

令和 5 年 4 月 4 日現在

機関番号：10102  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2020～2022  
課題番号：20K11410  
研究課題名(和文) 反復低酸素暴露と高圧暴露が骨格筋代謝機能および運動パフォーマンスに及ぼす効果  
研究課題名(英文) Effects of exercise training with short-duration intermittent hypoxia and hyperbaric exposure on endurance performance and muscle metabolism  
研究代表者  
鈴木 淳一 (Suzuki, Junichi)  
北海道教育大学・教育学部・教授  
研究者番号：80261379  
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)：これまで、高圧酸素カプセル(1.3気圧)や短時間の間欠低酸素暴露が、マウスにおける持続的運動能力を高めることを報告してきた。本研究では、その両者を同日に実施することでさらなる持久力に寄与するかどうかを観察した。その結果、幼若期からトレーニングを積んだマウスにおいて、骨格筋の脂肪酸利用能力とともに、有酸素的代謝能力が向上することで、持続的運動能力が顕著に向上することが明らかとなった。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、全身持久力向上を目的とした新たなトレーニング方法の基礎実験を行い、その効果を生理・生化学的、分子生物学的に分析する点で学術的意義が大きい。また、幼若期からトレーニングを積んだマウスへの効果を評価することで、実際の競技スポーツ現場への応用を念頭においている点が特徴的である。高圧暴露と短時間の間欠低酸素暴露をトレーニングに組み込むことによって、骨格筋の脂質代謝の向上とミトコンドリアの酸化的リン酸化が向上することで、持続的運動能力が顕著に向上することが本研究によって明らかとなった。これらの結果は、今後のスポーツ界に新たなトレーニング方法を提案する基礎的データであり、その社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：The present study was designed to investigate the effects of short-duration intermittent hypoxia in combination with hyperbaric exposure on endurance capacity and muscle metabolism in well-trained mice. Mice in the training group were housed in a cage with a running wheel for 7 weeks from 5 weeks old. Voluntary running markedly increased maximal work values by 6.0-fold. Trained mice were then subjected to hybrid training with hyperbaric exposure (HYP) for 1 h or both (LOHYP) hyperbaric exposure and intermittent hypoxia for 4 weeks. Maximal endurance capacity was greater in the HYP (by 15%) and LOHYP (by 31%) groups than in the HT group. In white gastrocnemius, activity levels of HAD and CS were significantly higher in the LOHYP group than in the sedentary group. In plantaris, CPT-2 activity levels were significantly higher in the LOHYP group than in the other three groups. The LOHYP procedure substantially upregulated heat shock protein 70 protein levels in hind-leg muscles.

研究分野：運動生理学

キーワード：間欠低酸素暴露 高圧暴露 ハイブリッドトレーニング HSP70

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景 (2020, 21, 22 年度)

これまで、当研究室における先行研究によって、短時間の反復低酸素暴露後に運動を実施すると、マウス骨格筋の脂質代謝を改善することで、持久的運動能力向上に付加的な効果があることを報告している[doi: 10.14814/phy2.12744]。さらに、幼若期からトレーニングを積んだマウスにおいても持久的運動能力とスプリント・インターバル走の成果が顕著に向上することを報告してきた[doi: 10.14814/phy2.14182]。

高気圧酸素カプセルを用いた先行研究では、2.5-3.0 気圧で 100%O<sub>2</sub> を吸入させる研究が多い。ラットにおいて、2.5 気圧・100%O<sub>2</sub>・2 時間の暴露で、損傷した骨格筋の機能回復を促進することが報告されている。普及型の 1.3-1.5 気圧の装置では、40%程度の高酸素を吸入する研究はみられるが、常酸素で骨格筋への影響または持久的運動能力への付加的効果を報告した研究はみられない。当研究室における先行研究によって、高気圧酸素カプセル(1.3 気圧)暴露を運動後に実施すると、全身持久力向上に付加的な効果を生じることを報告してきた[doi: 10.14814/phy2.13349; doi: 10.1113/EP087360]。

