

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：32661
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2019～2021
 課題番号：19K11459
 研究課題名(和文) スポーツ医学に於ける全身冷却療法の確立を目指して

研究課題名(英文) Whole body cryotherapy in sports medicine

研究代表者

額田 均 (Nukada, Hitoshi)

東邦大学・医学部・教授(寄付講座)

研究者番号：60118833

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)：全身冷却療法(whole-body cryotherapy, 以下WBC)は、-100 から-120 の超低温環境に入る全身の冷却療法である。近年WBCが運動後の筋肉痛・筋損傷の回復を促進させるという臨床研究が発表され、国内外のスポーツ大会、各種スポーツ団体等でWBCが行われている。しかし、WBCについての基礎的研究はなく、その作用機序は未だ解明されておらず、WBCの適切な使用のガイドラインもない。本研究はWBCにより惹起される生理的身体反応についてラットを用いた基礎的研究である。今回は第一歩としてラットWBCの方法を確立し、WBCによる生理的反応について明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年開発された全身冷却方法(Whole-body cryotherapy, 以下WBC)は、全身を超低温にさらして冷やすこと(マイナス100 - 120度に2 - 3分間)で痛みを抑えたり筋肉組織の再生を促したりできるとして、「運動後の回復の促進、競技力の向上が図れる」と紹介され、スポーツ分野や美容分野で活用されている。その一方で、統一した使用方法はなく、規制も一切ないのが現状である。現在、WBCの医学的効果は証明されておらず、短期的・長期的効果についてはさらなる研究が必要だと、多くの専門家が指摘している。本研究ではWBCの作用機序・効果・副反応等について明らかにする。

研究成果の概要(英文)：Whole-body cryotherapy (WBC) is a kind of cryogenic therapy where you expose your body to very cold temperatures (minus 100 -120 degrees) for a short time (2-3 minutes). The theory is that the cold helps with inflammation and reduces your pain or other symptoms. You can get WBC at gyms, spas, and wellness centers where offer cryochamber. However, WBC is not an FDA-approved medical treatment for any condition, because the mechanisms underlying the beneficial effects of WBC remain unclear.

We developed the cryochamber designed for rat WBC. The device, developed by Mayekawa MFG, Co., Ltd., was consisted of a small cooling chamber. The chamber was cooled by circulating liquid nitrogen inside the chamber wall. The temperature of inside the chamber was down to minus 100 degrees in 10 minutes and monitored continuously. This device is useful to assess the effects and the mechanism of whole-body cryotherapy and to study thermal biology of the rat to extreme cold temperature.

研究分野：スポーツ医学、神経内科

キーワード：全身冷却療法 ラット 血清CK

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

全身冷却療法(whole-body cryotherapy, 以下 WBC)は、 -100°C から -120°C の超低温環境を作りその冷却空間に入る全身の冷却療法である。近年 WBC が運動後の筋肉痛・筋損傷の回復を促進させるという臨床研究が発表され、国内外のスポーツ大会、スポーツ科学センター、各種スポーツ団体等で WBC が行われている。また WBC は脂質代謝、免疫機能の改善など医療・美容分野でも使われている。しかし、WBC についての基礎的研究はなく、その作用機序は未だ解明されておらず、WBC の適切な使用のガイドラインもない。

WBC は 1970 年代後半に日本で関節リウマチの治療に使われたのが世界初であり(Yamauchi T, 1986)、1980 年代には欧州各国で主に鎮痛目的に使われ、今世紀になり米国・豪州に普及した。運動後の筋痛・筋損傷に対する効果についての論文が発表されたのは 2010 年以降である(Bouzigon R, et al. 2016, Rose C, et al. 2017)。しかし、現時点では、WBC の安全で効果的な使用方法についての指針はなく、Cochrane Review (2015)では運動後の筋肉痛の予防・治療に対しての効果については、まだ検証不十分との結論が下された。

WBC の作用機序については、臨床研究により筋代謝、皮膚の微小循環、皮膚感受器への影響、副交感神経活動の興奮、抗炎症性サイトカインの増加等が報告されているが、その作用機序は解明されていない。トップアスリートのみならず一般のスポーツ愛好者間でも WBC の普及が進むなか、その作用メカニズムの解明は急務である。

本研究では最初の課題として、1) ラットを用いての実験的 WBC の方法について確立し、その後、2) WBC により惹起される生理的身体反応について、また 3) 運動誘発性筋損傷に対する WBC の効果についてラットを用いて生理学的、病理学的、分子病態学的に統合的に検討し、WBC の適応、適正な使用方法、副作用等を講じる。

