

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11175

研究課題名（和文）運動療法最適化のための血中乳酸濃度および神経栄養因子群の動態解析

研究課題名（英文）The effects of exercise on the dynamics of blood lactate and myokines

研究代表者

氷見 直之（Himi, Naoyuki）

川崎医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70412161

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：運動の種類による筋由来の栄養因子（マイオカイン）群の分泌動態を解析した。ラットを非運動群、運動群（持久強制走行、自発運動、経皮筋電気刺激、巧緻性走行）に分けて2週間の運動後の腓腹およびヒラメ筋中のマイオカイン（BDNF、IGF-1、irisinおよびcathepsin B）を測定した。健康ラットでは運動後のマイオカイン量に有意な差は見られなかった。脳梗塞群でも有意差は見られなかったものの、筋間で比較してみるとcathepsin BおよびIGF-1は腓腹筋よりもヒラメ筋で運動群において高めの値を示していた。また脳梗塞により生じる記憶能低下に対し、全ての運動群において回復傾向が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在の運動療法の選定には、科学的な根拠よりもむしろ経験に基づいた運動レシピを用いていることが多い。ここに科学的な根拠を与えるために、本研究では各種運動療法を行うことにより筋から分泌される因子であるマイオカインに着目し、その分泌濃度を解析し、効果的な運動療法を考察、提案することを目的とする。特に脳神経系疾患の発症後の急性期における運動療法については、その有益性とリスクのバランスを考えながら行う必要があるが、それについても、マイオカイン分泌の観点からエビデンスを与えうるものと期待できる。

研究成果の概要（英文）：The secretion dynamics of muscle-derived nutritional factors (myokines) according to the type of exercise were analyzed. Rats were divided into non-exercise and exercise groups (endurance forced running, spontaneous running, transcutaneous electrical stimulation and rotarod dexterity running), and myokines (BDNF, IGF-1, irisin and cathepsin B) were measured. There was no significant difference in post-exercise myokine levels in healthy rats. In the cerebral infarction rats by microsphere embolism, although no significant difference was observed when comparing between muscles, cathepsin B and IGF-1 showed higher concentrations in the soleus muscle than in the gastrocnemius muscle in all exercise groups. We hypothesized that the kinetics of myokines secretion might be different due to differences in muscle metabolism. In addition, a recovery tendency was confirmed in all exercise groups against memory dysfunction caused by cerebral infarction.

研究分野：神経生理学

キーワード：マイオカイン 運動療法

### 1. 研究開始当初の背景

脳梗塞や脊髄損傷後の運動麻痺により筋活動が困難となり、筋萎縮やその後の運動不足による予後の悪化や生活の質低下が問題となっている。これを防止するリハビリテーションの一つとして作業特異的なトレーニングが行われている。しかしながらこの手法ではトレーニングした作業については回復が見込めるものの、それ以外の作業や身体能力の回復は見込めない。特に全身の運動機能を回復させるためには全身の筋を活動させるエクササイズが必要である。筋活動により筋および全身から分泌される栄養因子群が中枢機能の回復に大きく寄与することが多数報告されている。例えば脳由来神経栄養因子(BDNF)は中枢神経系の成長や機能改善および保護に重要な因子であり、脳神経系疾患が発症後には可能な限り急性期に発現させてダメージを受けた神経の保護や機能維持を行わせることが望ましい。これらの因子は高強度から超低強度までの幅広い運動で発現するとの報告があり、運動の強度や種類の違いによる栄養因子群の発現レベルや、それにより得られる神経系の機能維持や回復といった効果には一貫したエビデンスが形成されていないのが現状である。

