

## 【 総 説 】

## 高気圧酸素曝露による虚血耐性現象の誘導

和田 孝次郎<sup>1)</sup> 鈴木 信哉<sup>2)</sup>防衛医科大学校 脳神経外科<sup>1)</sup>自衛隊中央病院 臨床医学教育・研究部<sup>2)</sup>

キーワード 前処置, 活性酸素, ダイビング, 動物実験

## 【Review】

## Ischemic tolerance induced by hyperbaric oxygenation

Kojiro Wada<sup>1)</sup>, Shinya Suzuki<sup>2)</sup>

1) Department of Neurosurgery, National Defense Medical College

2) Division of education and research, Self Defense Forces Central Hospital

keywords preconditioning, free radical, diving, experimental study

## 脳虚血耐性とは

神経細胞は虚血に対して最も脆弱な細胞であると考えられている。ところが、軽度で非致死的な虚血負荷を脳にあらかじめ加えておくことにより、重度で致死的な虚血侵襲に対する脳損傷を軽減する現象がおこることが知られている。この現象は、北川らにより砂ネズミを用いた脳虚血モデルで最初に報告され、脳虚血耐性 ischemic tolerance と呼ばれている<sup>1)</sup>。その後、酸化ストレス、熱ショック等の異常環境下に曝露することで同様の脳虚血耐性が誘導されることが報告されている。この虚血耐性を誘導する方法は前処置 (preconditioning) と呼ばれている。

脳梗塞における虚血神経細胞障害の原因のひとつが虚血再灌流障害であり、その主体はフリーラジカルであるとされている。生物は酸素を利用したエネルギー産生時に発生するフリーラジカルの消去酵素が備わったことで酸素利用が可能となりエネルギー産生が効率よくできるようになり、進化を遂げたとされている。ところが、その消去酵素の能力を超えてフリーラジカルが産生された場合には、細胞障害を起こすと考えられている。

フリーラジカルに対する防御反応を高めることが

可能となれば、脳梗塞に対して強い脳を作り出すことが可能となる。実際、虚血耐性を獲得した脳では、防御反応が高まっていることが報告されている。preconditioningとして知られている、軽い虚血、高温への曝露、およびフリーラジカル産生剤の投与は、フリーラジカルを発生することが証明されており、フリーラジカルへの曝露が耐性を誘導させる一因と考えられている。しかしながら、これらのpreconditioningを実際に人へ臨床応用することは、方法自体の危険性が高いため、不可能と思われる。

高圧酸素曝露 (hyperbaric oxygenation: HBO) によりフリーラジカルが産生されることは良く知られた事象である。HBOによるフリーラジカル産生により引き起こされる事象は、中枢性酸素中毒として知られている。しかしながら、治療で使用しているHBOプロトコール (100%酸素吸入2ATA-2.8ATA) を使用する限りにおいて中枢性酸素中毒が問題となることはほとんどなく、安全性が確立された治療法である。このため、HBOを使用することにより、直接脳に不可逆的な変化を起こすことなく繰り返しフリーラジカルが産生される環境に曝露することが可能となると考えられる。このことから、我々はHBOにより虚血に強い脳を作り出

すことができる可能性があるのではないかと考え、実験を行ってきた。

### HBOによる脳への虚血耐性現象の誘導

前処置としてHBOを繰り返すことにより虚血耐性現象が誘導されるかどうか、つまり、HBOが preconditioning となり得るか否かを、砂ネズミ一過性前脳虚血モデルを用い検討した。一過性前脳虚血モデルは砂ネズミの両側頸部総頸動脈を5分間遮断することで作成した。このモデルでは虚血1週間後の病理検査において明らかな皮質の梗塞は生じないにもかかわらず、海馬のCA1錐体細胞においては特異的に神経細胞死が惹起されていることが報告されている。<sup>2)</sup> 砂ネズミを4群に分け実験を行なった。偽手術群：虚血の偽手術（頸動脈を露出するが、頸動脈の遮断は行わない）のみ行なった（n=7）。虚血群：偽操作（加圧チャンバー内に放置し、加圧操作は行わなかった）を5回隔日に行い最後の偽操作の2日目後に5分間の一過性前脳虚血を加えた（n=10）。HBO1回群：1回のみHBO（2絶対気圧（ATA），60分）を行い、2日目後に5分間の一過性前脳虚血を加えた（n=7）。HBO5回群：1日おきに計5回のHBO（2ATA，60分）を行い2日目後に5分間の一過性前脳虚血を加えた（n=10）。動物実験用高圧タンク（P5100，羽生田鉄工社製）を用い実験を行なった。10ℓ/minの純酸素を用い1分間チャンバー内をフラッシュした後、1分間かけて2ATAまで加圧した。60分間保圧の後、5分間かけて大気

