

# 前腕部の繰り返し冷却に伴う ハンドグリップ運動時骨格筋酸素動態の適応

千葉工業大学 若 林 齊

## Adaptation in Oxygen Consumption of Hypothermic Skeletal Muscle During Handgrip Exercise after Repeated Forearm Tissue Cooling

by

Hitoshi Wakabayashi

*Faculty of Engineering, Chiba Institute of Technology*

### ABSTRACT

This study aimed to investigate the effect of repeated local forearm tissue cooling on the metabolism in hypothermic skeletal muscle. It is hypothesized that repeated decrease of muscle temperature increases the oxygen consumption in hypothermic skeletal muscle. Eight healthy males participated in this study. Their right forearm tissues were locally cooled to 25°C by cooling pads attached to the skin. This local cooling was repeated eight times on separate days. To evaluate adaptation in non-shivering thermogenesis in skeletal muscle, local cooling test was conducted at pre and post the repeated cooling period. The muscle oxygenation (oxy- and deoxy-hemoglobin) during 25-second isometric handgrip (10% maximal voluntary construction) was measured by Near-infrared spectroscopy every 2°C reduction in the forearm tissue temperature. The arterial blood flow was occluded for 15 seconds by upper arm cuff inflation during the isometric handgrip. The oxygen consumption in the flexor digitorum muscle was evaluated by a slope of the oxy- and deoxy-hemoglobin difference during the arterial occlusion. In both test experiments the skeletal muscle oxygen consumption decreased significantly depending on the muscle temperature reduction ( $P < 0.05$ ). The oxygen consumption in hypothermic skeletal

muscle was significantly higher at post local cooling test than pretest over the range of tissue temperature 35 to 31°C ( $P<0.05$ ). This result indicated that repeated local tissue hypothermia and suppression of muscle oxygen consumption might facilitate non-shivering thermogenesis in the skeletal muscle. In summary, non-shivering thermogenesis in hypothermic skeletal muscle in human was facilitated after repeated local tissue cooling.

## 要 旨

本研究は、前腕部を局所的に繰り返し冷却し、組織冷却下でのヒト骨格筋の非震え代謝に見られる適応現象を検討した。8名の成人男性が本研究に参加した。右前腕部を組織温度が25°Cに達するまで、別日に合計8回繰り返し冷却した。冷却期間前後に、同様の方法で冷却された前腕部組織代謝の適応現象を評価した。組織温度を熱流補償法により測定し、2°C低下毎に最大下等尺性掌握運動を行い、その間の15秒間動脈阻血した。近赤外線分光法により測定した阻血時の指屈筋酸素動態の変化から、骨格筋酸素摂取指標を算出した。その結果、繰り返し冷却期間前後とも、組織温度の低下に伴い有意に指屈筋の酸素摂取指標が低下した ( $P<0.05$ )。冷却期間後において、指屈筋の酸素摂取指標が組織温度35~31°Cの範囲で冷却期間前よりも有意に高値を示した ( $P<0.05$ )。本研究の結果から、前腕部組織の局所的な繰り返し冷却により、ヒト骨格筋における非震え代謝が亢進する適応現象が示された。

## 緒 言

スノースポーツやマリンスポーツなどの長時間寒冷環境に曝露されるスポーツでは、身体末梢部の組織温度が低下するため、運動パフォーマンスや巧緻性の低下が生じる。また、深部体温の低下に伴う不随意的筋収縮（震え）の発現

がさらに筋活動を制限すると考えられる。極端に低い水温（10°C）では、筋温の低下に伴い水泳パフォーマンスが低下することが報告されている<sup>10)</sup>。ここで、近赤外線分光法（near-infrared spectroscopy ; NIRS）を用いた評価により、骨格筋の局所冷却に伴う筋酸素化レベルの低下や<sup>18)</sup>、筋酸素摂取量の筋温度依存性が報告されており<sup>2)</sup>、著者の研究グループも一過性の低水温環境曝露が筋酸素動態に影響する可能性を指摘している<sup>16)</sup>。同様の筋温依存性の関係は筋運動パフォーマンスや筋発揮張力にも見られ、27°C付近が最大発揮筋力低下の閾値筋温と考えられており<sup>6)</sup>、神経筋系の他に筋代謝系の関与が示唆されている<sup>2)</sup>。このような寒冷環境下での運動パフォーマンス低下を抑えるために、どのような運動トレーニングあるいは体温調節機能の適応現象が有効か興味を持たれる。

