

# ココアの筋損傷改善促進効果

進藤 宗洋 (福岡大学スポーツ科学部)

## 【研究の背景】

運動障害の一つに、その運動に参加した作業筋の筋の損傷がある。筋の損傷は筋収縮様式の中で最大発揮筋力が、最も大きい伸張性筋収縮運動で起こりやすい (Smith LL: 1990)。それは運動直後にしばしば筋痛や血清ミグロビン、クレアチンキナーゼ (いずれも筋細胞内酵素で筋が破壊されると血中に流出する) が上昇することから確認することができる (鈴木克彦ら: 1998)。筋が運動中に受傷すると、その部位には破壊された筋細胞を取り除くために食細胞の遊走が起こる (楚中征哉: 1991)。食細胞の一つである好中球は「異物」をその細胞内に取り込み (貪食)、活性酸素を放出することによって「異物」を無毒化 (殺菌) する。破壊された筋細胞も「異物」であるため、好中球の食作用を受け除去される。この過程で発生される活性酸素が、近年種々の疾患の病態と密接に関係していることが明らかになった (加藤邦彦: 1994)。好中球が異物を無毒化する過程で漏れ出た活性酸素が「過度」であれば、まわりの組織に二次的損傷を負わせ、過剰な組織障害や治癒の遷延を招く可能性もある。

一方、近年の研究では抗酸化ビタミンの投与が生体内の活性酸素絶対量を減少させるという報告 (Kanter, Mitchell et al: 1993) がある。各種ビタミン類や植物成分であるポリフェノール、等の抗酸化物質を身体の外から取り込むことで体内における過酸化反応を阻止できると考えられている。チョコレートなどの原料であるカカオ豆から加工されるカカオマスにはカテキンやケルセチンをはじめとする様々なポリフェノールを約10%含んでいる<sup>6)</sup>。このカカオマスから脂肪を取り除き、粉にしたものが「ココア」である。

ココアに含まれるカカオマスポリフェノール (CMP) の機能性の研究では、活性酸素消去能、抗う食作用、免疫賦活作用などが明らかにされている (滝沢登志雄: カカオの機能性食品と開発)。そこでココアを運動による筋の損傷が起こった好時期に投与することで活性酸素が周りの組織に及ぼす二次的損傷抑制効果の可能性を考えた。

本研究の目的は、カカオを原料とするココアの投与が、伸張性筋収縮による最大筋力発揮運動によって引き起こした筋損傷への軽減効果と、免疫系に与える影響を検討することである。

## 【方 法】

### 1. 対象

被検者はインフォームド・コンセントを得た体育系大学を卒業した院生男性6名 (年齢 $21 \pm 1$ 歳) である。

### 2. ココア投与時期

定量5gを1日3回 (8時、14時、20時) に分けて投与した。

安静時採血開始1週間前の朝から投与を開始し、96時間後採血日の朝までを投与期間とした。

### 3. 筋破壊実験

筋破壊実験の全てはKIN-COM（チャタスガ社製）を用いて施行した。同一被検者に介入する時期をずらして、ココア非投与のコントロール群とココア投与の実験群に分け、仰臥位で大腿四頭筋の伸張性筋収縮様式による最大筋力発揮を行った。2度の破壊実験のうち1回は利き足、もう1回は非利き足を用いた。膝関節の最大伸展位を0°とし、1回の運動は60°から開始、120°で停止、角速度は30°/secとした。実験中に得られたpeak torqueの最高値を最大発揮筋力として採択し、運動負荷中は最大発揮筋力の80%以上を維持させるように促した。また、運動負荷の終了は最大発揮筋力の20%以下まで低下した時点、もしくは施行回数が100回に到達した時点で終了した。なお、10回を1セットとし、セット間には60秒の回復時間を設けた。