本研究により、スポーツ分野のみならず各分野で WBC が正しく使用され、更にはスポーツ医学・低温医学の振興、健康寿命の増進につながることを期待したい。

2. 研究の目的

WBC の正しい使い方、効果、作用機序の確立を目指し、その第一歩として以下の点について検討した。

- (1) ラットを用いての WBC 方法の確立
- (2) WBC による生理的身体反応について
- (3) WBC の運動誘発性筋損傷に対する効果

3. 研究の方法

- (1) ラットを用いての WBC 方法の確立

ラット用 WBC 装置については、研究協力者である(株)前川製作所技術研究所所長 神村 岳氏の協力を得て制作した。

WBC の方法については、庫内温度(マイナス $80-120^{\circ}\text{C}$)・冷却時間(30 秒から 90 秒)・回数(1 回から 3 回)・冷却の間隔(1 分から 5 分)を変えて、冷却前・中・後の耳・尻尾の皮膚温、直腸温、大腿四頭筋温をモニターし、適切な低温を得る方法について検討した。

- (2) WBC による生理的身体反応について

上記実験(1)で確立されたラット用 WBC の方法を用い、冷却前、冷却直後、24、48 及び 72 時間後に採血し、さらに WBC 前後での心電図・血圧測定等を行った。

(3) WBCの運動誘発性筋損傷に対する効果

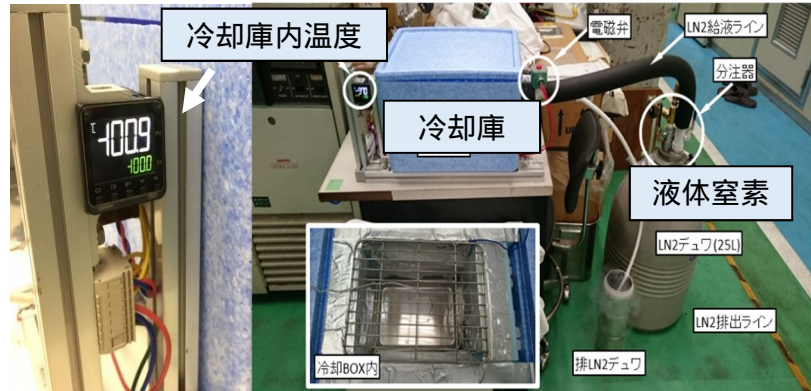
運動負荷はラット用トレッドミルを用い速度 20m/min で30分間の平地走または傾斜角度 - 15度の下り走を行い、走行後にWBCを施行し、走行前後・WBC前後に採血した。また筋生検(長趾伸筋(白筋)、ヒラメ筋(赤筋)、腓腹筋、大腿四頭筋)を行った。

4. 研究成果

(1) ラットを用いてのWBCの方法の確立

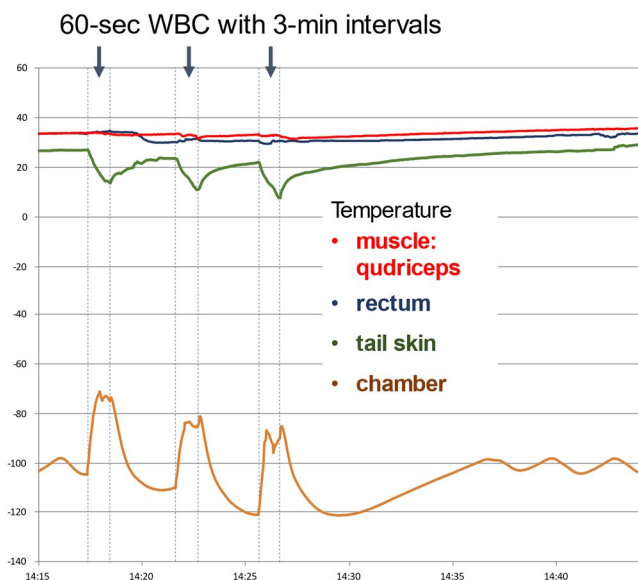
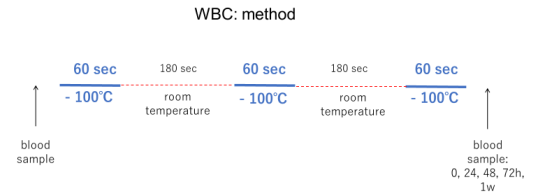
ラット用WBC装置：

本実験用に以下のようなラット用WBC装置を開発した((株)前川製作所)。液体窒素を冷却庫壁内に循環させ、庫内の空気を室温から-100°Cまで数分で下げ、また冷却温度の調節を可能とした。ラットの出し入れで庫内温度が20 - 30°C上昇するため、実験開始前の庫内温度は-120°C前後とした。



