だ未解明のままである。そこで本研究では、温熱に対して感受性が高く、細胞致死あるいは放射線増感に直結する原因タンパク質を分子生物学的・生化学的アプローチにより同定し、温熱療法の持つ抗腫瘍効果における真の標的を明らかにするとともに創薬や放射線増感法への応用を目標にその土台を構築することを目的とする。

Ⅱ．方法

１．ヒト正常・癌細胞株の培養

ヒト正常皮膚由来HS-27およびヒトの異なる組織に由来する12種の癌細胞を37℃・5％CO_2の条件のもとCO_2インキュベーター（アステック）にて培養を行った。細胞培養には液体培地（Sigma; RPMI1640、DMEM/F-12、MEM）に10％牛胎児血清および抗生物質（ペニシリン・ストレプトマイシン）を含んだものを用いた

細胞の温熱処理は、10cmシャーレに細胞がセミコンフルエントになる状態で、ウォーターバスの深部に沈める形で行った。

２．二次元電気泳動を用いたタンパク質の挙動解析

ヒト正常・癌由来培養細胞株などの様々な細胞について、温熱処理前後に細胞可溶化剤(ATTO)を用いて抽出液を調整した。その後、細胞抽出液を二次元電気泳動装置(ATTO)で展開し、発現量やリン酸化をはじめとした翻訳後修飾などのバンドシフトのパターンを網羅的・経時的に比較解析した。そして温熱によって変化するタンパク質をゲルスポットカッター（BioRad)により切り出し、精製した。次に精製したタンパク質をトリプシンで消化後、質量分析装置（島津製作所、AXIMA-CFR MALDI-TOF/MS）による解析を行い、分子量情報を取得し、トリプシン消化物の分子量データベースをもとにした質量分析用検索エンジン(MASCOT Research)を用いてタンパク質を同定した。

３．温熱標的因子の同定

質量分析法により同定した温熱標的因子の候補について、それらの遺伝子過剰発現、遺伝子干渉などの分子生物学的手法を用いて細胞の生存・増殖への影響について解析した。具体的には、ヒトSTK38遺伝子のアンチセンス配列の一部を搭載したshort hairpin RNAを作成し、遺伝子の運び屋と呼ばれるベクターpBAshRNA（Takara Bio)に連結したのち、ヒト肺癌細胞LU99に遺伝子導入した。ベクターには抗生物質であるネオマイシンに抵抗性を与える遺伝子が搭載されているため、ベクター

が導入された細胞は、ネオマイシン類似物質G418を含む培地中でも生育することができる。ネオマイシン培地で選択された細胞集団（コロニー）を拾って培養し、STK38の発現が抑制されているか否かをWestern blotting法により確認した。そして親株と遺伝子操作した細胞を用い、細胞増殖の解析には自動セルカウンター（Bio-Rad）により経時的に細胞数を計測した。また増殖能については、細胞用のプレートに一定数の細胞を播種し、7-10日間の培養後に目視で観察可能な大きさまで成長した細胞塊数を数えるコロニー形成法により解析を行った。そして温熱によって量的・質的変化を受け、かつ細胞の生存・増殖を抑制するタンパク質を温熱標的因子として同定した。

4．試験管内反応によるカルパインのSTK38切断の再現

精製GST-tagged STK38（Abnova）および精製豚カルパインⅠ（Millipore）を37℃・30分間反応させた後、SDS-PAGEにてタンパク質を電気的に分離した。さらに分離したゲルをPVDF膜に電気的に転写し、5％ドライミルクでブロッキング後、抗GST抗体と反応させた。抗原・抗体反応の検出には化学発光システム（GE Healthcare、ELC Plus）を用いてフィルムに露光させた。

5．試薬・抗体

タンパク質分解酵素の阻害剤（ALLN, Calpeptin、Sigma）はDMSOを用いて10mMのストック濃度で保存し、適宜、温熱処理の1時間前に培地に加えた。ヒトSTK38タンパク質の発現量に関しては、抗STK38抗体（Abnova）、コントロールタンパク質のCDK2の検出には抗CDK2抗体（Santa Cruz Biotechnology）を用いた。

6．定量

Western blotting法により得られた画像データに関しては、Image Jを用いて定量解析を行った。

Ⅲ．結果

1．温熱処理によるSTK38発現低下

ヒト胃癌MKN45, ヒト子宮頚癌HeLa, ヒト肺癌LU99細胞に温熱処理（44℃ 5、10、20、30分間）を施した結果、タンパク質リン酸化酵素の1つであるSerine Threonine Kinase 38（STK38）の発現量が時間依存的に減少した。一方、X線、UV、セラミド、抗がん剤エトポシド処理などではSTK38の発現量に変化は認められなかった（図1）。これらのことからSTK38の発現量低下は温熱特異的な現象の可能性が示唆された。

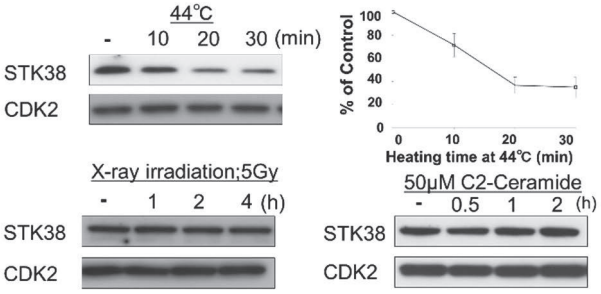


図1．温熱特異的なSTK38の分解

2．タンパク質分解酵素カルパインによるSTK38の切断

温熱処理によるSTK38の発現低下が遺伝子レベルに依るものなのかタンパク質の安定性に依存するものなのかを検証するため、ヒト肺癌LU99細胞に各種タンパク質分解酵素の阻害剤（ALLN、MG132、Calpeptinそれぞれ最終濃度10μM）で前処理したのちに温熱処理（44℃ 20分間）を施した。その結果、カルパイン阻害剤と知られるALLN、Calpeptinは温熱によるSTK38の発現量低下を部分的ではあるが抑制

することが判明した。

次にリコンビナントSTK38（大腸菌内で大量発現させたのち、精製したもの）と豚由来の精製カルパインⅠを試験管内で反応させた後、反応物について抗STK38抗体を用いたWestern blottingにより解析した結果、カルパインⅠが直接、STK38を認識して切断することが示された（図2）。またカルパインによるSTK38の分解は、STK38のN端を欠如させることにより抑制されることから、N端にカルパイン認識部位があると予想された。



図2. STK38はタンパク質分解酵素Calpainによって分解される

3．温熱によるSTK38発現抑制の意義：遺伝子操作によるSTK38発現低下は増殖能を抑制する

温熱によるSTK38の発現抑制の意義を明らかにするため、人為的にSTK38の発現を抑制する遺伝子操作を施した細胞を作製した。ヒト子宮頚癌細胞株HeLaおよびそれを遺伝子操作してSTK38の発現を抑制したSTK38 kd (knock down)細胞について、それぞれ一定数の細胞を6cmシャーレ(200 cells/dish) に播種した。CO_2インキュベーターで10日間培養した後、クリスタルバイオレット染色液で細胞を染色し、細胞塊（コロニー）の数を計測した結果、STK38 kd細胞では親株に比べて増殖能が有意に低下していることが分かった。具体的には、親株とSTK38 kd株のコロニー形成率は34.3% vs 9.6%であった（図3）。

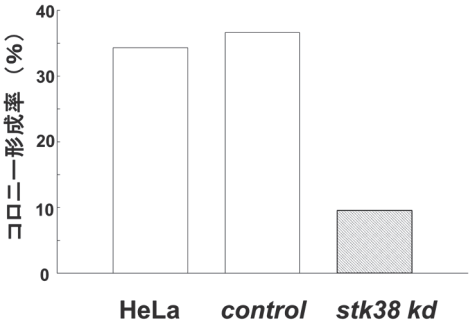


図3. STK38発現抑制の増殖能への影響

Ⅳ．考察

我々は、温熱による抗腫瘍効果の真の標的を探索するため、分子生物学的・生化学的アプローチによりタンパク質リン酸化酵素の一種であるSerine-Threonine Kinase 38 (STK38)が温熱処理に対して非常に感受性が高いことを見出した。さらにある種のタンパク質分解酵素阻害剤（プロテアソーム阻害剤、カルパイン阻害剤）により温熱処理によるSTK38の分解が抑制されることやインビトロ（試験管内反応）において精製STK38と精製タンパク質分解酵素カルパインを反応させると、時間依存的にSTK38が分解されることが分かり、温熱によるSTK38発現低下のメカニズムの一端を明らかにすることが出来た。

酵母ホモログは細胞分裂・極性などを制御し、ヒトでは中心体複製の制御に関わっていることが明らかになりつつある[4]。また一部のヒト乳がんやメラノーマの細胞でタンパク質の発現レベルが上昇していることが報告されている[5, 6]。我々は、様々なヒト正常・癌細胞株を用いてSTK38のタンパク発現量のみならず酵素活性についても解析したところ、約3割の癌細胞株について正常細胞より高いSTK38活性を有していた（未発表データ）。さらに予後との関係においては、STK38のmRNA（メッセンジャーRNA）の発現レベルが高いと予後が

悪いとのデータもある[7]。我々は、STK38がX線、抗がん剤、紫外線、過酸化水素処理などの物理的刺激では発現に変化がなく、温熱処理特異的にその発現レベルが低下することに温熱療法へ有用性を見出すことが出来ないかと考え、STK38の発現低下の細胞増殖に与える影響について解析を行った。その結果、ヒト子宮頸癌細胞株HeLaにSTK38遺伝子の発現を抑制する遺伝子操作を施した細胞株(STK38 kd: STK38 knock down)においては、親株に比べてコロニー形成能が有意に低下していること判明した。これらの研究結果から、STK38の発現は細胞増殖に必要であり、温熱処理によるその発現低下は癌の細胞増殖を抑制する方向に働くと推察され、治療戦略上の重要な知見が得られたと考える。

生命科学研究の進展により、温熱に対する細胞応答の分子メカニズムが少しずつ明らかになってきている[8, 9]。温熱耐性や抗腫瘍効果をもたらす因子・マーカーの同定が進むことによって、温熱療法と同等以上の効果を生み出す創薬への道も開ける。また放射線や抗がん剤などとの併用を行う上で、温熱標的因子や誘導因子の性質・挙動を把握しておくことは治療スケジュールの計画に重要な指針を与えるであろう。

Ⅴ. 結論

我々は、温熱処理により細胞内においてタンパク質リン酸化酵素の一種であるSTK38がタンパク質分解酵素カルパインによって分解されることを見出した。また遺伝子操作によるSTK38の発現抑制は細胞の増殖能を抑制することから、温熱によるSTK38の発現低下は、温熱がもたらす抗腫瘍効果の一因となっている可能性が示唆された。

Ⅵ. 謝辞

本研究を遂行するに当たりまして、一般財団法人日本健康開発財団より第43回（平成29年度）研究助成金を賜りましたこと深く感謝を申し上げます。また東京工業大学原子炉研究所・准教授・松本義久先生には貴重なご助言を賜りましたこと厚く御礼申し上げます。

文献

1) 近藤 隆、平岡 真寛、松本 英樹、宮川 清、宮越 順二. 放射線医科学. 大西 武雄. 生体と放射線・電磁波・超音波. 学会出版センター. 2007; 100-102.

2) Hsu YL, Yu HS, Lin HC, et al. Heat shock induces apoptosis through reactive oxygen species involving mitochondrial and death receptor pathways in corneal cells. Exp Eye Res 2011; 93: 405–412.

3) Li L, Tan H, Gu Z, et al. Heat stress induces apoptosis through a Ca^{2+}-mediated mitochondrial apoptotic pathway in human umbilical vein endothelial cells. Plos One 2014; 9 (12):e111083.

4) Tamaskovi R, Bichsel S, Hemmings, BA. NDR family of AGC kinases-essential regulators of the cell cycle and morphogenesis. FEBS Lett. 2003; 546: 73-80.

5) Adeyinka A, Emberley E, Niu Y, et al. Analysis of gene expression in ductal carcinoma in situ of the breast. Clin. Cancer Res. 2002; 8(12):3788-3795.

6) Jönsson G, Staaf J, Olsson E, et al. High-resolution genomic profiles of breast cancer cell lines assessed by tiling BAC array comparative genomic

hybridization. Genes, Chromosomes and Cancer 2007; 46: 543–558.

7) Decaux O, Lodé L, Magrangeas F, et al. Prediction of survival in multiple myeloma based on gene expression profiles reveals cell cycle and chromosomal instability signatures in high-risk patients and hyperdiploid signatures in low-risk patients: a study of the Intergroupe Francophone du Myélome. J. Clin. Oncol.2008; 26(29):4798-4805.

8) Ahmed K, Tabuchi Y, Kondo T. Hyperthermia: an effective strategy to induce apoptosis in cancer cells. A review. Apoptosis 2015; 20:1411-1419.

9) Gu ZT, Li L, Wu F, et al. Heat stress induced apoptosis is triggered by transcription-independent p53, Ca^{2+} dyshomeostasis and the subsequent Bax mitochondrial translocation. Sci Rep 2015; 5:11497.

Molecular mechanism of anti-tumor activity by hyperthermia

Atsushi Enomoto[1)], Takemichi Fukasawa[1), 2)]

1) Laboratory of Molecular Radiology, Center for Disease Biology and Integrative Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo
2) Department of Dermatology, Faculty of Medicine, The University of Tokyo

Abstract

[Background]

It has been reported that anti-tumor effect is mediated by heating through activating immune system or cellular damage response pathways such as apoptosis. However, a responsible gene or protein for the anti-tumor effect by hyperthermia is little known. We attempted to isolate the responsible factor using various normal or cancer cell lines by proteomics approach. We think that identification of the responsible factor for anti-tumor activity in hyperthermia would lead to development of a drug for patients unsuitable for the treatment.

[Methods]

We compared protein expression pattern between various normal and cancer cell lines in the absence or presence of heat treatment by two-dimensional gel electrophoresis (2DE). After 2DE, we identified heat-specific induced or reduced proteins using liquid chromatography mass spectrometry. Anti-tumor activity of proteins of interest was evaluated by colony-formation assay between cell lines with or without expression of shRNA for genes of interest.