繰り返し寒冷曝露に伴う体温調節応答の適応について、震え産熱の抑制や非震え産熱（nonshivering thermogenesis ; NST）の亢進などの代謝系応答の変化や末梢血管収縮亢進などの循環系応答の変化が知られており、これらのシステム協調により深部体温を一定範囲に維持しようとする適応現象が見られる。我々の研究グループもこれまでに、震えを伴わない Mild cold 水浸（26°C）を繰り返すと皮膚血管収縮を強める断熱型適応を起こすが、産熱応答の適応は見られないことを報告し<sup>15)</sup>、また、繰り返し水浸（12°C）に伴う震え産熱の抑制が適応期間に経験した深部体温低下

範囲に限定され、設定深部体温を下回り体温低下した際には適応期間前と産熱応答に差が見られなかった<sup>9)</sup>。すなわち、適応期間に繰り返された体温調節応答に応じて適応現象が生じる可能性が示唆された。しかし、これまでの検討では、代謝応答を呼気ガス分析により全体的にしか捉えておらず、主要発現組織の解明が十分でない。

近年、寒冷曝露時のヒト褐色脂肪細胞 (brown adipose tissue ; BAT) の活動が視覚化され<sup>7)</sup>、エネルギー消費に寄与する代謝成分として NST が注目されている。しかし、NST による産熱亢進型の寒冷適応をヒト対象に示した研究は少ない。その要因として、齧歯類の NST 発現の主要組織とされる BAT がヒト成人では肩部周辺に限局され、代謝全体に占める NST 成分が小さいことが挙げられる。ヒト BAT 代謝は基礎代謝の約 5% と言われ、NST 発現組織として体重の 45% を占める骨格筋が示唆される<sup>14)</sup>。ヒトの NST および震え産熱の主要発現組織が共に骨格筋であることも、NST 亢進の特定を困難にさせる要因である。最新の研究では、BAT を切除した齧歯類においても寒冷適応後に NST 亢進が見られ、骨格筋の関与が示唆されている<sup>1)</sup>。一方で否定的見解では、骨格筋における NST 亢進は震えに伴う筋収縮によるトレーニング効果と位置付けているが<sup>3)</sup>、適応期間に発現する代謝応答を NST に限定することで、トレーニング効果を生じさせずに NST 亢進のみ顕在化させうると考えられる。NST のみ意図的に発現させる方法として骨格筋組織の局所的繰り返し冷却による方法が考えられ、震えを発現させずに骨格筋組織に対して強い寒冷刺激を加えることができ、局所性の NST 亢進を起こす可能性がある。

本研究では、前腕部の繰り返し冷却により、骨格筋内の NST 発現を誘発し、適応前後における局所筋冷却下でのハンドグリップ運動時骨格筋酸素動態の変化を明らかにする。先行研究に

基づき、筋温の低下と骨格筋における酸素摂取量について、正の温度依存関係を示すと予想され、筋温低下に伴う筋パフォーマンス低下の一要因と考えられる。繰り返し冷却により骨格筋内の NST 発現が亢進されれば、筋温-筋酸素摂取量の関係が上方シフト、すなわち、冷却された同一筋温における筋酸素摂取量が高められると予想され、本研究ではこの仮説を検証する。

## 1. 方法

### 1.1 対象者

健康な成人男性 8 名が本研究に参加した。対象者の年齢、身体特性を表 1 に示した。全ての対象者を右利き、非喫煙者とした。本研究の実施に先立って、研究内容について九州大学芸術工学研究院の実験倫理委員会の承認を受けた。