圧まで減圧した。保圧中2ℓ/minにて酸素をタンク内に持続的に流した。操作中、砂ネズミに痙攣等の異常は認められなかった。1週間後に還流固定を行い、脳を取り出し、パラフィン切片を作成後、海馬CA1錐体細胞数の評価を行った。結果は、偽手術群では明らかな神経細胞死は認められなかった。前処置としてHBOを行わなかった虚血群では顕著な海馬CA1錐体細胞の障害が認められた。HBOを1回行った前処置群では虚血群と変わらない顕著な海馬CA1錐体細胞の障害が認められた。結果の病理所見の一部を図1に示す。前処置なしでは虚血によりほとんどの海馬CA1錐体細胞が死んでいるが（図1-B）前処置としてHBOを5回行った群では有意に海馬CA1錐体細胞が残存しており（図1-C）、錐体細胞数は偽手術群（図1-A）と比較し55%残存していた。このことより、砂ねずみを用い2ATA，60分のHBOを隔日5回行った後、虚血を加えた後、神経細胞障害の程度を比較検討した結果、HBO5回群で虚血耐性現象が誘導されたことが証明された<sup>3)</sup>。

では、preconditioningとして至適な条件はどのようなものなのか、2ATA，60分，5回のHBOの条件は適切なのであろうか。少ない回数でももっと高い条件のHBOを行えばもっと効率よく虚血耐性が誘導されるのであろうか。具体的にはHBOの圧、あるいは回数はどの程度加えると良いのであろうかと考え、次の実験を行なった。

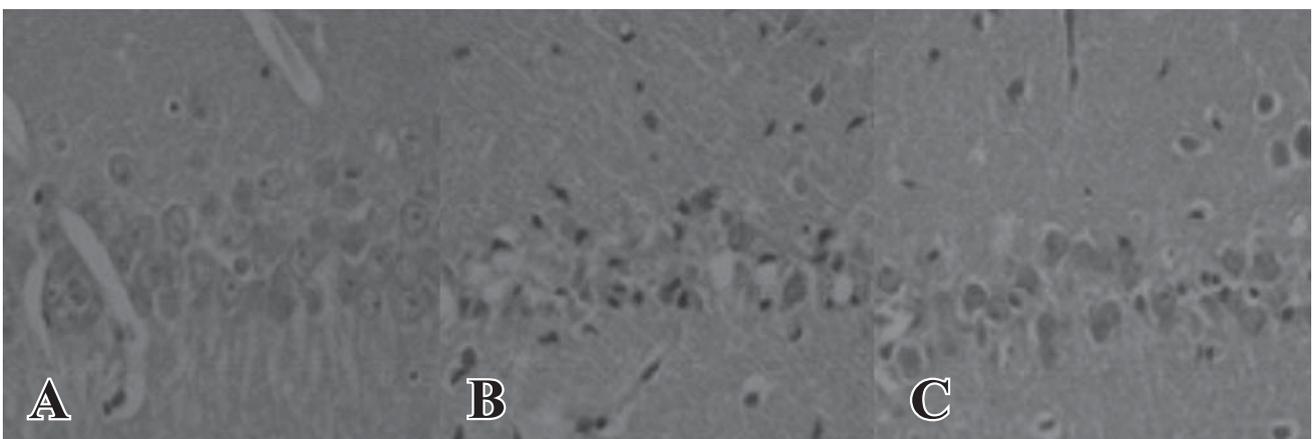


Figure 1 Hippocampal CA1 pyramidal neurons stained by Hematoxylin and Eosin. A; sham operation, B; no pretreatment and C; 5 times HBO pretreatment