[Results]

We found that a protein kinase was degradated after heat treatment. The protein kinase was not degradated by other stimuli such as X-ray irradiation, anti-cancer drugs, or addition of ceramides. In vitro degradation assay indicated that the protein kinase was cleaved by a proteinase. Moreover, reduced expression by shRNA for the protein kinase suppressed cell proliferation in several cancer cell lines.

[Conclusion]

We identified heat-sensitive protein kinase by proteomics approach. Since this heat-sensitive protein kinase is involved in the regulation of cellular proliferation, this protein might be one of true targets for hyperthermia.

Key words: Proteomics, Protein degradation, Anti-tumor activity,

助成研究

都市部地域住民を対象とした入浴と メタボリックシンドローム罹病リスクとの関係に関する追跡研究

Follow-up study on the relationship between bathing and metabolic syndrome risk for urban residents

小久保喜弘[1)]

1）国立循環器病研究センター予防健診部

（連絡先）
〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1　責任著者名　小久保喜弘

Key Words: 入浴、入浴頻度、入浴形態、季節性、メタボリックシンドローム

抄録

背景・目的　日本人は世界でも最も入浴や温泉に入る人種といわれているが、一般住民を対象とした日常的な入浴に関する疫学研究がほとんど見られない。そこで、都市部地域住民を対象に入浴の実態についてアンケート調査を行い、今後のわが国の適切な入浴形態を提示することを目的とする。

方法　都市部地域住民を対象に入浴の詳細な実態アンケート調査を行った。1592名の有効回答が得られた。このアンケートと最近実施した健診データとを突き合わせた。メタボリックシンドロームは、国際標準の基準を用い、その構成因子が3つ以上ある場合メタボリックシンドロームと定義した。入浴の各要素とメタボリックシンドロームの構成因子との関係は、性年齢調整のロジスティック回帰モデルを用いて解析した。

結果　入浴はほぼ毎日入る方が過半数いた。毎日入らない群の方が、夏季にメタボリックシンドロームのリスクであった。夏季はシャワーを使う傾向が、冬季は湯船につかる傾向が強かった。入浴時間は夏の方が短く、若い世代の方がより短い傾向がみられた。夏期の入浴時間が20分間以上の群で、メタボリックシンドロームの危険度が0.63と低かった。入浴時間帯は、夏季で特に男性が夕食前に入浴する方が4割いて、女性は夕食後就寝前に入る傾向がみられた。一方冬季にシャワーを使用する群でメタボリックシンドロームのリスクが低かった。入浴に心がけていることは、浴室を温めること、かけ湯、早めに汗を拭くことは比較的行われていたが、水分補給の水を持ち込む、血圧の高い時には入浴を控えるということを実際はほとんど行われていなかった。

考察　今後追跡を重ねて、因果関係のあるエビデンスを出していき、適切な入浴のエビデンスを重ねていく。

Ⅰ. 背景・目的

日本人は入浴で体を洗浄するだけではなく、湯船につかり新陳代謝を促進させ、1日の疲れを取り、リフレッシュさせ癒している。一方、欧米では一部の地域で温泉がみられるものの、多くはシャワーで済ませ、湯船も日本と比べて浅く湯船に長時間つかる習慣があまり見られない。

入浴・温泉の効用については動物実験や人を対象とした生理学的な研究があり、温熱効果、物理作用、含有成分の効果などがある。温熱効果には、血管拡張作用、代謝部活作用、中枢作用があり、物理作用には、静水圧、浮力、粘性などがある[1]。しかし、日本人は世界でも最も入浴や温泉に入る人種といわれているが、一般住民を対象とした日常的な入浴に関する疫学研究がほとんど見られない。入浴の形態には、すなわちシャワーと浴槽入浴のいずれなのか、半身浴か全身浴かなどがあり、お湯の温度が熱めまたは温めなのか、お湯につかる時間が長いか短いか、入浴中に何か、例えば水分補給、入浴剤の利用、マッサージ、音楽鑑賞などをしているか、地域住民の入浴方法についての記述疫学データがあまりみられない。さらには、これらの入浴方法と疾患との関係についての疫学研究もほとんど見られない。日本人は比較的熱めの湯に長く全身浴で入る傾向があると言われる。しかし、どのくらいの割合の方がどのような入浴形態をしているのかについて良く分かっていない。これらの要因はかえって血圧をあげて、心臓に負担をかけることになるが、入浴方法と疾患との関係に関する追跡研究がほとんど見られない。

最近、我が国の高齢化に伴い、入浴中の事故が増えている。昨年の論文では、大阪市で病院外心停止を起こされた方のうち入浴関連の方が2012～2014年に642名いて家庭の浴室が512名、公衆浴場が102名で、約半数が12月～2月の冬季に集中していた[2]。同じ2012～2014年の間に動態統計資料から大阪市の死亡数が81538名となっていることから、大阪市民の死亡者のうち約0.8％が入浴中の心停止であった。高齢者になれば入浴中の事故が増える為、入浴中の事故を起こさないで健康増進につながる入浴に関する疫学研究に基づいたエビデンスが必要である。

そこで、都市部地域住民を対象として循環器の追跡研究を行っている吹田研究を用いて、入浴の形態を調べ、循環器病の古典的リスク因子である血圧、脂質代謝、血糖値、体格指数、更にメタボリックシンドロームリスクがどのように変わるのか追跡調査を行い、疾患になりにくい入浴の方法を論文化して、健康増進につながる入浴の方法を啓発することを目的とする。

Ⅱ. 方法

対象者：性年齢無作為抽出された吹田市民のうち、追跡可能な約2500名を対象とする。

方法：健診項目として、血液生化学（総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪、LDLコレステロール、GOT、GPT、γGTP、総蛋白、血清アルブミン、A/G比、血糖、HbA1c, クレアチニン、尿酸）、血算、尿定性、血圧、肥満指数（Body mass index, 皮下脂肪、腹囲、臀囲、体脂肪率）、心電図検査を実施した。生活習慣問診は、喫煙、飲酒歴、既往・現病歴、入浴に関する問診を実施した。食事調査は、122項目の半定量食物摂取頻度調査を行い、対象者の通年を通して1日の平均的な食事の状態を問診した。身体活動問診は、勤務時間、通勤途中の交通手段、家事、余暇、運動習慣、睡眠時間等を問診し、対象者の1日の平均的な身体活動量を推計する。腎機能は、クレアチニン値を用いた推定腎濾過量を求める。

メタボリックシンドロームは、国際標準の基準を用い、腹囲（国際基準：男性90㎝、女性80cm、日本基準：男性85㎝、女性90㎝）、血圧

高値（収縮期血圧130 mmHg以上、拡張期血圧85 mmHg以上または降圧剤服用）、高中性脂肪血症（TG≧150mg/dL）、HDLコレステロール低値（男性< 40 mg/dL、女性<50mg/dL）、空腹時血糖（>100mg/dL）を用い、これらメタボリックシンドローム構成因子のうち3項目以上を満たすものをメタボリックシンドロームと定義する。

詳細な入浴の方法についてのアンケート調査をコホート対象者約2300名に対して、郵送法で実施した。入浴の方法は、入浴の形態（シャワー、湯船につかる）と時間、入る時間帯（起床時、運動後、夕食前・後、就寝前など）、入浴頻度、一人か誰かと一緒に入るか、湯船に入る場合には半身浴か全身浴か、湯船につかる時間、お湯の温度、入浴中に行う事（水分補給、入浴剤の利用、マッサージ、音楽鑑賞など）についてアンケート調査を行い、郵送で返却する。なお、入浴については季節性がある為、夏期、冬季に分けて聞いた。

断面研究ではあるが、健診結果と合わせて、メタボリックシンドロームの構成因子との関係について性年齢調整ロジスティックモデルを用いて解析を行った。なお、倫理審査委員会の承認を経て本人の同意を得ている。

Ⅲ．結果

アンケート調査により、有効回答は、男性の60歳未満で158名、60-74歳で242名、75歳以上で257名、女性の60歳未満で269名、60-74歳で346名、75歳以上で320名得られた。

図1は入浴の頻度を男女別、夏季・冬季別に集計したものである。冬季よりも夏季の方が男女共入浴頻度が高い傾向にあった。日に1回入浴する方が夏季の場合、男性で64～73%、女性で70～72%認め、更に日に2回以上入浴する方が、男性で8～13%、女性で8～21%認められたが、冬季には日に二回以上の方はほとんど認められなかった。

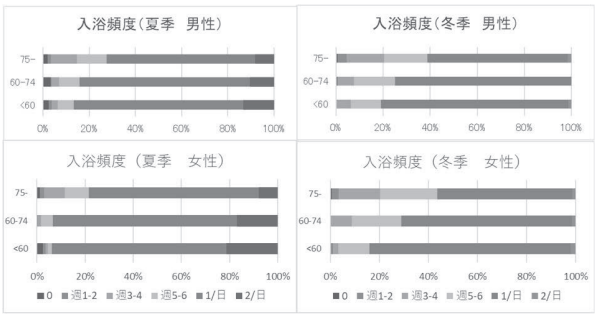


図１．男女、夏冬期別による入浴の頻度

男性よりも女性の方が、高齢者よりも若い群の方が、入浴する頻度は高い傾向がみられた。

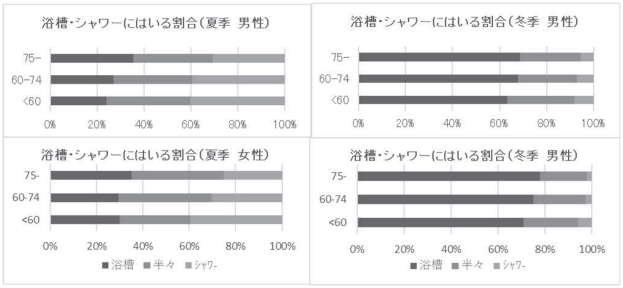


図２．男女、夏冬期別の浴槽・シャワー利用割合

図2は入浴時に浴槽に入るか、シャワーを浴びるかについて男女別、夏冬期について集計した。夏は男女共シャワー、シャワーと浴槽の半々を合わせると浴槽に入る群と比べて多いが、冬期には浴槽に入る群が男女とも7割ぐらいと多かった。

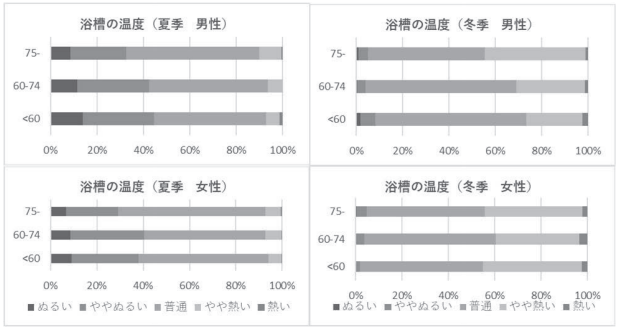


図 3．男女、夏冬期別のお湯（浴槽）の温度

図3はお湯（浴槽）の温度を男女別、夏季冬季別にまとめたものである。夏期には男女共ぬる

い、ややぬるいが4割を示し、やや熱い、熱いが1割もいなかった。一方冬期には、熱い、やや熱いが1割もいなく、やや熱い、熱いと回答した方が4割存在していた。

図4は、男女別、夏冬季別に浴槽に入る時間を表したグラフである。夏季には男女とも浴槽に入らないが約2割いて、数分以内が約4割いて、5～10分程度が15～20％いた。一方、冬期には、数分以内が男性で20％、女性で15％いて、全体の約半数が男女共5～10分間程度であった。冬期に2～30分間湯船につかる人は、高齢ほど多く男性で6%、女性で8%存在した。

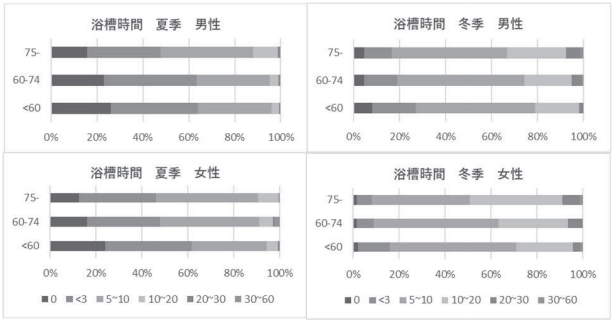


図４．男女、夏冬期別の浴槽につかる時間

図5は、男女別、夏季冬季別に湯船につかると位体のどの部分までつかるのかについてまとめた表である。夏期は男性5割、女性4割が全身浴で、半身浴は男性で2割、女性で4割であった。しかし、冬期には、全身浴が男性で85%、女性で80%みられた。

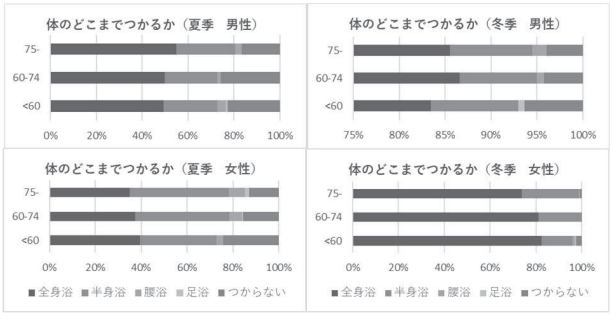


図 5．男女、夏冬季別湯船に浸かる体の部位

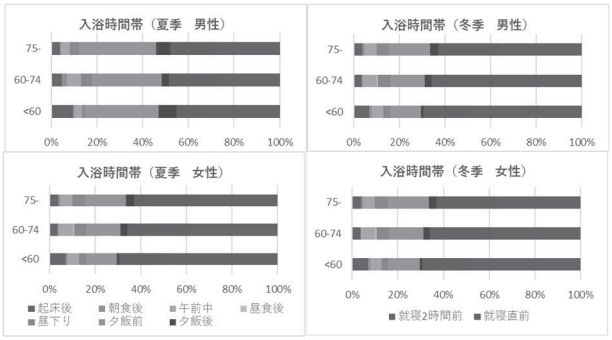


図 6．男女、夏冬季別入浴の時間帯

図6は、男女別夏季冬季別の入浴の時間帯についてまとめたグラフである。男女共就寝2時間以内（グラフでは就寝直前と記述）に入浴する割合が一番高く、男性3割、女性4割が該当した。その次に多かったのが、男性では夕食前に3割が特に夏季でその傾向が見られ、女性は就寝2時間前以上に3割、60歳未満で2割となっていた。

