

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：32511

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19974

研究課題名(和文) Nrf2の賦活化は運動誘発性の酸化ストレス応答を制御し、筋疲労・筋損傷を抑制する

研究課題名(英文) Activation of Nrf2 suppresses exercise-induced muscle fatigue and muscle damage via suppression of oxidative stress

研究代表者

小峰 昇一 (KOMINE, Shoichi)

帝京平成大学・ヒューマンケア学部・助教

研究者番号：10839088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：運動時には骨格筋内で酸化ストレスが生じる。スルフォラファン(SFN)は生体の酸化ストレス能を増大させる。しかしながら、ヒトがSFNを摂取した際に運動後の筋痛・筋損傷に及ぼす影響は未知であった。SFN摂取により、触診時筋痛と関節可動域の低下が有意に抑制された。また、筋損傷マーカー血清CK上昇が抑制される傾向が認められた。酸化ストレスマーカーである血清TBARSも、運動2日後に有意に低値を示した。以上より、SFN摂取は運動誘発性の筋痛・筋損傷を抑制することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この成果は、ヒトにおいて初めてスルフォラファン摂取が筋痛・筋損傷に与える影響を示したものとなった。アスリートにおけるパフォーマンス維持・向上に寄与するだけでなく、一般健常者の運動志向を高め、健康状態やQOLの向上をもたらす可能性があるだろう。また、本研究で用いたサプリメントの濃度は、十分に食事から摂取することが可能な濃度であり、生活に取り入れやすい。今後は食事由来の成分で解析することで、さらなる発展が期待される。

研究成果の概要(英文)：Oxidative stress occurs in skeletal muscle during exercise. Sulforaphane (SFN) increases the antioxidant stress capacity of the skeletal muscle. However, the effects of SFN ingestion on post-exercise muscle pain and damage in humans are unclear. SFN intake significantly suppressed muscle soreness on palpation and decreased joint range of motion. In addition, a trend toward suppression of elevated serum CK, a marker of muscle damage, was also observed. Serum TBARS, a marker of oxidative stress, was significantly lower 2 days after exercise. These results suggest that SFN supplementation suppresses exercise-induced muscle pain and muscle damage.

研究分野：スポーツ科学

キーワード：筋痛 筋損傷 運動負荷 サプリメント 酸化ストレス スルフォラファン Nrf2 DOMS

1. 研究開始当初の背景

運動を日常的に行わないヒトは運動後に筋痛が生じやすく、運動習慣の形成を妨げる一因となる。個人にとって激しい運動後、一定時間が経ち生じる筋痛を遅発性筋痛 (delayed onset muscle soreness: DOMS) と呼び、骨格筋の運動時や触診時の痛みとして観察することができる。DOMS の発生については、乳酸濃度増加、筋痙攣、結合組織や筋の損傷、炎症反応など複数の原因が考えられているが、骨格筋内酸化ストレスの増加が重要な因子とされる報告もある。例として、過剰な運動刺激は活性酸素種の産生を高め、骨格筋内酸化ストレスが増大する。その結果、筋組織の損傷、筋収縮能の低下を引き起こす。

酸化ストレスに応答する重要なマスター遺伝子として、転写因子 Nrf2 (NF-E2 related factor 2) が知られている。Nrf2 は生体防御に関わる遺伝子群を制御し、生体の維持、防御に関与している。

一方、スルフォラファン (sulforaphane: SFN) は、Nrf2 を賦活化し酸化ストレスに対する細胞保護効果を誘導する。我々は、マウスにおける運動負荷直前の SFN 投与は、骨格筋内の Nrf2 活性化により運動誘発性の酸化ストレスを低下させ、骨格筋損傷を抑制し運動耐容能を向上させたことを報告している。しかしながら、ヒトにおける SFN 摂取が運動後の DOMS に及ぼす影響については未知である。