### 2. 研究の目的

本研究は、運動前に短時間の反復低酸素暴露、運動後に 1 時間の高気圧(1.3 気圧)暴露を実施することで、全身持久力のさらなる付加的効果を生じるかどうかを検討することを目的とした。トレーニングには、持久的運動とインターバル走を組み合わせたハイブリッド・トレーニングを用い、幼若期から長期間トレーニングを積んだマウスの持久力向上に及ぼす効果を検討した。

### 3. 研究の方法

実験全体のデザインを Fig. 1 に示した。

#### ・反復低酸素暴露

マウスを個別ケージごと低酸素チャンバーに入れ、低酸素 15 分、常酸素 10 分を 4 サイクル実施した。低酸素は、最初の 2 週間を 13%O<sub>2</sub> その後の 2 週間を 12%O<sub>2</sub> で実施した。

#### ・高気圧暴露

マウスを個別ケージごと加圧チャンバーに入れ、常酸素を 1.3 気圧に加圧し、1 時間暴露した。

#### ・幼若期からの運動負荷

マウスを安静対象(Sed)群と運動群にわけた。運動群には小型齧歯類用の回転ホイール(直径 13cm)を用い、幼若期(5 週齢)から 7 週間自発走運動を負荷した。その後、最大持久的運動能力を測定した。運動能力は安静群よりも 6 倍増加していた。

#### ・ハイブリッド・トレーニング

齧歯類用トレッドミルを用い、ハイブリッド運動群(HET、20-30 m/min の速度で 30 分間の持久的運動後、5 分間の休息をはさみ、30-42.5 m/min の速度で 5 秒間の走運動と 10 秒間の休息を 30 分間繰り返す)を 4 週間(週 6 日)負荷した。

#### ・グルーピング

自発走運動後の運動能力が同等になるよう、ハイブリッド運動だけの群 (HT 群)、HET

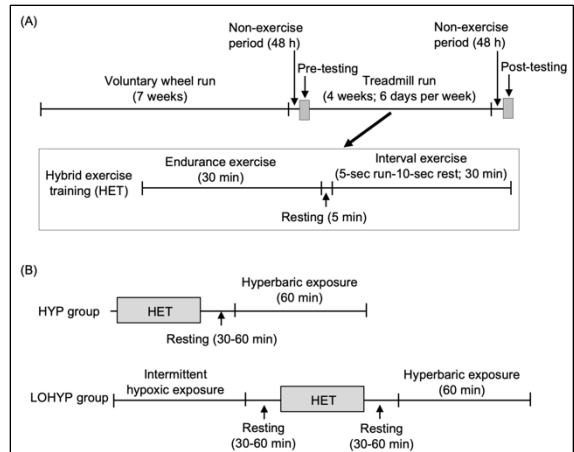


Figure 1. Experimental design

(A) Whole experimental protocols; (B) Daily experimental protocols.