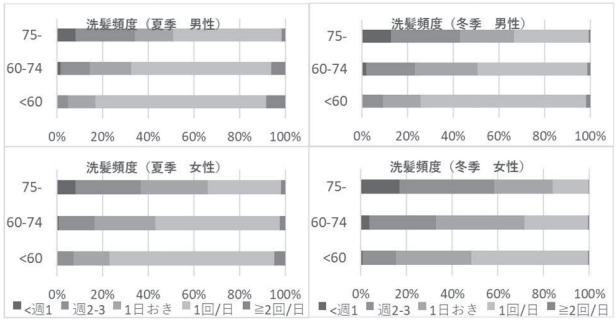


図 7．男女別、夏冬季別の洗髪頻度

図7は男女別、夏季冬季別による洗髪頻度をグラフにしたものである。夏季には、男女共毎日洗髪する割合が高く60歳未満で約80%、75歳以上で男性50%、女性で35%であった。冬季にはその頻度が低くなり、毎日洗髪する割合は60歳未満の男性で75%、女性で50%、75歳以上の男性で35%、女性で15%であった。75歳以上の男性では週2～3回、1日おきがそれぞれ約20％、女性では週2～3回が約40％、1日おきが25％であった。

表１．入浴に心がけている項目

1) 浴室が寒くないように（温める）
2) 一人で入らない(孫､子供､伴侶等と入る)
3) 水分補給の水を持ち込む
4) かけ湯をして湯船に入る
5) 入浴剤を使用する
6) 花・果物を浴槽に入れる
7) 湯冷めしないように早く汗を拭く
8) 保湿剤を使用する
9) 脱衣所が寒くならないように（温める）
10) 酒を飲みすぎたら入浴を控える
11) 休憩を入れて浴槽につかる
12) 段差の低い浴槽
13) 転倒防止マット・手すりを付ける
14) 血圧を測定し高い時には入らない、
15) 体調のすぐれないときには入らない

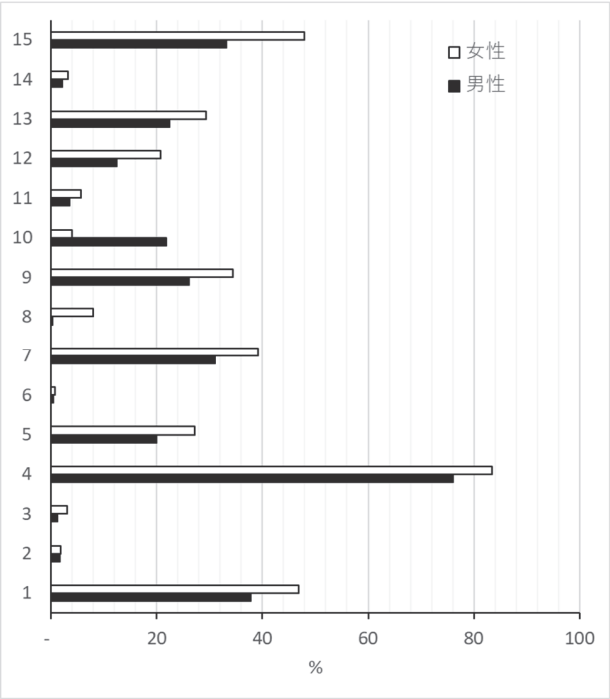


図 8．男女別入浴に際して心がけていること

表１は入浴について心がけていることをアンケート調査したときの項目である。図8は入浴に際して心がけていることを男女別にその割合を示している。

浴室を温めるを半数の方が、かけ湯をしてから湯船につかるは8割の方が、湯冷めしないように早めに汗を拭くは4割の方が、脱衣所を温めるは3割の方が、転倒防止マットや手すりは2割の方が、体調不良時入浴を控えるは4割の方が行っていた。

表２．入浴に関して該当した問題点

1) 好きな温度よりも熱いが我慢して入る
2) 発熱があっても入る
3) 飲酒後入る
4) 好きな温度よりもぬるいが我慢して入る
5) 汗をかいた運動直後に入る
6) もっと長い時間入りたいが入れない
7) 入浴の時間帯を変えたいが変えられない
8) 入浴中転倒したことがある
9) 入浴中意識消失がある

図9は入浴時の問題点として挙げられていたのは、自分の好きな温度よりもぬるいけれども我慢するが15～20%ほど、運動直後に入浴するのも15～20%いた。入浴中に転倒したことがあるのは全体の１％程度であった。

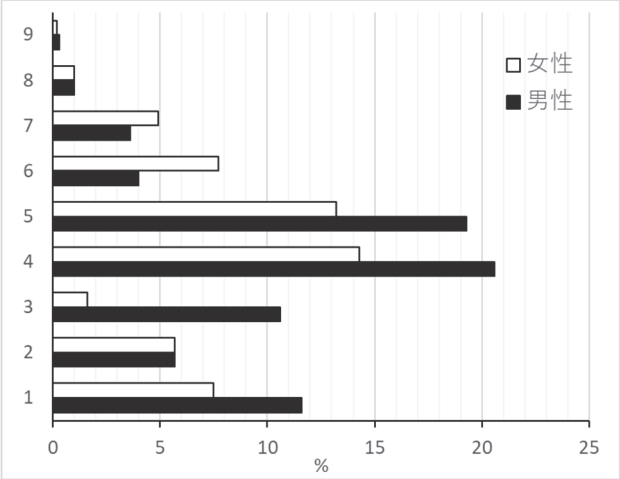


図 9．入浴時の問題点

入浴の頻度別によるメタボリックシンドロームの性年齢調整リスクを表3に示した。毎日入浴している群を基準にして、夏季に週2〜5回入浴する群において、血圧高値、低HDLC、メタボリックシンドロームのリスクが有意に高かった。しかし、冬季においては関連性を認めなかった。

表 3．入浴の頻度カテゴリー別によるメタボリックシンドロームの危険度

季節		日1回以上	週2~5日	週1回以下
夏	血圧高値	1(基準)	**1.47 (1.01-2.13)**	1.55 (0.76-3.09)
	高血糖	1(基準)	1.07 (0.76-1.47)	1.03 (0.56-1.89)
	内臓肥満	1(基準)	1.16 (0.84-1.61)	0.94 (0.50-1.76)
	低HDLC	1(基準)	**1.56 (1.06-2.36)**	1.74 (0.82-3.70)
	高中性脂肪	1(基準)	1.01 (0.65-1.56)	0.25 (0.06-1.04)
	ﾒﾀﾎﾞﾘｯｸｼﾝﾄﾞﾛｰﾑ	1(基準)	**1.46 (1.06-2.02)**	1.01 (0.53-1.96)
冬	血圧高値	1(基準)	1.09 (0.85-1.40)	1.13 (0.46-2.81)
	高血糖	1(基準)	1.16 (0.92-1.46)	1.65 (0.75-3.63)
	内臓肥満	1(基準)	1.00 (0.79-1.27)	0.95 (0.38-1.88)
	低HDLC	1(基準)	1.14 (0.82-1.57)	1.64 (0.65-4.16)
	高中性脂肪	1(基準)	0.89 (0.64-1.25)	0.50 (0.12-2.14)
	ﾒﾀﾎﾞﾘｯｸｼﾝﾄﾞﾛｰﾑ	1(基準)	1.10 (0.86-1.40)	1.22 (0.55-2.70)

入浴の形態（湯船かシャワー）別によるメタボリックシンドロームの性年齢調整リスクを表4に示した。夏季において、湯船を中心に入る方を基準にして、湯船とシャワー半々に入る群において、高血糖、メタボリックシンドロームのリスクが高かった。一方、冬季においては湯船中心に入る群を基準にした場合、主にシャワーである群において、低HDLCとメタボリックシンドロームのリスクが低かった。

表 4．入浴の形態（湯船またはシャワー）別によるメタボリックシンドロームの危険度

季節		主に浴槽	半々	主にシャワー
夏	血圧高値	1(基準)	1.14 (0.88-1.48)	1.11 (0.85-1.45)
	高血糖	1(基準)	**1.34 (1.05-1.72)**	1.05 (0.82-1.36)
	内臓肥満	1(基準)	1.27 (0.99-1.63)	1.07 (0.82-1.38)
	低HDLC	1(基準)	0.96 (0.69-1.34)	0.63 (0.43-0.91)
	高中性脂肪	1(基準)	1.33 (0.94-1.89)	1.02 (0.70-1.47)
	ﾒﾀﾎﾞﾘｯｸｼﾝﾄﾞﾛｰﾑ	1(基準)	**1.45 (1.12-1.89)**	1.05 (0.79-1.38)
冬	血圧高値	1(基準)	1.08 (0.84-1.39)	0.83 (0.83-1.17)
	高血糖	1(基準)	**1.31 (1.03-1.66)**	0.95 (0.81-1.11)
	内臓肥満	1(基準)	1.22 (0.95-1.55)	0.91 (0.77-1.08)
	低HDLC	1(基準)	0.83 (0.58-1.17)	**0.70 (0.49-0.98)**
	高中性脂肪	1(基準)	1.16 (0.84-1.61)	0.99 (0.79-1.24)
	ﾒﾀﾎﾞﾘｯｸｼﾝﾄﾞﾛｰﾑ	1(基準)	1.23 (0.96-1.58)	**0.80 (0.65-0.98)**

表5は入浴時間のレベル別によるメタボリックシンドロームの危険度を示した。夏季で、入浴時間が数分以内の群を基準にして、20分以上の群においてメタボリックシンドロームのリスクが低かったが、冬季では関連性がみられなかった。

表 5．入浴時間カテゴリー別によるメタボリックシンドロームの危険度

季節		数分以内	5~9分間	10~19分間	20分以上
夏	血圧高値	1(基準)	1.22 (0.79-1.90)	1.09 (0.71-1.66)	0.97 (0.61-1.53)
	高血糖	1(基準)	1.17 (0.78-1.77)	0.94 (0.63-1.40)	0.87 (0.57-1.34)
	内臓肥満	1(基準)	0.75 (0.48-1.14)	0.76 (0.51-1.15)	0.67 (0.43-1.04)
	低HDLC	1(基準)	0.76 (0.43-1.36)	0.95 (0.55-1.66)	0.95 (0.52-1.71)
	高中性脂肪	1(基準)	0.93 (0.53-1.62)	0.97 (0.56-1.66)	0.78 (0.43-1.43)
	ﾒﾀﾎﾞﾘｯｸｼﾝﾄﾞﾛｰﾑ	1(基準)	0.73 (0.47-1.11)	0.76 (0.51-1.14)	**0.63 (0.41-0.99)**
冬	血圧高値	1(基準)	1.23 (0.59-2.53)	1.09 (0.55-2.13)	0.87 (0.44-1.72)
	高血糖	1(基準)	1.33 (0.70-2.54)	1.16 (0.64-2.12)	0.95 (0.52-1.73)
	内臓肥満	1(基準)	0.88 (0.46-1.70)	0.73 (0.40-1.35)	0.70 (0.38-1.29)
	低HDLC	1(基準)	0.80 (0.32-2.00)	0.99 (0.43-2.31)	1.07 (0.46-2.46)
	高中性脂肪	1(基準)	0.77 (0.32-1.83)	0.87 (0.39-1.95)	0.76 (0.35-1.75)
	ﾒﾀﾎﾞﾘｯｸｼﾝﾄﾞﾛｰﾑ	1(基準)	0.81 (0.42-1.56)	0.79 (0.43-1.43)	0.70 (0.38-1.29)

湯船につかる程度（全身浴、半身浴、腰浴、足浴）、入浴する時間帯とメタボリックシンドロームのリスクとの関連性はみられなかった。

Ⅳ．考察

都市部地域住民を対象とする一般住民に入浴についての様々な実態についてのアンケート調査を行い、メタボリックシンドロームの構成因子との関連について断面研究を行った。我が国の入浴の実態で、しかも夏季と冬季とで異なる結果なので大変興味深く、ここまで詳細にとったことはないので、大変貴重な資料となる。

入浴頻度はほぼ毎日の方が過半数を超えていて、毎日入らない群の方が、夏季においてメタボリックシンドロームのリスクとなっていた。しかし、その傾向は冬季にはみられなかった。夏季の暑い時に、週に数回しか入浴できないことが、何か疾患があり入浴できない可能性が考えられる。断面研究であるので、因果関係の逆転が起こっている可能性がある。

入浴の形態は季節差が表れていた。夏季はシャワーを使う傾向が強く、冬季は湯船につかる傾向が強かった。夏季において湯船とシャワーを半々使う群においてメタボリックシンドロームのリスクが高かった。一方冬季においてシャワーを使用する群においてメタボリックシンドロームのリスクが0.8と低かった。なぜなのかその要因については、断面研究なので良く分からない。

浴槽のお湯の温度については、夏はぬるめに、冬は熱めになっている。お湯の温度とメタボリックシンドロームの危険度との関係はみられなかった。

入浴時間のカテゴリー別にみると、夏の方が短く、若い世代の方がより短い傾向がみられた。夏期の入浴時間が20分間以上の群において、メタボリックシンドロームの危険度が0.63と低かった。ゆっくりと入浴することはストレス発散にもつながり、からだにもよい可能性もあるかもしれない。

浴槽につかる部位も夏と冬では異なり、冬季の方が全身浴の割合が高かった。心臓の負担が少ないと言われている半身浴は、夏季で男性2割、女性4割がみられた。しかし、浴槽につかる部位別にメタボリックシンドロームの危険度を解析したが、関連性は認めなかった(data not shown)。

入浴時間帯については、夏季では特に男性が夕食前に入浴する方が4割いた。女性は夕食後就寝前に入る傾向があり、家庭内の入浴の在り方が覗かされたところである。冬季は体を冷やさないで、就寝前に入浴する傾向がみられ、就寝直前の入浴は体温が下がらず入眠障害の危険因子と言われているので、夕食後暫くしてから部屋をあたためながら入浴するなどの工夫が必要と思われる。