### 4. 免疫学的検査

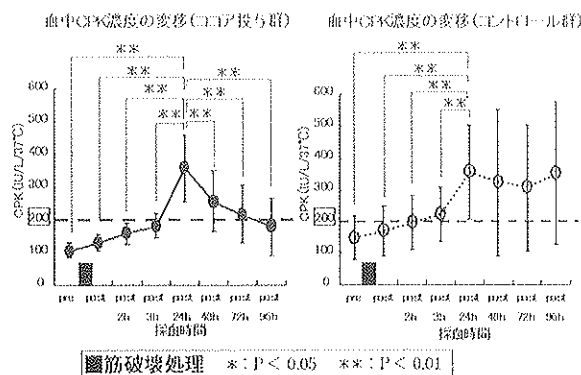
早朝空腹時、運動終了直後、2時間後、3時間後、24時間後、48時間後、72時間後、96時間後に安静座位にて肘静脈より末梢血を採取した。

採血で得られた末梢血は外注にて血液像、白血球数、クレアチンキナーゼ（CPK）、ミオグロビンの値を測定した。好中球貪食能の測定は、ヘパリン加末梢血100 $\mu$ lに蛍光ビーズFLUORESBRITE（フナコシ社製）2.0 $\mu$ lを4 $\times$ 10<sup>6</sup>/ $\mu$ lに調節した蛍光ビーズ浮遊液100 $\mu$ lを加え、摂氏37度の恒温槽で20分間インキュベーションした後、溶血剤を加えて赤血球を溶血させた。その後、FACScan（BECTOM DICKINSON社製）により好中球に貪食されたビーズ数を測定した。好中球1個あたりの貪食ビーズ数（PI）と、貪食した好中球を全好中球数で除した値（貪食率）を算出し、好中球貪食能の指標とした。活性酸素の測定は、ヘパリン加末梢血100 $\mu$ lにMEM500 $\mu$ lを加えて希釈し、刺激物質としてオプソニン化ザイモザンを25 $\mu$ l、増感剤としてルミノールを25 $\mu$ l加え、BiolumentLB9505（Berthold社製）を用いて好中球の活性酸素産生能を測定した。

### 【結果および考察】

最大筋力に近い伸張性筋力の繰り返し発揮時の機械的伸張力によって、損傷した作業筋組織から流出した筋損傷マーカーとして、肘静脈血CPKとミオグロビン濃度を測定した。CPK濃度については、筋破壊処理前とその後の経過時間毎に、ココア投与群とココア非投与群の群内平均値と標準偏差を算出し、筋破壊処理前の平均値と経過時間毎の平均値を比較して、その差の有意水準を検定し、図1に示した。

図1



これによると、ココア投与群とココア非投与群いずれの群においても、筋破壊処理前の平均値は正常範囲200IU/ml/37℃以下のそれぞれ100と147IU/ml/37℃であったものが、筋破壊処理後には、いずれの群においても、徐々に増加し、前者は3時間を越えてから、後者は3時間後に正常範囲を超え、24時間後にピーク値の356と358IU/ml/41℃に達している。このピーク値は両群ともにそれまでの経過のいずれの平均値とも有意差が認められた（いずれも $p < 0.01$ ）。ここまではココア投与群とココア非投与群とは、その値の水準や経過パターンに違いが見られていない。すなわち、安静時は正常値であったものが、筋破壊後徐々にCPK濃度が上昇し、24時間後には全員が異常値の範囲にはいつている。しかし、その後の平均値の動態には、ココア投与群とココア非投与群とは大きな違いが見られる。ココア投与群は日毎に有意に低下し、4日目には正常値に戻っている。一方、ココア非投与群では個人差が大きく標準偏差が大きくなるが、回復の兆しは認められない。

### 《筋損傷マーカーピーク値出現までについて》

両群の被検者個人々の筋破壊処理後の筋損傷マーカーのピーク値とその出現の時期、専門スポーツ種目とを表1に示した。

表 1

被検者	競技種目	コントロール群 CPKピーク値	ココア投与群 CPKピーク値
A	陸上短距離(2年前引退)	219(24時間後)	351(24時間後)
B	陸上短距離(2年前引退)	304(24時間後)	325(24時間後)
C	バレーボール(現役)	237(24時間後)	300(24時間後)
D	元バレーボール(4年前引退)	753(48時間後)	556(24時間後)
E	水泳(現役)	709(96時間後)	270(24時間後)
F	陸上長距離(3年前引退)	633(72時間後)	348(24時間後)

