

骨格筋の虚血プレコンディショニングは実用可能なのか： 食餌性硝酸塩併用も含めた検討

北 翔 大 学 沖 田 孝 一
(共同研究者) 北 海 道 大 学 高 田 真 吾
北海道教育大学 森 田 憲 輝

Validation of Ischemic Preconditioning for Skeletal Muscle: Combined by Dietary Nitrate

by

Koichi Okita

Department of Sport Education, Hokusho University

Shingo Takada

Cardiovascular Medicine,

Hokkaido University Graduate School of Medicine

Noriteru Morita

Sports Education, Hokkaido University of Education

ABSTRACT

The ischemic preconditioning phenomenon was introduced in a study that demonstrated that repetitions of short-term ischemia and reperfusion of coronary arteries could reduce the myocardial damage following prolonged ischemia (direct effect). Moreover, it was later demonstrated that the ischemic preconditioning of coronary arteries also protects remote cardiac tissue that is not directly exposed to ischemic preconditioning (remote effect). Because of the intermittent nature of the blood flow during intense muscle actions, it was proposed that ischemic preconditioning prior to exercise could increase muscular performance. Although

most of the exercise studies employed an ischemic preconditioning protocol involving four cycles of 5-min circulatory occlusion followed by a 5-min reperfusion period, the optimal number of repetitions of ischemic preconditioning remained unclear. First, we examined the effective repetition numbers (from one to four) of direct and remote ischemic preconditioning in lower leg on exercise performance and fatigability. Contrary to previous reports, the results showed that any repetition of ischemic preconditioning did not affect the maximum strength and fatigability in knee extension. Concerning those negative results, we examined effects of ischemic preconditioning in a practical exercise of repeated-jump and combined ischemic preconditioning with dietary nitrate (donor of nitric oxide). However, we could not demonstrate significant effects of ischemic preconditioning on exercise performance and muscle damage even with dietary nitrate.

Keywords

ischemia; reperfusion; skeletal muscle; fatigability; performance; preconditioning

要 旨

虚血プレコンディショニングとは、長時間の心筋虚血の前に短時間の虚血再灌流操作を繰り返すことによる虚血耐性の獲得であるが、近年、この手技がスポーツ科学領域に応用され、骨格筋に施行することで、運動持続時間、最大酸素摂取量、最大パワーおよび最大筋力が増加するなどの複数の報告がみられる。本研究では、まず直接的虚血プレコンディショニングが下肢最大筋力と筋疲労に与える効果と必要回数を検証したが、回数によらず明らかなパフォーマンス向上効果は認められなかった。問題点を考察し、実践的な運動(連続跳躍)において両足の虚血プレコンディショニングを施行し、効果を検証した。また、効果の機序と推定される一酸化窒素発生を助長する食餌性硝酸塩の併用効果も検討した。しかしながら、いずれのプロトコールにおいても統計学的に有意なパフォーマンス向上効果は認められず、この手技の有効性に疑問を提起する結果となった。

緒 言

骨格筋に対する虚血手技は、運動トレーニングや虚弱者のリハビリテーション他に幅広く応用されており、我々も基礎的及び臨床的検討から、効果のメカニズム¹⁾ および至適プロトコールの考案について提言してきた²⁻⁶⁾。

一方、運動前の動作筋あるいは非動作筋にカフによる虚血再灌流を繰り返し施行することで(虚血プレコンディショニング: ischemic preconditioning, IPC)、トレーニングを行うことなく、運動持続時間、最大酸素摂取量、最大パワーおよび最大筋力が増加するという信じ難い効果が近年の研究で示され⁷⁻⁹⁾、注目されている。

本来のIPCは、短時間の心筋虚血を複数回施行することにより、心筋細胞の虚血耐性が増強し、その後の虚血再灌流による障害が抑制される現象である¹⁰⁾。その後、臨床研究においても、急性心筋梗塞が疑われる患者の上腕にIPCを施行することで心筋障害が軽減されることなどが報告さ

れている^{11,12)}。このようにIPCは、標的臓器のみならず異なる部位（遠隔部位：remote region）で施行されても臓器保護効果を示す可能性が示唆されている（遠隔的IPC）。