### 1.2 研究スケジュール

前腕部組織温度を 25℃ まで低下させる局所冷却を 2～3 週間の期間内の別日に 8 回繰り返し行い、この期間前後に冷却筋酸素動態評価テストを行った。冷却期間中は座位安静で右前腕部および上腕部に水循環式の冷却パッドを密着させ、低温恒温水槽 (LTB-400, アズワン) により 5℃ に冷却した水を環流させ冷却した。冷却パッドの皮膚表面接触面温度は 9～12℃ の間であった。冷却中に、前腕部組織温度を熱流補償法による深部組織温度計 (CM-210, テルモ) によりモニターし<sup>2)</sup>、前腕部組織温度が 25℃ に達するまで冷却した。繰り返し冷却期間には、冷却のみを行い、掌握運動は行わなかった。

### 1.3 冷却筋酸素動態評価テスト

上記の繰り返し冷却期間前後に以下の冷却筋酸素動態評価テストを行った。室温 24℃、相対湿度 50% に設定された人工気象室において、右前腕部を台に載せ、握力計 (T.K.K.5710b, 竹井

機器工業) を軽く握った姿勢で椅座位安静にした。冷却開始前に、等尺性掌握運動の最大発揮筋力 (maximal voluntary construction ; MVC) の測定を行った。また、冷却前基準値として、最大下 (10%MVC) 等尺性掌握運動を 25 秒間行い、その間に、上腕に巻いたカフを瞬時に 220mmHg に加圧して 15 秒間動脈阻血し、指屈筋 (flexor digitorum ; FD) の筋酸素動態 (酸素化ヘモグロビン ;  $O_2Hb$ , 脱酸素化ヘモグロビン ;  $HHb$ ) を近赤外線分光法 (NIRO-200, 浜松ホトニクス) により測定した。近赤外線プローブの送受光間距離を 3 cm とした。阻血中の  $O_2Hb$ ,  $HHb$  濃度差 ( $[Hb_{diff}] = [O_2Hb] - [HHb]$ ) の経過時間に対する傾きから筋酸素消費指標を求めた<sup>11, 12)</sup>。先行研究に従って、 $Hb_{diff}$  を 2 で除した値を採用した ( $-d (Hb_{diff}) / 2 / dt$ )。本研究で用いた空間分解分光法では近赤外光の光路長が実測できないが、前腕部における送受光間距離 3cm の場合の光路長を 10.7cm の一定値と仮定して濃度変化の絶対値を算出し、単位は  $\mu\text{mol/L/sec}$  で示した。その後、前腕部および上腕部を繰り返し冷却期間と同様の方法を用いて、前腕部組織温度が 25℃ に達するまで徐々に冷却した。冷却パッドの皮膚表面接触面温度は 9 ~ 12℃ の間であった。冷却中に、前腕部組織温度をモニターしながら、筋温 2℃ 低下毎 (冷却開始直後約 35℃, 33, 31, 29, 27, 25℃) に冷却前基準値の測定と同様の方法で最大下 (10%MVC) 等尺性掌握運動を行い、筋酸素消費指標を求めた。

なお、等尺性掌握運動の最大発揮筋力 (MVC), 10%MVC 等尺性掌握運動および動脈阻血法の測定プロトコールについて、安定した測定を行うため、事前に複数回実験室に来室させ練習を行った。

#### 1. 4 統計処理

対象者の特性は、繰り返し冷却期間前後の平

均値を対応のある T 検定で比較した。冷却筋酸素動態評価テストにおける筋酸素消費指標について、二元配置 (組織温度 × 冷却期間前後) の分散分析を行った。有意確率を 5% に設定した。

## 2. 結果

繰り返し冷却期間前後における対象者の体重、体脂肪率、前腕最大囲、前腕部皮下脂肪厚には差が見られなかった (表 1)。

表 1 繰り返し冷却期間前後における対象者の身体特性

|               | Pre         | Post        | T-test |
|---------------|-------------|-------------|--------|
| 年齢 (歳)        | 21.9 (1.1)  | 21.9 (1.1)  | NS     |
| 身長 (cm)       | 171.3 (7.3) | 171.3 (7.3) | NS     |
| 体重 (kg)       | 59.8 (6.8)  | 60.2 (6.7)  | NS     |
| 体脂肪率 (%)      | 16.2 (3.2)  | 15.7 (3.6)  | NS     |
| 前腕最大囲 (cm)    | 24.3 (1.0)  | 24.3 (1.0)  | NS     |
| 前腕部皮下脂肪厚 (mm) | 3.0 (0.5)   | 3.2 (0.8)   | NS     |

