

学位論文の要旨

論文題目 The mechanisms of the central nervous system behind the ergogenic and hyperthermic effects of caffeine in the rat
カフェインによる運動能力向上及び体温調節反応に関わる中枢神経機構の解明

広島大学大学院総合科学研究科
総合科学専攻
学生番号 D126937
氏 名 鄭 鑫焱

論文の要旨

第1章 序論

カフェイン(CAF)は様々な様式の運動能力を向上させることが報告されている。近年、CAFの中枢神経系に対する効果として、CAFが脳内における神経伝達物質の放出(特にドーパミン:DA)に影響を及ぼし、運動能力を向上させるという仮説が注目されているが、それを証明する研究はこれまで報告されていない。DAは興奮性神経伝達物質であり、認知、覚醒、運動継続のモチベーション、ムードおよび運動制御に影響を及ぼし、運動能力の変化に関与することが報告されている。さらに、体温調節中枢である視索前野・前視床下部(PO/AH)におけるDA作動神経系の活性は、体温調節機構に作用し、特に高体温による疲労を抑制し、約40℃という体温の危機的限界レベルを超え、運動能力の向上に関与することが認められている(Balthazar et al., 2009 & 2010)。また、CAFにより、運動中における脳内のDA放出が上昇すれば、高体温による疲労を抑制する可能性がある。しかし、そのメカニズムは未だ証明されていない。以上のことから、本研究ではCAFによる運動能力向上及び体温調節反応に関わる中枢神経機構を明らかにすることを目的とした。この目的を達成するため、CAFが持久性運動能力、運動中における体温調節反応及び脳内の神経伝達物質の放出に及ぼす影響を観察し、DA作動性神経系の遮断及びアデノシンの活性がCAFによる持久性運動能力、体温調節反応及び脳内の神経伝達物質の変化に及ぼす影響を検討した。

第2章 実験手法

本章では、マイクロダイアリシス-高速液体クロマトグラフィー法による脳内神経伝達物質の測定、テレメトリー法による腹腔温(T_{core})の測定、動物呼吸代謝システムによる酸素摂取量($\dot{V}O_2$)の測定及び熱電対による尾部皮膚温(T_{tail})の測定について説明した。マイクロダイアリシス法は無麻酔・無拘束状態で様々な刺激に応じた細胞外液中の神経伝達物質放出の変化を、半透膜を介して連続的に回収す

る方法である。微小透析プローブを脳領域に植え込むことによって、動物の特定脳部位において直接的に調べることができる。回収したサンプルを高速液体クロマトグラフィーで分離定量した。また、無線小型体温計であるテレメトリーを腹腔内に埋め込むことにより、低ストレス条件下で深部体温の指標である T_{core} を連続的に測定することが可能となった。本研究ではさらに、詳細な体温調節反応の指標として、熱産生の指標である $\dot{V}O_2$ 及び熱放散の指標である尾部皮膚温 T_{tail} を測定した。これらの方法を組み合わせることによって、測定ストレスを最低限に抑えた状態で、自由行動中及び運動中の神経伝達物質及び生理反応の変化を同一個体内で同時かつ連続的に観察できる。

第3章 カフェインが持久性運動能力、体温調節反応及び脳内における神経伝達物質に及ぼす影響（実験1）

これまで、CAF が運動中の T_{core} に及ぼす影響を検討した研究は報告されていない。近年は T_{core} の上昇も運動の限界にかかわる重要な要因の一つとして考えられているため、CAF が運動中の体温調節機構に及ぼす影響について詳細に検討する必要がある。そこで、本章では CAF が持久性運動能力、体温調節反応及び脳内の神経伝達物質に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。運動開始 60 分前に生理食塩水或いは 10 mg/kg の CAF を腹腔内に投与した後、疲労困憊に至るまでトレッドミル運動を行った（速度 18 m/min、傾斜 5%）。環境条件は中立温度とした(23°C)。CAF の投与により、運動継続時間 (RTTF)、 T_{core} 、 $\dot{V}O_2$ 、 T_{tail} 及び PO/AH 内の DA の放出量が上昇した。CAF を投与したラットは体温の危機的限界レベルを超えても運動を継続した。CAF は PO/AH 内のノルアドレナリン (NA) 及びセロトニン (5-HT) 放出量に影響を及ぼさなかった。以上の結果より、CAF による持久性運動能力の向上及び T_{core} の上昇は、脳内における DA 放出量の増大に関連することが明らかとなった。