## HBOによる条件の設定

HBO preconditioningの条件を100%酸素加圧2ATA60分1回、隔日3回、隔日5回、3ATA60分連日10回、空気加圧2ATA60分隔日5回として、虚血耐性現象が誘導されるか否かを検討した。結果を図2に示す。2ATA60分酸素加圧の条件では1回では虚血耐性は誘導できなかったが、隔日3回で虚血耐性現象が確認され、隔日5回が一番虚血耐性を誘導していた。同じ条件の空気加圧2ATA60分隔日5回では耐性は誘導されなかった。3ATA60分連続10回によるpreconditioningでは虚血耐性現象は誘導されなかった。このことから、虚血耐性現象獲得のためには高圧曝露ではなく、高圧酸素曝露が必要であり、回数に応じて誘導されることがわかった。しかしながら、3ATAの条件では誘導されなかった。このことより、酸素曝露の圧条件も重要なpreconditioningの因子となっていることが示唆された。何故3ATAのHBOで虚血耐性が誘導されなかったのであろうか。推測の域を出ないが、過剰の酸素分圧は中枢性酸素中毒を引き起こす危険がある。この中枢性酸素中毒を防ぐため酸素分圧の上昇は生体防御反応としての脳血管収縮を引き起こすことが知られており、この血管収縮のために血流が低下しフリーラジカルの産生が抑制されたため、誘導が妨げられたのかもしれないと考えた。至適なHBO条件が存在することが示唆された<sup>4)</sup>。

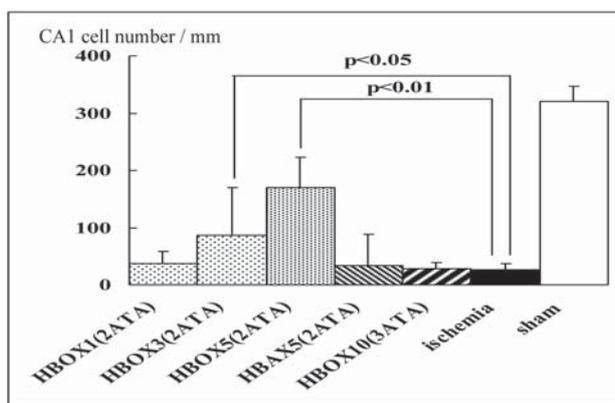


Figure 2 Hippocampal CA1 pyramidal neuron's cell count with or without various HBO pretreatment 2 ata HBO pretreatment induced ischemic tolerance according to the frequency of sessions, however 3 ata HBO for 10 times did not induce the ischemic tolerance.

## 他の実験系でのHBOによる虚血耐性現象の誘導

Prass等<sup>5)</sup>はマウスを用いた実験によりマウスの種によって虚血耐性が誘導できるものと、できないものがあることを報告しており、普遍的な現象かどうか疑問を投げかけた。しかしながら、Xiong等<sup>6)</sup>はラットの一過性中大脳動脈閉塞による脳梗塞モデルを用いた実験においてHBOによる虚血耐性現象が認められることを報告しており、再度注目されるきっかけとなった。

## 脳以外の臓器でのHBOによるpreconditioning

基礎実験では脊髄外傷にHBO preconditioningが有用であったとの報告がDong等<sup>7)</sup>やGu等<sup>8)</sup>によりなされている。また、Yu等<sup>9)</sup>は肝臓の虚血に対しても耐性が誘導できることを報告しており、小腸<sup>10)</sup>や視神経<sup>11)</sup>についての耐性誘導の報告もなされている。また、臨床応用ではon-pump 冠動脈バイパスにおけるHBO preconditioningの有用性がYogarathnam等<sup>12)</sup>やLi等<sup>13)</sup>により報告されて今後、脳虚血にたいしても臨床応用への期待が膨らむ。