運動科学領域では、前述の通り標的筋に対する直接的IPCあるいは遠隔的IPCによる運動能力向上効果が、複数の研究において様々な運動方法を用いて検討されているが¹³⁾、その効果に関して、我々は虚血に伴うNO（nitric oxide）産生増加による筋収縮効率およびミトコンドリア酸素利用能の改善が主要機序ではないかと推定している¹⁴⁾。本研究では、直接的IPC効果の検証と一般的に施行されている方法である虚血5分、解放5分の4回繰り返しの妥当性およびその効果を相乗的に増強すると推測される食事性硝酸塩併用（NO供与体）の影響、さらに両脚のIPCによる跳躍能力向上効果、運動併用IPC（虚血warming-up）について検証する。

1. 方法

本研究に先立ち、全被験者に口頭および書面による実験内容の説明を行い、書面による研究参加への同意を得た。なお、本研究は、北翔大学研究

倫理委員会の承認を受けて実地された。

実験1：運動能力向上におけるIPC効果および必要回数の検証

一般健常者（男子大学生12名）を対象として、筋力測定前に、右側大腿に空気圧式カフを装着し、pneumatic rapid inflator（E-20 rapid cuff inflator, Hokanson, USA）を用いて加圧し、直接的IPC施行した。虚血5分（200mmHgで加圧）、再灌流5分を1セットとし、コントロール（0回）、IPC条件（1回施行、2回、3回、4回）の5プロトコルを1週間の間隔を空けてランダムに行い（図1）、最大筋力および筋持久力を筋機能評価運動装置（Biodex, NY, Shirley, USA）にて測定した。測定角速度は、60 deg/sec、180 deg/sec および 300 deg/sec とし、反復回数をすべて5回、各測定間には30秒の休息時間を入れた。各測定後に主観的運動強度（10-point Borg scale）の評価を行った。

実験2：IPCと一酸化窒素（nitric oxide, NO）供与体（食事性硝酸塩）の併用効果の検証

一般健常者（男子大学生14名）を対象として、コントロール、実験1のIPC2回施行、食事性硝

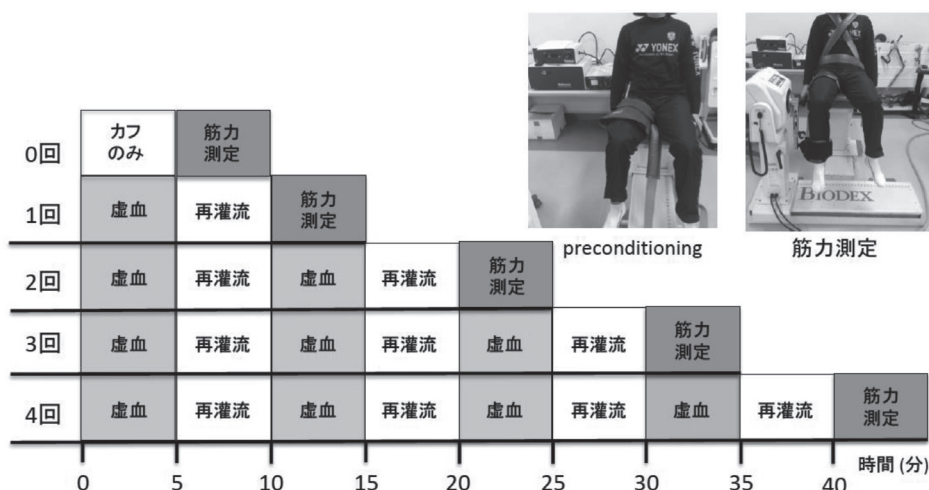


図1 大腿四頭筋最大筋力に与える影響と必要IPC回数を検討するためのプロトコル

酸塩摂取単独, さらに食餌性硝酸塩摂取と IPC 併用の4つのプロトコルを用い, 実験1と同様の方法で最大筋力および筋持久力を測定した. なお, 食餌性硝酸塩には, ビートルートジュース (Beet It, James White Drinks, Ipswich, UK) 濃縮タイプ70mlを用い, 測定の3時間前に摂取した.

