

氏名（本籍）	浦井久子（千葉県）
学位の種類	博士（スポーツ科学）
学位記番号	甲第34号
学位授与日	平成31（2019）年3月19日
学位授与の要件	大阪体育大学大学院学位規程第4条第1項該当
研究科名	スポーツ科学研究科（博士後期課程）スポーツ科学専攻
論文題目	遅発性筋痛における繰り返し効果の発症機序に関する研究
審査委員	主査 教授 浜田 拓 副査 教授 岡村 浩嗣 教授 前島 悦子

論文内容の要旨

本論文は、スポーツを行う上で不可避である遅発性筋痛（DOMS）を研究対象とすることにより、スポーツ科学の発展に寄与することを目的としたものである。

DOMSは、伸張性筋収縮（LC）を伴う運動を行った半日～1日後に発症する、スポーツ現場から日常生活において多くの人を経験したことがある痛みである。DOMSの痛みは、運動中や直後に生じる急性痛とは異なり、一般的に運動24～72時間後にピークを迎え、7日以内には消失する。痛みの特徴は重症の場合以外自発痛はなく、機械痛覚過敏と呼ばれる運動誘発性疼痛と圧痛である。これまで、DOMSの発症原因は筋線維や結合組織の損傷とその後の炎症反応であることが示唆されてきた。しかし近年になって、ラットDOMSモデルがLC後の骨格筋内で増加する神経成長因子（NGF）とシクロオキシゲナーゼ2（COX-2）が筋細径神経線維を感作することにより、機械痛覚過敏を生じさせることが報告された。また、DOMSには繰り返し効果と呼ばれる、一度LCを行い、数日の休息後に再度行くと、一度目の後よりも痛みが減弱する特徴がある。しかしながら、繰り返し効果において、DOMSをもたらすとされるNGFとCOX-2の関与

は明らかにされていない。DOMS の痛みは一般的に医療処置を必要とせず回復するが、DOMS を伴うような運動が繰り返し行われることは、さらなる慢性的な運動器障害や痛覚過敏といった中枢神経系の不可逆的な変化をもたらす可能性が危惧されている。そこで、本研究はラット DOMS モデルを用いて、以下の 2 つの研究課題に取り組むことにより、DOMS の繰り返し効果における NGF と COX-2 の関与を検証することにした。

研究課題 1 遅発性筋痛の繰り返し効果における NGF 発現関与の検証

NGF と DOMS の関係については、これまでに運動筋内で血管内皮細胞から放出されるブラジキニンによって、筋細胞または筋衛星細胞の B2 ブラジキニン受容体 (B2 受容体) の活性化を介して NGF が産生されること、産生された NGF が機械刺激に対する筋細径神経 (C) 線維を感作することにより筋機械痛覚過敏がもたらされることが報告されてきたが、繰り返し効果への関与は明らかにされていない。そこで、本研究課題では、ラット DOMS モデルを用いて NGF と B2 受容体の繰り返し効果への関与を検証することにした。SD 系雄性ラットへの繰り返し LC は、長指伸筋を対象に鍼電極を用いた電気刺激による 500 回の LC を 5 日間隔で 2 回 (1st, 2nd LC) 実施した。その後の筋痛の評価には、Randall-Selitto test による筋機械逃避反応閾値を用いた。2 回の LC 後の NGF mRNA を測定し、さらに B2 受容体阻害剤を 1st LC 実施 30 分前に単回、皮下投与した。1st LC 後に見られた筋機械痛覚過敏と NGF mRNA の発現増大は、2nd LC 後には生じず、繰り返し効果が認められた。1st LC 前の B2 受容体阻害剤投与は、1st LC 後の筋機械痛覚過敏と NGF mRNA の発現増大を抑制しただけでなく、薬効が消失しているとされる 2nd LC 後においても発現増大が認められなかった。以上の結果から、NGF は DOMS の繰り返し効果に関与し、その現象は B2 受容体の上流で生じていることが示唆された。