## 一般的なPreconditioningの機序

虚血ストレスは、低酸素ストレス、酸化ストレス、グルタミン酸ストレスの3つに大別される<sup>14)</sup>。低酸素ストレスにより活性化する代表的な転写因子はhypoxia-inducible factor1- $\alpha$  (HIF1- $\alpha$ )である。HIF1- $\alpha$ はミトコンドリアでのチトクローム酸化酵素のアイソフォームの変化、オートファジーの誘導によるエネルギー消費の節約、フリーラジカルの産生抑制、インスリン様成長遺伝子を介して低酸素耐性獲得に寄与している。酸化ストレスはnuclear factor kappa Bやheat shock factorが代表的な転写因子であり、炎症性サイトカイン、熱ショックタンパクの産生を促進すると考えられる。グルタミン酸ストレスは、cAMP配列結合性たんぱく質(cAMP response element binding protein: CREB)に代表される転写因子を活性化する。CREBは脳由来神経栄養因子、Bcl-2等のアポトーシス抑制タンパクの発現を介して脳神経保護に作用すると報告されている。その他、虚血耐性が誘導された条件下で重度の虚血負荷が加わると、遺伝子発現が増加する遺伝子より低下する遺伝子の方が多く、また発現低下遺伝

子にはエネルギー代謝、イオンチャンネル、イオントランスポーターに関わる遺伝子が多く含まれていることが報告されている<sup>15)</sup>。

### HBOによる preconditioning の機序

我々は、HBOによる酸化ストレスが preconditioning の主役と考え、酸化ストレスに関連する遺伝子産物が HBOによる虚血耐性に関与しているのではないかと考えた。酸化ストレスにより誘導されるとされているストレスタンパク質に注目し、このうちHSP-72の発現がなされているか否かを免疫染色法により実験を行なった。HBO preconditioning後の脳にて検討したところHSP-72の発現がなされていることを証明した<sup>3)</sup>。低酸素ストレスあるいはグルタミン酸ストレスに関連すると考えられているsuperoxide dismutase (SOD)、BCL-2の誘導についてもHBO preconditioning後の脳を用いて免疫染色法により検討したところ、これらのタンパクも発現がなされていた。このことより、HBO preconditioning後の脳は、ただ単に酸化ストレスに対する防御反応が強くなっただけでなく、虚血ストレスに関係していると考えられている総ての機序に対する防御反応が強まっていることが示唆された<sup>4)</sup>。

文献的には、活性酸素とそれを消去するために働く抗酸化酵素の発現がHBOによる preconditioning の機序として報告されている<sup>16) 17)</sup>。さらには、Hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$ の発現とアポトーシス関連物質の制御が機序として報告されている<sup>18-20)</sup>。その他、新生と排泄にかかわる autophagy がHBOにより活性化されることも報告されており、preconditioningの要因と考えられている。

最近、炎症刺激に伴い少し送れてフィードバック機構として発現する抗炎症因子、あるいは、免疫抑制因子が耐性獲得に重要ではないかと考えられるようになってきている。ミクログリアとT細胞はそれぞれ、脳に害を及ぼす腫瘍壊死因子 $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) およびインターフェロン $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) の主要な供給源である。調整性T細胞は実験的急性期脳卒中中で脳保護的に働く重要な免疫調整因子であるとされており<sup>21)</sup>、HBOでも炎症や免疫反応の抑制は報告されているため、関与が強くと示唆される<sup>22) 23)</sup>。しかしながらHBO