洗髪の頻度は夏季では男女とも60歳未満の方の7割は毎日洗髪している。後期高齢者の女性は4割毎日洗髪していた。冬季はその割合が低かったが、60歳未満の女性で半数が毎日洗髪し、後期高齢者女性は週2～3回洗髪していた。一方男性の方は冬季でも先発の頻度は多少少なくなる傾向はあるが60歳未満ではほぼ毎日洗髪していた。男性と異なり女性は髪の毛が長いので、毎日洗髪を行った場合、体を冷やすことにもなりかねないので、体調を鑑みながら洗髪する必要はあることと思われた。

入浴に心がけていることは、浴室を温めること、かけ湯、早めに汗を拭くことは比較的行われている。日常診療で実際に行っていることのうち、水分補給の為水を持ち込む、血圧の高い時には入浴を控えるということを指導しているが、実際はほとんど行われていない結果であった。水分補給、血圧高値時の対応については、今後の予防の指導で重要なポイントと思われた。また、入浴時の事故が後を絶たないので、一人で入浴をしないこともポイントではあるが、ほとんどすべての方が一人で入浴していることが明らかとなった。一人で入ると事故が起こった時の発見が遅れる、次の方へ入浴を譲る

為に短時間で済ませてしまう。ゆっくり入る為に家族と入るという事もあると思うが、習慣を変えることは難しい。

入浴時の問題点は、家族でお風呂に入るので、自分の好きなお湯の温度になっていないことがわかった。健康維持のために運動を行うことは大事な事であるが、運動直後に入浴をすると心臓に負担をかけるため、心事故の要因にならない様に、運動直後は避けるか、またはシャワーで済ませるなど工夫が必要に思われる。入浴中の転倒や意識消失発作は思った以上に少なかった。

研究の欠点は、先ず断面研究であることである。因果関係の逆転が起こりうるため、今後追跡していく必要がある。二番目は対象者が2千名と少ないことである。しかし、これだけ詳細な入浴の実態調査を行ったことは、わが国の入浴の実態が分かる結果であり貴重なデータといえる。さらにこの中で重要な問診を使って多くの対象者に調査をしていきたい。第3番目に、若い世代の入浴の実態調査が出来なかった。

Ⅴ．結論

都市部地域住民を対象に入浴の詳細な実態アンケート調査を行った。1592名の有効回答が得られた。入浴の頻度はほぼ毎日入る方が過半数いた。毎日入らない群の方が、夏季においてメタボリックシンドロームのリスクとなっていた。夏季はシャワーを使う傾向が、冬季は湯船につかる傾向が強かった。夏季に湯船とシャワーを半々使う群でメタボリックシンドロームのリスクが高かった。一方冬季にシャワーを使用する群でメタボリックシンドロームのリスクが低かった。入浴時間は夏の方が短く、若い世代の方がより短い傾向がみられた。夏期の入浴時間が20分間以上の群で、メタボリックシンドロームの危険度が0.63と低かった。入浴時間帯は、夏季で特に男性が夕食前に入浴する方が4割いて、女性は夕食後就寝前に入る傾向がみられた。入浴に心がけていることは、浴室を温めること、かけ湯、早めに汗を拭くことは比較的行われていたが、水分補給の水を持ち込む、血圧の高い時には入浴を控えるということを実際はほとんど行われていなかった。さらに、今後追跡を重ねて、因果関係のあるエビデンスを出していき、適切な入浴のエビデンスを重ねていきたい。

文献

1) Chishaki A, Nagahiro C, Nagaie T, et al. The Physiological Effects of Hot Bath Immersion of Human Body- For the Safe Bathing. Memorirs Kyushu U. Sch. Health Sci., 2002,29:9-19.

2) Kiyohara K, Nishiyama C, Hayashida S, et al. Characteristics and Outcomes of Bath-Related Out-of-Hospital Cardiac Arrest in Japan. Circ J. 2016;80:1564-70.

Follow-up study on the relationship between bathing and metabolic syndrome risk for urban residents

Yoshihiro Kokubo

Department of Preventive Cardiology, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Japan.

Abstract

[Background]

Although Japanese are likely the most race to enter baths and hot springs in the world, there are few epidemiological studies on daily bathing for general residents. In this study, a questionnaire survey on the actual condition of bathing for residents in urban areas is aimed at presenting the appropriate healthy lifestyle with bathing in Japan.

[Methods]

We conducted a questionnaire survey on the actual condition of bathing for residents in urban areas. An effective response of 1,592 people was obtained. I compared this questionnaire with recent health checkup data. Metabolic syndrome was defined as a metabolic syndrome when using international standards and having three or more constitutive factors. The relationship between each element of bathing and the constituent factors of metabolic syndrome was analyzed using a logistic regression model by age and sex adjustment.

[Results]

Bathing entered almost every day was a majority. The group not bathing every day was the risk of metabolic syndrome in the summer. The tendency to use the shower in summer, the tendency to use for bathtub strong in winter. The bathing time was shorter in the summer, and the younger generation tended to be shorter. In the group with a bathing time of more than 20 minutes in the summer, the risk of metabolic syndrome was as low as 0.63. The bathing time zone was 40% in the summer season, especially for men taking a bath before dinner, and the women tended to enter before going to bed after dinner. On the other hand, the risk of metabolic syndrome was low in the group using the shower in winter. The thing to keep in mind for bathing is warming the bathroom, bathing water, wiping sweat a little earlier, but bringing water for hydration is brought in, in fact, it is hard to refrain from bathing when the blood pressure is high.

[Conclusion]

We will pursue further pursuits in the future, provide evidence of a causal relationship, and repeatedly take proof of proper bathing.

Keywords: Bathing, bathing frequency, bathing situation, seasonality, metabolic syndrome

助成研究

温熱療法にともなう体温に依存した遺伝子発現のコントロール

Temperature-dependent gene expression in hyperthermia

程 久美子（てい くみこ）[1)]

1) 東京大学　大学院理学系研究科　生物科学専攻

（連絡先）
〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻　責任著者名　程 久美子

Key words: 体温　遺伝子発現　温熱療法

抄録

背景・目的　我々は、これまでに細胞温度が遺伝子発現を大きく調節する要因の１つである可能性を示す極めて独創的な研究成果を挙げている。本研究では温度に依存した遺伝子発現制御の分子基盤を明らかにし、病態や病因の温度に依存した影響を解明する。そのうえで本研究の成果が温熱療法による体温の変動に依存した新たな治療法や健康法の開発や改良に結びつくことを目指す。

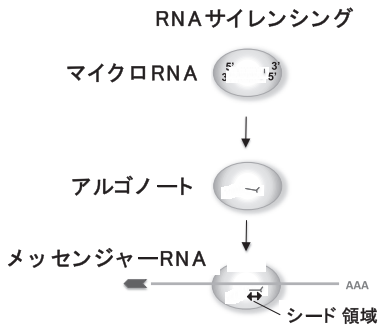
方法　本研究では、分子生物学的・細胞生物学的実験とバイオインフォマティックスを用いて、温度に依存した遺伝子発現調節機構を解析し、温熱療法によるさまざまな効用の生体における機序を明らかにする。

結果　生育温度の異なるショウジョウバエとヒトの培養細胞を用いて、マイクロRNAによる遺伝子抑制効率を検討した。その結果、マイクロRNAは塩基対合における熱力学的性質により遺伝子抑制効果が制御されているため、温度に依存した抑制効果を示すことが明らかになった。さらに、化学修飾によりマイクロRNAは塩基対合する相手の遺伝子群が一斉に変わる場合があるだけでなく、熱力学的性質が変化することで、遺伝子抑制効果も大きく変動することがわかった。さらに、マイクロRNA二本鎖のうち、化学修飾により機能するRNA鎖が変換するマイクロRNAが存在することが明らかになった。

考察　体温や生育温度によって遺伝子発現のパターンが変動する分子メカニズムは不明であった。本研究によりマイクロRNAによる、温度に依存した遺伝子発現制御機構を明らかにすることができた。そのため、少なくとも温熱療法によってマイクロRNAによる遺伝子発現パターンを変動させる機構の一旦を明らかにできたと考える。本研究を土台とし、今後、温度に依存した疾患の原因や治療法の解明に結びつく可能性も期待できる。

Ⅰ．背景・目的

体温や細胞温度は細胞の内部で起こるさまざまな生命活動に依存している一方で、さまざまな生命現象に影響を及ぼしている。代謝や行動、神経活動、あるいは約１日周期の体内時計、さらには性決定様式などには温度変化に依存した制御を受けるものがあることが知られているが、それらの温度による制御機構は未解明のものが多い。近年、食生活が大きく変わったことにより、病気も大きく変わったとされているが、その１つの理由は食生活の変化に伴う体温の変化と考えられている。がん細胞は、35ºCで最も増殖し、39ºCを越すと死滅することから、正常細胞よりも低温を好むことが知られており、低温で増えやすい性質をもつ。そのため、抗がん剤も身体を暖めながら使うと効果が高かったり、日本人特有の長寿の原因の１つとして風呂好きが挙げられることも、体温の上昇が関連することを意味しているのかもしれない。現代人において、心臓や脾臓のがんの発生率は低く、中空で冷えやすい臓器である食道、胃、胚、大腸、卵巣や子宮などにおけるがんの発生率は上昇していることも体温と癌の関連を裏付けていると言える。このように、重篤な疾病の中には、なんらかの機構により細胞内温度と病態が関連している可能性が考えられるが、その分子機構は明確ではない。また、頭部外傷、脳出血、くも膜下出血などですでに適応されている脳低温治療法では、体温を31～32ºCへ下げたり、がん細胞の温熱療法では42ºC以上でがん細胞を死滅させたりするという、温度を利用した治療法が適用されるが、このような処置により細胞内の遺伝子発現はどのような影響を受けるのか。また、熱中症や熱射病、あるいは冷え性や低体温症など、場合によっては生命を危機的状況にさらす、温度による健康障害も多く知られているが、このような障害における遺伝子レベルでの変動もよくわかっていない。我々



【 図１ 】マイクロRNAによる
遺伝子抑制機構

は、これまで遺伝子発現を制御する分子機構についての研究を行ってきたが、その過程において、細胞温度が遺伝子発現を大きく調節する要因の１つである可能性を示す極めて独創的で重要な研究成果を挙げている。本研究では温度に依存した遺伝子発現制御の分子基盤を明らかにし、病態や病因の解明、さらには温泉療法による体温の変動に基づく影響を明らかにし、新たな治療法や健康法の開発や改良に結びつけることを目的とする。

我々が見出した温度に依存した遺伝子発現制御機構はノンコーディングRNAによるものである。ノンコーディングRNAの一種であるマイクロRNAという約22塩基の小分子RNAは、相補的な塩基配列をもつ遺伝子のメッセンジャーRNAを、RNAサイレンシングという機構によって阻害することで、その遺伝子の機能を抑制することができる[1)]。マイクロRNAは大腸菌や酵母には存在しないが、ヒトなどの高等生物では多数存在するため、ヒト特有の高次生命機能や疾病に関わる因子の有力な候補と考えられている。実際、ヒトのマイクロRNAは個体の発生・分化だけでなく、脳神経系などの複雑な機能や、癌などの重篤な疾患にも関わっていることが明らかになってきている。このように、RNAサイレンシングはいまや高等生物における遺伝子発現制御機構の理解においては

無視できない必須の分子機構と言える。RNAサイレンシングは、マイクロRNAがアルゴノートというタンパク質の表面で安定に固定され、標的となるメッセンジャーRNAをRNAどうしの相補的な塩基対合により識別することで分解したり、翻訳抑制することで誘発される[2]（図１）。

われわれは先行研究で、RNAサイレンシングの強さの程度は、RNAとRNAの塩基対合の強さに依存していることを見出した[3), 4)]。RNAサイレンシングでは、マイクロRNAのシードと呼ばれる領域（マイクロRNAの5’末端から2～8塩基の7塩基）の配列が特に重要で、この領域が標的メッセンジャーRNAを識別して抑制作用を示すと考えられている[5), 6), 7), 8), 9), 10), 11)]。シード領域と標的メッセンジャーRNAの塩基対合における融解温度(Tm)や自由エネルギー(ΔG)を、バイオインフォマティックスを用いて最近接法によって計算すると、この領域にグアノシンとシチジンといった強く対合する塩基が多い、すなわち融解温度が高く、自由エネルギーが低いという特徴を示すマイクロRNAは標的遺伝子を強く抑制する。対象的に、融解温度が低く、自由エネルギーが高い、アデノシンとウリジンのような弱い対合を形成する塩基が多いマイクロRNAは標的遺伝子に対する抑制の程度が弱いことがわかった。このことは、核酸がもつ遺伝暗号を伝達するための塩基配列という基本的性質は、アミノ酸をコードする情報源あるいは塩基対合形成のための配列情報として機能するだけではなく、熱力学的性質によって遺伝子抑制の強さを規定する暗号としても機能することを示している。また、塩基という有機化合物の対合の強さといった物理化学的な性質は、一般に温度に依存して変動する性質をもつことがわかっている。そのため、生物の生育温度や細胞内温度が異なると、RNAどうしの塩基対合の強さが変化し、遺伝子の抑制効果が変動するという興味深い仮説が考えられた。すなわち、本研究は温度という環境要因が遺伝子発現を制御する１つの重要な要因であることを明確にする、独創的で新規性の高い研究である。それにより、温熱療法というヒトの体の温度を調節できるすぐれた仕組みをうまく利用することにより、ヒトの遺伝子発現のパターンを変化させることが可能となり、疾患や病態の解明、あるいは効率的で新しい治療法や健康法の開発に結びつくことが期待できると考える。

Ⅱ．方法

本研究では、分子生物学的・細胞生物学的実験とバイオインフォマティックスを用いて、温度に依存した遺伝子発現調節機構を解析し、温熱療法によるさまざまな効用の生体における機序を明らかにする。今年度は次の項目について研究を実施した。

