

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：12612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K11417

研究課題名(和文) 持久的運動効果の減弱化のメカニズム解明とその解決策

研究課題名(英文) Mechanisms of diminished endurance exercise effects and its solution

研究代表者

星野 太佑 (Hoshino, Daisuke)

電気通信大学・大学院情報理工学研究科・准教授

研究者番号：70612117

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)：本研究の目的は、持久的運動効果の減弱化について、冷却刺激に着目して検討することであった。Wistarラットを常温群と冷却群にわけ、前脛骨筋を局所的に冷やしながら電気刺激による筋収縮をおこなった。その結果、冷却により、筋収縮による筋グリコーゲンの分解やAMPKのリン酸化の増加が抑制された。それに伴い、PGC-1αのmRNA発現量の増加も抑制された。このことから、冷却は高強度の収縮量や代謝応答を減弱させることで、筋収縮によるミトコンドリア生合成を抑制する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、持久運動によって引き起こされるミトコンドリア生合成の分子メカニズムが冷却によって抑制されることが示唆された。このことは、運動前や運動中の筋温が運動効果に影響を与える可能性を示している。したがって、衣類による体温の調節や環境による筋温の変化に対する対応、適切なウォーミングアップなどが効率的なトレーニングの効果の獲得に重要であることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to determine effects of cooling on contraction-induced peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 (PGC-1) gene expression, phosphorylations of its related protein kinases, and metabolic responses. Male rats were separated into two groups; room temperature (RT) or ice-treated (COLD) on the right tibialis anterior (TA). The TA was contracted isometrically using nerve electrical stimulation. An increase in mRNA expression level of PGC-1 after muscle contractions was significantly lower in the COLD group than in the RT group. An increase in phosphorylated AMP-activated kinase (AMPK) and a decrease in glycogen concentration after muscle contraction were also significantly inhibited by cooling. Collectively, muscle cooling attenuated the post-contraction increases in PGC-1 mRNA expression coinciding with decreases in AMPK phosphorylation and glycogen degradation.

研究分野：運動生理生化学

キーワード：PGC-1α 乳酸 冷却 シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

持久的運動による適応の分子メカニズムは、筋収縮による細胞内環境 (代謝物濃度, イオン濃度, 物理的なストレスなど) の変化, シグナル伝達応答, 遺伝子発現が関わっている. したがって, これらの分子メカニズムを増強することによって, 適応が増強されたり, 減弱することによって, 適応が減弱されたりすると仮説される. ここで我々は冷却刺激に着目した. 低温 (20°C) によって, 発揮張力が減弱することがわかっているため, 細胞内環境変化が減弱すると当初考えていた. 一方で, 低温 (20-30°C) は運動中の代謝応答を促進させることが明らかとされているため, 反対に冷却が収縮による分子メカニズムを増強させる可能性も考えられた.

2. 研究の目的

本研究の目的は, 局所冷却が筋収縮による分子メカニズムに与える影響を明らかにすることとした.

3. 研究の方法

Wistar系雄性ラットを常温群と冷却群にわけ, 常温群は水, 冷却群は氷水の入った袋を用いて, 下腿前部を3分間冷却した. その後, 前脛骨筋を20 Hzにて1秒間電気刺激, 1秒間休息を30回繰り返すプロトコルを1セットとし, これを10セット実施した. 電気刺激のときには膝を固定し, 足首を90度に固定し, 足裏をひずみゲージに固定し張力を測定した. 筋温については, 温度センサーを足首全面の皮膚を切開し, 前脛骨筋の全面に挿入し, 測定した. また温度センサーを直腸に挿入し, 直腸温を測定した.

ラットを収縮直後もしくは収縮3時間後に前脛骨筋を摘出する群にわけ, それぞれの時間に筋を摘出した.

収縮直後に摘出した筋から, 筋グリコーゲン濃度および筋中乳酸濃度を酵素法によって測定した. また, AMP activated kinase (AMPK), calcium/calmodulin-dependent protein kinase (CaMK)II, p38 MAP kinase (p38) のリン酸化とトータルのタンパク質量をウエスタンブロッティング法によって, 測定した.