preconditioningでは未だ明らかにされておらず、今後証明されることが期待される。

### その他の機序

Murryらは、先行する短時間の心筋虚血により耐性を生じ、後の長時間虚血において心筋梗塞サイズの縮小効果が得られることを証明し<sup>24)</sup>、この耐性現象獲得に $K_{ATP}$ チャンネルの開口が重要な役割を果たしていると報告している<sup>25)</sup>。また、近年、脳虚血の preconditioningで $K_{ATP}$ チャンネルの重要性についてHeurteaux等が報告している<sup>26)</sup>。 $K_{ATP}$ チャンネルはATP感受性 $K^+$ チャンネルのことであり、細胞内のATPが高い間は閉鎖しているが、ATP濃度が減少するか、ADP濃度が上昇すると開口する。Watanabe等は、この $K_{ATP}$ チャンネルを開口させることにより、脳虚血に対する保護作用がある可能性について報告している<sup>27)</sup>。保護効果の機序の解明については現在研究が行なわれているが、現在、その機序として、ミトコンドリア内の電位差が2度目には小さくなり $Ca^{2+}$ 流入が抑制される可能性、フリーラジカルの産生が減少する可能性、ミトコンドリアのエネルギー産生の改善する可能性、などが示唆されている。

HBOにより、 $K_{ATP}$ チャンネルが開口すると仮定するならば100%酸素2ATA60分のHBOの直後に虚血耐性が誘導されるはずである。実際に誘導されるか否か実験を行なった。HBO直後に軽い非致死的な4分の一過性全能虚血を加え神経細胞障害の程度を比較検討した。この結果高圧酸素曝露を行なわなかった群では明らかな細胞障害がみとめられなかったにもかかわらず、2ATA60分のHBO群で神経細胞障害が強いことが示された(図3)。このことによりHBOによる preconditioningには $K_{ATP}$ チャンネルの開口は関与していないのではないかと推察された<sup>28)</sup>。ところが、HBOによる痛みの抑制効果には $K_{ATP}$ チャンネルが関与していることがマウスを用いた実験にて報告されており、我々の間接的な実験結果と異なる。彼等はHBOの条件に100%酸素3.5ATAを用いており<sup>29)</sup>、HBOによる $K_{ATP}$ チャンネルの開口については条件を変えて調べていく必要があると考えた。このため、3.0ATA60分のHBO群で4分の一過性全能虚血を加え神経細

胞障害の程度を調べたが、明らかな虚血耐性の誘導は認められなかった。しかしながら、2ATAのHBO群に比較し神経細胞の残存が多い傾向にあり(図3)、今後HBOの条件や虚血時間の条件を変えて実験を行っていく必要があると考える。

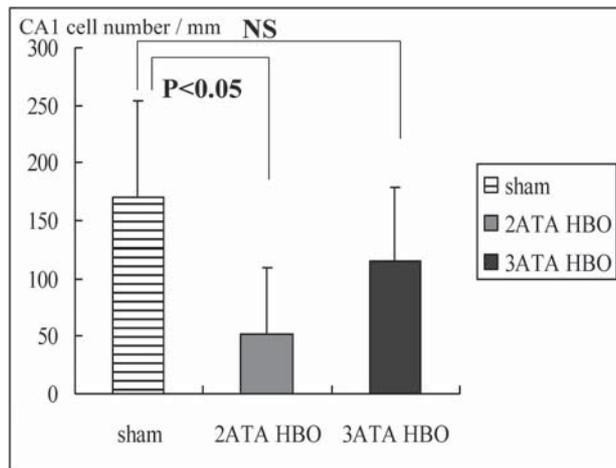


Figure 3 CA1 neuronal density (/mm) after non-lethal ischemia with HBO

2 ata HBO for 1 time just before 4-min forebrain ischemia did not induced ischemic tolerance. 3 ata HBO for 1 time just before 4-min forebrain ischemia also did not show ischemic tolerance, but more survival neurons were observed in 3ATA HBO pretreatment group.