１．ショウジョウバエ・ヒト細胞を用いた遺伝子抑制効果の解析

我々は、RNAサイレンシングにおいて、マイクロRNAによるメッセンジャーRNAの抑制効果は、マイクロRNAのシード領域と標的となるメッセンジャーRNAの相補的な塩基対合における熱力学的な安定性に依存することを明らかにした[3), 4), 5), 8), 9), 10), 11), 12)]。マイクロRNAのシードと標的メッセンジャーRNAとの対合力が強い場合には標的メッセンジャーRNAに対する抑制効果は強く、対合力が弱い場合には抑制効果は弱い。このような塩基対合の安定性は温度に制御される物理化学的性質であり、温度によって異なるため、同じマイクロRNAであっても、生育温度の異なる生物間、または同じ生物でも体温が異なる条件下、あるいは同一の細胞でも温度の異なる細胞内領域では、そのRNAサイレンシングによる遺伝子抑制効果は異なることが推定される。すなわち、生育温度

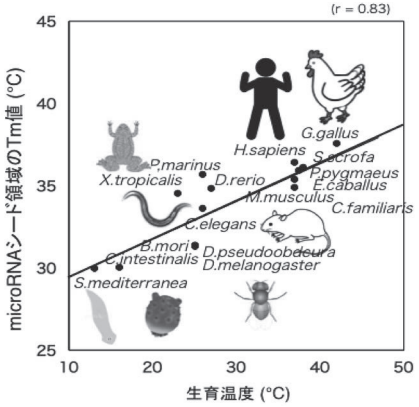
や体温が低い生物や細胞内の温度の低い場所では遺伝子抑制効果が強くなり、体温が高い場合や温度の高い場所では遺伝子抑制効果は弱くなると考えられる。このことを実験的に明らかにするため、まず生育温度の異なる生物を用いて遺伝子抑制効果の相違があるかを検討した。本研究では、その代表としてショウジョウバエとヒトを用いた。ショウジョウバエは通常25ºCで飼育される。ヒトの体温は37ºC付近である。これらの生育温度が異なる生物の培養細胞を、それぞれの生育温度で培養してRNAサイレンシング活性を測定した。RNAサイレンシング活性は、ルシフェラーゼレポーターアッセイ系を用いて実施した。

2．RNA修飾による温度の影響の検討

RNAはさまざまな化学修飾を受ける。アデノシンからイノシンへの変換によるA-to-I編集や、5-methylcytosine（m^5C）やN 6-methyladenosine（m^6A）はノンコーディングRNAにおいてもさまざまな影響を及ぼすことがわかってきている[13), 14)]。我々はマイクロRNAのシード領域に化学修飾が起こると、マイクロRNAの熱力学的性質に大きな影響があることを報告している[15)]。すなわち、マイクロRNAによる遺伝子抑制効果は、マイクロRNAに化学修飾が入ることにより、温度による影響も異なってくることを意味している。そこで、今回は、マイクロRNAに化学修飾が入ることにより、その標的遺伝子群が一斉に変換するだけでなく、熱力学的安定性の変化による抑制作用も大きく変わること、さらに二本鎖状態のマイクロRNAのどちらのRNA鎖が働くかという機能転換がおこるかどうかを検討した。

Ⅲ．結果

まず、本研究の妥当性を示す根拠として、生育温度や体温の異なる生物種において、どのようなマイクロRNAが進化的に保存されているかというデータを図２に示した。温度が低い環境下では、同じ塩基配列でも安定な対合が形成されるが、温度が高ければ不安定である。そのため、マイクロRNAは温度が低い環境下では標的となるメッセンジャーRNAの発現を強く抑制し、温度が高いと弱く抑制すると考えられた。すなわち、生育温度や体温が低い生物では、マイクロRNAのシード領域のTm値が低く、対合がゆるやかなマイクロRNAが選択淘汰され、生育温度が高い生物では、Tm値が高いマイクロRNAが多く、温度が高くても対合できるマイクロRNAが保存されている可能性が推定された。そこで、さまざまな生物種のマイクロRNAが登録されているmiRBase[16)]というデータベースのマイクロRNAを用いて、16種の生物のマイクロRNAのシード領域のTm値を解析した。体温の高い生物（たとえば、*G.gallus*＝ニワトリ，42˚C）の細胞内では高温のため塩基対合がおこりにくいと考えられるが、予想と一致してシードのTm値が高く塩基対合力が強いマイクロRNAが多く保存されていた。一方で、体温の低い生物（たとえば、*S. mediterranea*＝プラナリア、*C. intestinalis*＝ホヤ、10~15˚C; *D. melanogaster*＝ショウジョウバエ，25˚C）の細胞内では、低温で塩基対合



【 図２ 】環境温度に依存したマイクロRNAの進化

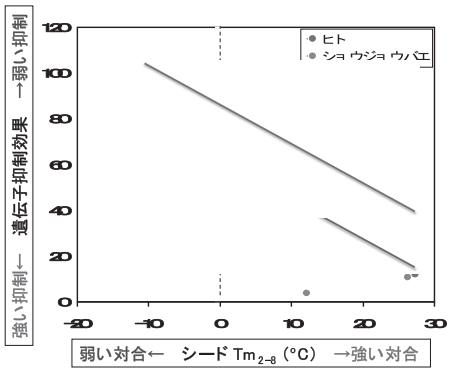
がおこりやすいことになるが、このような生物に保存されているマイクロRNAのシードのTm値は低く、塩基対合力が弱いものが多かった。さらに中間程度の体温の生物（たとえば、*H. sapiens* =ヒト、37˚C）のマイクロRNAは中間程度のTm値を示すという驚くべき結果が得られ、生育温度とマイクロRNAのシードの安定性は強い相関（相関係数＝0.83）があることがわかった。このことは、マイクロRNAによる遺伝子制御の温度依存的機構が進化的に淘汰された結果と考えることが可能であり、本研究の仮説を強く支持するものと考えられた。

このことを実験的に明らかにするため、生育温度の異なるショウジョウバエとヒトの培養細胞を用いて、遺伝子抑制効率を実験的に検討した。ショウジョウバエは25ºCで生育されるが、ヒトの体温は37ºC付近である。用いた12種類のmicroRNAによる抑制効果をルシフェラーゼレポーターアッセイ法で解析した結果、ヒト細胞の結果と比較し、ショウジョウバエ細胞ではすべてのmicroRNAがヒト細胞よりも強い抑制効果を示すことが明らかになった（図３）。

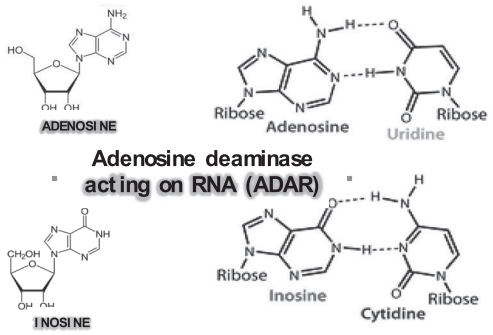
近年、マイクロRNAには様々な化学修飾が入ることが知られており、化学修飾によって何らかの遺伝子抑制機能に影響を与えていると考えられている。化学修飾は核酸の塩基対の熱力学的性質を変化させることから、われわれは化学修飾が温度に依存した遺伝子抑制効果に影響を与えている可能性について検討した。アデノシンは通常ウリジンと塩基対合を形成しているが、A-to-I編集により、アデノシンがイノシンに変換されると、イノシンはウリジンと対合できないため、シチジンと塩基対合を形成する（図４）。そのため、塩基対合する相手の遺伝子群が一斉に変わるだけでなく、遺伝子抑制効果も大きく変動することがわかった。さらに、より劇的な変化としてマイクロRNAは二本鎖RNAの状態から一本鎖RNAとなって機能するが、どちらのRNA鎖が働くかは最初の塩基配列によって規定されている。しかし、今回の解析から、修飾による熱力学的性質の変化により機能するRNA鎖が逆になるマイクロRNAが存在することが明らかになった（論文準備中）。

Ⅳ．考察

本研究により、ヒトとショウジョウバエでは同じマイクロRNAであっても、その抑制効果は温度に依存して異なることが明らかになり、進化的な仮説が実証できたと考えられる。RNAサイレンシングに関連したタンパク質が生物種によって異なる性質を持つ可能性も否定できないため、それらを人工的に置き換えた細胞で解析する方法も今後検討する必要があると考える。また生育温度の異なる生物種を用いた検討



【 図3 】ヒトとショウジョウバエ細胞における遺伝子抑制効果のちがい



【 図4 】Adenosine (A)-to-Inosine (I) RNA editing

は、他の生物種においても、さらなる検討を行う必要があると考える。また、化学修飾については、近年、ノンコーディングRNAにおける多種多様な化学修飾が見出されているが、それらの多くについては生物学的意味が不明である。したがって、今後、それらの温度の影響を明らかにしていくことで、疾患との関連性も明らかになることが期待される。

多くの疾患は遺伝子発現の異常によって誘導されると言っても過言ではない。一方で、体温や生育温度によって遺伝子発現のパターンが変動する分子メカニズムは不明であった。本研究は、温熱療法によって遺伝子発現パターンを変動させる根拠として大きなインパクトとなりえると考えられる。さらに、温度に依存した疾患の原因や治療法の解明に結びつく可能性も期待できる。

本研究では小分子ノンコーディングRNAに焦点をあてているが、ここで示そうとする塩基対合様式に依存した原理は、やはりRNAとして機能する高分子ノンコーディングRNA群においても共通に重要である可能性があり、本研究の進展により、高分子ノンコーディングRNAによって制御される幅広い生命現象における温度の影響も解明される可能性がある。

Ⅴ．結論

本研究により、小分子ノンコーディングRNAは体温や生育温度によって、その遺伝子抑制作用が大きく変動することが明らかになった。すなわち、遺伝子発現のコントロールにおいて、体温調節が極めて重要であることを明確にすることで、温熱療法をはじめとする体温変化を利用した治療法や健康法の重要性を示すことが可能と考える。

文献

1) Grishok, A., Pasquinelli, A.E., Conte, D. *et al.* Genes and mechanisms related to RNA interference regulate expression of the small temporal RNAs that control *C. elegans* developmental timing. ***Cell*** 2001, 106, 23-34.

2) Lee, Y., Jeon, K., Lee J.T. *et al.* MicroRNA maturation: Stepwise processing and subcellular localization ***EMBO J.*** 2001, 21, 4662-4670.

3) Hibio, N., Hino, K., Shimizu, E. *et al.* Stability of miRNA 5′ terminal and seed regions is correlated with experimentally observed miRNA-mediated silencing efficacy. ***Sci. Rep.*** 2012, 2, 996.

4) **Ui-Tei, K.,** Naito, Y., Nishi, K. *et al.* Thermodynamic stability and Watson-Crick base pairing in the seed duplex are major determinants of the efficiency of the siRNA-based off-target effect. ***Nucleic Acids Res.*** 2008, 36, 7100-7109.

5) **Ui-Tei, K.,** Naito, Y., Zenno, S. *et al.* Functional dissection of siRNA sequence by systematic DNA substitution: modified siRNA with a DNA seed arm is a powerful tool for mammalian gene silencing with significantly reduced off-target effect. ***Nucleic Acids Res.*** 2008, 36, 2136-2151.

6) Lewis, B.P., Burge, C.B., Bartel, D. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousand of human genes are microRNA targets. ***Cell*** 2005, 120, 15-20.

7) Grimson, A., Farh, K.K., Johnston, W.K. *et al.* MicroRNA targeting specificity in

mammals: determinants beyond seed pairing. ***Mol Cell*** 2007, 27, 91-105.

8) 高橋朋子、程久美子 (2017) RNA干渉法の核酸医薬への利用(1). 日本核酸医薬学会誌、21, 14-21.

9) 高橋朋子、程久美子 (2016) 核酸医薬とsmall RNA. DOJIN BIOSCIENCE シリーズ「ノンコーディングRNA」, 146-153, 化学同人.

10) 程 久美子 (2014) オフターゲット効果が少ない標的遺伝子特異的RNA干渉法. 遺伝子治療・診断の最先端技術と新しい医薬品・診断薬の開発, 技術情報協会.

11) 程 久美子 (2012) RNAiにおけるオフターゲット効果 Off-target control in RNAi. BIO INDUSTRY 核酸医薬の開発動向, 30-34, シーエムシー出版.

12) **Ui-Tei, K.** Is the efficiency of RNA silencing evolutionarily regulated ? ***Int. J. Mol. Sci.*** 2016, 17, 719.

13) Lian, H., Wang, Q.H., Zhu, C.B. *et al.* Decipering the epitranscriptome in cancer. ***Trends Cancer.*** 2018, 4, 207-221.

14) Jonkhout, N., Tran, J., Smith, M.A. et al. The RNA modification landscape in human disease. ***RNA*** 2017, 23, 1754-1769.

15) Kume H, Hino K, Galipon J, *et al.* A-to-I editing in the miRNA seed region regulates target mRNA selection and silencing efficiency. ***Nucleic Acids Res.*** 2014, 42, 10050-10060.

16) Kozomata A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. ***Nucleic Acids Res.*** 2014, 42, D68-73

Temperature-dependent gene expression in hyperthermia

Kumiko Ui-Tei[1)]

1) Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan

Abstract

[Background]

We have reported that “temperature” is a factor that controls global gene expression profiles. In RNA silencing, microRNA (miRNA), a small non-coding RNA, inhibits gene expression in temperature-dependent mechanism. In this study, we aimed to clarify the molecular basis of gene expression machinery, which may affect pathogenesis, depending on temperature.

[Methods]

In this study, we analyzed the regulatory mechanism of temperature-dependent gene expression mechanism using molecular biology and cell biology combined with bioinformatics.

[Results]

Gene repression efficiencies via RNA silencing by miRNAs were examined using cultured cells derived from *Drosophila* or human at different growth temperatures. As a result, it was revealed that the microRNA shows temperature-dependent repression effect on target gene expression. Such results are consistent with our previous result that RNA silencing efficiency by a miRNA is regulated by the thermodynamic property in base-pairing between a miRNA and target mRNAs. Furthermore, it was found that almost all of the target genes of a miRNA were changed by A-to-I type of chemical modification in the miRNA, and the gene suppression efficiency of the modified miRNA was strictly controlled by the changes of thermodynamic properties due to the chemical modification. Furthermore, it was revealed that the functional RNA strand within miRNA duplex is often converted by the chemical modification, since thermodynamic stability of base-pairing is also responsible for unwinding of miRNA duplex.

