マンシエットによるラット骨格筋への血流制限と 組織血液酸素飽和度の経時的变化

Temporal Change of Tissue Blood Oxygen Saturation in Rat Skeletal Muscle after Blood Flow Restriction by Manchette

今野 哲男^{1,2)} 村尾 昌信¹⁾ 秋山 純一¹⁾ 川上 照彦¹⁾ 中嶋 正明¹⁾

TETSUO IMANO, RPT, MS^{1,2)}, MASANOBU MURAO, RPT, MS¹⁾, JUNICHI AKIYAMA, PhD¹⁾,
TERUHIKO KAWAKAMI, MD, PhD¹⁾, MASAOKI NAKAJIMA, RPT, PhD¹⁾

¹⁾ Graduate School of Health Science, Kibi International University: 8 Iga-machi, Takahashi-shi, Okayama 716-8508, Japan
TEL +81 866-22-9454 E-mail: ttck208@ybb.ne.jp

²⁾ Department of Physical Therapy, Fukuyama Medical College

Rigakuryoho Kagaku 35(1): 49-52, 2020. Submitted Jul. 24, 2019. Accepted Sep. 11, 2019.

ABSTRACT: [Purpose] This study was made to clarify the conditions of temporary blood flow restriction (BFR) that can produce muscle hypertrophy. [Participants and Methods] Five male Wistar rats were subjected to BFR of 200 mmHg in the lower leg muscle using a manchette. Tissue oxygen saturation (StO₂) at the start of BFR was set to 100%, and the lowest StO₂ value within 6 minutes from the start of BFR was set to 0% (%StO₂). StO₂ for each minute was compared from the start until 6 minutes. [Results] % StO₂ showed a downward trend for 3 minutes after the start of BFR, and then decreased only slightly before reaching a plateau. [Conclusion] When %StO₂ is relatively low, there is a greater effect of muscle hypertrophy, and the BFR time is 4 minutes or more. However, the duration of the low %StO₂ state is also considered to be a factor inducing muscle hypertrophy, so further investigation is necessary.

Key words: blood flow restriction, near infrared spectroscopy, tissue oxygen saturation

要旨:〔目的〕筋肥大効果の得られる一時的な血流制限の条件を明らかにすることである。〔対象と方法〕対象は、Wistar系雄性ラット5頭とした。マンシエットを使用してラット下腿筋へ200 mmHgの血流制限を行った。血流制限開始時の筋内の組織血液酸素飽和度(StO₂)を100%、血流制限開始より6分間におけるStO₂の最低値を0%とした(%StO₂)。開始時から6分値まで、各分のStO₂を比較した。〔結果〕%StO₂は、血流制限開始後より3分まで右肩下がりにより下降し、その後はわずかに低下してプラトーに達した。〔結語〕%StO₂が低いほど筋肥大効果が期待できる場合、駆血時間は4分以上の方が優位となる。しかし、筋肥大効果誘発の要因として低%StO₂状態の継続時間も考えられ、さらなる検討が必要である。

キーワード: 血流制限, 近赤外線分光法, 組織血液酸素飽和度

¹⁾ 吉備国際大学大学院 保健科学研究科: 岡山県高梁市伊賀町8(〒716-8508) TEL 0866-22-9454

²⁾ 福山医療専門学校 理学療法学科

I. はじめに

筋肥大を誘発する因子を大別すると、発揮張力の増大、筋の微細損傷などの力学的刺激と、代謝物の蓄積、酸素飽和度の低下などの化学的刺激の2つが考えられている。筋肥大に影響する化学的刺激についてのメカニズムを調べることは、メカニカルストレスの少ない治療を必要とするリハビリテーション分野において有益と考える。

