

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：32689

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11452

研究課題名（和文）伸張性運動に伴って生ずる筋損傷に対する非侵襲的なバイオマーカーの妥当性

研究課題名（英文）Validity of Noninvasive Biomarkers for Muscle Damage Associated with Eccentric Exercise

研究代表者

岡田 純一（OKADA, JUNICHI）

早稲田大学・スポーツ科学学術院・教授

研究者番号：10277791

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：伸張性運動の後に生ずる遅発性の筋損傷は運動誘発筋損傷（EIMD）と呼ばれる。近年、EIMD後にタイチンのN末端の断片物（UTF）が尿中に逸脱することが明らかになった。本研究では、UTFがEIMDの生化学マーカーとしての妥当性の検証を目的として研究を実施した。その結果、UTFは1）短縮性運動後では上昇しないこと、2）EIMDの繰り返し効果を反映すること、3）男女で差がないこと、4）有酸素運動後の経時変化は無酸素運動後の変化とは様相が異なること、が明らかとなった。これらの結果は、UTFがEIMDの生化学マーカーとして高い妥当性を有している可能性があることを示唆するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

UTFは、非侵襲的で特別な資格を必要とせずともEIMDを生化学測定することができる有用な生化学マーカーである可能性があるため、妥当性が確立することで多くの研究者が恩恵を受けることが想定される。また、研究者のみならず、スポーツ現場に関わる監督・コーチがUTFを使用することで、客観的な筋のコンディショニングチェックを、より容易に実施することができるようになる可能性もある。今後、多くの研究者、監督・コーチが信頼してUTFを使用することができるよう、妥当性を確固たるものにするべく、継続して検証を進めていく必要があると言えよう。

研究成果の概要（英文）：The delayed onset muscle damage that occurs after eccentric exercise is referred to as exercise-induced muscle damage (EIMD). Recently, it has been shown that the N-terminal fragment of titin (UTF) is excreted in urine after intense eccentric exercise. In response to this report, we conducted experiments in this study to determine whether UTF has validity as a biochemical marker of EIMD. The results showed that 1) UTF does not increase after shortening exercise, 2) reflects the repeated bout effect of EIMD, 3) does not differ between male and female, and 4) changes over time after aerobic exercise are different in aspect from those after anaerobic exercise. These results suggest that UTF may have high validity as a biochemical marker of EIMD.

研究分野：トレーニング科学

キーワード：運動誘発筋損傷 伸張性収縮運動 生化学マーカー タイチン 妥当性 尿

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

伸張性収縮を含む激しい運動後には、運動誘発性筋損傷 (Exercise-induced muscle damage : EIMD) が発症し、筋力や関節可動域の低下、筋痛などが生じる[1]。また、EIMD が発症した筋では細胞基底膜の破綻が確認され、破綻箇所からはクレアチンキナーゼ (Creatine kinase : CK) などの細胞内物質が血中に逸脱する[2]。細胞内物質の血中濃度や活性値は EIMD を客観的に評価することができるため、多くの研究で使用されてきたが、侵襲性が高く被験者の負担が大きいという問題があった。しかし、近年、EIMD の発症にともない筋線維を構成するタンパク質の一つとなるタイチンの N-末端が断片化し、尿中に逸脱することが明らかとなった[3]。尿中に遊離する断片化したタイチン (Urinary titin N-terminal fragment : UTF) は、誰もが非侵襲的に採取可能であるため、現在の生化学マーカーが抱える侵襲性などの問題を解決することができる物質として期待されている。一方、UTF について現在明らかになっていることは 1) CK や関節可動域、筋力の低下率と相関関係にあること、2) 運動から 96 時間後にピークが出現する事の 2 点であるため、EIMD を評価するための生化学マーカーとしての妥当性の検証は十分になされていないと言える。

2. 研究の目的

したがって本研究の目的は、様々な運動課題および被験者特性にて EIMD を誘発した上で UTF の動態を調査し、EIMD の生化学マーカーとして UTF を使用することの妥当性を立証することとした。