実験3: 両脚のIPCによる跳躍能力向上効果の検証

一般健常者(男子大学生19名)を対象として, 連続跳躍運動前に両下肢にIPCを施行する条件(IPC条件)と, 施行しない対照条件(カフのみ装着)をランダムに施行した. 運動は, 大腿部を床と平行になるように2秒間スクワットを行い, 1秒間隔で最大垂直ジャンプを50回繰り返す連続スクワットジャンプとした. IPCは両大腿部にカフを巻き, 200mmHgの圧で虚血5分, 再灌流5分を2セット行った. 跳躍高は, マルチジャンプテスター(DKH社製)により測定した. 持久性能力(疲労性)は, ジャンプ50回における跳躍高低下曲線の傾き, 総跳躍高, 前半5回(1~5回目)と後半5回(46~50回目)の跳躍高平均の差を用いて検討した. また主観的運動強度およびVAS(Visual Analogue Scale)も調べた.

実験4: 虚血warming-upによるIPC増強効果の検証

一般健常者(男子大学生12名)を対象として, 対照条件(カフのみ装着)および虚血warming-up条件における実験1と同様の測定をランダムに施行した. 虚血warming-upは, 虚血を継続しつつ無負荷で1収縮2~3秒の速さで1分間の膝伸展・屈曲動作を繰り返した. 対照はカフ装着のみで施行した.

2. 統計処理

記述データは平均(標準偏差)で表し, 図は平

均±標準誤差で表示した. ベースラインの運動条件間の測定値の比較は, 一元配置反復測定分散分析(1-way repeated-measures ANOVA)を用いて行った. 運動条件間の交互作用が認められた場合は, Bonferroniの多重比較(post-hoc)により検定した. 統計学的有意水準は, $p < 0.05$ とし, すべての検定は, Macintosh用統計解析ソフトJMP 13.0(SAS Institute Japan)を用いて行った.

3. 結果

実験1: IPC効果および必要回数の検討

予測した結果と異なり, いずれの施行回数においても有意な最大筋力増加(図2), 疲労性(図3)の有意な改善は認められなかった. 主観的運動強度(図4)は, 1回施行で低値傾向を示したが, ANOVAでは有意ではなかった.

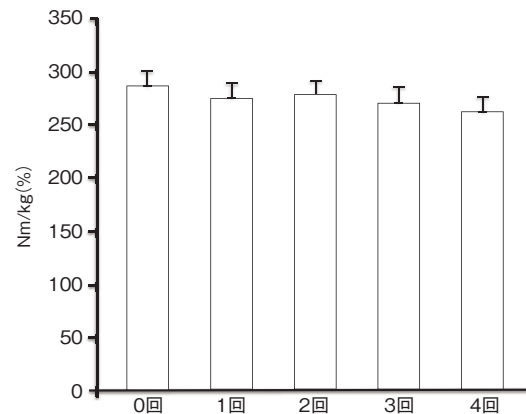


図2 IPC施行回数と最大筋力(膝伸展筋力, 60 deg/s). 0回はコントロールである. 施行回数に関わらず有意な向上効果は認められなかった.

実験2: IPCと一酸化窒素(nitric oxide, NO)供与体(食事性硝酸塩)との併用効果の検証

IPC単独での有意な効果が得られないため, メカニズムとして考えられているNOの発生を増強するために, 食事性硝酸塩との併用効果を調べたが, 有意な向上・改善効果は認められなかった(図5, 6)

