

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18069

研究課題名(和文)ミトコンドリア機能に着目した筋疲労回復への温度介入の効果の検討

研究課題名(英文) Roles of mitochondrial function in temperature intervention during recovery from muscle fatigue

研究代表者

房川 祐頼 (Fusagawa, Hiroyori)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：30868112

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：運動後筋疲労に対して温度介入はいまだ根拠が乏しい。Wistar ratに10-20m/minの速度で30分トレッドミル走行をさせた後30分の温度介入(室温、温熱42度水槽、冷却16度水槽に下腿を暴露)を行い、採取した筋サンプルを用いてミトコンドリアの品質管理を担う融合(fusion)、分裂(fission)、オートファジーのシグナル解析を行ったところ、冷却介入がDRP1-Ser616のリン酸化レベルは高く維持していることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動直後にはアイシング、冷却が行われているがエネルギー会社の観点からはむしろ温熱の方が有効であるという報告も多い。今回冷却介入を行うことでミトコンドリアダイナミクスに影響を与えうるfissionシグナルが高く維持されていた。これは運動後冷却介入を繰り返すことでミトコンドリアを過度に分裂させミトコンドリアの形態変化を伴うエネルギー代謝に影響を与える可能性を示唆した。単回の温度介入では温熱、冷却ともに筋疲労回復に影響を与えないが、繰り返し運動後に介入することでミトコンドリア形態変化、疲労耐性に影響を与えることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Evidence for thermal intervention in post-exercise muscle fatigue is still lacking. Wistar rats were subjected to thermal intervention for 30 minutes after 30 minutes of treadmill running at a speed of 10-20 m/min. The lower legs were exposed to room temperature or a 42 degree hot water tank or a 16 degree cold water tank. Signal analysis of fusion, fission and autophagy, which are responsible for quality control of mitochondria, was performed on collected muscle samples. It was confirmed that the cooling intervention maintained the phosphorylation level of DRP1-Ser616 at a high level.

研究分野：骨格筋生理学

キーワード：ミトコンドリア 骨格筋 温度介入

## 1. 研究開始当初の背景

近年のスポーツ人気の上昇に伴い、老若男女問わず気軽にスポーツを楽しむようになっている。一方、運動後の筋疲労は、運動パフォーマンスの低下や怪我の増加を誘発し、随伴する筋肉痛や倦怠感は生活の質を低下させる。運動後筋疲労からの回復法の確立は、広く社会的に重要である一方、科学的根拠がある方法が確立されたとは言えないのが現状である。

筋疲労の機序は、嫌氣的解糖の最終産物である乳酸の細胞内蓄積による酸性化が原因であるという「乳酸悪玉説」が長年に渡り信じられてきた。しかし、近年の研究では否定的な結果が多く報告されていることに加え、乳酸はエネルギー源としての再利用できること、ミトコンドリア機能の制御やシグナル伝達物質として作用することが注目され(Brooks, Cell Metab. 2018)、「乳酸悪玉説」から「乳酸善玉説」へとパラダイムシフトが起こっている。研究代表者は、これらの筋疲労と関連要素の多くがエネルギー代謝系およびミトコンドリア機能と関連することに着目し、運動後の筋疲労からの回復過程においてミトコンドリア機能活性化を促すような回復ケアは、筋疲労からの効果的な回復を促す可能性が高いと考えた。

従来、スポーツの現場では筋疲労から回復を促すケアとして、筋の冷却が頻用されてきた。しかし最近のヒトを対象とした研究において、筋グリコーゲンを枯渇させるようなオールアウト後の消耗運動において、運動後に局所の筋を冷却した群は、温熱した群に比べ、有意に筋パフォーマンスの回復が悪いことが示された(Chen et al. J Physiol. 2017)。ここまでで想起される研究課題の核心をなす学術的「問い」は、「運動後筋疲労に対しての温熱介入は、ミトコンドリア機能の活性化により、グリコーゲン再合成および ATP 産生能を増大させ、筋疲労からの回復を促進するのではないか？」である。

最近のヒトを対象とした研究で運動後に局所の筋を冷却した群は、温熱した群に比べ、有意に筋パフォーマンスの回復が悪いことが示され(Chen et al. J Physiol. 2017)、我々のラットを用いた予備実験にて、5 分間の疲労刺激後の回復期に温熱を行った群が有意に 1 時間後の単回刺激のトルク測定で収縮能力の改善を認めた。