[Conclusion]

It was revealed that the molecular mechanism by which the pattern of gene expression by miRNA was changed depending on body temperature or growth temperature. Thus, the hyperthermia therapy should be one of the possible strategies for regulating gene expression patterns by miRNA. Based on this research, it is expected to elucidate the causes and treatments of diseases by miRNAs depending on temperature.

Key words: body temperature, gene expression, hyperthermia

助成研究

温熱効果を高めるシャワー方法の検討

Examination of the shower method to make hyperthermia effect

秋山雅代[1)]　大塚吉則[2)]

1) 北海道大学大学院教育学院
2) 北海道大学大学院教育研究院

（連絡先）
〒065-0013　北海道札幌市東区北13条東3丁目1-30　責任著者名　秋山雅代

Key words: 足湯　シャワー浴　温熱効果

抄録

背景・目的　本研究の目的は、シャワー＋足湯群とシャワー群の体温変化と心理的評価から温熱効果を分析し、足湯を使ったシャワーの温熱効果を検討した.

方法　研究デザインはクロスオーバーデザイン。20代の健康な女性10人を対象に、足湯の有無を条件にシャワー前後の鼓膜温、前腕皮膚温、足背皮膚温を測定した.主観的評価は気分プロフィール検査(POMS2短縮版)、温浴感4件法、自記式アンケートにて実施した.シャワーは被検者にセパレートタイプの水着を着用してもらった。椅子座位の姿勢で、検者が背部、上肢、胸、腹部、大腿の順に、40-41℃の温水を10分間繰り返し掛けた.足湯は両膝下10ｃｍまで40-41℃の湯に浸漬した.

結果　シャワー後の鼓膜温、皮膚温は両群が上昇した。足湯による体温の変化に有意な差はなかった.シャワー前後の気分プロフィール検査では、両群に「疲労-無気力」「緊張-不安」に改善があった。足湯併用群にのみ「活気-活力」に有意な増加が認められた(p=0.02).

考察　足湯を使ったことによる温熱効果は得られなかったが、「活力-活気」の改善は、温熱効果以外にも足湯併用の意義があると考えられる。

Ⅰ．研究の背景

臨床で実施される清潔援助には、入浴、シャワー、足湯や手浴などの部分浴や、温タオルによる清拭があり、患者の身体状況や活動レベルに合わせて選択される。しかしシャワーの単独実施での保温効果は低く[1)]、日本人はシャワーにおいても温かさを求めることが報告されており[2)]、日常的にシャワーの習慣がない高齢者は、シャワー時の寒さへの抵抗感を持つことや、シャワー後の寒冷刺激による循環動態の変化が懸念される。そのため看護師は、シャワーによる寒さを与えないように、浴室の準備の段階から終了後の更衣に至るまでの保温方法を工夫している。その1つにシャワー中の保温を目的として足湯を併用しており、看護師は、この「ひと手間」が単独のシャワーに比べて全身の保温効果があることを経験的に認識している。足湯の検証は様々な条件下において[3)-7)]、いずれも足湯の加温による深部温上昇、皮膚血流量の増加により全身への波及効果が示されていることから温熱効果を高めるシャワー方法として足湯を併用する効果が期待できると考えた。実際に臨床では足湯を併用したシャワーが行われているにもかかわらず、身体・心理面への影響を客観的に評価した研究は見当たらず、足湯の併用による身体の加温効果は十分に説明されていない[8)]。以上より、シャワーでの温熱効果を促進する方法として、足湯の併用を提案できるかを検討する余地があると考えた。足湯を併用したシャワーの温熱効果を示すことは、シャワーでの快適性を高める1つの方法として提案できることや、簡易的で安全に温熱効果が得られるシャワー方法を検討することは、人の健康的な生活において意味がある。

Ⅱ．研究目的

健康な成人女性を対象として、シャワーに足湯を併用する群（以下、シャワー＋足湯群）と、足湯を併用しない群（以下、シャワー群）の2群を設定し、身体・生理的指標から温熱効果の分析を行い、温熱効果を高めるシャワー方法としての有効性を探究する。

Ⅲ．研究方法

1．研究デザイン

本研究は、クロスオーバーデザインにより、全対象者に足湯を併用したシャワーと足湯を併用しないシャワーを実施した。足湯の温熱刺激は、翌日の持越し効果はないと考えWash-out期間を1日に設定した。

2．研究対象者の選択

(1) 対象者の選定

対象者は、健康な20代の成人女性とした。月経周期が比較的規則正しい方で、月経初日から8日目～13日目の卵胞期（低温相）を介入期間とした。対象者には実験前日から終了までの期間は普段と変わらない生活をしてもらった。前日の睡眠は6時間以上をとり、極端に刺激のある食事や激しい運動を避けて、当日の食事は実験2時間前に済ませてもらった。水分摂取は制限しなかった。

(2) データ収集方法

本研究は、同一対象者への介入であり、実施順を変えて全員が、シャワー＋足湯とシャワーのみを経験した。所要時間は、着替えなどのシャワー前後の準備と計測15分、シャワー前25分、シャワー10分、シャワー後30分として、1回約75分間の介入で1名につき2回実施した。

(3) データ収集期間

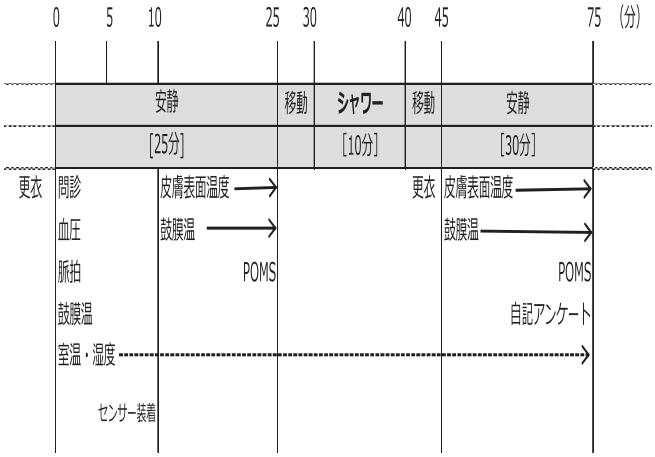
2017年6月1日～7月31日

(4) 実験手順

①実験環境

実験は、研究者が所属する大学構内の演習用ユニットバスで実施した。前室（更衣・

測定室）の室温は24～26℃、相対湿度50～60％に設定した。実験中に演習室内の出入りできないように、ドアに掲示し施錠した。実施時間は18時～19時30分に統一した。



(5) 測定項目

①生理的評価

入室時には、年齢、BMI、収縮期・拡張期血圧、脈拍、鼓膜温を測定した。皮膚温は、左前腕（肘内側中央部から末梢側10cm）と、左足背中央部の2ヵ所にセンサー(LT-8グラム社、精度0.01℃)を装着し1分毎に測定した。シャワー前の皮膚温は、入室後の安静により、室温に馴化したと考えられるシャワー前20分から25分の5分間の平均値を算出し、これをシャワー前の皮膚温とした。シャワー前の鼓膜温は手動式の耳式体温計（オムロンMC-510、精度0.1℃）により両耳で5分毎測定して、安静後20分の時点での数値をシャワー前の鼓膜温とした。

②主観的評価

心理的指標は、気分プロフィール検査を、POMS2日本語版成人用短縮版を使用して、両日のシャワー前後に測定した。シャワー後の温熱感覚は、質問を「温かさを感じる」として4件法でシャワー後の温かさをマークしてもらい、自由記載部分からシャワーでの感想の傾向を確認した。

(6) 測定方法

①実験手順

対象者に実験着に着替えてもらい身長と体重を測定して、椅座位での20分間安静時間に、血圧、脈拍、鼓膜温を測定した。問診により前日の睡眠時間や運動量、食事や当日の体調の確認と心理評価を行った。その後、皮膚温測定用センサーを装着し体温を測定した。足湯容器内の湯温は、浸漬前に対象者の足部で湯温を確認してもらい、41～40℃の範囲で準備した。対象者には椅子に着座後、足湯容器に足を入れていただき、研究者の介助により背部→上肢→前胸部→腹部→大腿の順で10分間繰り返し湯をあてた。洗体と洗髪は行わなかった。

(7) 分析方法

対象者の特性は、記述統計量を算出し対応のあるｔ検定で比較し、介入前の対象者の状態に差がないことを確認した。クロスオーバーデザインによる順序効果の影響は、分散分析により交互作用を確認した。体温は、ノンパラメトリック検定を用いて分析した。

(8) 倫理的配慮

本研究の開始にあたり、北海道大学大学院教育学研究院における研究倫理委員会の承認を得た(17-05)。

Ⅳ.結果

1．対象者の概要

対象者の平均年齢は、23.6歳（SD1.71）であった。BMI値の平均は21.03kg/m^2（SD1.71）で前回月経初日からの日数の平均は9.0日（SD1.56）であった。入室時の収縮期血圧は、シャワー＋足湯群が109.9mmhg（SD6.52）、シャワー群が108.90mmhg（SD10.29）であった。拡張期血圧はシャワー＋足湯群が71.2mmhg（SD6.27）、

シャワー群が68.1mmhg（SD8.03）であった。入室時脈拍数は、シャワー＋足湯群が76.3回（SD7.10）、シャワー群は70.1回（SD8.92）であった。入室時鼓膜温は、シャワー＋足湯群が35.89℃（SD0.53）、シャワー群が35.8（SD0.47）であった（表1）これらのベースライン値における対象者の身体的特性を、対応のあるｔ検定で比較した結果、両群間に統計学的に有意な差は認められず、各介入日における対象者の状態は同一であることを確認した。また、介入順序による等質性を確認した結果、交互作用は認められなかった。

表１

n=10

	シャワー+足湯群	シャワー群	p値
年齢（歳）	23.60±1.71(24.0)		
BMI（kg/m^2）	21.03±1.71(20.45)		
月経後日数（日）	9.0±1.56(9.5)		
入室時収縮期血圧（mmHg）	109.9±6.52(110)	108.90±10.29(107)	0.71
入室時拡張期血圧（mmHg）	71.2±6.27(70)	68.1±8.03(68)	0.14
入室時脈拍（回）	76.3±7.10(76.5)	70.1±8.92(68.5)	0.07
入室時鼓膜温（℃）	35.89±0.53(36.15)	35.8±0.47(35.95)	0.71

mean±SD（中央値）

２．鼓膜温の変化

シャワー前の鼓膜温では、両群の平均値に有意な差はなく、各シャワー浴前の対象者の状態は同一であることを確認した（ｔ(9)=0.79，ｐ=0.45）。シャワー前後の鼓膜温は、シャワー＋足湯群で0.36℃、シャワー群は0.21℃の上昇であり、シャワー後の鼓膜温はシャワー＋足湯群が高く推移した。両群ともにシャワー後5分をピークに徐々に下降し、シャワー後30分の時点でもシャワー前の皮膚温には戻らなかった。シャワー＋足湯群とシャワー群の間には、統計学的に有意な差は認められなかった。

３．前腕皮膚温の変化

前腕部の皮膚温は両群間に統計学的に有意な差は認められなかった。両群ともにシャワー直後まではほぼ同じ温度で上昇したのち、シャワー後はシャワー＋足湯群よりシャワー群がわずかに高く推移していた。また、両群ともシャワー後30分を経過しても、シャワー前の皮膚温に戻ることはなく維持されていた（図1）。

４．足背皮膚温の変化

足背皮膚温は両群間に統計学的に有意な差は認められなかった。両群ともにシャワー直後急速に上昇しシャワー＋足湯群は5分後の34.45℃をピークに、シャワー後30分においてシャワー前の皮膚温より高く維持されていた。（図2）

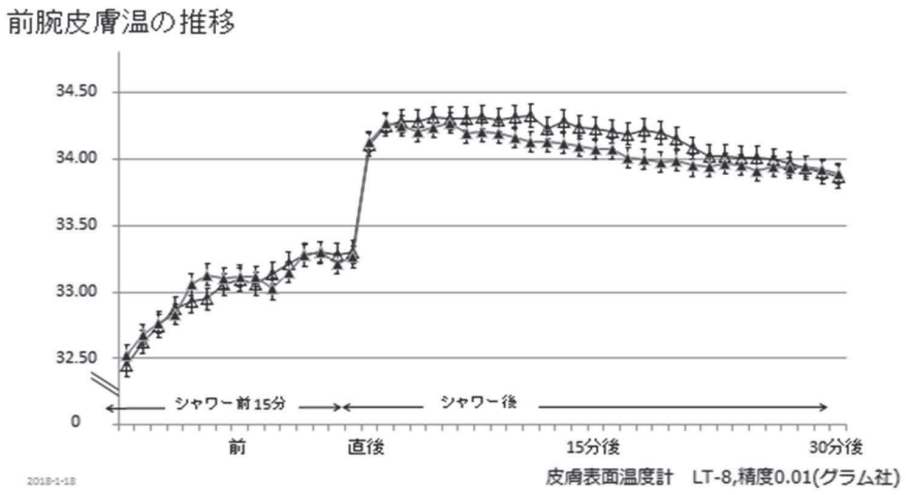


図1　前腕皮膚温

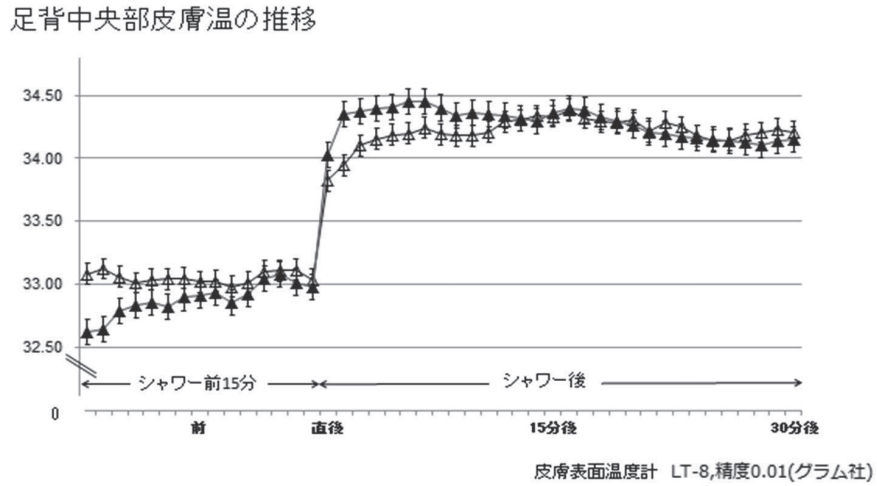


図 2　足背中央部皮膚温

5．対象者の気分の変化

①日本語版POMS2成人用短縮版T得点の変化

シャワー群では、シャワー前後で「疲労-無気力」、「緊張-不安」に統計学的に有意な差が認められた（$p < 0.01$）。シャワー＋足湯群では、「疲労-無気力」「緊張-不安」（$p < 0.01$）、「活気-活力」に差が認められた（$p < 0.05$）。