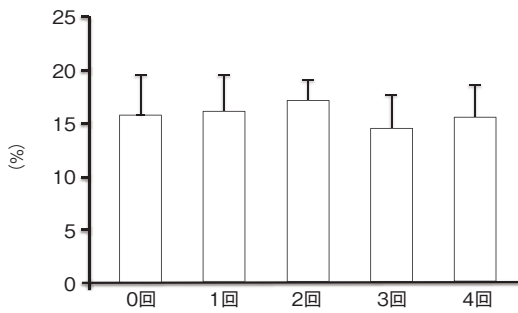


図3 IPC 施行回数と疲労性（仕事量減少率）
0回はコントロールである。施行回数に関わらず有意な改善効果は認められなかった。

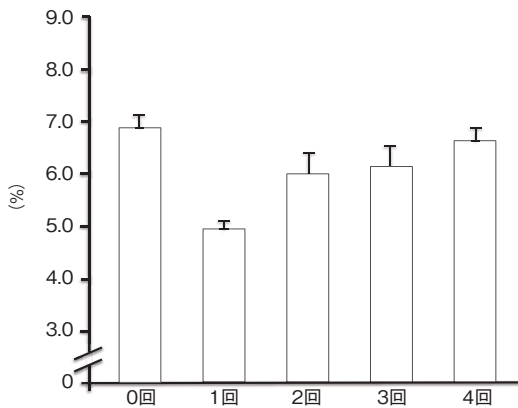


図4 IPC 施行回数と主観的運動強度
0回はコントロールである。
統計的に有意な改善効果は認められなかった。

実験 3：両脚の IPC による跳躍能力向上効果の検証

実験的な運動ではなく、実際のスポーツにおける運動に近い 50 回の連続跳躍運動（スクワットジャンプ）において、さらに両側の下肢筋に IPC を施行して運動パフォーマンスを評価したが、跳躍高および疲労性のいずれにおいても有意な向上・改善効果は得られなかった（図 7）。また、跳躍高低下曲線の傾き、主観的運動強度および VAS にも有意な改善は認められなかった。

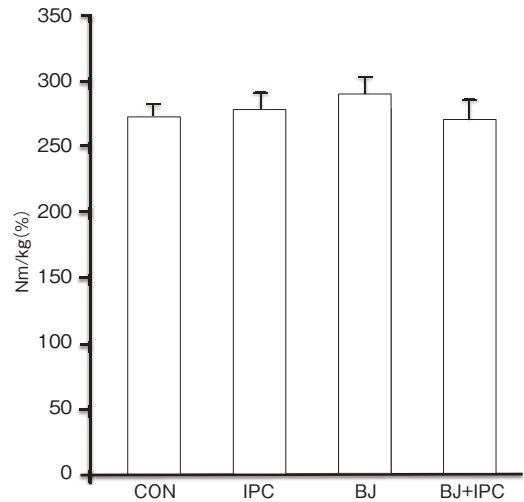


図5 食事的硝酸塩との併用効果
（最大筋力, 膝伸展筋力, 60 deg/s）

CONはコントロール, IPCは虚血プレコンディショニング2回施行, BJはビートルートジュース単独, BJ+IPCは併用である。いずれの条件においても統計的に有意な向上効果は認められなかった。

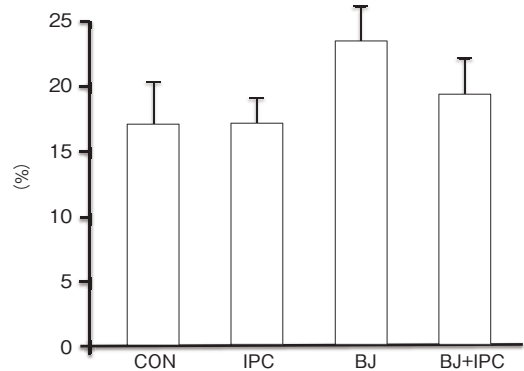


図6 食事的硝酸塩との併用効果（疲労性）

CONはコントロール, IPCは虚血プレコンディショニング2回施行, BJはビートルートジュース単独, BJ+IPCは併用である。いずれの条件においても統計的に有意な改善効果は認められなかった。

実験 4：虚血 warming-up による IPC 増強効果の検証

先行実験の結果を踏まえ、虚血 warming-up によりさらに強い虚血を誘発し、IPC 効果を増強し、有効性を得ることができるか追加実験を試みた。同運動における最大筋力（図 8）、疲労性および主観的運動強度においても有意な向上・改善効果は認められなかった。

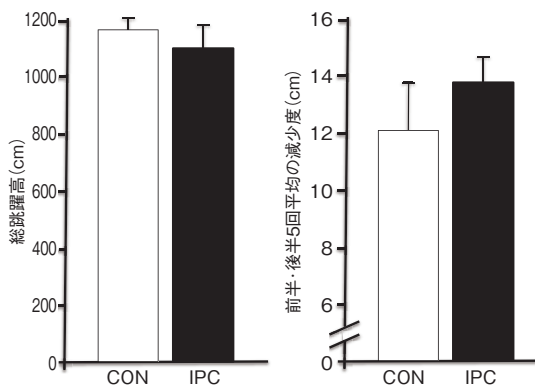


図7 連続跳躍運動パフォーマンスへの影響

CONはコントロール、IPCは両下肢虚血プレコンディショニング2回施行である。総跳躍高、疲労性（前半/後半5回平均の減少度）ともに有意な向上効果は認められなかった。

