

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 23 年 5 月 31 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21500545

研究課題名（和文） 骨格筋の損傷治癒メカニズムは遅発性筋痛にどのように影響するのか
 研究課題名（英文） Effect of the mechanism of repair of skeletal muscle damage on delayed-onset muscle soreness.

研究代表者

桜井 智野風（SAKURAI TOMONOBU）

東京農業大学・生物産業学部・准教授

研究者番号：30235220

研究成果の概要（和文）：遅発性筋痛発生時および治癒過程において、筋内に発生する物質の動態には不明な点が多い。本研究では、骨格筋損傷発生および治癒過程において筋内で発生する発痛関連物質を観察し、それらの物質動態と遅発性筋痛との関連性の解明を試みた。その結果、筋損傷および治癒に関連が深い一酸化窒素（NO）と発痛関連物質の動態に関連性が観察された。NO は損傷細胞の炎症と修復に関与することから、NO 発生が遅延が筋痛の遅れを生み出しているものと考えられた。

研究成果の概要（英文）：Delayed onset muscle soreness (DOMS) is quite common, but the mechanism for this phenomenon is still not understood; even the expression of pain-producing substance and Nitric Oxide (NO) has not been demonstrated in experimental muscle models. To determine the involvement of pain-producing system in the recovery from muscle damage following repetitive lengthening contractions. We demonstrated that NO controls the pain through the cytokine.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・身体教育学

キーワード：骨格筋・筋損傷治癒・遅発性筋痛

1. 研究開始当初の背景

身体運動より筋損傷や筋肉痛が引き起こされることは古くから認識されており、現在に至るまで多くの研究が報告されている。1970年代からはじまった動物を対象にした筋損傷モデルの作成により、筋が伸ばされながら力を発揮する伸張性筋活動は筋の微細損傷を引き起こしやすいことがわかってきた。しかしそのメカニズムは完全には解明されておらず、ヒトの身体運動の結果どの程度の筋損傷が生じるかについての知見や、損傷の回復・治癒過程における細胞構造の再構築

に関する知見も未だ乏しい。遅発性筋肉痛に関しては、損傷説と温度上昇説が有力とされているが、現在のところ、損傷・炎症が遅発性筋痛のトリガーとなるという損傷説が支持されているが詳細な解明には至っていない。筋損傷や炎症反応を反映すると考えられるCPKや白血球浸潤等の間接的指標と遅発性筋肉痛の間には、「経時的な変化」や「損傷度と痛みの大きさの関係」においても一致を見ない。また、筋ジストロフィーなどの筋疾患においては筋損傷に伴う組織炎症時にも痛みは発生しないという報告もある。この

ことから、遅発性筋痛の原因が筋損傷そのものであることには疑問が残る。申請者は骨格筋損傷後数日遅れて組織内に増加する一酸化窒素(NO)が、その治癒・炎症反応の制御においても関与している可能性を示している。フリーラジカルと遅発性筋痛の関連を示唆する報告もあることから、損傷の治癒をコントロールする NO を含む活性酸素種が、一方で筋痛の発生に関与していることも考えられる。しかし遅発性筋痛と筋損傷治癒との関連は国内外を問わず不明である。

2. 研究の目的

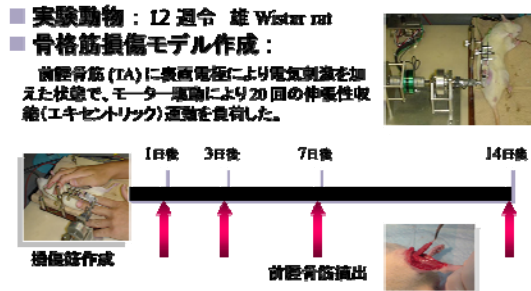
ラット下肢前脛骨筋に機械的伸張性筋損傷を引き起こした骨格筋損傷モデルを対象に ラット骨格筋(前脛骨筋)損傷により筋内に生成される各種発痛物質の経時的变化、筋損傷治癒関連物質と発痛物質の関連性、の2点を明らかにすることにより、骨格筋損傷後の治癒過程と遅発性筋痛の発生機構の関連性を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

骨格筋損傷モデルの作成

筋損傷モデルラットより損傷筋内に発生する発痛物質を経時的に観察した(図1)。

図1. 筋損傷作成および抽出



損傷筋内に発生する各種発痛物質のスクリーニング

損傷筋内における NO 生成量はグリース法による蛍光定量分析で測定した。損傷骨格筋における発痛物質の定量化は SDS ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動(SDS-PAGE)およびケミルミネセンス法を用い、発痛関連物質であるヒスタミン、ブラジキニン、プロスタグランジンを測定した。またこれらの物質の伝達情報物質であるシクロオキシゲナーゼ 2 (COX-2)、プロスタグランジン E2 受容体 2 (PGE₂R2)、セロトニン 2A 受容体(5-HT2A)、ブラジキニン B2 受容体(BKB₂R)を RT-PCR 法を用いて検出した。この際、電気刺激のみと全く処置をしないコントロール群を作成し、モデル群との比較に使用した。これにより組織画像と筋損傷マーカーより観察できる損傷治癒状況と発痛物質の関連性を考察し、関連