2. 研究の目的

本研究では、ヒトにおける SFN の摂取が伸張性運動後の DOMS を抑制する効果について、主観的指標、生化学指標を用いて評価することを目的とした。そのために、次の3つの課題を設定した。

SFN 摂取は末梢血単核細胞中の Nrf2 下流遺伝子を増大するか。

SFN 摂取は伸張性運動後の筋痛・筋損傷を抑制するか。

SFN 摂取は運動誘発性の酸化ストレスを抑制するか。

3. 研究の方法

実験1では、SFN の摂取期間を検討する目的で、運動習慣、服薬、喫煙の無い健康な男子大学生 6 名を対象とし実験を行った。摂取する SFN サプリメントはカゴメ社より購入し、被験者は毎食1粒、1日3回 SFN 摂取した。被験者には摂取前 (pre) から1週間おきに採血を行い末梢血単核細胞 (PBMCs) を分取した。Nrf2 下流遺伝子 mRNA 発現量を摂取前と1週間毎に比較した。SFN 摂取開始後から mRNA 発現量の差が現れた時点を終点とし、運動負荷前の摂取期間を定めた。

実験2では、運動実験による筋痛評価を行った。実験期間は運動前 (Ex-pre)、運動直後 (Ex-post)、運動1日後 (1 day)、2日後 (2 day)、3日後 (3 day)、4日後 (4 day) とした。運動実験当日の朝、SFN 群はスルフォラファンサプリメントを摂取し実験室に集合し、採血を行った。その後、被験者の運動前の触診時痛と伸展時痛を視覚アナログスケール (visual analogue scale: VAS) にて解析し、肘関節可動域 (range of motion: ROM) の測定を行った。運動直後と運動1日後から4日後まで、同様に採血と VAS の測定を行った。運動負荷内容は、非利き腕の上腕屈筋群の伸張性運動を、個々の最大筋力の70%の負荷で30回繰り返し行った。

4. 研究成果

【実験1】SFN 摂取前 (pre) と摂取後 1 週間 (1w) , 2 週間 (2w) の末梢血単核細胞 (PBMCs) 中の Nrf2 下流遺伝子である *NQO1* , *HO-1* の mRNA 発現量の変化を、それぞれ **図1** に示した。*NQO1* は、摂取前 (pre) と比較して 2 週間後 (2w) で有意に高値を示した (**図1A**)。一方、*HO-1* は有意な差は認められなかった (**図1B**)。この結果から、SFN の摂取期間を 2 週間として、運動負荷実験を行った。

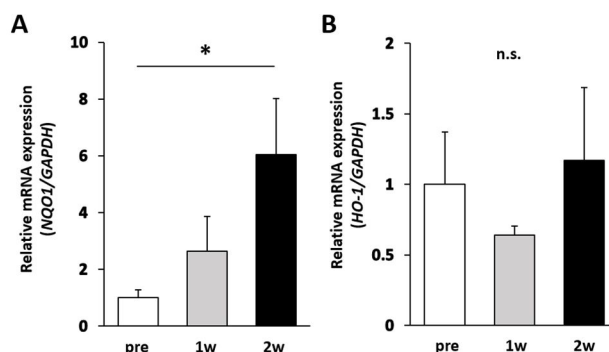


図1 . SFN 摂取は PBMCs における Nrf2 下流遺伝子発現量を変動させる。

【実験2】運動負荷前 (Ex-pre) から運動 4 日後 (4 day) までの VAS (触診時痛, 最大伸展時痛) の推移を **図2** に示した。触診時痛は両群共に運動負荷 2, 3 日後にピークを迎え、その後漸減した。運動 2 日後 (2 day) において、SFN 群は CON 群と比して有意に低値を示した (**図2A**)。最大伸展時痛も同様に、CON 群において運動負荷 2 日後にピークを迎え漸減したが、SFN 群では Ex-post に比していずれの時点においても有意差は認められなかった (**図2B**)。