②自記式アンケート・４件法

質問項目を「シャワー後に温かさを感じる」として、シャワー後の温熱感覚を、「1:そう思わない、2:ややそう思う、3:そう思う、4:とてもそう思う」の４件法で測定した。その結果、シャワー＋足湯群の得点の平均値が3.56点、シャワー群の平均得点は2.45点であった。両群の平均値の差を比較した結果、両群に統計学的に有意な差が認められた（$t(16)=3.54, p < 0.001$）。

Ⅴ．考察

本研究では、仮説を「シャワー群と比較してシャワー＋足湯群の体温が上昇し、保温効果が持続する」として、足湯の併用はシャワーの温

熱効果に寄与するかを検証した。

1．体温の上昇と保温効果について

今回の検証では、下腿部の加温による温熱効果とシャワーの水圧によるマッサージ効果によって皮膚血流が促進され、足湯で加温された血液の静脈環流により全身の温熱効果が高まることを予測したが、期待した結果は得られなかった。足背皮膚温の上昇は、下腿部の加温により皮膚血管が拡張して皮膚血流が増加した結果であるが、深部温の上昇に伴う熱放散反応ではなく、浸漬したお湯からの直接の熱伝導により下腿部皮膚表面が温まったことによる反応と考える。そして、足湯により加温された分だけシャワー群よりも皮膚温と室温の間に温度差が生じたことで、特に被覆されていない下腿部や両前腕部の皮膚表面からの気化熱が促進された結果、シャワー＋足湯群の皮膚温低下に影響したと推測する。皮膚温は「皮膚表層から外界への熱放散量」と「皮膚深層部から皮膚表層への熱供給量」のバランスによって決まる[9]とされていることから、今回の条件設定においては、シャワー後の鼓膜温は上昇したが、両群のシャワー後の最大値や温度推移が近似していたことから、足湯の併用による温熱効果については言及できなかった。また、前腕皮膚温も両群に差がなかったことから、下腿部の足湯で温められた血液の静脈還流により遠位部である前腕の皮膚血流が増加するほどの皮膚血管の拡張がなく、シャワー後は前腕部皮膚温と室温との差による放熱が促進された結果、足湯の併用による温熱効果が得られなかったと考える。

局所の加温の効果は、加温部位や方法によって異なり、加温部位の皮膚温や温感が上昇するだけではなく加温部以外への波及効果を生じ、全身的な温感が上昇する効果がある[10]とされ、足湯を併用したシャワーでは、遠位部である前腕皮膚温が、シャワー後5分をピークに下降し、シャワー単独と近似した下降傾向を示している。手浴により遠位である足背部の皮膚温が上昇し、手浴後30分を経過しても皮膚温が低下しなかった[11]結果と同様に、足湯により温められた血液の静脈還流により遠位部である手部および前腕部への波及効果が得られ、シャワー後「ポカポカする」「上半身が温かい」といった対象者の温かさの自覚に影響した。しかし、鼓膜温と前腕部皮膚温の変化からは足湯の併用による全身的な温熱効果を得るまでには至らなかったことが推測される。よって今回の検証では、対象者に温かさの自覚は得られているが、足湯併用の有無による体温の変化に差がなかったことや、手部の皮膚温の計測をしていないこと、足湯のみの群を設定していないことから比較できないため保温効果は言及できなかった。

2．主観的評価における足湯併用の効果について

主観的評価では、シャワー単独の実施でも疲労や緊張は改善したが、足湯の併用により、「疲労-無気力」や「緊張-不安」の改善とともに「活気-活力」にプラスの改善が認められた。健康な成人女性において足湯併用による「活気-活力」の改善が得られたことは有病者への効果が期待できる。つまり「活気-活力」の改善は、有病者の日常生活での意欲や、体が軽くなることを自覚することで活動性が向上するといった気分や行動に影響することが示唆された。また、臨床では、足湯はリラクゼーションや入眠を促す看護ケアとして取り入れられているが、足湯を併用したシャワーが「活気-活力」を高める効果があることから、夜間よりも日中活動時間帯に行うことが有効であると考え、入院中の患者の生活時間帯において活用できるシャワー方法であるといえる。このように足湯を併用したシャワーは、対象者の気分に作用することが期待される方法である。今回、健康な成人女性を対象にしたシャワーに足湯を併用した温熱効

果は、シャワー単独実施との比較において鼓膜温と皮膚温に差がなかったことからは足湯併用によるさらなる温熱効果は得られなかったが、シャワー後の主観的評価における「活気-活力」の改善は、足湯の併用によるシャワーの温熱効果であることが考えられた。

Ⅵ. 結論

(1) 湯温40℃の足湯を併用した10分間のシャワーでの鼓膜温は、両群の最大上昇量や温度推移は近似していることから、足湯併用による温熱効果は得られなかった。

(2) 鼓膜温、前腕皮膚温、足背部皮膚温はシャワー後30分間を経過しても高値で維持していたが、足湯併用による、さらなる温熱効果は得られなかった。

(3) シャワー前後の主観的評価では両群ともに「疲労-無気力」、「緊張-不安」が改善し、足湯併用群にのみ「活気-活力」の改善があったことは、足湯併用による温熱効果と考えられ、特に有病者にとっては足湯を併用する価値があることが考えられた。

文献

1) 美和千尋,河原ゆう子,岩瀬敏他.(2004). 全身浴,半身浴,シャワー浴がエネルギー消費量に及ぼす影響,自律神経,41(5),495-501.

2) 岡本美南,佐藤稔,小代禎彦.(2015). シャワーの快適性に影響する要因の分析-日本,台湾の比較,日本感性工学会論文誌,Vol.14No.173-180.

3) 田中紀行,杉村公也,島崎博也他.(2009). 足浴による温熱作用が健常成人の運動機能に与える影響‐性差による足浴温熱効果の特徴,日温気物医誌,第72巻2号,141-147.

4) 藤平保茂,中村美砂,久利彩子.(2014). 温水での下腿浴における身体への影響には水位が関係するか-温熱終了直後の比較を通じて,日本未病システム学会誌,20(1),49-53.

5) 美和千尋,島崎博也,出口晃他(2016). 部分浴である足浴および手浴の体温応答,日本温泉気候物理医学会雑誌,Vol.79,No.2,106-111.

6) 清水三紀子,永谷幸子.(2015). 成人女性を対象とした生理・心理的評価に基づく足浴の最適な「水深」の検討,日本看護科学会誌,Vol.35,18–27.

7) 児玉有子,井上範江,橋口暢子.(2008). シャワー浴時の生理的変化-手術を控えた婦人科系疾患患者と健康な女性との比較-,日本生理人類学会誌,VoL.13,No.2.

8) 尾形優,金子健太郎,熊谷英樹他.(2009) 保清を目的とした看護技術（清拭・シャワー浴・入浴法）が生体に及ぼす影響について-シャワー浴対応型ホルタ―心電計を用いた自律神経機能評価-,茨城キリスト教大学看護学部紀要第1号,65-70.

9) 三枝岳志(編). 山蔭道明(監).(2005). 体温のバイオロジー体温はなぜ37℃なのか,メディカル・サイエンス・インターンショナル,LiSA増刊,29-39.

10) 小柴朋子編(2010). 彼末一之(監). からだと温度の辞典,朝倉書店.260-262.

11) 加藤美穂,新見絵理,原田亜沙美他.(2005). 異なる湯温を用いた手浴が皮膚温,温度感覚および快適感に及ぼす影響,米子医誌,56,122-130.

Examination of the hyperthermia effect of the shower using the foot bath

Masayo Akiyama[1)], Yoshinori Otsuka[2)]

1) Graduate School of Education, Hokkaido University
2) Faculty of Education, Hokkaido University

Abstract

[Background]

The purpose of this study analyzed hyperthermia effect from body temperature change of shower + footbathing group and the shower group and a psychological evaluation and examined the hyperthermia effect of the shower using the footbath.

[Methods]

Both groups increased the Tympanic temperature, the skin temperature after the shower.

[Results]

A change of the temperature by the footbath did not have the significant differ
ence. By the examination for mood profile before and after the shower, "Fatigue-lnertia "and "Tension-Anxiety" included improvement in the both groups(p=0.02).

[Conclusion]

The hyperthermia effect by having used the footbath was not obtained, but the improvement of "Vigor-Activity "as well as hyperthermia effect of the footbath combination is thought to be important.

Key words: Foot bath, Shower, Hyperthermia effect

助成研究

冷え性の病態と原因に関する研究
－舌下温、体表温、静脈血ガスとタダラフィル内服の効果－

Pathophysiology and Etiology of Hie-Syndrome
Body temperature, Venous Gas and The Effects of PDE-5 Inhibitor Tadarafil

田中信行[1)]　皆川 翼[2)]　大久保健作[2)]

1）鹿児島大学　名誉教授
2）社会医療法人社団 大久保病院

（連絡先）
〒892-0846　鹿児島県鹿児島市加治屋町3-6　田中信行

Key words: 冷え性　深部温　一酸化窒素　静脈血ガス分析　タダラフィル

はじめに

「冷え性」は我が国の成人女性の半数以上に見られ、冬季寒冷時に手指や下腿の強い冷感を自覚するもので、それに伴う身体の不調等がある場合は「冷え症」と言われる。

漢方や東洋医学では冷え性には「淤血」と云われる病態があるとされ、重要な治療対象となっているが、西洋では特に病理学的異常が証明されないため、「Chillness of The Hands」あるいは単に「Chill Sensation」という症候的な記述しかない。またその研究も臨床症状や併発症状、手指の血流低下や冷水負荷時の温度回復不良、漢方薬の効果等の報告はあるが、その病態生理や発症機序に関する研究は少ない[1-3)]。

筆者は入浴や温泉研究の中で、健常者でも静脈血が「黒い」人と「赤い」人があり、黒い血液はpO2分圧が低く、pCO2分圧が高く、冷え性患者では黒い血液が多いことに気付いた。また両者の動脈血ガスは正常で、黒い静脈血も入浴や砂浴、サウナで鮮紅色となり、pO2が著明に上昇し、pCO2が低下することも報告して来た[4),5)]。

上記の観察から、冷え性は「寒冷による静脈系の過収縮」であると考え、今回、冷え性のある女性とない女性について、寒冷による深部および体表温の変化と静脈血ガス分圧について検討した。また静脈収縮の原因として一酸化窒素（NO）の関与を推測し、NOの血管拡張の本質であるCyclic GMPの分解酵素Phosphodiesterase 5（PDE-5）阻害剤タダラフィル（TDF）の効果についても検討した[7),8)]。

Ⅰ．研究の対象と倫理委員会、COI

対象者は50才以下の健常女性で、冷え性の自覚のある者10名（29.8 ± 5.3才）とそれのない者7名（ 26.4 ± 3.5 才）で、生理期間中の者は除いた。

研究の目的と内容は大久保病院倫理委員会の承認を貰い、また各人に研究内容を文書で説明して同意を得た。日本健康開発財団の助成金以外に、開示すべきCOIはない。

Ⅱ．測定の項目と方法

血圧と心拍はデジタル血圧計で測定し、深部体温の指標としては舌下温をデジタルサーミスタを舌下に含ませ、経時的に測定した。表在温は赤外線デジタル体温計を用いて、前額部、手背部、下腿前面で測定した。

静脈血ガス分圧（pO2, pCO2）とpHはGastat 603を用いて、採血後可及的速やかに測定した。また第２指において、指尖動脈血酸素飽和度をパルスオキシメーターで測定した。

Ⅲ．研究の方法

研究は気温の低い11月から３月初旬にかけて、外気温12度以下の晴天の午後とし、冬季の通常の衣服着用下に行った。

正中静脈に23Gテフロン留置針を入れ、ヘパリン加生食でロックした。動脈血ガス採血用の1ml注射器を用いてうっ血を避けて採血し、以下の３条件下で測定した。

１．室内は空調のある常温約23℃のリハ室で、夕刻30分安静後の測定

２．室外は寒い風除け室（約12℃）で、夕刻30分安静後の測定

３．その終了後にPDE阻害薬タダラフィル10mgを内服させ、翌日の夕刻に上記1, 2の測定を繰り返した。

統計処理は、冷え性あり群と無し群の比較は対応のないStudent　t-テストで検定し、タダラフィル内服前後の比較はその差を求めて対応のあるt-テストを行った。

Ⅳ．結果

温度による静脈血色調とガス分圧の変化：

図１は健常女性の室温23℃と寒い室外12℃、及び41℃、10分入浴後の前腕静脈血の色調と血液ガス分圧の変化である。

23℃の室温に比べ、寒い10℃での静脈血はpO2が著明に低下し、pCO2は上昇し、pHは酸性化し、色調は暗黒色となった。一方、41℃、10分の入浴後には著明なpO2の上昇、pCO2の低下、pHの上昇が見られ、色調は動脈血のように鮮紅色となった。