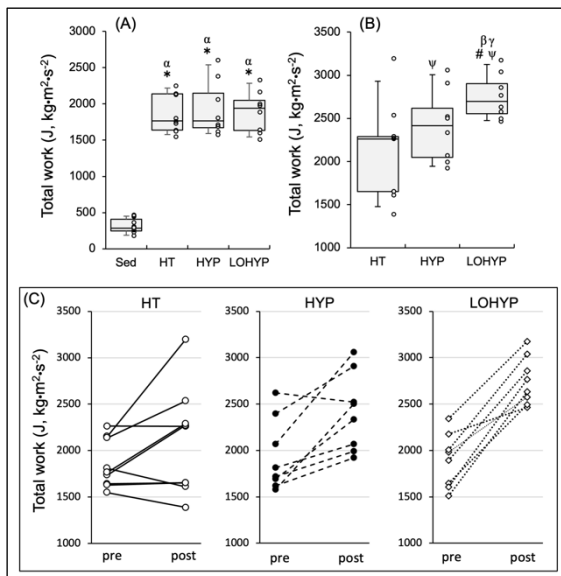


Figure 2. Endurance exercise performance test

Total work in endurance capacity test after 7 weeks of voluntary wheel running (A) and after 4 weeks of treadmill exercise training (B). (C) Changes in individual work values before and after treadmill exercise training. Sed, sedentary control group; HT, hybrid-trained group; HYP, hyperbaric exposure with hybrid-trained group; LOHYP, intermittent hypoxic exposure and hyperbaric exposure with hybrid-trained group. Significantly different from the \*Sed group using Bayesian data analysis. Significantly different from pre-treadmill training values of each group shown in panel (A) using #Bayesian data analysis or the #95% CI. The 95% CI did not contain the mean value of the #Sed, #HT, and #HYP groups. Values are expressed as box and whisker plots with 5th, 25th, 50th, 75th and 95th percentile. Dots are individual data points.

後に高圧暴露を1時間実施する群 (HYP 群)、および HET 前に反復低酸素暴露、HET 後に高気圧暴露を実施した群 (LOHYP 群) に分けた。

4 週間のトレーニング後、最大運動能力を測定し、その 48 時間後に組織サンプルを抽出した。

#### 4. 研究成果

##### ・最大運動能力

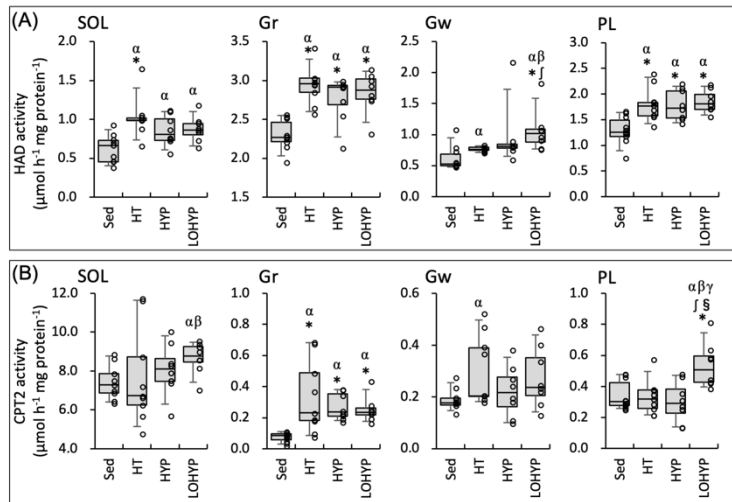
HET 後の最大持久的運動能力は、LOHYP 群の値が HT よりも 31%、HYP 群よりも 14% 顕著に高い値を示した。このことから、LOHYP によって持久的運動能力が顕著に向上することが示唆された。

##### ・代謝酵素活性

腓腹筋の白色部位 (Gw) において、LOHYP 群の 3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (HAD) 活性が他群よりも有意に高い値を示した (Fig. 3)。足底筋 (PL) の carnitine palmitoyl transferase-2 (CPT2) 活性が LOHYP 群で他群よりも有意に高い値を示した。また、ヒラメ筋 (SOL) の CPT2 活性は HT 群よりも有意に高い値を示した。Gw の cytochrome oxidase (COX) 活性は、すべての運動群で顕著に増加していたが、LOHYP 群の値は Sed 群よりも有意に高い値を示した (Fig. 4)。これらのことから、LOHYP によって特に速筋タイプの筋において、有酸素代謝能力、特に脂肪酸代謝能力が向上することが示唆された。