化学的刺激を優先したトレーニング方法として、筋発揮張力維持法（スロートレーニング）がある。1RMの50%程度という比較的軽負荷で、持続的に筋発揮張力を維持させるトレーニング法である¹⁾。筋の発揮張力を維持すると、外部から圧力を加えなくとも筋内圧が増加する。これにより、血管が圧迫されて血流が制限される。筋力発揮に伴う筋血流量の制限は、最大随意収縮（MVC）の20%以上から生じ、40~50%程度から大きく制限されはじめるとされている。これは動的な運動における1RMの50%程度に相当する。スロートレーニングはこの状態を維持したまま動作を続けるため、血流が制限された状態で行う運動になる^{1,2)}。血流が制限されると筋内の組織血液酸素飽和度（以下、StO₂）が低下し、筋肥大、筋力増強の要因になると推測されている³⁾。この報告は、高齢者による膝伸展屈曲運動や若年者による全身多関節抵抗運動においても同様の効果を実証している^{4,5)}。

一方で、外部から圧力を加える方法によって、ヒト下肢筋に対して定期的な血流制限を起こすことで、運動を行わずとも筋力低下や筋萎縮が抑制されることが報告されている^{6,7)}。さらにSudoら⁸⁾は、ラット下腿筋へ、駆血圧200 mmHg、3分、週2回の一時的な血流制限を繰り返した結果、筋肥大において、血流制限のみを行った群が血流制限中に遠心性収縮を行った群と比べて有意差が認められなかったことを報告している。

筋内のStO₂低下が筋肥大効果の要因と考えられている³⁾。しかしながら、その一方で、骨格筋のStO₂を何パーセントにまで低下させれば筋肥大の引き金になるのか、あるいは、血流制限によりStO₂が低下した状態をどの程度持続すれば、その効果が期待できるのかについては、実験条件に統一がみられず明らかとなっていない。

本研究の目的は、ラット下腿筋へ血流制限を行い、血流制限時間とStO₂低下率との関係について検討することである。

II. 対象と方法

1. 対象

対象は、生殖年齢に達したWistar系雄性ラット10週

齢2頭、22週齢3頭、合計5頭とした。研究の実施に先立ち、吉備国際大学研究倫理審査委員会の承認を得た（承認番号：A18-04）。

2. 方法

ラット下腿筋の血流制限には、未熟児用マンシエット（ゴム囊の幅×長さ（mm）：25×90、中村医科工業株式会社）の布袋を外したものにマジックテープを貼付し、アネロイド式血圧計に装着したものを使用した（図1）。ラット下腿筋への血流制限により得られるStO₂を、近赤外光の連続光を用いた光トポグラフィ（以下、NIRS）（OMEGAMONITOR BOM-L1TRW、オメガウェア社製）によって計測した。BOM-L1TRWの測定項目は、組織酸素化血液量（以下、Oxy-Hb）、組織脱酸素化血液量（以下、Deoxy-Hb）、組織全血液量（以下、Total-Hb）、StO₂の4種類である。Total-Hb、StO₂は、次の計算式によって求められる。Total-Hb=Oxy-Hb+Deoxy-Hb、StO₂=(Oxy-Hb/Total-Hb)×100%。StO₂の測定は透過式にて実施した。手順は、ネンブタール麻酔下で右下肢を剃毛の後、プローブとディテクターの間に下腿部を挟み、その周囲を黒テープで巻いてプローブとディテクターの固定と遮光を行った（図1）。血流制限は、下腿に装着したプローブとディテクターの上から巻いたマンシエットを加圧して実施した。駆血圧は、Sudoらの方法⁸⁾を参考に200 mmHgとした。

NIRS測定値は、ラットによって駆血開始時のStO₂にバラつきがある。そのため、Hamaokaらの一時的動脈血流遮断法（transient arterial occlusion method）^{3,9,10)}を参考にStO₂値の較正を行った。Hamaokaらは、ヒト前腕屈筋群に250 mmHgの加圧を行い（n=6）、NIRSの値は、駆血開始から約6分で低下が認められなくなるとしている。そこで、駆血開始時のStO₂を100%、駆血開始より6分間におけるStO₂の最低値を0%として較正した。そしてこの値を%StO₂と定義した。%StO₂算出方法は、100-[(安静値-測定値)/(安静値-6分間の最低値)×100]とした。NIRS信号は、ADコンバータPower Labに入力され、USBケーブルを介してパーソナルコンピュータにサンプリング周波数1 kHzにて、記録、保存された。各分のStO₂値は、各分直前の3秒間の平均値とした。