対象者 8 名の平均値 (標準偏差)。Pre : 繰り返し冷却期間前, Post : 繰り返し冷却期間後

繰り返し冷却期間前後における前腕部組織冷却時の組織温度と最大下等尺性掌握運動時の指屈筋の筋酸素消費指標を図 1 に示した。

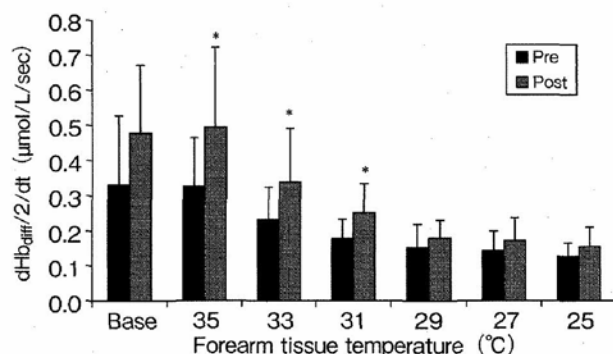


図 1 繰り返し冷却期間前後における前腕部組織冷却時の組織温度と最大下等尺性掌握運動時の骨格筋酸素摂取指標対象者 8 名の平均値 ± 標準偏差を示した。

\* 適応期間前後で有意差 ( $P < 0.05$ )

冷却期間前後とも、組織温度の低下に伴い、筋酸素消費指標の低下する様子がみられ、冷却期間前の測定では、組織温度が 29℃ 以下において、冷却開始前基準値に比べて有意に筋酸素摂取指標が低値を示した ( $P < 0.05$ )。冷却期間後では、組織温度が 31℃ 以下において、冷却開始前に比べて有意に筋酸素摂取指標が低値を示した

( $P<0.05$ ). 冷却期間前後いずれにおいても, 31 ~ 25℃の組織温度間の比較では筋酸素摂取指標に差が見られなかった.

繰り返し冷却期間前後の比較では, 前腕部組織温度が 35, 33, 31℃における筋酸素摂取指標が, 冷却期間後に有意に高値を示した ( $P<0.05$ ). 冷却開始前基準値 ( $P=0.06$ ) と組織温度 27℃ ( $P=0.08$ ) における筋酸素摂取指標についても, 冷却期間後に高い傾向を示した.

### 3. 考 察

本研究の主要な発見として, 前腕部組織を局所的に繰り返し冷却することにより, 組織冷却状態で最大下等尺性掌握運動を行った際の指屈筋酸素摂取指標を亢進させる適応現象が見られた (図 1). Cannon ら<sup>3)</sup> は寒冷適応に伴う骨格筋の代謝亢進は適応期間に発現する不随意的筋収縮 (震え) の繰り返しによる持久性トレーニング効果と指摘しているが, 本研究では, 繰り返し冷却期間中に震えなどの筋収縮を発現させない, 局所組織冷却を用いているため, 持久性トレーニングの影響を受けていない. また, 繰り返し冷却期間前後に対象者の前腕最大囲および前腕部皮下脂肪厚に差が見られなかったことから, この代謝亢進は筋量の増加によるものではないと考えられる. すなわち, 本研究で見られた指屈筋酸素摂取指標の亢進は, 骨格筋組織内の質的な変化によるものと考えられる.

これまでに, 骨格筋の繰り返し冷却に伴う筋酸素動態や筋パフォーマンスの変化を検討した研究がわずかに見られる. Savourey ら<sup>8)</sup> は手部および前腕部を 5℃の水に 5 分間水浸する局所冷却を週 5 回 2 か月間繰り返し, 安静時および掌握運動時の骨格筋代謝をリン磁気共鳴分光法を用いて評価したが, 骨格筋代謝の適応現象は見られなかった. これは, 冷却時間が 5 分間と短く, 筋温低下が不十分であったためと考えられる.