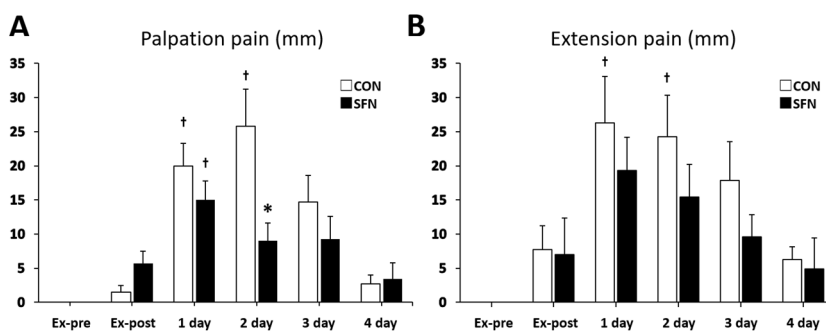


図2 . SFN 摂取は押圧時筋痛、伸展時痛を抑制する。

運動負荷前 (Ex-pre) から運動 4 日後 (4 day) までの肘関節可動域、肘関節屈曲時角度、肘関節伸展時角度の変化量の推移を **図3** に示した。

肘関節可動域において、SFN 群は CON 群と比較して運動 2 日後 (2 day) において有意に低値を示した (**図3A**)。肘関節屈曲時角度を解析すると、屈曲角度において運動直後にピークが出現し、その後漸減するが、群間に有意な差は認められなかった (**図3B**)。一方で、伸展時角度の低下は運動 2 日後にピークが生じるが、そのピークは SFN 摂取により抑制された (**図3C**)。

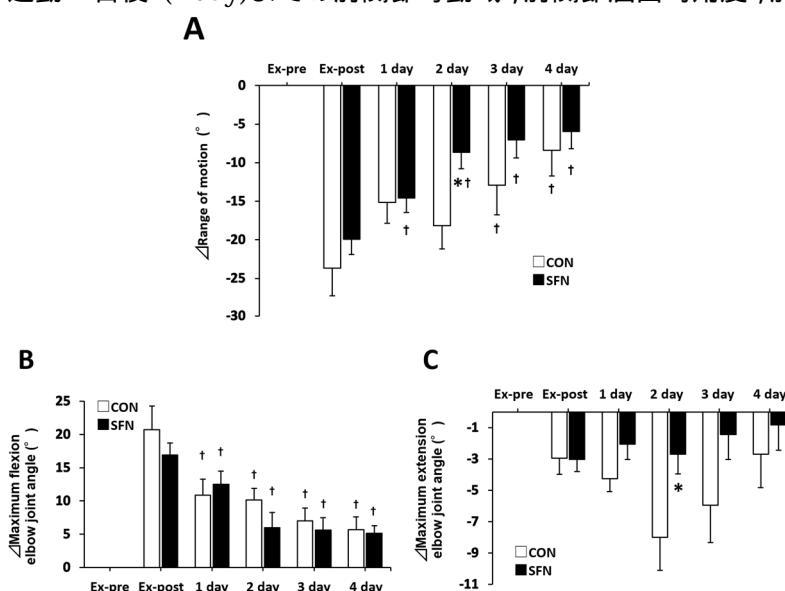


図3 . SFN 摂取は肘関節可動域低下を抑制する。

運動実験前 (Ex-pre)から運動 4 日後 (4 day)までの筋損傷マーカー (CK, AST)の推移を **図4**に示した。運動負荷 1 日後 (1 day)の CK において, CON 群は Ex-pre に対し高値を示した。一方, SFN 群は, Ex-pre に対し 3 day まで有意な差を示さなかったが, 運動負荷 4 日後において, Ex-pre に比して高値となった (**図4A**)。AST においては CON 群において上昇傾向は認められたものの, 有意な差は認められなかった。 (**図4B**)。