### Postconditioning

最近、preconditioningは臨床応用が困難であるため、虚血後にpreconditioningと同様な一過性の負荷を与え、それにより保護効果が期待できるのではないかとする報告がなされており、postconditioningと呼ばれている<sup>30)</sup>。この機序としてもミトコンドリア $K_{ATP}$ チャンネルに関係しているとの報告がある。動物実験では虚血後のHBOについては有用性が示されており、HBOによるpostconditioningについては研究が待たれるところである。

低体温療法は虚血の治療として動物実験では有効性が証明されている。臨床での虚血に対する有効性は未だ証明されておらず、その一つの原因として復温時のリバウンドがあげられる。低体温療法後の復温時にHBOを加える、つまり復温時のpostconditioningを行なうことで低体温療法の効果が増強されるので

はないかと考え、動物実験を行なった。スナネズミを用いて虚血負荷を加えその後3群に分けた。31°C 60分の中等度低体温療法を行い復温時に2ATA60分のHBOを行なった群、中等度低体温療法のみ行なった群および後療法を行なわなかった群の3群に分類した。後療法を行なわなかった群では遅発性神経細胞死が著明に認められたが、中等度低体温療法群では有意にこの細胞死が抑制されていた。さらに復温時にHBOを行なった群では後療法として中等度低体温療法を行なった群と比較しても有意に細胞死がさらに抑制されていた(図4)<sup>31)</sup>。このことは、HBOのpostconditioningについての可能性を示唆したものではないかと考えられた。

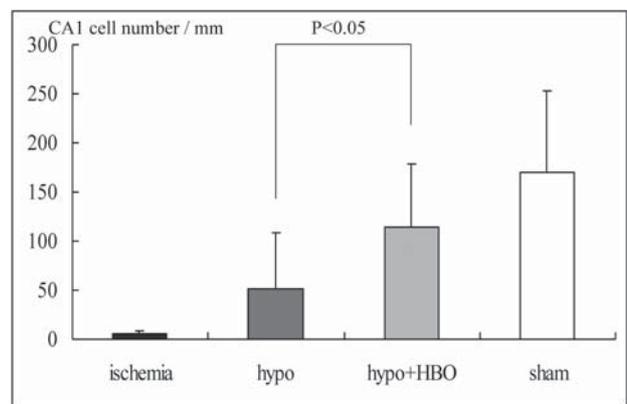


Figure 4 CA1 neuronal density (/mm) after hypothermia with or without HBO

Hypothermia treatment just after 5-min forebrain ischemia protect the hippocampal CA1 neurons, this protective effect was enhanced by HBO post-treatment during rewarming.

### 人での preconditioning の可能性

プロダイバーのMRI検査で、白質病変が健康人よりも少ない傾向にあったとの報告がある<sup>32)</sup>。このことは虚血耐性現象がダイバーの脳に誘導された事実を示した可能性がある。活性酸素は虚血時神経細胞障害の主役を担うと考えられており、HBOを繰り返すことにより活性酸素障害にたいする耐性が誘導され、ひいては神経細胞が虚血に対し抵抗性を獲得したのかもしれない。我々が証明した純酸素を用いた2ATAHBO環境は、酸素分圧で考えると、空気を用いたSCUBAダイビングにあてはめると90mに相当する。通常行わ

れる潜水深度が30m以浅であることを考えると、我々の実験がそのままレクリエーションダイビングにあてはまるわけではないが、「ダイビングが健康に良い」という仮説の入り口には立てたような気がする。

### 減圧症に対する preconditioning

減圧症予防に大気圧下で酸素吸入を行なうことは、高山病予防や宇宙での船外活動前に通常行なわれ効果があるとされている<sup>33)</sup>。減圧中の酸素吸入についても減圧時間を短縮する目的で使用されている<sup>34)</sup>。また、高圧酸素曝露が減圧症の危険性を下げることが動物実験で報告されており、人でも気泡形成が少なくなる事が証明されている<sup>35)</sup>。しかしながら、ダイビング直前の大気圧下の酸素吸入 (normal baric oxygenation: NBO) は動物実験では有効性が否定されている<sup>36)</sup>。一方、人ではダイビング直前の大気圧下の酸素吸入がダイビング後の気泡形成を減少させることが報告されており、この気泡形成の減少は1回目のダイビング後のみならず、繰り返し潜水における2回目のダイビング後までも認められると報告されている。Castagna等はこの機序として、単純に酸素により組織の窒素量を減らすことだけでは2回目のダイビング後までの効果の説明がつかず、窒素の核を酸素で置き換え消滅させることが機序ではないかと考察している<sup>37)</sup>。今後、減圧症予防にHBOあるいはNBOのpreconditioningとしての有用性について証明がなされることが期待される。