一方で, Geurts ら<sup>5)</sup> は手部を 8℃の水に 30 分間水浸する局所冷却を週 5 回 3 週間繰り返しており, 筋温の低下は十分と考えられるが, 最大発揮筋力などの筋パフォーマンスに変化は見られていない. これは, 極度の冷却条件のため, 適応現象を評価する際の筋温が低下しすぎていたことが原因と考えられる. 本研究では, 前腕部組織温度が 35 ~ 31℃までの範囲で適応前後の筋酸素摂取指標に差が見られ, 29℃以下では傾向が見られるものの, 有意ではなかった. すなわち, 繰り返し局所冷却による骨格筋組織代謝亢進の適応現象には, 組織温度の下限が存在する可能性がある. 本研究では, 適応前後とも組織温度間の比較で, 31℃以下の組織温度で筋酸素摂取指標に差が見られず ( $P>0.05$ ), 本研究の組織冷却温度範囲では 29 ~ 31℃付近で骨格筋酸素摂取量が最小値に達すると考えられた.

本研究の繰り返し局所冷却期間後に見られた骨格筋非震え代謝亢進の適応現象について, 骨格筋組織において起こったと考えられる適応メカニズムを以下に考察する.

寒冷曝露時のヒト骨格筋組織における非震え産熱に着目した研究で, 室温 16℃のマイルド寒冷環境に 82 時間曝露された際の総エネルギー消費量と筋バイオプシーにより採取された骨格筋組織のミトコンドリア脱共役 (State 4 ミトコンドリア呼吸活性) の増加に正の相関性を認めている<sup>17)</sup>. すなわち, 寒冷曝露時の非震え産熱亢進に, ヒト骨格筋のミトコンドリア脱共役が貢献していると考えられる. 同様のマイルド寒冷環境 (室温 15℃) における非震え産熱の季節差を検討した研究で, 冬季に夏季に比べて高い代謝率を示しており<sup>13)</sup>, 繰り返し寒冷曝露によりヒト骨格筋のミトコンドリア脱共役が亢進する可能性がある. 本研究の繰り返し局所冷却期間後に見られた骨格筋酸素消費指標増加の適応現象に, 骨格筋ミトコンドリア脱共役の亢進が関与した可

能性がある。

本研究の局所冷却期間前後の測定において、組織温度の低下に伴い骨格筋酸素消費指標の有意な低下が示された（図 1）。血液内の pH や温度変化によりヘモグロビンの酸素解離曲線がシフトすることが知られており（ボーア効果）、局所冷却された前腕部組織において、ヘモグロビンからの酸素解離が抑制され、骨格筋組織における酸素利用が制限されたと考えられる。すなわち、一種の低酸素状態が骨格筋組織内で繰り返して生じたと考えられる。低酸素環境における運動トレーニングの骨格筋組織に及ぼす影響を検討した研究で、筋バイオプシーにより採取された骨格筋繊維間のミトコンドリア密度の増加が示されている<sup>4)</sup>。本研究においても、同様のメカニズムによって骨格筋酸素摂取動態の上方シフトが見られた可能性がある。

#### 4. まとめ

本研究では、前腕部組織を 25℃ まで繰り返し冷却し、冷却期間前後における局所組織冷却下での等尺性掌握運動時の骨格筋組織代謝に見られる適応現象を検討した。その結果、冷却期間後の測定において、指屈筋の酸素摂取指標が組織温度 35 ～ 31℃ の範囲で冷却期間前よりも高値を示す適応現象が見られた。

#### 謝 辞

本研究は、公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団からの助成を受けて行われました。研究助成に対して厚く御礼申し上げます。また、九州大学芸術工学研究院の梶原裕教授には研究の遂行に対して多大なご支援をいただきました。ここに感謝の意を表します。