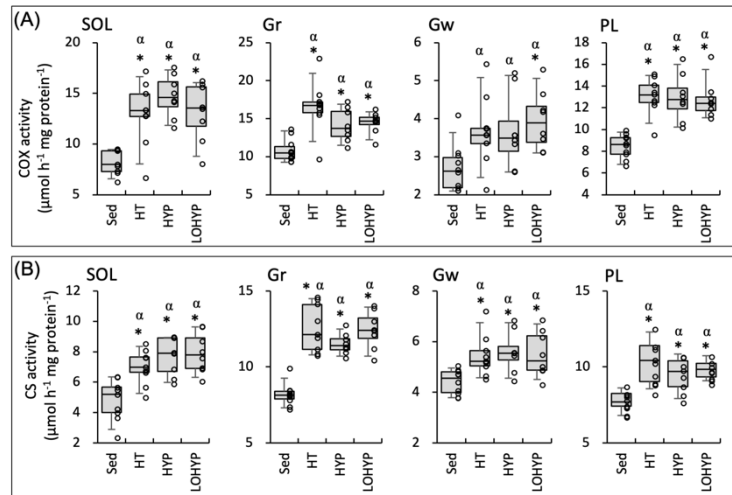
##### ・タンパク質発現

LOHYP 群の Heat shock protein 70 (HSP70) の発現が SOL において、他群よりも顕著に高い値



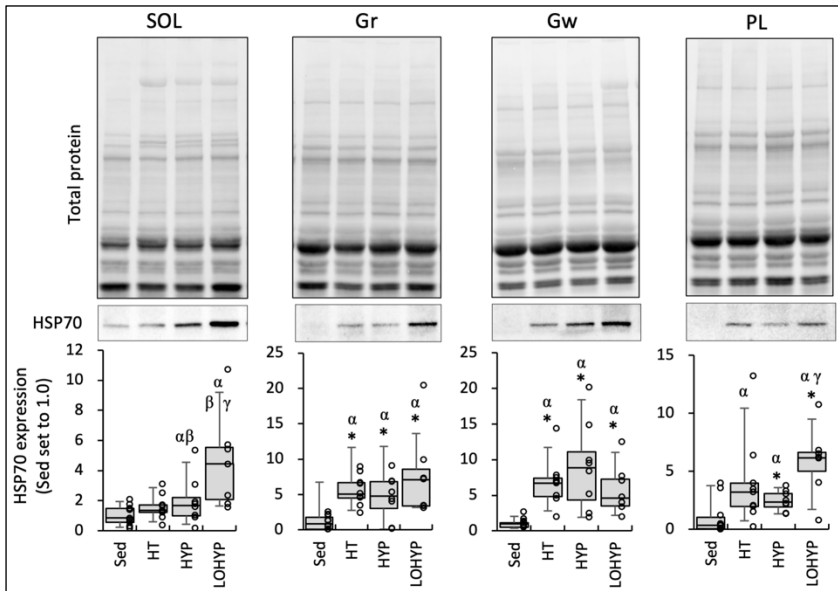
**Figure 3. Enzyme activity values for HAD (A) and CPT2 (B)**

Values are expressed as box and whisker plots with 5th, 25th, 50th, 75th and 95th percentile. Dots are individual data points. Significantly different from the \*Sed, †HT, and §HYP groups. The 95% CI did not contain the mean value of the αSed, βHT, and γHYP groups.



**Figure 4. Enzyme activity values for COX (A) and CS (B)**

Values are expressed as box and whisker plots with 5th, 25th, 50th, 75th and 95th percentile. Dots are individual data points. Significantly different from the \*Sed group. The 95% CI did not contain the mean value of the αSed group.



**Figure 5. Protein expression levels for HSP70**

Representative immunoblot images for HSP70 were shown in the middle row. Total protein bands for the same sample lanes as in the middle row were shown in the upper row. Values are expressed as box and whisker plots with 5th, 25th, 50th, 75th and 95th percentile. Dots are individual data points. Significantly different from the \*Sed group. The 95% CI did not contain the mean value of the αSed, βHT, and γHYP groups.