第4章 ドーパミン受容体の遮断が、カフェインによる持久性運動能力、体温調節反応及び脳内における神経伝達物質放出の変化に及ぼす影響（実験2）

実験1では、CAF による持久性運動能力の向上及び T_{core} の上昇は、脳内における DA 放出量の増大に関連することが示唆されたが、その詳細なメカニズムはさらに検討する必要がある。DA 作動神経系を遮断した場合、CAF が持久性運動能力、 T_{core} 及び PO/AH における DA 放出量を上昇させるかは未だ不明である。そこで、本章では DA-D1 受容体拮抗薬による DA 作動神経系の遮断が CAF による持久性運動能力、体温調節反応及び脳内における神経伝達物質放出の変化に及ぼす影響を検討した。運動開始の 90 分前に生理食塩水或いは DA-D1 受容体拮抗薬 (SCH23390 : 1 mg/kg) を腹腔内に投与した。さらに、運動開始の 60 分前に生理食塩水或いは CAF (10 mg/kg) を腹腔内に投与した。運動プロトコル及び環境条件は実験1と同様であった。DA-D1 受容体拮抗薬により、 T_{core} が上昇し、RTTF、 T_{tail} 及び PO/AH における DA 放出量が低下し、 $\dot{V}O_2$ は変化しなかった。DA-D1 受容体拮抗薬は CAF による RTTF、 T_{core} 、 $\dot{V}O_2$ 、 T_{tail} 及び PO/AH 内の DA 放出量の上昇を抑制した。CAF

及び DA-D1 受容体拮抗薬は PO/AH 内の NA 及び 5-HT 放出量に影響を及ぼさなかった。以上の結果より、CAF による持久性運動能力の向上及び T_{core} の上昇は、脳内におけるドーパミン作動神経系の活性に関与することが明らかとなった。

第 5 章 アデノシン受容体の活性が、カフェインによる持久性運動能力、体温調節反応及び脳内における神経伝達物質放出の変化に及ぼす影響（実験 3）

CAF はアデノシン受容体拮抗薬の一種であるため、CAF による持久性運動能力、深部体温及び PO/AH における DA 放出量の上昇はアデノシン受容体の遮断に起因する可能性がある。しかし、それに関する研究はこれまで報告されていない。そこで、本章ではアデノシン受容体作動薬が CAF による持久性運動能力、体温調節反応及び脳内における神経伝達物質放出の変化に及ぼす影響を検討した。運動開始の 60 分前に生理食塩水、CAF (10 mg/kg)、アデノシン作動薬 (NECA : 0.5 mg/kg) 或いは CAF と NECA 混合液を腹腔内に投与した。運動プロトコル及び環境条件は実験 1 と同様であった。NECA の投与により、RTTF、 T_{core} 、 $\dot{V}O_2$ 、 T_{tail} 及び PO/AH 内の DA 放出量が低下した。CAF は NECA による RTTF、 T_{core} 、 $\dot{V}O_2$ 、 T_{tail} 及び PO/AH 内の DA 放出量の低下を改善した。CAF 及びアデノシン受容体作動薬は PO/AH 内の NA 及び 5-HT 放出量に影響を及ぼさなかった。以上の結果より、CAF による持久性運動能力の向上及び T_{core} の上昇は、脳内におけるアデノシン受容体の遮断に関与することが明らかとなった。