研究課題 2 遅発性筋痛の繰り返し効果における COX-2 発現関与の検証

研究課題 1 において、DOMS の繰り返し効果における NGF の関与を示唆した。その後、DOMS の発症に NGF を介さない COX-2-GDNF 経路も存在することが明らかにされてきた。COX-2 は、炎症などの刺激により細胞膜リン脂質から遊離されるアラキドン酸を触媒してプロスタグランジンを合成する酵素である。これまでに、LC 後の筋内 COX-2 活性化は筋細径神経 (A δ) 線維を感作して筋機械痛覚過敏をもたらすこと、痛みだけでなく骨格筋蛋白の合成などに必要であることが報告されてきた。しかしながら、COX-2 の DOMS の繰り返し効果への関与は明らかにされていない。本研究課題では、研究課題 1 と同様にラット DOMS モデルを用いて、2 回の LC 後の COX-2 mRNA を測定した。さらに選択的 COX-2 阻害剤を 1st LC 実施 30 分前に単回、ラットの背部皮下へ投与し、その後の筋機械逃避反応閾値を測定することにより、COX-2 の DOMS の繰り返し効果への関与を検証した。COX-2 mRNA は、1st LC 後に発現増大が見られたが、2nd LC 後には生じず、繰り返し効果が認められた。1st LC 前の選択的 COX-2 阻害剤の投与により、筋機械痛覚過敏は 1st LC 後に抑制されただけでなく、薬効が消えているとされる 2nd LC 後にも生じなかった。以上の結果から、COX-2 は DOMS の繰り返し効果に関与し、その現象は COX-2 活性化以前の段階で生じていることが示唆された。

以上の結果から、DOMS の繰り返し効果は LC 後の骨格筋内において NGF と COX-2 mRNA の発現増大が減少することによりもたらされることが示唆された。これにより繰り返し効果の発症機序は、B2 受容体と

COX-2 活性化の上流, すなわち血管内皮細胞からのブラジキニン放出, もしくは筋細胞からのアデノシン放出の過程またはその前段階に存在する可能性が考えられた。

審査結果の要旨

(論文審査)

1. 論文要旨

本論文は、遅発性筋肉痛 (DOMS) における繰り返し効果の発症機序を検証することを目的として、伸長性筋縮小 (LC) 後の筋機械痛覚過敏をもたらすとされる神経成長因子 (NGF) とシクロオキシゲナーゼ 2 (COX-2) に着目し、2つの研究課題に取り組んだ。

研究課題 1 では、ラット DOMS モデルを用いて、DOMS の繰り返し効果に対する NGF の関与を検証した。最初に、DOMS の痛みが NGF 由来であることを裏付けるため、2回目の LC が NGF mRNA 発現に及ぼす影響を検討した。さらに、B2 受容体阻害剤を用いて、2回目の LC 後に筋機械痛覚過敏と NGF mRNA の変化を検証した。その結果、1回目の LC 後のラット長指伸筋において、筋機械痛覚過敏と NGF mRNA 発現の増大が見られたが2回目の LC 後には、筋機械痛覚過敏と NGF mRNA 発現の増大は生じなかった。また、B2 ブラジキニン受容体阻害剤を投与した結果、1回目の LC 後のみならず2回目の LC 後における筋機械痛覚過敏と NGF mRNA 発現増大は抑制された。研究課題 1 の結果から、NGF は DOMS の繰り返し効果に関与することが示唆され、DOMS の繰り返し効果の発症機序は B2 受容体の上流に存在する可能性が示された。

研究課題 2 では、DOMS の繰り返し効果に対する COX-2 の関与を検証した。方法は、研究課題 1 と同様のプロトコルを用いて、2回の LC 後に COX-2 mRNA を測定し、さらに選択的 COX-2 阻害剤を投与することで、繰り返し効果が COX-2 活性の上流あるいは下流どちらで生じているかを検証した。その結果、筋機械痛覚過敏は1回目の LC 後に抑制されただけでなく、薬効が消失されるとされる2回目の LC 後に筋機械痛覚過敏は生じなかった。また、COX-2 mRNA においても、1回目の LC 後に発現の増大が見られたが、2回目の LC 後には生じず、繰り返し効果が認められた。これらの結果から、COX-2 は DOMS の繰り返し効果に関与し、その現象は COX-2 の上流で生じていることが示唆された。

以上の結果から、LC 後の骨格筋内において、DOMS の繰り返し効果の発症機序の一端として、NGF と COX-2 の発現増大が関与していることが示唆された。

2. 論文審査の要旨

口頭試問では、研究の目的に至った根拠、研究方法、結果、考察など、本論文に関連する質問に適切に解答した。論文の審査では、文章表現に関する指摘があり、修正するようにご指摘を頂いたが、博士論文の基準を満たしていると判定された。

(最終試験)

提出論文及び関連することがらについて口頭試験を行った結果、博士の学位授与の基準を満たしていると判断されたので、「合格」と判定した。