性の深い発痛物質のスクリーニングを行った。

4. 研究成果

NO の測定では、骨格筋の損傷に伴い筋中には NO が生成されるが、その NO レベルは損傷 1 日後に比べ、3 日後、7 日後に有意に高まる傾向が見られ、14 日後には非損傷筋レベルまで回復した。(図2)

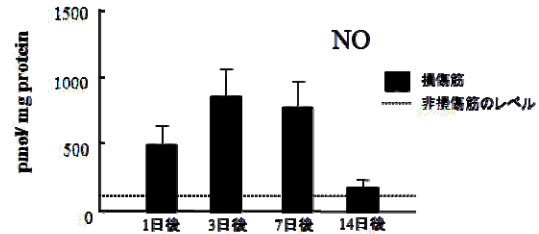


図2. 筋内 NO 生成量

発痛関連物質のタンパク発現では、BK-B2R が損傷治癒前半に、PGE₂R 損傷治癒後半に変化を見せた(図3)。

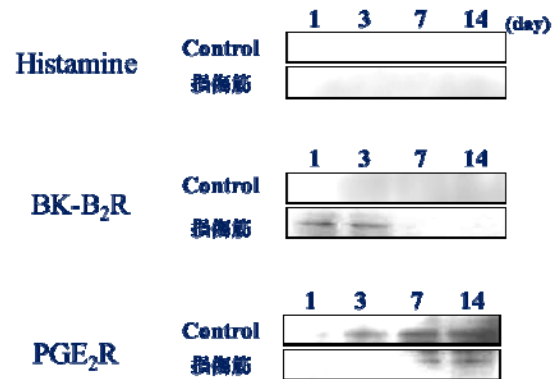


図3. 発痛関連物質のタンパク発現

RT-PCR の結果、COX-2 は損傷 1 日後にはコントロールとはほぼ差を示していないが、3 日後には明確な差を示し、7、14 日後にはほぼコントロールと変わらない値を示した(図4)。PGE₂R は損傷後、1、3 日後にコントロールと差を示し、7、14 日後にはコントロールとほぼ変わらない値を示した(図5)。5-HT2A はコントロール群と比べ損傷 3 日後にピークを迎え 1、7、14 日後はコントロールとほぼ変わらない値を示した(図6)。BK-B₂R はコントロールと比べ、損傷 1 日後に発現のピークを迎え 7 日後にはコントロールとほぼ変わらないレベルまで低下した(図7)。