収縮3時間後に摘出した筋から, peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 α) と vascular endothelial growth factor (VEGF) の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法によって測定した.

張力のパラメータは student の t-test を用いて検定をおこなった. その他は二元配置分散分析をおこない, 交互作用が有意であった場合, 多重比較検定をおこなった.

4. 研究成果

(1)筋温および直腸温の変化

筋収縮プロトコル中, 冷却群の筋温は20°Cあたりを推移し, 常温群は30°Cあたりを推移した. 一方で, 直腸温に2群間に有意な違いは見られなかった.

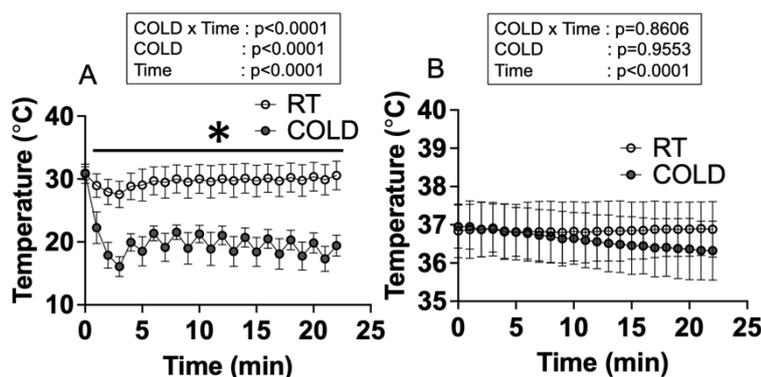


図1 筋温 (A)および直腸温 (B), RT: 常温群, COLD: 冷却群

(2)冷却が筋収縮に与える影響

冷却は筋の最大張力を有意に低下させた一方で, 張力 x 時間の総力積は冷却によって有意に増加した. しかしながら, 最大張力の50%以上の力積は冷却によって有意に減少した. このことから, 冷却は高強度の筋収縮量を低下させることがわかった.

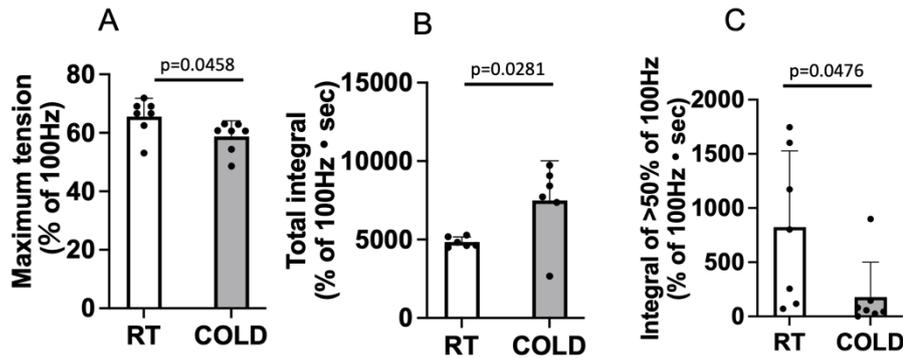


図2 最大張力 (A), 力積 (B, 張力 x 時間), 最大張力の 50%以上の力積 (C), RT: 常温群, COLD: 冷却群

(3) 冷却が筋グリコーゲン濃度, 筋中乳酸濃度に与える影響

筋収縮によって, 筋グリコーゲン濃度は有意に低下した. さらに, 冷却と収縮に有意な交互作用があったことから, 多重比較検定をおこなったところ, 常温群の収縮脚の筋グリコーゲン濃度は冷却群の収縮脚に比べて有意に低値を示した. このことから, 冷却は収縮による筋グリコーゲン濃度の低下を抑制させることがわかった. 一方で, 筋中乳酸濃度は, 収縮によって有意に増加し, 冷却によって有意に低下した.