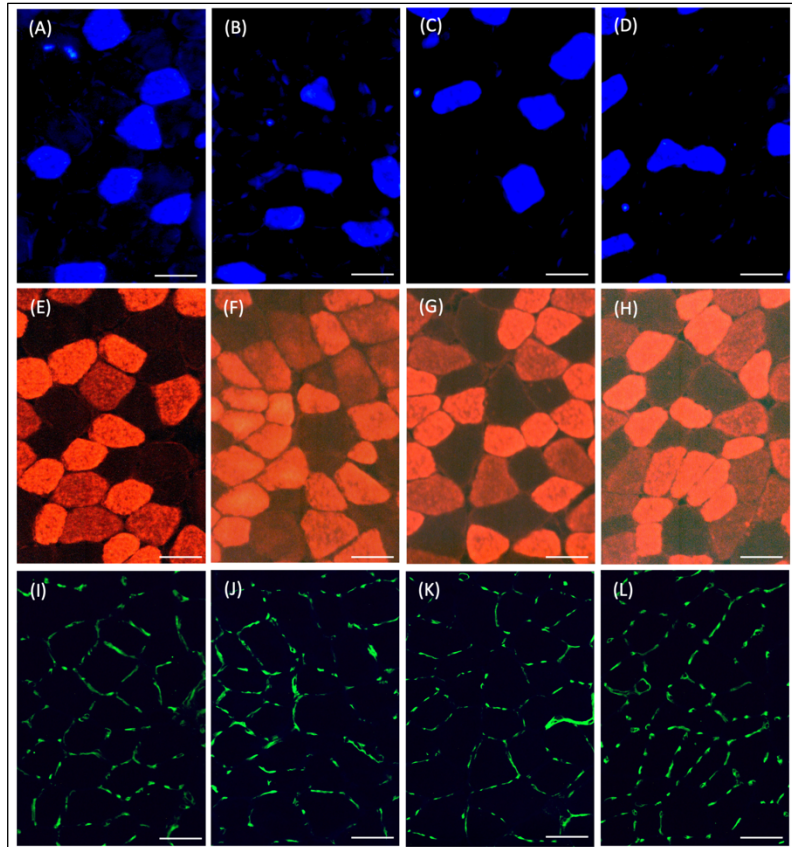
を示した (2.3-4.4 倍, Fig. 5)。PL において、HSP70 は Sed 群よりも HYP 群で 2.4 倍、LOHYP 群で 5.8 倍有意な増加が観察された。このことから、LOHYP によって骨格筋の HSP70 発現が亢進し、運動後の筋損傷回復に効果がある可能性が示唆された。

・骨格筋線維タイプ

腓腹筋の赤色部位 (Gr) において、LOHYP 群の type-I 筋線維が Sed 群と HT 群よりも有意に増加していた (Fig. 6)。このことから、LOHYP によって有酸素代謝能力が高い筋線維が増加する可能性が示唆された。

・毛細血管分布

毛細血管数：筋線維数比 (C:F) 値は、Gr において Sed 群よりも HYP 群 (17%) と LOHYP 群 (25%) において有意な増加が観察された。PL において LOHYP 群の毛細血管密度が他群よりも有意に高い値を示した。このことから、LOHYP によって運動に依存する毛細血管の成長が顕著に促進されることが示唆された。



**Figure 6. Representative immunofluorescent images of Grl portion** (A-D) anti-type I MHC antibody; (E-H) anti-type IIA MHC antibody; (I-L) capillary profile; (A, E, I) Sed, (B, F, J) HT, (C, G, K) HYP, and (D, H, L) LOHYP groups. Horizontal bars represent 50  $\mu$ m.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Junichi Suzuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Effects of hyperbaric environment on endurance and metabolism are exposure time-dependent in well-trained mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e14780
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.14780	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 Junichi Suzuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Endurance exercise under short duration intermittent hypoxia promotes endurance performance via improving muscle metabolic properties in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e15534
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.15534	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 Junichi Suzuki	4. 巻 28
2. 論文標題 Effects of exercise training with short-duration intermittent hypoxia and hyperbaric exposure on endurance performance and muscle metabolism in well-trained mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Advances in Exercise and Sports Physiology	6. 最初と最後の頁 51-63
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木淳一
2. 発表標題 反復低酸素暴露と高圧暴露の組み合わせがハイブリッド・トレーニングによる持久的運動能力向上に及ぼす効果
3. 学会等名 第29回日本運動生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木淳一
2. 発表標題 低酸素や高圧への暴露と身体適応
3. 学会等名 第30回日本運動生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022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

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