また脳中枢疾患発症後の急性期リハビリテーションの効果は良く知られているが、運動療法を採用する場合、その強度は患者の状態を診て経験的に決定および修正しているのが現状であり、経験値に頼った運動療法策定法ではなくに定量的な理論が望まれている。さらに現状では筋や脳、脊髄に発現する各栄養因子群の濃度変化は運動療法の策定に考慮されていない。本来なら機能回復に直結するこれら因子群を効率よく発現させるような運動療法を決定する方が効率的と考えられる。しかしながら運動による栄養因子群の動態および栄養因子濃度と乳酸濃度との関係はこれまで示されておらず、運動因子機能改善とつながる一貫した理論に至っていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、全身運動や筋刺激による血中、筋組織中および脳内の乳酸および神経栄養因子群の濃度変化を追跡し、それらの動態から効果的な運動療法を考察し提案することを目的とする。上述のように、運動療法の策定には経験値に頼っている現状があり、本研究のように運動の種類および強度によって変化する血中乳酸濃度や栄養因子群の濃度を追跡する手法は新たなエビデンスを与えうるものと考えられる。実際、血中乳酸濃度と、脳や筋の栄養因子群の濃度を相関付けた研究はなく、まずその相関の有無を探る本研究の流れはその時点で新規性を有している。仮説と異なり乳酸濃度と栄養因子群が相関しない結果が得られた場合も、各栄養因子の濃度変化と機能回復を相関付けることで、機能回復効果と相関の高い因子を特定し、それを高める運動療法の最適化を議論する材料を提供できるためその独自性および新規性は損なわれない。

本研究により従来はタブーとされてきた脳神経系疾患発症直後、急性期における運動療法有益性を提言できれば急性期リハビリテーションに新たな可能性を付与できる。

### 3. 研究の方法

実験動物として健常ラット(令和2年度)およびマイクロスフェアを頸動脈より注入する方法で作成した軽度脳梗塞モデルラット(令和3、4年度)を用いた。この脳梗塞モデルでは、運動機能は大きくは損なわれずに記憶能のみが障害される。運動負荷は、強制持久運動(トレッドミルにて10、20または30m/minの速度で30min/day走行)、自発走行運動(running wheel 付きケージにて飼育し、平均5,000m/day以上走行した個体を実験に用いた)、経皮筋電気刺激(下肢後部の皮膚上に刺激電極を貼り付け、50Hzにて強縮を生じさせる刺激を1秒間、3秒間隔で10分間反復した)および巧緻性歩行運動(毎日rotarod歩行を行い、10分間落下せずに歩行した個体を実験に用いた)とし、一方で非運動群(通常ケージで飼育)および下肢筋麻痺群(坐骨神経切断)を対照群とした。各運動群(自発走行群は除く)について運動後1分以内に尾静脈血を採取し血中乳酸濃度を測定(アークレイ社 LactatePro2)し、運動強度を数値化した。また7および14日間の運動終了直後に海馬と腓腹筋およびヒラメ筋を摘出し、タンパク抽出後にBDNF、IGF-1(ELISA)、irisin、cathepsinB(western blot)を定量した。

さらに軽度脳梗塞モデルにおいては、2週間の運動負荷後の空間記憶能をBarnes迷路を用いて数値化し比較した。Barnes迷路は径120mmの円卓の周囲に等間隔に20箇所の穴を開けたもので、その一箇所にラットが好む暗い環境を付与できる逃避BOXを設置し、周囲の視覚的環境からその逃避BOXを設置した穴の位置を記憶させるものである。5日間かけて逃避箱を設置した穴の位置を記憶させ、6日目に逃避箱を外して逃避箱のあった穴(Goal)へのアクセス回数、滞在時間および到達時間を測定した。