4. 考察

IPC効果と必要回数の検証については、綿密な計画に基づき図1に示したプロトコルを用いて、長期間にわたり膨大な測定を行ったが、当初

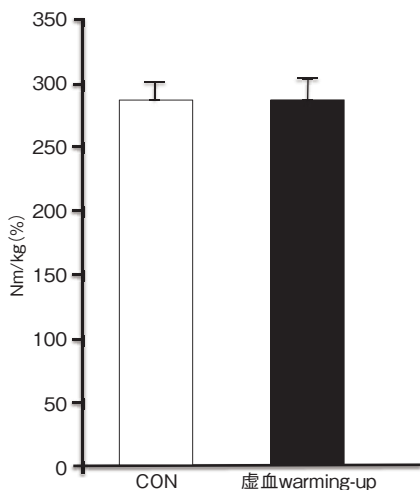


図8 虚血warming-upの効果

(最大筋力, 膝伸展筋力, 60 deg/s)

CONはコントロールである。有意な向上効果は認められなかった。

の予想と異なり、施行回数・プロトコルによらず先行研究で示されているような有効性を証明することはできなかった。この理由の一つとして、今回用いた大腿筋群の筋量が先行研究で多く用い

られている上肢筋より遥かに大きいことが考えられた。そこで、骨格筋のIPC効果の機序として考えられている虚血によるNO (nitric oxide, 一酸化窒素) 増加に注目し、食事性NO供与体(硝酸塩)であるビートルートジュース摂取の併用さらには虚血下のwarming-up運動を追加実験として行なったが、先の実験と同様に有効性は認められなかった。また、最大パワーと疲労耐性の測定を兼ねた実際の運動・スポーツに近い実践的運動である連続跳躍運動(スクワットジャンプ)におけるパフォーマンス向上効果も検討したが、前述の一連の実験と同様に有意な運動パフォーマンス向上効果を証明することはできなかった(日本体力医学会学会2018年)。我々の研究と同様に、効果があることを前提に国内外で多数の研究が行われてきた骨格筋に対するIPCであるが、実際のスポーツ現場で応用するには、効果が不明確であるばかりか、逆に競技者に不快感を与える手技であり、今後のあり方を見直す契機となる複数の知見が得られたことになる。

海外における関連研究の動向として、医療領域におけるIPCに関しては、メタ解析では、効果を疑問視する論文も公表されてきている¹⁵⁾。

一方、スポーツ科学・運動生理学領域においても、IPCに関する主要な研究報告の質、方法論の問題点を問う総説が報告され¹⁶⁾、今回の我々の研究結果と同様に、IPCの有用性を根本的に見直す必要性が生じていると考えられる。

5. 総括

効果があることを前提に国内外で多数の研究が行われてきた骨格筋に対するIPCであるが、本研究では最大筋力や疲労性に関しての有効性は認められなかった。IPCを実際のスポーツ現場で応用するには、効果が不明確であり、方法論や対象などを見直す必要があると考えている。