統計解析は、各分における%StO₂の平均値の比較について、反復測定による一元配置分散分析と多重比較検定（Tukey法）を行った。測定値は、平均値±標準偏差で表した。統計ソフトは、IBM SPSS Ver.25を使用した。有意水準は5%とした。

III. 結果

筋肥大効果が検証されたSudoら⁸⁾の実験条件である

図1 ラット下腿筋への血流制限とNIRSの設置方法

下腿筋にプローブとディテクターを設置し、上から未熟児用マシエットを巻き、加圧した。

駆血圧 200 mmHg, 3 分において, % StO₂ 平均値は, 18.8 ± 11.0%であった。統計結果より, % StO₂ の 2 分値は 4 分・5 分・6 分値との間に有意差が認められた。そのため, 2 分値に対して StO₂ が有意に低下するのは 4 分以降である。また, 3 分値は, 4 分・5 分・6 分値との間に有意差が認められなかった。したがって, 一時的な血流制限によって StO₂ が最小値に達するのは 3 分である (表 1)。

駆血開始から 3 分間における 1 分あたりの StO₂ 低下率は, 27.1 ± 3.7%であった。

IV. 考 察

駆血圧 200 mmHg という筋肥大効果が検証された駆血圧において, 駆血開始から 6 分間の各分の % StO₂ を解析した。その結果, 筋肥大効果が検証された 200 mmHg, 3 分の動物実験モデルにおいて, StO₂ は開始時に対して 8 割程度減少した。さらに, StO₂ が有意に低下する 4 分では, その 9 割程度が減少した。

一時的動脈血流遮断法を用いて安静時の % StO₂ を測定した報告には, Hamaoka ら¹⁰⁾ の pneumatic cuff を用いた実験がある。ヒト上腕部に 250 mmHg, 15 分の加圧を行い, 前腕屈筋群の % StO₂ を計測した結果, 駆血開始直後から 3 分間における 1 分当たりの低下率は, 23.0 ± 1.2%としている。本実験において, 駆血開始から 3 分間における 1 分あたりの StO₂ 低下率は 27.1 ± 3.7%であった。この値は, Hamaoka らと近似する値となった。本実験におけるラット下腿筋の駆血値と Hamaoka

表 1 一時的血流制限による %StO₂ の経時的変化

	%StO ₂ (%)
開始時	100.0 ± 0.0 ^{†‡}
1 分値	49.5 ± 12.3*
2 分値	32.8 ± 15.3*
3 分値	18.8 ± 11.0* [†]
4 分値	12.1 ± 9.3* ^{†‡}
5 分値	6.2 ± 5.1* ^{†‡}
6 分値	1.8 ± 4.0* ^{†‡}

平均値 ± 標準偏差。*: p<0.05 (開始時との有意差), †: p<0.05 (1 分値との有意差), ‡: p<0.05 (2 分値との有意差)。安静値を 100%, 6 分間の最低値を 0%として % StO₂ を算出した。% StO₂ は, 血流制限開始後より 3 分まで右肩下がりにより下降し, その後は 2 次曲線状にわずかに低下してプラトーに達した。

らのヒト前腕屈筋群の駆血値とは同様であることから, 虚血時のラット骨格筋の StO₂ は測定部によらずヒトとほぼ等しいことが示唆される。

血流制限による筋肥大効果のメカニズムを動物モデルを用いて細胞レベルで検討した報告として, ラット後肢筋からの静脈を外科的手術により選択的にブロックした研究がある。このラットを通常飼育すると, 10 日間ほどで速筋線維が選択的に肥大し, 逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) によって一酸化窒素合成酵素-1 (以下, NOS-1) の mRNA 発現が上昇したことが報告されている。NOS-1 は, L- アルギニンから一酸化窒素 (以下,