#### 4. 研究成果

2020 年度に健常ラットにて運動開始 7 日後の後肢の筋におけるマイオカイン発現量を比較したところ、運動群、非運動群の間に有意な差は見られなかった。一方、運動強度の指標と考えている血中乳酸濃度は、経皮筋電気刺激群において刺激直後に有意に上昇していた。他の運動群は運動前後で有意な変化はみられなかった。2020 年度は運動開始 7 日後の筋にてマイオカイン量に有意な差は見られなかったため、2021 年度にさらに運動開始 14 日後にて測定を行ったが、運動群間でマイオカイン発現量に有意な差は見られなかった。14 日間の運動後の血中乳酸濃度は、7 日間後と同様、経皮筋電気刺激群において刺激直後に有意に上昇していた（刺激前 2.37 刺激後 4.94）。また持久運動群（トレッドミル）群で運動強度を高くしていくとそれに伴い運動後の血中乳酸濃度は上昇した（刺激前：低強度 2.30、中強度 2.51、高強度 2.47 刺激後：低強度 2.70、中強度 3.59、高強度 5.26）。

ここまでの検討結果から、健常ラットでは筋マイオカイン濃度のベースラインが高く運動の種類による差が生じにくくなっている可能性を考え、2022 年度は脳梗塞モデルラットを用いて検討した。健常ラットと同様に 14 日間の運動後に各群の各筋マイオカイン濃度を比較したところ、cathepsinB はヒラメ筋において巧緻性歩行、高速度持久運動で他の運動に比べて高い値となった。Irisin および IGF-1 については、運動間に有意な差は無く、BDNF では特に腓腹筋において自発運動および中強度持久運動で高い値を示した（図 1）。また筋間で比較してみると、cathepsinB および IGF-1 は腓腹筋よりもヒラメ筋で運動群において高めの値を示し、一方で irisin および BDNF はヒラメ筋で低い値を示した。しかし有意差は見られず、今後 n 数の増加や週齢の影響も確認しておく必要があると考えた。またこのように腓腹筋とヒラメ筋で運動によるマイオカイン類の増加に差が生じることから、筋特異性（赤筋または白筋が、など代謝様式の違いなど）を有する可能性も考慮する必要があると考えた。