3. 研究の方法

(実験 1) 伸張性収縮運動後の UTF の動態について

運動から 144 時間後までの UTF の動態パターンや、既存の筋損傷指標との相関関係を調査した。運動課題は、等速性筋力測定装置を用いて肘関節屈曲筋を対象に、伸張性収縮運動を 10 回 3 セット実施した。測定項目は、最大等尺性筋力 (MVC)、関節可動域 (ROM)、主観的筋痛 (SOR)、クレアチンキナーゼ (CK)、UTF とした。なお、実験 2~4 の運動課題は、実験 1 と同じ方法で行い、また、測定項目においても同じものを採取した。

(実験 2) 筋の収縮様式と UTF の関係について

EIMD を誘発しないとされる短縮性収縮運動が UTF の動態に与える影響を調査した。短縮性収縮運動条件 (CON) と伸張性収縮運動条件 (ECC) は、8 週間以上空けて実施された。運動課題は、肘関節屈曲筋を対象に、CON は短縮性収縮、ECC は伸張性収縮運動を 10 回 3 セット実施した。

(実験 3) 運動経験と UTF の関係について

EIMD への適応反応として知られる繰り返し効果 (RBE) 発現時の UTF の動態を調査した。1 週目に伸張性の肘関節屈曲運動を 10 回 3 セット (第 1 試行目) 実施し、それから 2 週間後に第 1 試行目と同回数、同収縮様式にて第 2 試行目を実施した。

(実験 4) 性別と UTF の関係について

性差が UTF へ与える影響を調査した。女性群 10 名、男性群 10 名を対象に、伸張性肘関節屈曲運動を 10 回 3 セット実施した。

(実験 5) 自転車ペダリング運動後の UTF の動態について

前述した結果は、全て無酸素運動時の結果となり、有酸素運動時の応答に関しては言及できていない。したがって本研究では、有酸素運動後の UTF の動態について明らかにするこ

とを目的に実施した。被験者は5日間実験に参加し、そのうち1、2、3日目に運動課題を実施した。測定項目は、短縮性最大伸展筋力(MVCC)、ROM、SOR、筋パワー(CMJ)、筋硬度(内側広筋、大腿直筋、外側広筋)、CK、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、UTFとした。測定は、1日目の運動前後と運動から2.5時間、5.5時間後の計4回行い、2日目、3日目は運動前後と運動から2.5時間後の計3回実施し、4日目と7日目は1日目の運動前の測定時間と同じタイミングに1回のみ実施した。最大酸素摂取量($VO_2 \max$)は、実験の1週間前に測定し、運動課題は、 $VO_2 \max$ の55%で90分間の自転車エルゴメーター運動を実施した。

4. 研究成果

(実験1) UTFは伸張性運動から24時間後に上昇し始め、96時間後にピークに達することが明らかとなった(図1青線)。また、UTFとその他の測定項目との間には中～高い相関性を認め、とりわけUTFとCKは全時間で強い相関関係であることが明らかとなった(表1)。

表1 UTFとその他筋損傷指標

	UTF (pmol/mg/dl)							
	Pre	Post	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	144 h
MVIC (%)	-	0.056	-0.485 *	-0.610 **	-0.603 **	-0.679 **	-0.681 **	-0.670 **
SOR (mm)	-	-0.112	-0.047	0.549 *	0.633 **	0.704 **	0.630 **	0.724 **
ROM (%)	-	-0.221	-0.336	-0.696 **	-0.747 **	-0.772 **	-0.781 **	-0.607 **
CK (IU/L)	0.675 **	0.647 **	0.917 **	0.868 **	0.973 **	0.966 **	0.939 **	0.961 **

Pre: 運動前、 Post: 運動直後、 MVIC: 等尺性最大筋力、 SOR: 主観的筋痛、 ROM: 関節可動域、 CK: クレアチンキナーゼ、 UTF: 尿中 titin N-末端フラグメント