### 参考文献

- 1) 北川一夫, 八木田佳樹, 佐々木勉, 佐古田三郎: 神経細胞死の成果と臨床応用. 脳卒中2008; 30: 862-868.
- 2) Kirino T: Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. Brain Res. 1982; 239: 57-69.
- 3) Wada K, Ito M, Miyazawa T, et al: Repeated hyperbaric oxygen induces ischemic tolerance in gerbil hippocampus. Brain Res 1996; 18; 15-20.
- 4) Wada K, Miyazawa T, Nomura N, et al: Preferential conditions for and possible mechanisms of induction of ischemic tolerance by repeated hyperbaric oxygenation in gerbil hippocampus. Neurosurgery 2001; 49: 160-167.
- 5) Prass K, Wiegand F, Schumann, et al: Hyperbaric oxygenation induced tolerance against focal cerebral ischemia in mice is strain dependent. Brain Res. 2000; 871; 146-150.
- 6) Xiong L, Zhu Z, Dong H, et al: Hyperbaric oxygen preconditioning induces neuroprotection against ischemia in transient not permanent middle cerebral artery occlusion rat model. Chin Med J (Engl) . 2000; 113; 836-839.
- 7) Dong H, Xiong L, Zhu Z, et al: Preconditioning with hyperbaric oxygen and hyperoxia induces tolerance against spinal cord ischemia in rabbits. Anesthesiology 2002; 96: 907-912.
- 8) Gu GJ, Li YP, Peng ZY, et al: Mechanism of ischemic tolerance induced by hyperbaric oxygen preconditioning involves upregulation of hypoxia-inducible factor-1 alpha and erythropoietin in rats. J Appl Physiol 2008; 104: 1185-1191.
- 9) Yu SY, Chiu JH, Yang SD et al: Preconditioned hyperbaric oxygenation protects the liver against ischemia-reperfusion injury in rats. J Surg Res. 2005; 128; 28-36.
- 10) Bertolotto PR, Chaves JC, Fagundes AT, et al: Effect of different periods of hyperbaric oxygen on ischemia-reperfusion injury of rat small bowel. Acta Cir Bras. 2008; 23: 11-5.
- 11) Wang R, Xu J, Xie J, et al: Hyperbaric oxygen preconditioning promotes survival of retinal ganglion cells in a rat model of optic nerve crush. J Neurotrauma. 2010; 27: 763-770.
- 12) Yogaratnam JZ, Laden G, Vuvendik L, et al: Hyperbaric oxygen preconditioning improves myocardial function, reduces length of intensive care stay, and limits complications post coronary artery bypass graft surgery. Cardiovasc Revasc Med 2010; 11: 8-19.
- 13) Li Y, Dong H, Chen M, et al: Preconditioning with repeated hyperbaric oxygen induces myocardial and cerebral protection in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a prospective, randomized, controlled clinical trial. J Cardiothorac Vasc Anesth 2011; 25: 908-916.
- 14) Kitagawa K: CREB and cAMP response element-mediated gene expression in the ischemic brain. FEBS J 2007; 274: 3210-3217.
- 15) Stenzel-Poore MP, Stevens SL, Xiong Z, et al: Effect of ischemic preconditioning on genomic response to cerebral ischemia: Similarity to neuroprotective strategies in hibernation and