## 2. 研究の目的

運動後筋疲労からの回復過程の温度介入による影響をエネルギー代謝の観点から明らかにすることである。

(1)ラットを用いた筋疲労モデルを作製し水温調整した浴槽にて回復を行い、筋疲労の程度、回復期の温度と時間を変更することで筋収縮能に関わる効果を評価する。

(2)ラット筋疲労モデルに対して温度介入により変化するミトコンドリア機能を評価、回復期の温度依存で変化する代謝産物および代謝経路が明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1)Wistar rat の下腿底屈筋に対して、麻酔下に予備実験で用いた条件の電気刺激プロトコルにて表面電極を介した 5 分間の連続等尺性収縮を起こす筋疲労刺激を負荷する。冷却群、室温群、温熱群の 3 群に割り振ったラットをそれぞれ冷却槽、室温、温熱槽にそれぞれラット下腿を暴露し回復時間を与える。回復後に下腿底屈筋の筋張力、筋持久力の変化を測定し群間比較を行う。

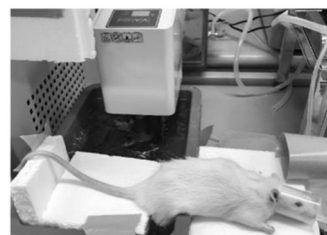


図1. 浴槽によるラット下腿温度介入

(2)筋疲労、温度介入を行った後の上記 3 群の下肢三頭筋をそれぞれ摘出し細胞外フラックスアナライザーを用いたミトコンドリア機能を評価する。残りの摘出サンプルに対してミトコンドリア機能に影響を与えるミトコンドリア dynamics (fission and fusion)関連蛋白の発現評価、Supercomplex の形成、メタボローム解析 (質量解析) による代謝産物の網羅的解析を行う。

## 4. 研究成果

(1)ラットの下腿底屈筋に対する筋疲労誘導について、足関節底屈筋電気刺激装置を用いて負荷した。イソフルランによる吸入麻酔下 (2%, 2L/min)にて、背臥位としラット左後肢を足部-下腿角度が 90 度となる位置でテーピング固定した。下腿後面と前内側面に電気刺激装置 (日本光電社製) に接続した表面電極を貼付し、刺激頻度 70Hz, 刺激時間 350ms, 刺激間隔 2s, 刺激電圧 45V, 合計刺激時間 5 分の連続等尺性収縮運動を負荷した。その後麻酔継続下に温度介入を 30

分間もしくは 60 分間施行した。冷却群、温熱群はそれぞれ冷却槽 16、温熱槽 42 に下腿を暴露した。温度介入直後の足関節底屈筋電気刺激装置を用いた筋持久力評価では、温度介入による変化を 30 分、60 分いずれの温度介入時間においても群間差を検出しなかった。運動負荷についてラットトレッドミル装置 (Columbus instruments 社製) を用いた 10-20m/min の走行を 30 分行った際にも、温度介入直後における足関節底屈筋電気刺激装置を用いた筋持久力について群間差を検出しなかった。

(2) Wistar rat に 10-20m/min の速度で 30 分トレッドミル走行をさせた後 30 分の温度介入 (室温、温熱 42 水槽、冷却 16 水槽に下腿を暴露) を行い、採取した筋サンプルを用いて Western blot を行った。DRP1-Ser616 のリン酸化レベルは、運動直後に比べ温度介入直後では、冷却群で増加し、温熱群、室温群でむしろ低下した。また安静時に温度介入 30 分を同様におこなう実験を追加したが、冷却、温熱ともに DRP1-Ser616 のリン酸化レベルは増加しなかった。以上から冷却介入は運動後の DRP1 の Ser616 リン酸化の状態に影響を与えていることを確認した。

以上の結果から、本研究では単回の温度介入にて筋持久力の変化が確認されなかったが、運動後に対する温度介入によってミトコンドリアの新陳代謝を担うミトコンドリア fission-fusion に関わる蛋白の活性化が変化していた。運動後温度介入を繰り返し用いることで、ミトコンドリア形態の変化を伴う筋持久力を改善する長期的なトレーニング効果を認める可能性が示唆された。

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 工藤大樹, 房川祐頼, 佐藤達也, 一瀬信敏, 山崎寛也, 黄金勲矢, 當瀬規嗣
2. 発表標題 持久的運動後のラットの活動筋の冷却は ミトコンドリアの分解を誘導するDRP1の Ser616のリン酸化を促進する
3. 学会等名 第101回 日本生理学会北海道地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taiki Kudo, Tatsuya Sato, Hiroyori Fusagawa, Hiroya Yamazaki, Nobutoshi Ichise, Izaya Ogon, Noritsugu Tohse
2. 発表標題 Postexercise cooling promotes p38 MAPK-mediated mitochondrial Drp1 (Ser616) phosphorylation in rat skeletal muscle.
3. 学会等名 第99回 日本生理学会
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
---------	---------