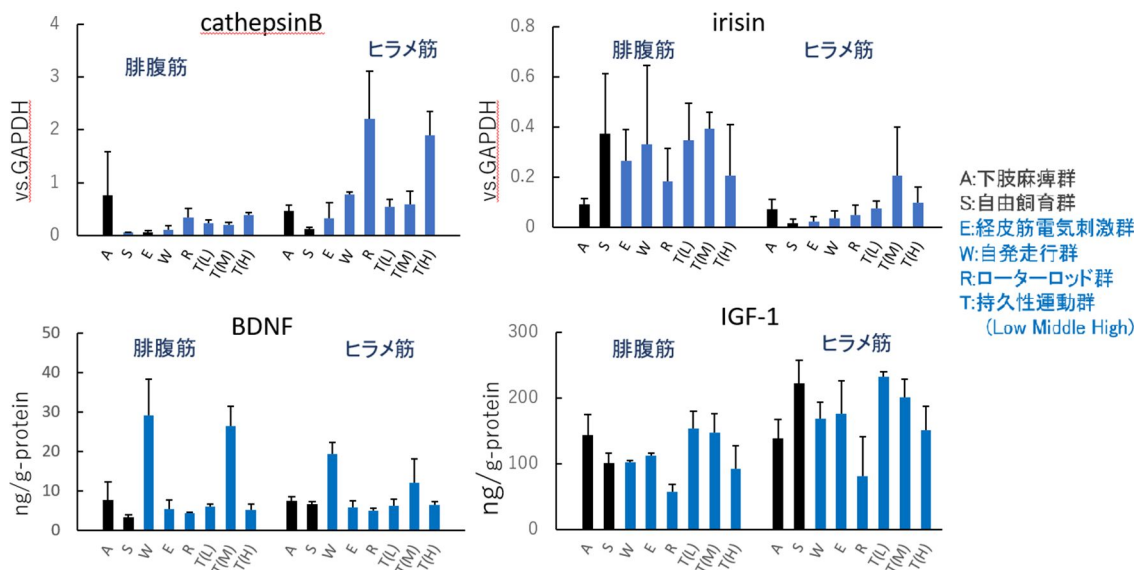


図 1 14 日間の各種運動後の筋マイオカイン濃度 下肢後部に並列して存在する異なる筋 2 種（腓腹筋およびヒラメ筋）について測定した。

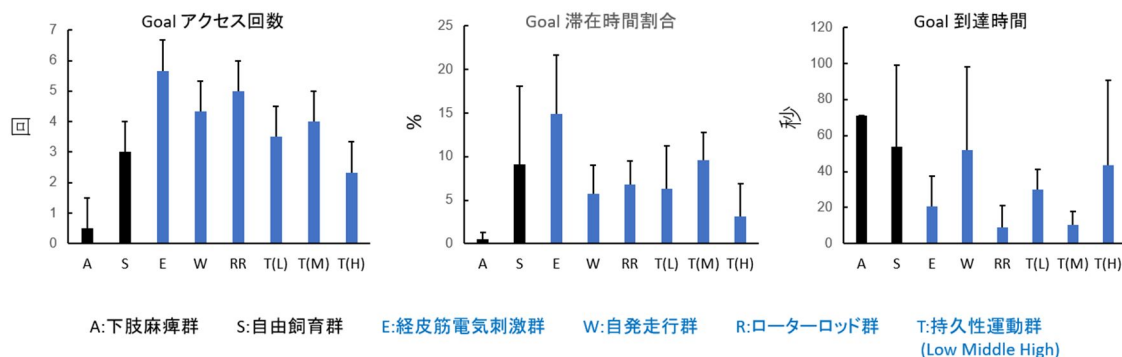


図 2 脳梗塞ラットの運動による記憶能回復効果 Barnes 迷路を用いた。Goal である暗箱を設置した穴へのアクセス回数、穴周囲の滞在時間および最初に Goal を設置した穴まで到達する時間を比較した。

脳梗塞により生じる記憶能障害からの回復効果も同時に確認した結果、記憶能が低下していた下肢筋麻痺群と比較すると全ての運動群においてゴールへの到達回数、滞在時間および到達時間といった空間記憶能の指標で回復傾向がみられたが、特に経皮電気刺激群において目立った回復傾向が確認された(図2)。記憶能については運動の種類や強度による有意な差は見られなかったものの、いずれの運動群も非運動群に比べると記憶能が回復していた(図2)。

研究成果として、運動強度に従い血中乳酸濃度は高くなる傾向がみられたが、血中乳酸濃度に相関のある濃度変化を示したマイオカインは見られなかった。マイオカイン濃度の増減を決めるのは血中乳酸濃度で表される代謝的な運動強度よりも、筋そのものの代謝様式など、筋特異性にあると考えた。また、記憶能の回復は全ての運動群において見られたことから、マイオカイン特性については十分に議論できない結果となった。記憶能の維持にはBDNFが関与しているとの報告は数多くあり、BDNFに焦点を絞って本実験結果を考えると、運動により海馬由来のBDNFも増加することがわかっており、その濃度は筋由来の値より2桁ほど大きく、筋由来のBDNFが海馬に到達して記憶能回復作用をもたらしているとは考えにくい。

今後はさらにマイオカイン類の血中動態を解析し、本研究期間内に測定できなかった記憶能以外の障害回復効果(脊髄損傷後の運動機能など)を議論していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 氷見直之、中村-丸山恵美、中村丈洋
2. 発表標題 Differences in myokine secretion depending on the type of exercise
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 氷見直之、中村-丸山恵美、中村丈洋
2. 発表標題 運動の種類と各種マイオカイン類分泌の関係
3. 学会等名 第77回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

生理学2教室web site <a href="https://m.kawasaki-m.ac.jp/physiology/">https://m.kawasaki-m.ac.jp/physiology/</a>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------

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	宮本 修  (Miyamoto Osamu)  (00253287)	川崎医科大学・医学部・教授    (35303)	

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	丸山 恵美  (Nakamura-Maruyama Emi)  (30792072)	川崎医科大学・医学部・助教     (35303)	

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