

ラットのトレッドミル走におけるスピード-

VO₂ 関係および VO₂ max の測定方法の検討

跡見 順子* 八田 秀雄** 山本 順子***
 山田 茂* 浅見 俊雄* 黒田 善雄*

* 東京大学教養学部
 ** 東京大学教育学部
 *** 相模女子大学

Determination of Speed-VO₂ Relationship and VO₂ max of Rats during Treadmill Exercise.

Yoriko Atomi,*, Hideo Hatta,** Yoriko Yamamoto,***
 Shigeru Yamada,* Toshio Asami* and Yoshio Kuroda*

* Department of Sports Sciences, College of Arts and Sciences, University of Tokyo.
 ** Faculty of Education, University of Tokyo
 *** Sagami Women's University

Abstract

An system measuring VO₂ and VO₂ max of rats during treadmill exercise was built up. This apparatus involves a bottomless metabolism chamber (7.5×29×12 cm), and automatical O₂ and CO₂ analyzer. The bottom edges of the chamber are in contact with treadmill belt along the sides and back. The loss of expiratory gas from the gap between treadmill belt and the bottom edges of the chamber was less than 2%. Half response time of the system was 40 sec. Mean VO₂ max per body weight of 7 rats obtained by this system was 89.4±3.4 ml·kg⁻¹·min⁻¹ (Mean ± S. D.).



Fig. 1. A system of determination of oxygen uptake of rats during treadmill running.

1. 研究目的

ラットを対象にして運動時の生理生化学的反應を研究する際に、運動負荷の定量化を図ることは基本的課題である。そのためには、運動時の酸素摂取量を測定することが必須である。しかし、ラットに対して人間に対する時のように顔にマスクを装着し呼気ガスを捕集することは不可能である。そこでラットを小さなチャンパーに入れ、ポンプによってチャンパー内の空気を吸引し、その吸引ガス中の酸素及び炭酸ガス濃度を測定することで酸素摂取量 ($\dot{V}O_2$)、炭酸ガス排出量 ($\dot{V}CO_2$) を求める方法が用いられている^{5,6,8,9)}。ラットの走運動中の $\dot{V}O_2$ は、トレッドミルや動輪ホイールをすべて収めたチャンパーによって求めるのが一般的である^{1,3,4,7,10,11)}。しかしこの方法はチャンパー内にトレッドミルを収めることからチャンパーの作成が難しく、チャンパーの容積が大となる点が問題である。容積が大きいとポンプの吸引量を大きくしなければならず、その結果吸引ガス濃度の変化率が小さくなる。これに対し Brooks と White²⁾ は、ラットが入る程度の底のないチャンパーを作成し、これをトレッドミルのベルト上に乗せる方法を用いた。これはチャンパーの側面と後面の下部をベルトと密着させ、前面下部にベルトとの間にわずかな隙間を作り、上面から吸引することにより、 $\dot{V}O_2$ を測定する方法である。この方法は、チャンパーの作製が容易であり、またその容積も小さくなる。欠点はベルトとの接触面からの空気もれの危険性が大きいことである。本研究では、このベルトの上にチャンパーをのせる方法を用い、さらに自動ガス分析機を用いてラットのトレッドミルのスピード- $\dot{V}O_2$ 関係及び $\dot{V}O_2$ max の測定の検討を行った。

2. 研究方法

1) $\dot{V}O_2$ 測定装置の作成

トレッドミルベルト上に乗せる、底のない $\dot{V}O_2$ 測定用チャンパーを、厚さ 0.5 cm のアクリル板により作成した。2 個作成し、(I) のチャンパーは大きさが (9×28×15 cm) であり、(II) のチャンパーは小さくし、(7.5×29×12 cm) である。内部の天井は、(I) のチャンパーは 2 cm、(II) のチ