#### 文 献

- 1) Bal N.C., Maurya S.K., Sopariwala D.H., Sahoo S.K., Gupta S.C., Shaikh S.A., Pant M., Rowland L.A., Goonasekera S.A., Molkentin J.D., Periasamy M., Sarcolipin is a newly identified regulator of muscle-based thermogenesis in mammals. *Nature Medicine*, 18: 1575-1579 (2012)
- 2) Binzoni T., Ngo L., Hiltbrand E., Springett R., Delpy D., Non-standard O<sub>2</sub> consumption-temperature curve during rest and isometric exercise in human skeletal muscle. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 132: 27-32 (2002)
- 3) Cannon B., Nedergaard J., Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol. Rev.*, 84: 277-359 (2004)
- 4) Desplanches D., Hoppeler H., Linossier M.T., Denis C., Claassen H., Dormois D., Lacour J.R., Geyssant A., Effects of training in normoxia and normobaric hypoxia on human muscle ultrastructure. *Pflugers Arch.*, 425: 263-267 (1993)
- 5) Geurts C.L., Sleivert G.G., Cheung S.S., Local cold acclimation of the hand impairs thermal responses of the finger without improving hand neuromuscular function. *Acta. Physiol. Scand.*, 183: 117-124 (2005)
- 6) Racinais S., Oksa J., Temperature and neuromuscular function. *Scand. J. Med. Sci. Sports*, 20: 1-18 (2010)
- 7) Saito M., Okamatsu-Ogura Y., Matsushita M., Watanabe K., Yoneshiro T., Nio-Kobayashi J., Iwanaga T., Miyagawa M., Kameya T., Nakada K., Kawai Y., Tsujisaki M., High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity. *Diabetes*, 58: 1526-1531 (2009)
- 8) Savourey G., Barnavol B., Caravel J.P., Feuerstein C., Bittel J.H., Hypothermic general cold adaptation induced by local cold acclimation. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 73: 237-244 (1996)
- 9) Tipton M.J., Wakabayashi H., Barwood M.J., Eglin C.M., Mekjavic I.B., Taylor NAS. Habituation of the metabolic and ventilatory responses to cold-water immersion in humans. *J. Thermal Biol.*, 38: 24-31 (2013)
- 10) Tipton M., Eglin C., Gennser M., Golden F., Immersion deaths and deterioration in swimming performance in cold water. *Lancet*, 354: 626-629 (1999)

- 11) van Beekvelt M.C., Colier W.N., Wevers R.A., Van Engelen B.G., Performance of near-infrared spectroscopy in measuring local O<sub>2</sub> consumption and blood flow in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 90: 511-519 (2001)
- 12) van Beekvelt M.C., van Engelen B.G., Wevers R.A., Colier W.N., In vivo quantitative near-infrared spectroscopy in skeletal muscle during incremental isometric handgrip exercise. *Clin. Physiol. Funct. Imaging*, 22:210-217 (2002)
- 13) van Ooijen A.M., van Marken Lichtenbelt W.D., van Steenhoven A.A., Westerterp K.R., Seasonal changes in metabolic and temperature responses to cold air in humans. *Physiol. Behav.*, 82: 545-553 (2004)
- 14) van Marken Lichtenbelt W.D., Schrauwen P., Implications of nonshivering thermogenesis for energy balance regulation in humans. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 301: R285-R296 (2011)
- 15) Wakabayashi H., Wijayanto T., Kuroki H., Lee J.Y., Tochihara Y., The effect of repeated mild cold water immersions on the adaptation of the vasomotor responses. *Int. J. Biometeorol*, 56: 631–637 (2012)
- 16) 若林 斉. 水中運動時の下肢酸素動態, 特集: 水中運動療法の考え方・進め方 – 安全で有効な実践のために –, 臨床スポーツ医学 Vol. 27, No. 8, 文光堂, pp. 823-827 (2010)
- 17) Wijers S.L., Schrauwen P., Saris W.H., van Marken Lichtenbelt W.D., Human skeletal muscle mitochondrial uncoupling is associated with cold induced adaptive thermogenesis. *PLoS ONE*, 3:e1777 (2008)
- 18) Yanagisawa O., Homma T., Okuwaki T., Shimao D., Takahashi H., Effect of cooling on human skin and skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 100: 737-745 (2007)