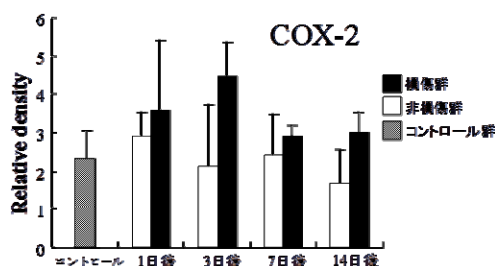


図 4 . COX-2 mRNA 発現量

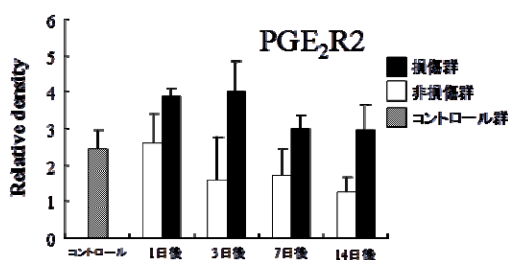


図 5 . PGE₂R2 mRNA 発現量

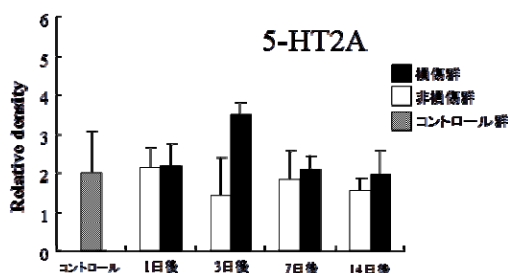


図 6 . 5-HT2A mRNA 発現量

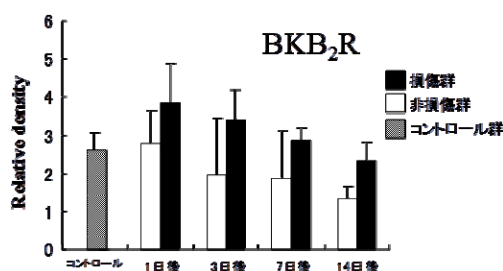


図 7 . BK-B₂R mRNA 発現量

伸張性収縮運動によって引き起こされる筋損傷時には、誘導性一酸化窒素合成酵素 (iNOS) によって NO が生成される。筋損傷時の炎症によって引き起こされた NO が、遅発性筋痛のコントロールを行っているのではないかと考えのもと研究を進めてきた。PGE₂ は、アラキドン酸からシクロオキシゲナ

ーゼにより合成される。PGE₂ の合成関連酵素である COX には COX-1 と COX-2 の存在が知られており、COX-1 は生体内の大部分に恒常的に存在している。また COX-2 は炎症性刺激によりマクロファージなどから合成され、NO 生成に関する iNOS との関連も大きい。これらより筋損傷による PGE₂ の変化は、COX-2 の影響を受けていることが示唆された。PGE₂ には R1 ~ R4 の 4 つの受容体が存在する。R2 は痛覚過敏に関係する受容体であり、筋痛との関連性が考えられる。一方、セロトニン (5-HT) は消化管、血小板、中枢神経系に存在し炎症時において重要な役割を演じ、痛みを増強することが知られている。セロトニンの数多くある受容体のうち 2A は痛覚制御に関連していることが知られている。筋損傷 3 日後に NO タンパクの筋内発現がピークを迎えるが、COX-2、PGE₂、PGE₂R2、5-HT2A も NO 同様に 3 日後にピークを迎えたことは、NO との何らかの関連が考えられた。しかし、PGE₂R2、5-HT2A は共に受容体であり、発痛物質産生への直接の関係を立証するには至らなかった。しかし、発痛関連物質のタンパク発現と受容体発現は発痛や痛覚過敏に大きな影響を及ぼすことは十分に考えられる。

本研究により、損傷筋内における NO の動態がトリガーになり、各種発痛関連物質を動員するタイムラグが遅発性筋痛を引き起こすことが示唆された。しかし、発痛物質の細胞内情報伝達経路は複雑であり、さらなる発痛物質の同定も必要である。また実験動物を対象にした実験では、痛みの調査に難がある。そのためヒトを用いた実験も将来的に考えていかなければならない。このように、遅発性筋痛のメカニズムを、生理学的・分子生物学的にとらえた詳細な研究が今後も必要と考えられる。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

桜井智野風、櫻村修生、喜多清、柴田茂貴、青木健、下井岳、伊藤雅夫、岩崎賢一、短時間の過重力負荷が骨格筋に及ぼす影響、宇宙航空環境医学、査読あり、Vol. 47, No. 1, 2010, 3-9

柏木朋也、桜井智野風、鈴木健太、櫻村修生、ラットにおける高所滞在・平地トレーニングが肺循環動態および肺動脈の血管内皮型一酸化窒素合成酵素タンパク質発現に与える影響、体力科学、査読あり、58 巻、2009、285 - 294

〔学会発表〕(計 6 件)

藤澤泰寛、桜井智野風、遅発性筋痛はい

つから経験するものなのか?第24回日本トレーニング科学会大会、2011.11.6 東京

T. Sakurai, Y.Kano and O.Kashimura, Pain-producing substance changes in rat skeletal muscle after structural damage. 57th American College of Sports Medicine,2010.6.3, Baltimore, USA

石橋祐理子、原健太、桜井智野風、女性ホルモンの連続投与がラットの運動習慣や筋機能に与える影響-HSP70、第22回日本トレーニング科学会大会、2009.12.6 名古屋

原健太、石橋祐理子、桜井智野風、遅発性筋痛発生および治癒時における発痛物質と一酸化窒素との関連、第22回日本トレーニング科学会大会、2009.12.6 名古屋

桜井智野風、柏木朋也、鈴木健太、南和広、菊地潤、低酸素環境暴露による骨格筋内 eNOS タンパク発現はラット系統間により異なるのか、日本体力医学会、2009.9.19 新潟

桜井智野風、櫻村修生、川上泰雄、遅発性筋肉痛発生時および治癒時における代謝量の変化、第11回日本体力医学会北海道地方会、2009.4.19 札幌

〔図書〕(計1件)

桜井智野風、秀和システム、ランニングのかぐく、2011、156

6. 研究組織

(1)研究代表者

桜井 智野風 (SAKURAI TOMONOBU)
東京農業大学・生物産業学部・准教授
研究者番号：30235220

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：