- hypoxia-tolerant states. *Lancet* 2002; 362: 1028-1037.
- 16) Li Q, Li J, Zhang L, Wang B, Xiong L: Preconditioning with hyperbaric oxygen induces tolerance against oxidative injury via increased expression of heme oxygenase-1 in primary cultured spinal cord neurons. *Life Sci* 2007; 80: 1087-1093.
- 17) Nie H, Xiong L, Lao N, et al: Hyperbaric oxygen preconditioning induces tolerance against spinal cord ischemia by upregulation of antioxidant enzymes in rabbits. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26: 666-674.
- 18) Gu GJ, Li YP, Peng ZY, et al: Mechanism of ischemic tolerance induced by hyperbaric oxygen preconditioning involves upregulation of hypoxia-inducible factor-1alpha and erythropoietin in rats. *J Appl Physiol* 2008; 104: 1185-1191.
- 19) Wang L, Li W, Kang Z, et al: Hyperbaric oxygen preconditioning attenuates early apoptosis after spinal cord ischemia in rats. *J Neurotrauma* 2009; 26: 55-66.
- 20) Yamashita S, Hirata T, Mizukami Y, et al: Repeated preconditioning with hyperbaric oxygen induces neuroprotection against forebrain ischemia via suppression of p38 mitogen activated protein kinase. *Brain Res* 2009; 1301: 171-179.
- 21) Liesz A, Suri-Payer E, Veltkamp C, et al: Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke. *Nat Med* 2009; 15: 192-199.
- 22) Kudochodkar B, Jones H, Simecka J, Dory L: Hyperbaric oxygen treatment attenuates the pro-inflammatory and immune responses in apolipoprotein E knockout mice. *Clin Immunol* 2008; 128: 435-441.
- 23) Shinomiya N, Suzuki S, Hashimoto A, et al: Effect of hyperbaric oxygen on intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in murine lung. *Aviat Space Environ Med* 1998; 69: 1-7.
- 24) Murry CE, Jennings RB, Reimer KA: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-1136.
- 25) Frasier CR, Moore RL, Brown DA: Exercise-induced cardiac preconditioning: how exercise protects your achy-breaky heart. *J Appl Physiol* 2011; 111: 905-915.
- 26) Hertreaux C, Lauritzen I, Widmann C, Lazdunski M: Essential role of adenosine, adenosine A1 receptors, and ATP-sensitive K<sup>+</sup> cerebral ischemic preconditioning. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4666-4670.
- 27) Watanabe M, Katsura K, Ohsawa I, et al: Involvement of mitoKATP channel in protective mechanisms of cerebral ischemic tolerance. *Brain Res* 2008; 1238: 199-207.
- 28) 和田孝次郎, 西大介, 立岩和晃 他: 処置前HBOは神経細胞の虚血障害予防になり得るか? *日高医誌* 2001;36:123
- 29) Quock LP, Zhang Y, Chung E, et al: The acute antinociceptive effect of HBO<sub>2</sub> is mediated by a NO-cyclic GMP-PKG-KATP channel pathway in mice. *Brain Res* 2011; 1368: 102-107.
- 30) Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK: Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26: 1114-1121.
- 31) Wada K, Nishi D, Kitamura T, et al: Hyperbaric oxygenation therapy enhances the protective effect of moderate hypothermia against forebrain ischemia in the gerbil hippocampus. *Undersea Hyperb Med* 2006; 33: 399-405.
- 32) Rinck PA, Svihus R, de Francisco P: MR imaging of the central nervous system in divers. *J Magn Reson Imaging*. 1991;1: 293-299.
- 33) Webb Jt, Pilmanis AA: A new preoxygenation procedure for extravehicular activity (EVA) . *Acta Astronautica* 1998; 42: 115-122.
- 34) Hamilton RW, Thalmann ED. Decompression practice: In: Brubakk AO, Neuman TS, eds. *Bennett and Elliott's Physiology and Medicine of Diving* 5th ed. London: WB Saunders. 2003; pp.455-500.
- 35) Landolfi A, Yang ZJ, Savini F, et al: Pre-treatment with hyperbaric oxygenation reduces bubble formation and platelet activation. *Sport Sci Health* 2006; 1: 122-128.
- 36) Gempp E, Blatteau JE: Preconditioning methods and mechanisms for preventing the risk of decompression sickness in scuba divers: a review. *Res Sports Med* 2011; 18: 205-218.
- 37) Castagna O, Gempp E, Blatteau JE: Pre-dive normobaric oxygen reduces bubble formation in scuba divers. *Eur J Appl Physiol* 2009; 106: 1099-1104.