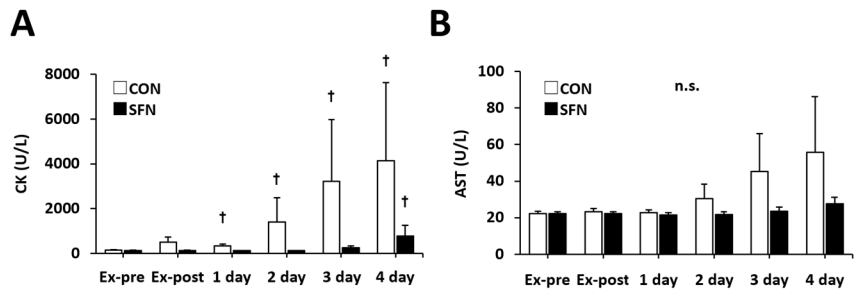


図4 . SFN 摂取は運動後の筋損傷マーカーを抑制する。

血中酸化ストレスマーカー (TBARS)の推移を **図5**に示した。CON 群において, 血清中 MDA 濃度は運動負荷 2 日後にピークとなり, その後低下した。一方で, CON 群と比較して SFN 群は運動負荷 2 日後 (2 day)に有意に低値を示し, その後も低値を示し続けた。

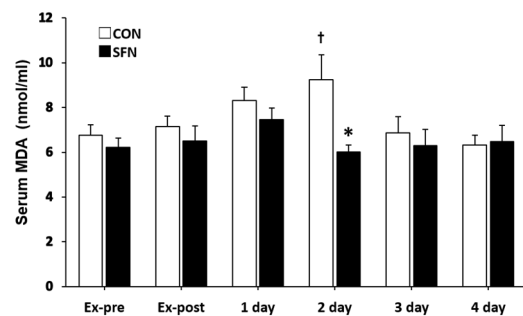


図5 . SFN 摂取は運動誘発性酸化ストレスを抑制する。

以上の結果から, 2 週間の SFN 摂取は伸張性運動後の筋痛・筋損傷を抑制する可能性が示された。その過程には, SFN 摂取による運動誘発性の酸化ストレス抑制の関与が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Komine Shoichi, Miura Ikuru, Miyashita Nao, Oh Sechang, Tokinoya Katsuyuki, Shoda Junichi, Ohmori Hajime	4. 巻 9
2. 論文標題 Effect of a sulforaphane supplement on muscle soreness and damage induced by eccentric exercise in young adults: A pilot study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.15130	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 小峰昇一, 三浦征, 呉世昶, 大森肇
2. 発表標題 スルフォラファン摂取が伸張性運動により誘発される筋痛・筋損傷と酸化ストレスマーカーに与える効果
3. 学会等名 第28回日本運動生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Miura I, Komine S, Miyashita N, Tokinoya K, Konno M, Kawazu S, Ohmori H
2. 発表標題 Is taking sulforaphane effective for eccentric exercise-induced muscle soreness and muscle damage in humans?
3. 学会等名 The 24th Annual congress of the European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三浦征, 小峰昇一, 宮下菜緒, 時野谷勝幸, 今野雅生, 川津俊輔, 大森肇
2. 発表標題 ブロッコリースプラウト抽出物の摂取は伸長性運動後の酸化ストレスを抑制する.
3. 学会等名 第72回日本酸化ストレス学会学術集会
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
研究協力者	三浦 征 (MIURA Ikuru)	筑波大学・人間総合科学学術院・大学院生 (12102)	
研究協力者	呉 世昶 (OH Sechang)	筑波大学・医学医療系・助教 (12102)	
研究協力者	時野谷 勝幸 (TOKINOYA Katsuyuki)	東京都立大学・人間健康科学研究科・研究員 (22604)	
研究協力者	正田 純一 (SHODA Junichi)	筑波大学・医学医療系・教授 (12102)	
研究協力者	大森 肇 (OHMORI Hajime)	筑波大学・体育系・教授 (12102)	

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
---------	---------