* $P < 0.05$ 、 ** $P < 0.01$

(実験2) 全測定項目がCONと比較してECCの方が有意に高値を示したことから、短縮性運動ではEIMDが発症せず、それにともないUTFも上昇しないことが明らかとなった(図1橙線)。この結果より、UTFがEIMDに対して特異的な生化学マーカーであることを示唆するものであると考える。

(実験3) 全ての測定項目において、第1試行目と比較して第2試行目の方が低値を示した。したがって、UTFはEIMDの特徴的な適応となるRBEを反映する生化学マーカーであることが明らかになった(図1緑線)。

(実験4) 全測定項目で群間差が認められなかった。しかし、両群ともに運動課題を最大努力にて実施したにも関わらず、女性群の等尺性最大筋力あたりの仕事量が、男性群と比較して有意に低値を示した。したがって、本研究ではUTFの性差がないものの、今後、運動課題の負荷量を統一して再確認していく必要があると言える(図1赤線)。

(実験5) CMJ、MVCC、SOR、ROM、筋硬度(内側広筋、大腿直筋、外側広筋)、ALT、ASTにおいて統計的に有意な経時変化は認められなかった。その一方で、CKとUTFで主効果が認められた。主効果が認められた両項目で、ペアごとの比較を実施した結果、CKにおいてはDay1-preと比較して、Day2-post ($P=0.013$)とDay2-2.5h後 ($P=0.002$)およびDay3-

post ($P = 0.004$) と Day3-2.5h 後 ($P = 0.021$) の方が有意に高値を示した。UTF においては Day1-pre と比較して、Day-5.5h 後 ($P = 0.021$) の方が有意に高値を示した (紫線)。

本研究では、EIMD の生化学マーカーとして UTF を使用することの妥当性を立証することを目的として実験を行い、以下の結果が得られた。

- 無酸素性の伸張性収縮運動後においては、筋細胞膜の遅発性の損傷を反映している経時変化を示すこと
- 従来 of EIMD 研究で頻用されている CK と高い相関関係にあること
- 無酸素性の伸張性収縮運動によって発症した EIMD に対して特異的に反応すること
- Repeated bout effect の発現に応じて UTF が低値を示すこと
- UTF は性差による影響を受けないこと
- 有酸素性の短縮性収縮運動後には細胞の透過性の亢進により UTF の尿中濃度が一時的に上昇すること

これらの結果より、UTF は EIMD の生化学マーカーとしての妥当性がある程度有ることが明らかになったが、有酸素運動後の一時的な UTF 上昇に対する知見は不十分であるため、今後詳細に検証していく必要があるといえよう。