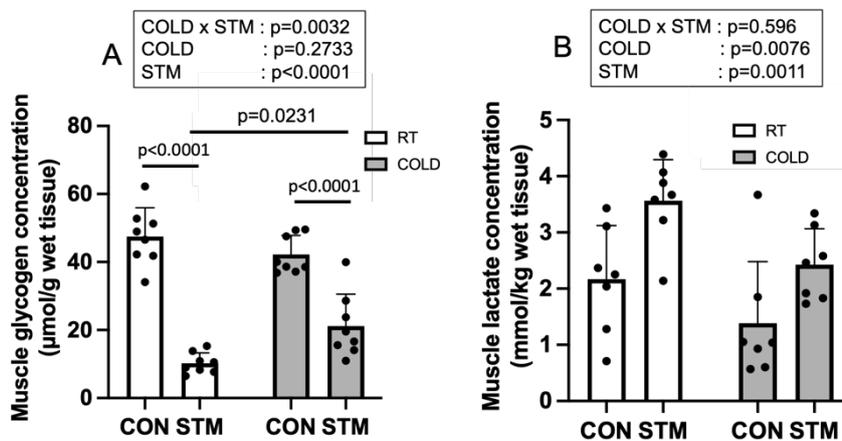


図3 筋グリコーゲン濃度 (A), 筋中乳酸濃度 (B), RT: 常温群, COLD: 冷却群

(4) 冷却がシグナル伝達分子のリン酸化に与える影響

筋収縮によって, AMPK のリン酸化は有意に増加した. さらに, 冷却と収縮に有意な交互作用があったことから, 多重比較検定をおこなったところ, 冷却群の収縮脚 AMPK のリン酸化は常温群の収縮脚に比べて有意に低値を示した. このことから, 冷却は収縮による AMPK のリン酸化の増加を抑制させることがわかった. CaMKII と p38 のリン酸化は, 収縮によって有意に増加するが, 冷却による影響はみられなかった.

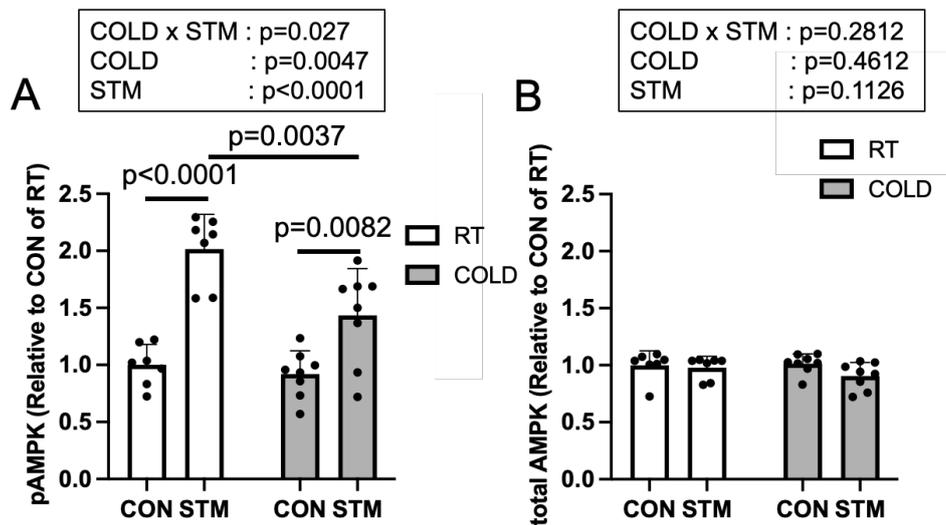


図4 AMPK リン酸化タンパク質量 (A), AMPK トータルタンパク質量 (B), RT : 常温群, COLD : 冷却群

(5) 冷却が PGC-1 α と VEGF の mRNA 発現量に与える影響

筋収縮によって、PGC-1 α の mRNA 発現量は有意に増加した。さらに、冷却と収縮に有意な交互作用があったことから、多重比較検定をおこなったところ、冷却群の収縮脚の PGC-1 α の mRNA 発現量は、常温群の収縮脚に比べて有意に低値を示した。このことから、冷却は収縮による PGC-1 α の mRNA 発現量の増加を抑制させることがわかった。一方で、VEGF の mRNA 発現量は収縮による有意な増加と冷却による有意な減少が見られた。