ャンパーは 1.5 cm の間隔をおいて二重になっている。内側の天井には、直径 1.2 cm の穴を 27 個孔け、呼気ガスがよく混合されるようにした。チャンパー後部は電気刺激板であり、針金を (I)、(II) のチャンパーそれぞれ 1 cm、0.4 cm の間隔で縦に回し、トレッドミルのプラグより、電気を引いた。チャンパーは、トレッドミルベルト上のせ、空気もれを防ぐため、側面と後面の下部には、ゴム製のひだを取り付けた。前面下部とベルトとの間には、わずか (1~2 mm) の隙間を設けた。チャンパー上面には支持棒と吸引口を設けた。チャンパー内の呼気ガスは、イワキ社製ポンプにより、吸引される。吸引量は、 $5.68 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ であり、ほぼ一定している。吸引されたガスは、アニマ社製 AUTOAEROBICS R-15 OOPS 自動ガス分析器に入り、吸引ガス量、酸素及び二酸化炭素濃度が分析される。そして、吸引ガス量を、人間の測定における換気量にあたるものとして $\dot{V}O_2$ 、 $\dot{V}CO_2$ 、R (呼吸交換率) が、自動的に算出、表示される。この自動ガス分析器は、人間に対する測定用にあるので、換気量測定装置の測定範囲を 1/10 にして精度を上げ、吸引量を正確に測定できるようにした。図 1 に実験装置を示した。

2) 測定の正確性の検討

チャンパーの底部から、吸引ガスがもれていないかを確認し、 $\dot{V}O_2$ 測定における反応の half-time を求める目的で、窒素ガスをチャンパー内に注入する実験を行なった。これはチャンパー前面より、流量計で確認しながら一定の割合で、窒素ガ

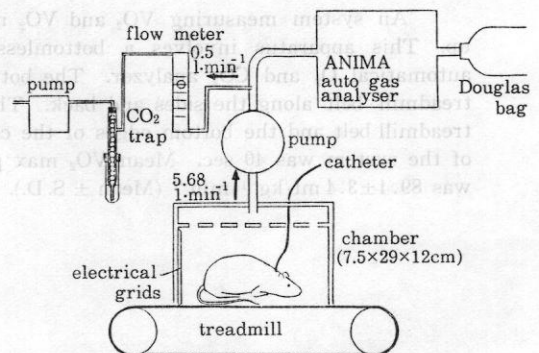


Fig. 1. A system of determination of oxygen uptake of rats during treadmill running.

スを注入し、吸引ガス中の酸素濃度変化をみたものである。窒素ガスをチャンパーに注入すれば、吸引ガス中の酸素濃度は低下する。しかしチャンパー底部からガスもれるならば、吸引ガス中の酸素濃度はそれだけ低下しないことになる。そこで酸素濃度低下の度合いから、ガスもれが生じているかを知ることができる。この状態でトレッドミル静止時、稼動時のガスもれを検討した。コントロールとして、チャンパーを浅い水中におき、底部から空気もれない状態を設け同様の検討を試みた。

3) $\dot{V}O_2$ —走行速度関係, $\dot{V}O_2$ max の測定

平均週三回, 1か月間走行トレーニングを受けた, 8~11週令の Wistar ラットを用いて, $\dot{V}O_2$ の測定を行なった。 $\dot{V}O_2$ と走行速度との関係は, $20 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ より $60 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ まで, $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ ずつ速度を漸増して求めた。各速度について, 運動時間は最低6分とし, 安定した $\dot{V}O_2$ の得られない場合は, さらに運動を続けた。 $\dot{V}O_2$ max は, $30 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ で3分間走行し, 2分間の安静後, $50 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ より2分ごとに $10 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ ずつ速度を漸増させ, all-out に至らせて求めた。all-out はラットが電気刺激を受けても走行できない状態とし, 多くの場合の刺激板前で横たわるまで行なった。すべての測定は, トレッドミルに傾斜をつけないで行なった。

3. 結果と考察

図2は, (I) のチャンパーに $0.66 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ の

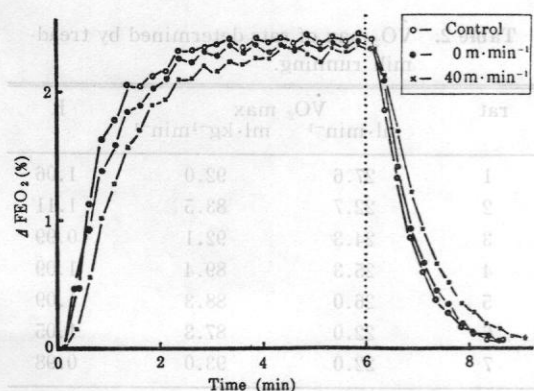


Fig. 2. The mean changes of $\dot{V}O_2$ in expiratory gas at N_2 gas ($0.66 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$) infusion into chamber I ($9 \times 28 \times 15 \text{ cm}$)