冷却時間：

冷却温度を-100°C前後に維持し、冷却時間・間隔の検討では60秒間の冷却を3分間隔で3回繰り返すことにより、皮膚温は5-15°Cまで低下する。筋肉温が4-5°C低下し34°C前後、直腸温が5-6°C低下し32°C前後となる。この方法ではWBC後の白血球の有意な増加は認めない。この結果より、60秒間の冷却を3分間の間隔において3回繰り返すのをWBCの1セットとした。



Temperature:

- Muscle: 38-9°C → 34°C
- Rectum: 37-88°C → 32°C
- Ear skin: 35-6°C → 15°C
- Tail skin: 30-1°C → 5°C
- Chamber: -100°C → -70-90°C

(2) WBCによる生理的身体反応について

WBC直後(0h)に血清CKがWBC前(pre-)に比し有意に上昇した。白血球数、AST(GOT)、ALT(GPT)、LD、ALPにはWBC前後で有意な変化は認めない。

この血清 CK の変化は mm 型 CK である。WBC 直後に有意に上昇し、24 時間後には低下している。このような WBC による mm 型 CK 上昇の報告はなく、その機序解明が必要である。なお、血圧・脈拍は 3 回目の冷却直後 4-5 分で冷却前のレベルに回復した。

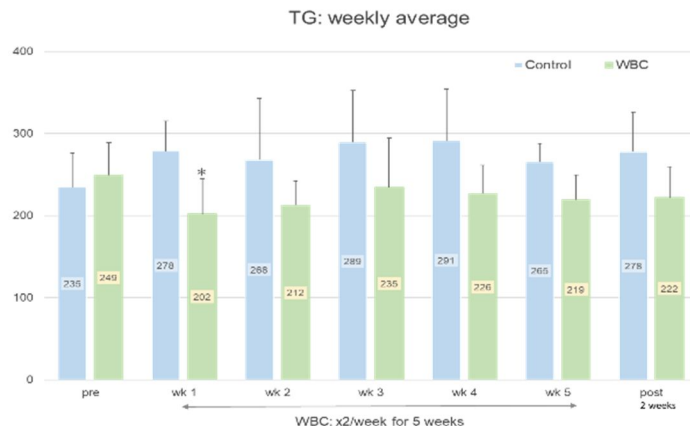
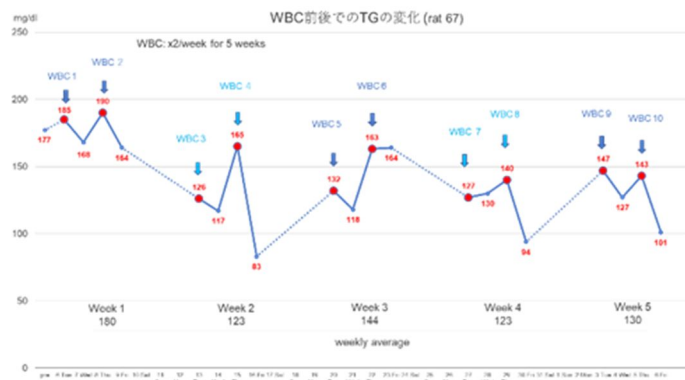
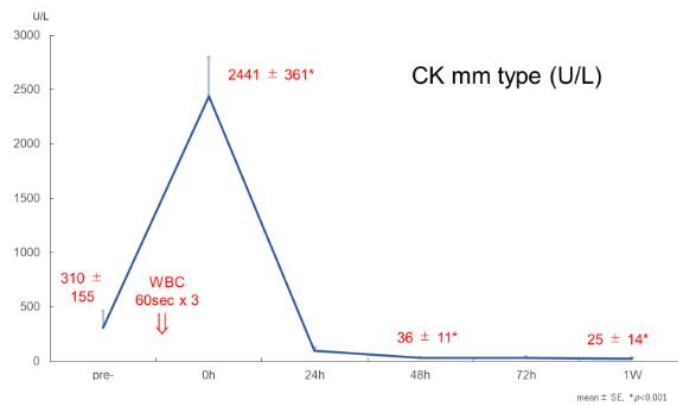
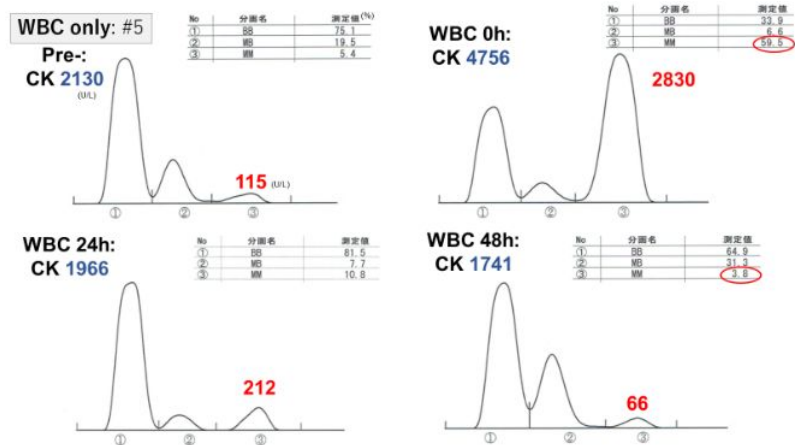
血清 CK(mm 型 CK)の上昇時には、血清エピネフリン・ノルエピネフリンの上昇を認め、WBC によるストレスが原因と考えられる。しかし、mm 型 CK とストレスの関連については報告がなく今後更なる検討が必要である。