謝 辞

本研究は、平成30年度公益財団法人石本記念
デサントスポーツ科学振興財団の助成を受けて実
地されたものである。

文 献

- 1) Okita K., Takada S., Application of Blood Flow Restriction in Resistance Exercise Assessed by Intramuscular Metabolic Stress. *J. Nov. Physiother*: 3:6 87. doi: 10.4172/2165-7025.1000187 (2013)
- 2) Takada S., Okita K., Suga T., Omokawa M., Kadoguchi T., Sato T., Takahashi M., Yokota T., Hirabayashi K., Morita N., Horiuchi M., Kinugawa S., Tsutsui H., Low-intensity exercise can increase muscle mass and strength proportionally to enhanced metabolic stress under ischemic conditions. *J. Appl. Physiol.*, Jul;113(2) : 199-205. (2012)
- 3) Takada S., Okita K., Suga T., Omokawa M., Morita N., Horiuchi M., Kadoguchi T., Takahashi M., Hirabayashi K., Yokota T., Kinugawa S., Tsutsui H., Blood Flow Restriction Exercise in Sprinters and Endurance Runners. *Med. Sci. Sports Exerc.*, Mar;44 (3) : 413-9(2012)
- 4) Suga T., Okita K., Takada S., Omokawa M., Kadoguchi T., Yokota T., Hirabayashi K., Takahashi M., Morita N., Horiuchi M., Kinugawa S., Tsutsui H., Effect of multiple set on intramuscular metabolic stress during low-intensity resistance exercise with blood flow restriction. *Eur. J. Appl. Physiol.*, Jun;108 (6) : 1563-7(2012)
- 5) Suga T., Okita K., Morita N., Yokota T., Hirabayashi K., Horiuchi M., Takada S., Omokawa M., Kinugawa S., Tsutsui H., Dose Effect on Intramuscular Metabolic Stress during Low-Intensity Resistance Exercise with Blood Flow Restriction. *J. Appl. Physiol.* : 108:1563-1567 (2010)
- 6) Suga T., Okita K., Morita N., Yokota T., Hirabayashi K., Horiuchi M., Takada S., Takahashi T., Omokawa M., Kinugawa S., Tsutsui H., Intramuscular Metabolism during Low-Intensity Resistance Exercise with Blood Flow Restriction. *J. Appl. Physiol.*; 106(4) : 1119-24(2009)
- 7) de Groot P.C., Thijssen D.H., Sanchez M., Ellenkamp R., Hopman M.T., Ischemic preconditioning improves maximal performance in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.*; 108(1) : 141-6. doi: 10.1007/s00421-009-1195-2(2010)
- 8) Beaven C.M.I, Cook C.J., Kilduff L., Drawer S., Gill N., Intermittent lower-limb occlusion enhances recovery after strenuous exercise. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, Dec; 37(6) : 1132-9. doi: 10.1139/h2012-101 (2012)
- 9) Cruz R.S., de Aguiar R.A., Turnes T., Salvador A.F., Caputo F., Effects of ischemic preconditioning on short-duration cycling performance. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*; 41(8) : 825-31. doi: 10.1139/apnm-2015-0646(2016)
- 10) Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A., Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.*; 74 (5) : 1124-36(1986)
- 11) Bøtker H.E., Kharbanda R., Schmidt M.R., Bøttcher M., Kaltoft A.K., Terkelsen C.J., Munk K., Andersen N.H., Hansen T.M., Trautner S., Lassen J.F., Christiansen E.H., Krusell L.R., Kristensen S.D., Thuesen L., Nielsen S.S., Rehling M., Sørensen H.T., Redington A.N., Nielsen T.T., Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomised trial. *Lancet.*; 375(9716) : 727-34. doi: 10.1016/S0140-6736(09)62001-8(2010)
- 12) Thielmann M., Kottenberg E., Kleinbongard P., Wendt D., Gedik N., Pasa S., Price V., Tzagakis K., Neuhäuser M., Peters J., Jakob H., Heusch G., Cardioprotective and prognostic effects of remote ischaemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a single-centre randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet.*; 382(9892) : 597-604. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61450-6(2013)
- 13) Incognito A.V., Burr J.F., Millar P.J., The Effects of Ischemic Preconditioning on Human Exercise Performance. *Sports Med.*; 46(4) : 531-44. doi: 10.1007/s40279-015-0433-5(2016)
- 14) Jones A.M., Dietary nitrate supplementation and exercise performance. *Sports Med.*, May; 44 Suppl 1:S35-45. doi: 10.1007/s40279-014-0149-y(2014)
- 15) Sukkar L., Hong D., Wong M.G., Badve S.V.,

Rogers K., Perkovic V., Walsh M., Yu X., Hillis G.S., Gallagher M., Jardine M., Effects of ischaemic conditioning on major clinical outcomes in people undergoing invasive procedures: systematic review and meta-analysis. *B.M.J.*; 355:i5599. doi: 10.1136/BMJ.i5599(2016)

16) Marocolo M., Marocolo I.C., da Mota G.R., Simão R., Maior A.S., Coriolano H.J., Beneficial Effects of Ischemic Preconditioning in Resistance Exercise Fade Over Time. *Int. J. Sports Med.*; 37(10): 819-24. doi: 10.1055/s-0042-109066(2016)