割合で, 窒素ガスを注入した場合の, 15秒ごとの吸引ガス中の酸素濃度の変化を, 5例の平均値で示したものである。チャンパー底部より窒素ガスもれるならば, 吸引ガス中の酸素濃度は, 低下巾が小さくなる。トレッドミル静止時の酸素濃度変化は, コントロールとの間で差は認められず, チャンパー底部からのガスもれはないことが示される。 $0.66 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ 窒素を注入し, $5.68 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ 吸引していることから, 吸引ガス中酸素濃度は, 2.43%の低下が認められるはずである。コントロールとトレッドミル静止時には, ほぼこれに等しい低下が生じている。しかし $40 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ でトレッドミルを稼動させている場合には, 図2より5%程度 of ガスもれが認められる。また図2から示される反応の half-time は, 窒素ガス注入時にはコントロール40秒, 静止時45秒, $40 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ で稼動時60秒である。また注入終了後では, コントロール42秒, 静止時45秒, 稼動時57秒である。したがってトレッドミルベルト上にチャンパーをのせる方法でも, 反応の遅延と空気もれは認められるものの $\dot{V}O_2$ の測定は十分可能と結論した。

(II) のチャンパーは(I) のチャンパーに改良を加え, 容積を小さくし, 電気刺激板底面と, トレッドミルベルトとの密着をより確実にしたものである。この改良の結果, 窒素ガス注入実験において, 吸引ガス中酸素濃度の変化巾を, トレッドミル $40 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ で稼動時でも, 静止時の98%とすることができた。また反応の half-time は, 窒素ガス注入の場合, 静止時39秒, 稼動時40秒, 注入終了後では, 静止時33秒, 稼動時39秒となった。このように(II) のチャンパーでは, 反応が速く, 空気もれも問題にならないといえる。

信頼できる測定が行なえることを確認し, (II) のチャンパーによって, ラットの $\dot{V}O_2$ を測定した。ラットの $\dot{V}O_2$ —走行速度関係を求めるに際し, 測定の half-time が40秒であり, またラットの $\dot{V}O_2$ が安定するまで3分間は必要とすることを考慮し, 本研究では, 一つ of 速度に対し最低6分間の走行を行なわせた。図3は, 8匹 of ラット (オス4匹, メス4匹, 体重 $240.8 \pm 18.5 \text{ kg}$ 平均値 \pm S.D.) における, $\dot{V}O_2$ —走行速度関係である。 $20 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ から $60 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ まで $\dot{V}O_2$ は増加

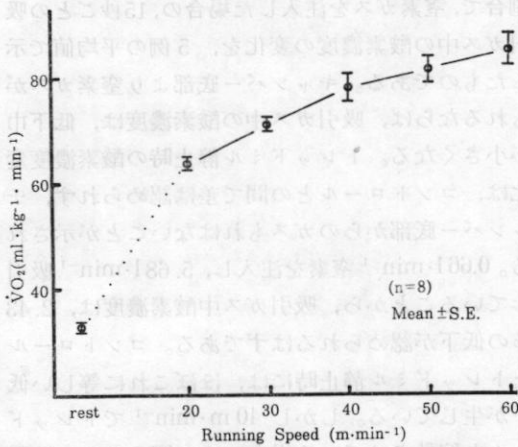


Fig. 3. The relationship between treadmill speed and oxygen consumption per body weight.

Table 1. Reproducibility of $\dot{V}O_2$ and R of rats during submaximal running.

	first	second
body weight	244.4±16.5	254.7±30.7
rest	33.8±3.4 0.866±0.074	36.2±4.6 0.869±0.059
20 m·min ⁻¹	63.3±2.0 0.910±0.037	66.6±3.0 0.945±0.106
30 m·min ⁻¹	70.6±3.0 0.921±0.057	71.5±3.9 0.944±0.110
40 m·min ⁻¹	77.8±7.3 0.937±0.041	77.6±5.0 0.960±0.101
50 m·min ⁻¹	81.2±7.3 0.951±0.059	81.5±4.8 0.952±0.066
60 m·min ⁻¹	84.2±8.4 0.959±0.039	85.1±4.4 0.975±0.063

The upper shows $\dot{V}O_2$ ml·kg⁻¹·min⁻¹.

The lower shows R.

The values are Mean±S.D.