血清 CK(mm 型 CK)の上昇時には、血清エピネフリン・ノルエピネフリンの上昇を認め、WBC によるストレスが原因と考えられる。しかし、mm 型 CK とストレスの関連についての研究はなく今後更なる検討が必要である。

WBC は運動後の回復促進の他に、脂質代謝の改善など医療・美容分野でも使われているがその根拠は示されていない。この点から、WBC の脂質代謝に対する影響についても検討した。WBC を週 2 回、5 週間で 10 回繰り返し、各 WBC 直前と 24 時間後に中性脂肪(TG)、総コレステロール(T-chol)、血糖、遊離脂肪酸(FFA)について検討した。

1 回目の WBC24 時間後に TG が有意に低下した：WBC 群 226 ± 33 から $167 \pm 25 \text{mg/dl}$ 、対照群 222 ± 24 から $264 \pm 42 \text{mg/dl}$ 。WBC 群での TG 低下は 5 週間継続して認められた。T-chol、血糖には有意な変化はみられなかったが、WBC 群では対照群に比し体重増加の抑制傾向を認めた。

これらの結果から、高脂血症ラットに同様の WBC (週 2 回、5 週間) を行い血清脂質について検討した。S-D ラット(雄 10 週



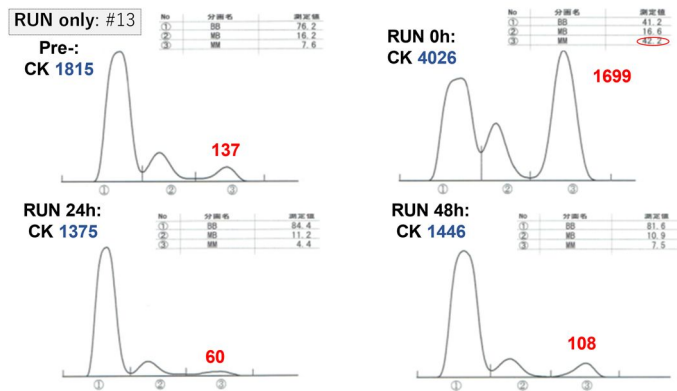
齡)を用い、WBC 開始 4 週間前から高脂肪飼料(High Fat Diet32)を投与し、WBC 前後に TG、FFA、T-chol、血糖、体重を測定した。対照群には高脂肪飼料のみ群、標準飼料群を含む。高脂肪飼料投与ラットでは血清脂質は有意に上昇。WBC 開始 2 週間後には TG、FFA が有意に低下し、この低下は 5 週間継続して認めた。しかし WBC 中止 2 週間後には WBC 開始前のレベルまで再上昇。FFA も同様に WBC により一過性の有意な低下を認めた。T-chol、血糖には WBC による有意な変化は認めない。これらの結果から、高脂血症ラットでは WBC を繰り返すことにより TG、FFA は有意に低下するが、WBC 中止により再上昇する。