NO) を生成する。NO は筋肥大に寄与する筋衛星細胞の活性化に介在する¹¹⁻¹⁴⁾。今回報告した実験動物モデルについても、ヒトによる実施が難しい侵襲性を有する骨格筋代謝の基礎研究において、分析の一助となることを期待している。

本実験における % StO₂ にばらつきがみられた理由として、下腿に対してビニールテープを用いて固定したプローブとディテクターの上からマンシェットを巻いて加圧したことにより、測定中にプローブとディテクターが安定しなかったことが考えられる。オメガウェーブ(株)によると、小動物に対する StO₂ の測定には、この度を使用した BOM-L1TRW よりも BOM-L1TRSF の方が適しているとのことであった。また、本研究は動物でしか実験を行っていないため、今後、ヒトを対象として、駆血条件や StO₂ 低下状態をどのように設定すれば有効かつ安全であるかの知見を得る必要がある。

本研究結果より、筋線維肥大が誘発された 200 mmHg、3 分の駆血条件において、StO₂ が最小値に達するのは 3 分である。この値は筋線維肥大が誘発された Sudo らの駆血条件である 3 分と一致する。さらに、% StO₂ が低いほど筋肥大効果が期待できる場合には、駆血時間は 4 分以上の方が優位となる。しかし、筋肥大効果誘発の要因として低 % StO₂ 状態の継続時間も考えられ、さらなる検討が必要である。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) 谷本道哉：筋生理学からみたレジスタンストレーニング。理学療法京都, 2014, 43: 6-15.
- 2) Lind AR, McNicol GW: Local and central circulatory responses to sustained contractions and the effect of free or restricted arterial inflow on post-exercise hyperaemia. *J Physiol*, 1967, 192: 575-593.
- 3) Tanimoto M, Ishii N: Effects of low-intensity resistance exercise with slow movement and tonic force generation on muscular function in young men. *J Appl Physiol* 1985, 2006, 100: 1150-1157.
- 4) Watanabe Y, Tanimoto M, Ohgane A, et al.: Increased muscle size and strength from slow-movement, low-intensity resistance exercise and tonic force generation. *J Aging Phys Act*, 2013, 21: 71-84.
- 5) Tanimoto M, Sanada K, Yamamoto K, et al.: Effects of whole-body low-intensity resistance training with slow movement and tonic force generation on muscular size and strength in young men. *J Strength Cond Res*, 2008, 22: 1926-1938.
- 6) 窪田敦之, 桜庭景植, 石川拓次・他：非荷重による膝関節周囲筋の筋萎縮および筋力低下に対する血流制限の効果。日本臨床スポーツ医学会誌, 2007, 15: 82-87.
- 7) 戸塚涼子, 桜庭景植, 窪田敦之・他：間欠的加圧による血流制限が廃用性筋萎縮および筋力低下に及ぼす影響。日本臨床スポーツ医学会誌, 2012, 20: 130-136.
- 8) Sudo M, Ando S, Kano Y: Repeated blood flow restriction induces muscle fiber hypertrophy. *Muscle Nerve*, 2017, 55: 274-276.
- 9) Bae SY, Hamaoka T, Katsumura T, et al.: Comparison of muscle oxygen consumption measured by near infrared continuous wave spectroscopy during supramaximal and intermittent pedalling exercise. *Int J Sports Med*, 2000, 21: 168-174.
- 10) Hamaoka T, Iwane H, Shimomitsu T, et al.: Non-invasive measures of aerobic and anaerobic basal metabolic rates in the skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc*, 1994, 26: S98.
- 11) 石井直方：加圧トレーニングとその応用。アンチエイジング医学, 2005, 1: 229-234.
- 12) Kawada S, Ishii N: Skeletal muscle hypertrophy after chronic restriction of venous blood flow in rats. *Med Sci Sports Exerc*, 2005, 37: 1144-1150.
- 13) Palmer RM, Ashton DS, Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, 1988, 333: 664-666.
- 14) Anderson JE: A role for nitric oxide in muscle repair: nitric oxide-mediated activation of muscle satellite cells. *Mol Biol Cell*, 2000, 11: 1859-1874.