するものの、40 m·min⁻¹ 以上では、速度の増加に比して $\dot{V}O_2$ の増加が小さいことが示される。これは、先行研究の結果と一致する²⁾。また7匹については、同一の測定を繰り返したが、走行速度に対する体重あたりの $\dot{V}O_2$ に、2度の測定で有意差は認められず、ほぼ一致した(表1)。ここで、20 m·min⁻¹ と 30 m·min⁻¹ における体重あたりの $\dot{V}O_2$, R は、他の報告に比して高値である^{2, 11)}。これについては、電気刺激による動物の興奮が影響しているものと思われる。本研究の $\dot{V}O_2$ 測定

チャンパーは、長さがラットの全長程度である。そこでこのままでは、ラットは頻りに電気刺激を受けることとなる。これに対しては、尾を切断して、刺激を受ける回数を減らす方法もある¹¹⁾。本研究では、尾にビニールテープを巻くことで絶縁させた。これにより安定した走行が可能となるものの、10 cm 程度後退すると殿部が刺激板に触れることから、ラットは興奮しやすい。特にRは、低速度でも高値を示す例が、よくみられる。

表2は7匹のラット(オス4匹, メス3匹, 体重 268.7±29.1 g, Mean±S.D.) における、 $\dot{V}O_2$ max を示したものである。体重あたりの $\dot{V}O_2$ max は、平均 89.4 ml·kg⁻¹·min⁻¹ である。これは、先行研究における報告と同様である^{1, 8, 10)}。また運動後において、Rの最大値は、平均1.40に達し、十分に all-out に至っていることが示された。本研究の $\dot{V}O_2$ 測定チャンパーは、後面と側面が、トレッドミルベルトに密着されていることから、ラットには逃げ場がなく、all-out 追いこみやすい点も長所である。

本研究は、底のない $\dot{V}O_2$ 測定チャンパーを、トレッドミルベルト上に乗せる方法で、ラットの $\dot{V}O_2$ 測定を行なった。チャンパーの容積をより小さくし、ベルトとの密着をよくし、トレッドミル稼動時でも、チャンパー底部からのガスもれを2%以下に抑えた。測定の half-time は40秒であった。ラット7匹の $\dot{V}O_2$ max は、平均 89.4 ml·kg⁻¹·min⁻¹ であり、先行研究と同様の測定値を得た。

Table 2. $\dot{V}O_2$ max of rats determined by treadmill running.

rat	$\dot{V}O_2$ max ml·min ⁻¹	$\dot{V}O_2$ max ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	R
1	27.6	92.0	1.06
2	22.7	83.5	1.11
3	24.3	92.1	0.99
4	25.3	89.4	1.09
5	26.0	88.3	1.09
6	22.0	87.3	1.05
7	22.0	93.0	0.98
Mean	24.0	89.4	1.052
S.D.	2.6	3.4	0.052

引用文献

- 1) Bedford, T. G., C. M. Tipton, N. C. Wilson, R. A. Oppliger, and C. V. Gisolfi. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *J. Appl. Physiol.* 47: 1278-1283, 1979.
- 2) Brooks, G. A., and T. White. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. *J. Appl. Physiol.* 45: 1009-1015, 1978.
- 3) Denckla, W. D. Maximal oxygen consumption in the female rat, some new definitions and measurement. *J. Appl. Physiol.* 29: 263-274, 1970.
- 4) Haldi, J., W. Wynn, and H. Breiding. Apparatus for measuring oxygen consumption of small animals. *J. Appl. Physiol.* 16: 923-925, 1961.
- 5) Holtkamp, D. E., S. Ochs, C. Pfeiffer, and A. E. Heming. Determination of the oxygen consumption of groups of rats. *Endocrinology* 56: 93-104, 1955.
- 6) Kratzing, C. C., and S. Mark. Oxygen consumption of wet and dry rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 45: 363-365, 1967.
- 7) Moses, L. E. Determination of oxygen consumption in the Albino rat. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 64: 54-57, 1947.
- 8) Pasquis, P., A. Lacaille, and P. Dejours. Maximal oxygen uptake in four species of small animals. *Respir. Physiol.* 9: 298-309, 1970.
- 9) Popovic, V., K. Kent, N. Mojovic, B. Mojovic, and J. S. Hart. Effect of exercise and cold on cardiac output in warm- and cold-acclimated rats. *Fed. Proc.* 28: 1138-1142, 1969.
- 10) Shepherd, R. E., and P. D. Gollnick. Oxygen uptake of rats at different work intensities. *Pflugers Arch.* 362: 219-222, 1976.
- 11) Sonne, B., and H. Galbo. Simultaneous determinations of metabolic and hormonal responses, heart rate, temperature and oxygen uptake in running rats. *Acta Physiol. Scand.* 109: 201-209, 1980.