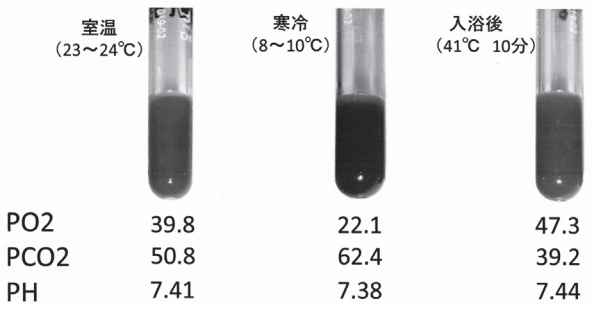


図１．健常女性の23℃室温と10℃の寒冷環境、および41℃、10分入浴後の静脈血色調の変化とガス分圧の変化

舌下温：　図２は左に無投薬下での舌下温の冷え性群と冷え性なし群の室内、外での比較を、更に右にTDF内服後の両群の室内外での変化を示した。

両群の室内での舌下温は同等だが、室外では冷え性群では平均－1.9℃低下し、冷え性なし群でも－1.1℃低下したが、低下度に有意差はなかった。しかしその低下度は後述の手背や下腿の室外での－7℃ から－9℃低下に比べ軽かった。TDF内服後はその低下度は両群約0.4℃改善したが、その改善度は両群大きな差はなかった。

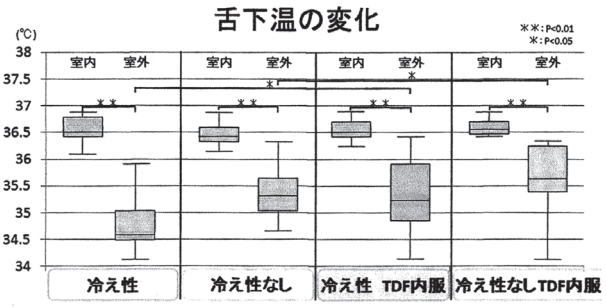


図2．冷え性群と冷え性なし群の室内（23℃）と寒い室外（12℃）における舌下温の変化とタダラフィル（TDF）10mg服用後の変化

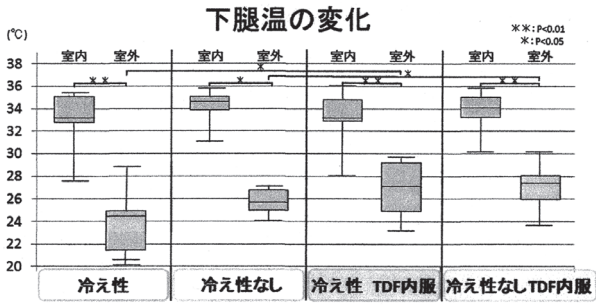


図4．冷え性群と冷え性なし群の室内（23℃）と寒い室外（12℃）における下腿温の変化とタダラフィル（TDF）10mg服用後の変化

手背温：　図3は手背温の変化を示すが、寒い室外での冷え性群の温度低下が－9.3℃と最も大きかったが、冷え性無し群でも－7.1℃低下した。TDF内服後もその低下度は大きくは変わらなかった。

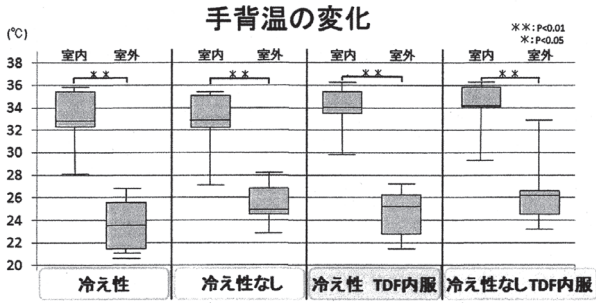


図3．冷え性群と冷え性なし群の室内（23℃）と寒い室外（12℃）における手背温の変化とタダラフィル（TDF）10mg服用後の変化

下腿温：　図4は下腿温の変化であるが、室外では冷え性群で－8.6℃と大きく低下し、冷え性無し群でも－8℃低下した。TDF内服でその低下度は両群とも約2.3℃～1.3℃有意に少なくなり、特に冷え性群での改善度が有意に大きかった。

静脈血pO2とpCO2：　図5は上肢静脈血pO2の変化を、図6はpCO2の変化を示す。冬季寒冷時のためか、室温でも上肢静脈血のpO2は常温の40mmTorr台から30 mmTorr前後に低下し、pCO2は常温の40mmTorrから50mmTorr前後に上昇していた。室外ではpO2は更に有意に低下し、pCO2は更に有意に上昇し、色調も暗赤色となったが、両群で有意差はなかった。TDF内服により、寒い室外でのpO2、pCO2は改善するが、そのTDFによる変化は両群で有意差はなかった。

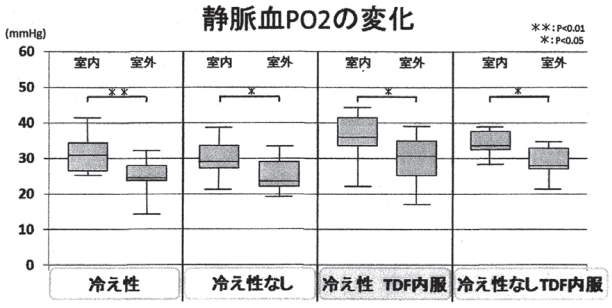


図5．冷え性群と冷え性なし群の室内（23℃）と寒い室外（12℃）における上腕静脈血酸素分圧（pO2）の変化とタダラフィル（TDF）10mg服用後の変化

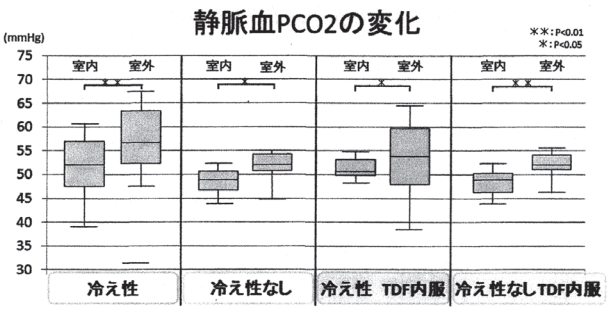


図６．冷え性群と冷え性なし群の室内（23℃）と寒い室外（12℃）における上腕静脈血炭酸ガス分圧（pCO2）の変化とタダラフィル（TDF）10mg服用後の変化

指尖動脈血酸素飽和度：　パルスオキシメーターによる指尖動脈血酸素飽和度は、冷え性あり、なし群とも95～97％と全員正常域だった。

V. 考察

冷え性では四肢末梢の冷感やチアノーゼ、皮膚温と血流の低下、冷水負荷時の皮膚温の回復不良の報告が多く、本症に末梢の血流障害があることは間違いない[1-3]。

始めに述べたように、筆者は冷え性患者では「静脈血が黒い」、即ち静脈血pO2 分圧の低下、pCO2分圧の上昇が多いことに気付いた。しかし両者の動脈血ガス分圧は正常で、また黒い血液も入浴や砂浴、サウナ浴で鮮紅色となり、pO2 分圧、pCO2の異常も改善されることから、寒冷による末梢静脈系の過剰収縮を推測してきた[4),5)]。

今回、冷え性のある女性とない女性について、室温と室外での舌下温、上下肢表在温、上腕静脈血ガス分圧を比較し、さらに一酸化窒素（NO）のSecond Messengerである Cyclic GMPの分解酵素、PDE-5阻害薬タダラフィルの効果も検討した。その結果、

１．室温での舌下温は冷え性の有無で同等だったが、室外では冷え症群がやや低かった。

２．寒冷下では両群の手背、下腿温は著明に低下し、冷え性群で大きい傾向だった。TDF内服でこれら体温低下は軽減し、その変化は冷え性群で大きい傾向にあった。

３．寒冷下では両群の上肢pO2の低下、pCO2の上昇が見られ、TDFで改善するが、その改善度に両群で有意差はなかった。

４．指尖動脈血酸素飽和度は、室内、寒い室外とも両群すべて正常域にあった。

冷え者の手足の温度低下は末梢だけか、全身的な体温低下もあるかだが、今回の検討では深部体温を示す舌下温は室内では両群は同等で、室外での低下度も差がなく（図２）、全身的な低体温、即ち強い温熱産生の低下や放熱過剰はないものと思われる。

また冷え性者の動脈血ガスの異常はなく、末梢静脈血のpO2の低下、pCO2の上昇が見られた事は、寒さに晒される表在静脈の収縮による血液うっ滞を強く示唆する。静脈うっ滞により、末梢組織と赤血球間のO2摂取とCO2放出の時間が長くなり、末梢静脈血のpO2の低下、pCO2の上昇が見られることになる。

表在静脈のうっ滞は皮膚の毛細管血流も低下させ、皮膚温の低下や皮膚の代謝障害からしも焼け等も出来やすくなる。しかし深部静脈の障害はなく、冷え症で明らかな浮腫や筋、軟部組織の異常は起こらない。結局、冷え性の病態の基本は「表在静脈の寒冷による過剰収縮」であり、今後本症における「静脈血ガス分析」の重要性を強調したい。

冷え症の原因として、自律神経や内分泌系の異常への言及が多いが、明確なデータはない。一方、Yamadaらはブシ根茎の服用で、冷え性患者の血中NOxの増加や血流改善を報告しており、また黒大豆ポリフェノールやオリゴノール、ヘスペリジンがNO分解の防止や血管内皮機能を改善して血管拡張、血流改善を来すという報告もある[6)]。

筆者は本症の寒冷時の静脈収縮が入浴で著明に拡張する事から、温熱性血管反応に重要な一

酸化窒素（NO）の関与を想定し、NOのSecond Messenger であるCyclic GMPの分解酵素、PDE-5阻害薬タダラフィルの効果も検討した[7),8)]。タダラフィル投与後は、室外での手足の温度低下や静脈血ガス分圧の悪化が軽減され、冷え性にNOに関連した静脈収縮の関与の可能性が示唆された。今回タダラフィルは少量10mgのため変化は有意ではないが、今後の冷え性の原因や治療の検討に重要な所見と思われる。

また富永らのTRP(Transient Receptor potential ）V1の発見以来、唐辛子カプサイシン、生姜ジンゲロン等の生薬、辛味成分の温度や痛みに反応する多数の受容体が見つかり、その複雑な血管代謝への関与やNOとの関連は興味ある課題である[9),10)]。

謝辞

本研究は大分県竹田市の大久保病院の全面的協力で行われたもので、大久保理事長はじめリハ部OT皆川係長、その他職員の皆様に深く感謝致します。

文献

1) 後山尚久：冷え症の病態の臨床的解析と対応－冷え症はいかなる病態か、そして治療出来るのか：医学のあゆみ、2005：215（11）：925－929
2) 西川桃子、我部山キヨ子：冷え症の定義、測定、特徴および妊婦の冷え症に関する文献レビューと今後の研究の方向性：健康科学、2009：6 ：57－65
3) 森英俊、坂口俊二、坂口友美他：冷え症の負荷サーモグラフィー：Biomedical Thermology,　2006a：25（4）：87－93
4) 田中信行、日吉俊紀　他：人工炭酸泉浴による本態性高血圧症の血圧、循環機能の変化：日温気物誌、1987：50（2）：87－93
5) 田中信行：私の温泉・入浴・サウナ・運動・リハ医学に関する研究の歴史：日温気物誌、2016：79（2）：97－184
6) 中永士師明：ブシ単独服用による手指皮膚温および組織血流量に及ぼす影響　日東医誌、2008：54（5）：809－812
7) Ignarro, L. J. Buga, G. M.　Wood, K. S. Byrns, R. E. Chaudhuri, G.: Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proc. Natl. Acad. Sci. 1987: 84: 9265–9269
8) Arnold, W. P.　Mittal, C. K. Katsuki, S. Murad, F.: Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3',5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. Proc.Natl. Acad.Sci. 1977: 74: 3203–3207,
9) Minke B and Cook B：TRP channel proteins and signal transduction. Physiol. Rev. 2002：82：429－472
10) Tominaga M, Caterina M.J, Malmberg A.B, Rosen T. A, Gilbert H, Skinner K, Raumann B.E, Basbaum A.I and Julius D：The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. Neuron 1994. 21：531—543

Pathophysiology and Etiology of Hie-Syndrome
Body temperature, Venous Gas and The Effects of PDE-5 Inhibitor Tadarafil

Nobuyuki Tanaka, MD[1)], Tsubasa Minagawa, OT[2)], Kensaku Okubo, MD[2)]

1) Emeritus Professor, Kagoshima University
2) Okubo Hospial

Abstract
[Background]
Hie-syndrome is common in females and complains of severe chillness of the hand and foot in cold season. Although endocrinological or autonomic disfunctions were proposed, there were few reports regarding the etiology of Hie-Syndrome. From the findings of chillness and dark coloring of the extremities, we supposed increased venous contraction by cold. Then we studied the effects of cold exposure on body temperature, venous gas and the effects of phosphodiesterase-5 inhibitor Tadarafil (TDF).

[Subjects and Methods]
Subjects were 10 females with Hie-syndrome and 7 females without Hie under 50yrs. Studies were done at November to March, on outdoor temperature below 12 centi-degree. A Teflon tube was placed in cubital vein to take blood for venous pO2 and pCO2 measurement. Finger pulse-oximeter was set, and sulingual temperature was examined by electronic thermistor and limb temperature by ultra-red ray thermometer after 30min sitting in warm room and cold room (12 degree). Then 10mg TDF was administered, and same studies were done on next day.

[Results]
Finger tip O2-saturation and sublingual temperature at warm room (23°C) was normal in both groups. Hie group showed, compared to No-Hie group, marked decrease in sublingual and limb temperature and venous pO2 pressure at cold room (12°C). The improvements after 10mg TDF on limb temperature and venous pO2 and pCO2 during cold exposure were observed more prominently in Hie-group.

[Consideration]
Normal finger oximeter (arterial O2-saturation) in both groups, marked decrease in body temperature and venous pO2 after cold exposure in Hie-syndrome indicated that Hie-syndrome has not arterial but venous abnormality. Prominent improvement of body temperature and venous gas by TDF seem to highly suggest excess cold contraction of peripheral vein in Hie-syndrome, possibly due to disturbed venous NO-synthesis.

Key words: Hie Syndrome, Deep body temperature, Nitric oxide, Venous gas analysis, Tadarafil

日本健康開発雑誌 第39号

２０１８.６

編集発行　　一般財団法人　日本健康開発財団
〒103-0027　東京都中央区日本橋3-1-4
画廊ビル8階

電話　(03) 5290-1621
Fax　(03) 5290-1622