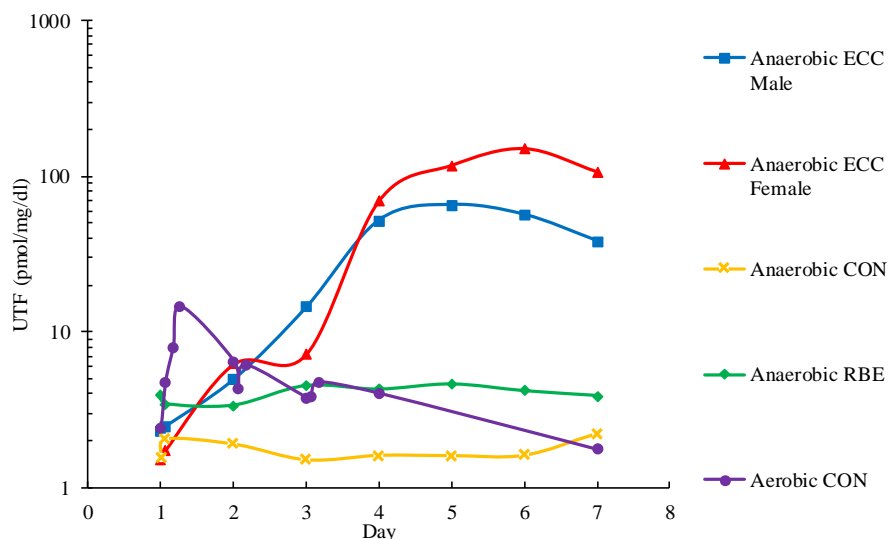


図 1 特徴的な環境下で得られた UTF の経時変化

■ : 男性対象における無酸素性の伸張性運動後の変化、 ▲ : 女性対象における無酸素性の伸張性運動後の変化、 × : 無酸素性の短縮性運動後の変化、 ◆ : Repeated bout effect 発現時の変化、 ● : 有酸素運動後の変化

引用文献

- [1] A. Stožer, P. Vodopivec, and L. Križančić Bombek, "Pathophysiology of exercise-induced muscle damage and its structural, functional, metabolic, and clinical consequences," *Physiol Res*, vol. 69, no. 4, pp. 565–598, Aug. 2020, doi: 10.33549/physiolres.934371.
- [2] P. Brancaccio, N. Maffulli, and F. M. Limongelli, "Creatine kinase monitoring in sport medicine," *British Medical Bulletin*, vol. 81–82, no. 1, pp. 209–230, Jan. 2007, doi: 10.1093/bmb/ldm014.
- [3] K. Kanda, J. Sakuma, T. Akimoto, Y. Kawakami, and K. Suzuki, "Detection of titin fragments in urine in response to exercise-induced muscle damage," *PLOS ONE*, vol. 12, no. 7, p. e0181623, Jul. 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0181623.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yamaguchi Shota, Suzuki Katsuhiko, Kanda Kazue, Okada Junichi	4. 巻 9
2. 論文標題 N-terminal fragments of titin in urine as a biomarker for eccentric exercise-induced muscle damage	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine	6. 最初と最後の頁 21 ~ 29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7600/jpfsm.9.21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamaguchi Shota, Suzuki Katsuhiko, Inami Takayuki, Kanda Kazue, Zhao Hanye, Okada Junichi	4. 巻 19
2. 論文標題 Changes in Urinary Titin N-terminal Fragment Concentration after Concentric and Eccentric Exercise	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Sports Science and Medicine	6. 最初と最後の頁 121 ~ 129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamaguchi Shota, Suzuki Katsuhiko, Kanda Kazue, Inami Takayuki, Okada Junichi	4. 巻 23
2. 論文標題 Changes in urinary titin N-terminal fragments as a biomarker of exercise-induced muscle damage in the repeated bout effect	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Science and Medicine in Sport	6. 最初と最後の頁 536 ~ 540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsams.2019.12.023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Zhao Hanye, Nishioka Takuya, Okada Junichi	4. 巻 10
2. 論文標題 Validity of using perceived exertion to assess muscle fatigue during resistance exercises	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PeerJ	6. 最初と最後の頁 e13019 ~ e13019
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7717/peerj.13019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shota Yamagushi, Katsuhiko Suzuki, Kazue Kanda and Junichi Okada
2. 発表標題 Evaluation of exercise-induced muscle damage using urinary titin N-terminal fragment at repeated bout effect
3. 学会等名 European College of sports science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口翔大、鈴木克彦、神田和枝、岡田純一
2. 発表標題 尿を用いて筋損傷を評価することの妥当性の検討～コンセントリック収縮とエキセントリック収縮運動後のtitin N-terminal fragment濃度の比較～
3. 学会等名 アスレティックトレーニング学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口翔大、趙寒暉、岡田純一
2. 発表標題 運動誘発性筋損傷に対する感受性の性差の検討
3. 学会等名 NSCAジャパンS&Cカンファレンス2019
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 克彦 (Suzuki Katsuhiko) (80344597)	早稲田大学・スポーツ科学学術院・教授 (32689)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	山口 翔大 (Yamaguchi Shota) (80896093)	慶應義塾大学・システムデザイン・マネジメント研究科（日吉）・研究員 (32612)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関