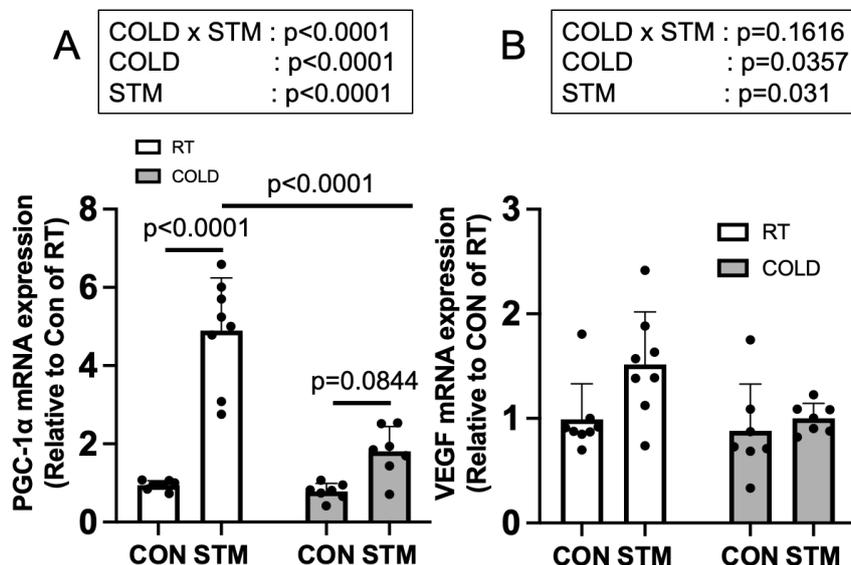


図5 PGC-1 α の mRNA 発現量 (A), VEGF の mRNA 発現量 (B), RT : 常温群, COLD : 冷却群

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Takeda Reo, Nonaka Yudai, Kakinoki Katsuyuki, Miura Shinji, Kano Yutaka, Hoshino Daisuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Effect of endurance training and PGC-1 overexpression on calculated lactate production volume during exercise based on blood lactate concentration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-05593-1	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 Hoshino Daisuke, Wada Ryota, Mori Yutaro, Takeda Reo, Nonaka Yudai, Kano Ryotaro, Takagi Ryo, Kano Yutaka	4. 巻 11
2. 論文標題 Cooling of male rat skeletal muscle during endurance like contraction attenuates contraction induced PGC 1 mRNA expression	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.15867	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5件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 星野太佑, 森裕太郎, 和田凌汰, 野中雄大, 高木領, 狩野豊
2. 発表標題 局所冷却が筋収縮により応答する遺伝子発現に与える影響
3. 学会等名 第 77 回日本体力医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Daisuke Hoshino, Ryota Wada, Yutaro Mori, Reo Takeda, Yudai Nonaka, Yutaka Kano, Ryo Takagi
2. 発表標題 Muscle contraction with cooling attenuated contraction-induced PGC-1 and VEGF gene expression in rat skeletal muscle
3. 学会等名 18th International Biochemistry of Exercise Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森裕太郎, 和田凌汰, 高木領, 狩野豊, 星野太佑
2. 発表標題 冷却が筋収縮によるPGC-1 遺伝子発現の応答に与える影響
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星野太佑
2. 発表標題 C2C12筋管細胞への筋収縮後の遺伝子発現と代謝物濃度の変化
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 星野太佑
2. 発表標題 運動強度と時間から考える骨格筋の適応
3. 学会等名 第4回日本体力医学会北九州地方会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2023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
---------	---------