(3) WBC の運動誘発性筋損傷に対する効果

運動負荷では、下り走直後に血清 CK が有意に上昇したが、平地走行では認めない。このため運動負荷は下り走を行い、WBC 前後と同様に採血した。

下り走直後に血清 CK は有意に上昇しこの上昇 CK はアイソザイムでは冷却直後と同様に mm 型で、両群(冷却群と下り走群)間での上昇率に有意差は認めない。

下り走直後の mm 型 CK 上昇は、WBC 直後の mm 型 CK 上昇と機序が異なるかについては今後の検討課題である。



血清CK値						血清CK mm型					
	Pre-	WBC 0h		WBC 24h	WBC 48h		Pre-	WBC 0h		WBC 24h	WBC 48h
WBC only	2020 ± 110	4260 ± 496		1766 ± 201	1398 ± 344	WBC only	193 ± 71	2341 ± 489		151 ± 42	65 ± 11
	Pre-	RUN 0h		RUN 24h	RUN 48h		Pre-	RUN 0h		RUN 24h	RUN 48h
RUN only	1885 ± 160	3894 ± 186		1529 ± 200	1456 ± 165	RUN only	225 ± 141	1677 ± 185		155 ± 122	96 ± 7
	Pre-	RUN 0h	RUN+WBC 0h	RUN+WBC 24h	RUN+WBC 48h		Pre-	RUN 0h	RUN+WBC 0h	RUN+WBC 24h	RUN+WBC 48h
RUN+WBC	2708 ± 282	3698 ± 474	5864 ± 585	1311 ± 214	1083 ± 326	RUN+WBC	578 ± 155	2588 ± 1175	4381 ± 1213	78 ± 7	55 ± 32

mean ± SE

< 引用文献 >

Yamauchi, T, Whole body cryotherapy is a method of extreme cold -175°C treatment initially used for rheumatoid arthritis. Z phys Med Balneol Med Klimatol 1986, 311

Bouzigon R, et al. Whole- and partial-body cryostimulation/cryotherapy: Current technologies and practical applications, 2016, 67-71

Rose C, et al. Whole-body cryotherapy as a recovery technique after exercise: A review of the literature. Int J Sports Med 2017, 1049-60

Costello JT, et al. Whole-body cryotherapy (extreme cold air exposure) for preventing and treating muscle soreness after exercise in adults. Cochrane Database of Systematic Reviews 2015, Issue 9.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tsuchihara Toyokazu, Nukada Hitoshi, Nakanishi Kuniaki, Morishita Ryuichi, Amako Masatoshi, Arino Hiroshi, Nemoto Koichi, Chiba Kazuhiro	4. 巻 15
2. 論文標題 Efficacy of nonviral gene transfer of human hepatocyte growth factor (HGF) against ischemic-reperfusion nerve injury in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0237156 ~ 156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0237156	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 Komatsu Masatoshi, Nukada Hitoshi, Hayashi Masanori, Ochi Kensuke, Yamazaki Hiroshi, Kato Hiroyuki	4. 巻 45
2. 論文標題 Pathological Findings of Hourglass-Like Constriction in Spontaneous Posterior Interosseous Nerve Palsy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Hand Surgery	6. 最初と最後の頁 990.e1 ~ 990.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jhsa.2019.12.011	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 -

1. 著者名 Ponirakis G, Petropoulos IN, Alam U, Ferdous M, Asghar O, Marshall A, Azmi S, Jeziorska M, Mahfoud ZR, Boulton AJM, Efron N, Nukada H, Malik RA.	4. 巻 32
2. 論文標題 Hypertension Contributes to Neuropathy in Patients With Type 1 Diabetes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am J Hypertens	6. 最初と最後の頁 796-803
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpz058	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 該当する

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 堀田亮太郎、額田 均、神村 岳、後藤一成
2. 発表標題 ラットでの全身冷却療法直後のCK-MM型上昇について
3. 学会等名 第75回日本体力医学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 額田 均
2. 発表標題 神経科学で人間を見つめる：加齢と末梢神経
3. 学会等名 第39回東邦大学生命科学シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀田亮太郎、額田 均、神村 岳
2. 発表標題 Experimental whole-body cryotherapy: the mechanism of exercise-induced delayed onset muscle soreness
3. 学会等名 第46回日本低温医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 越智健介、加藤博之、堀内行雄、額田 均
2. 発表標題 特発性前骨間神経麻痺と特発性後骨間神経麻痺
3. 学会等名 第29回日本末梢神経学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 額田 均、堀田亮太郎、神村 岳、後藤一成
2. 発表標題 全身冷却療法の血清中性脂肪に対する影響：ラットでの検討
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 額田 均、堀田亮太郎、神村 岳、後藤一成
2. 発表標題 実験的全身冷却療法
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀田亮太郎、額田 均、神村 岳、後藤一成
2. 発表標題 高脂血症に対する全身冷却療法の効果：ラットでの検討
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 堀田亮太郎、額田 均、神村 岳
2. 発表標題 Whole-body cryotherapy and serum CK in rat
3. 学会等名 第47回日本低温医学会総会
4. 発表年 2020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	西野 一三 (Nishino Ichizo) (00332388)	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 疾病研究第一部・部長 (82611)	

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	後藤 一成 (Goto Kazusige) (60508258)	立命館大学・スポーツ健康科学部・教授 (34315)	

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