第 6 章 総合考察

先行研究では CAF は中枢性疲労を抑制し、脳内における神経伝達物質の放出（特に DA）に影響を及ぼし、運動能力を向上させるという理論が提案されているが、その脳内における詳細なメカニズムは明らかになっていない。脳内 DA の低下は運動能力低下の一因であると考えられている。中枢 DA 作動神経系が活性化することで、運動能力が向上することが示唆されている (Balthazar et al., 2009)。さらに、DA 作動神経系による運動能力向上の一つの要因として、PO/AH 内の DA 作動神経系による熱放散の促進が高体温による疲労を抑制することが提案されている (Balthazar et al., 2009 & 2010)。本研究では DA-D1 受容体拮抗薬及びアデノシン受容体作動薬により、CAF による PO/AH 内の DA 放出量の増大を抑制し、熱放散機能の促進が抑制され、運動能力の向上が抑制されることが観察された。従って、CAF による持久性運動能力の向上には、PO/AH 内のアデノシン受容体の遮断による DA 放出量の増大が重要な役割を果たしていることが示唆された。また、近年、CAF による脳内における DA 放出の促進は体温調節反応に関与することが提案されているが、そのメカニズムは未だ明らかになっていない。本研究では、DA-D1 受容体拮抗薬及びアデノシン受容体作動薬により、CAF による脳全体における DA 放出量の増大を抑制し、CAF による熱産生及び熱放散の促進が抑制されることを観察した。先行研究では中脳辺縁系、中脳皮質系及び黒質線条体系の DA 作動神経系を活性化することで熱産生が増大し、視床下部内の DA 作動神経系を活性化することで熱放散が促進されることが示唆されている (Balthazar et al., 2010; Schlenker &

Schultz, 2011; Scott & Boulant, 1984)。従って、本研究の CAF による体温調節反応には、脳全体におけるアデノシン受容体の遮断による DA 放出の増大が重要な役割を果たしていることが示唆された。Balthazar et al. (2009) は DA の脳室投与により、運動中の T_{core} がさらに上昇することを観察し、DA による高体温は脳内の DA 作動神経系の活性による熱産生の上昇が熱放散を上回ったと提案した。本研究では、Balthazar et al. (2009) の結果を支持し、CAF による高体温は脳内の DA 放出量の増大による熱産生の上昇が熱放散を上回ったためであると考えられる。また、本研究では CAF により、脳内の DA 作動神経系が活性化することで、運動終了時の T_{core} は体温の危機的限界レベルを超えた。一方、DA-D1 受容体拮抗薬及びアデノシン受容体作動薬により、脳内の DA 作動神経系を遮断することで、運動終了時の T_{core} は体温の危機的限界に達しなかった。これらの結果は、脳内における DA 作動神経系は体温の危機的限界レベルを調節する可能性があることが示唆された。CAF による脳内の DA 放出量の増大は運動能力を向上させるが、体温の危機的限界レベルを超えても運動を継続してしまう可能性があるため、今後スポーツ現場で CAF を使用する際には熱中症などに注意する必要がある。

第 7 章 結論

CAF による運動能力の向上及び T_{core} の上昇には、脳内におけるアデノシン受容体の遮断による DA 放出の増大が重要な役割を果たしている。

引用文献

1. Balthazar CH, Leite LH, Rodrigues AG, Coimbra CC. Performance-enhancing and thermoregulatory effects of intracerebroventricular dopamine in running rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 2009; 93: 465-69.
2. Balthazar CH, Leite LH, Ribeiro RM, Soares DD, Coimbra CC. Effects of blockade of central dopamine D1 and D2 receptors on thermoregulation, metabolic rate and running performance. *Pharmacological Reports*, 2010; 62: 54-61.
3. Schlenker EH, Schultz HD. Hypothyroidism attenuates SCH 23390-mediated depression of breathing and decreases D1 receptor expression in carotid bodies, PVN and striatum of hamsters. *Brain Research*, 2011; 1401: 40-51.
4. Scott IM, Boulant JA. Dopamine effects on thermosensitive neurons in hypothalamic tissue slices. *Brain Research*, 1984; 306: 157-63.