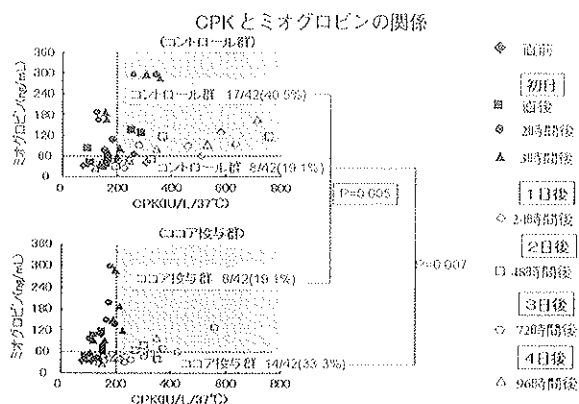
単位：IU/L/37℃

全被検者に、伸張性筋収縮様式の最大筋力の80%以上の伸張性筋力を等角速度で収縮し、弛緩する循環運動10回を1セットとした運動期と60秒間の休息期とを10セット繰り返す間欠式最大下運動という同一相対的運動負荷での機械的張力を骨格筋に負荷したにもかかわらず、筋損傷マーカーに現れた損傷の程度には、全員が異常値を示したものの、個人差が大きかった。6ヶ月前まで定期的な練習に励んでいたスポーツ種目が最大筋力に近い伸張性筋収縮様式の多かった跳躍種目や短距離走種目の被検者については筋損傷の程度が軽く、等速度の等張力性筋収縮様式の多かった水泳の被検者では損傷の程度が重かった。それぞれの損傷のピーク値の違いはスポーツトレーニングによる筋の耐性と関係があることを示唆している。

### 《筋損傷マーカーピーク値出現後について》

生体の受傷の程度の個人差の大きさと、そこからの回復の方向が鳥瞰できるように図2a,bを示した。これによると、ココア投与群では、筋破壊処理後の血中CPK、ミオグロビン濃度の回復が一様に顕著であったことが明らかである。損傷4日後の採血までの標本のすべての中の異常値の範囲にとどまっていたケースは、ココア非投与群40.5%に対して、ココア投与群は19.1%でその割合には、X自乗検定の結果有意差 ( $p < 0.01$ ) が認められた。これまでの先行研

図 2



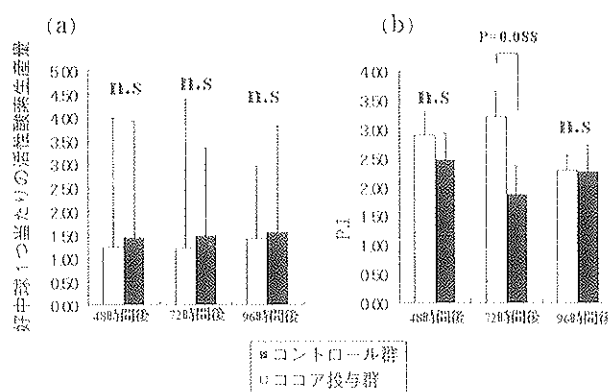
究から、ココア投与群がココア非投与群よりも回復が優れている現象について考察しなければならない、次の二つの原因がある。すなわち、

- (1) 損傷した組織を異物と見なした免疫細胞の好中球による過度な活性酸素種の生成が、生起する周囲の正常組織の二次障害を生起し、損傷組織回復を遅延させる。
- (2) 食細胞による損傷した細胞の除去が骨格筋の再生の好条件を整える機能を、ココア投与が支援する。すなわち、修復を速める可能性が期待できる。

(1)に関する本研究で得られた成績は、二次性筋損傷の原因のひとつと考え、測定した好中球1個当たりの活性酸素産生量の動態である。好中球1個当たりの活性酸素産生量が、筋破壊処理72時間後、同96時間後のいずれにおいても、2群間に差は認められなかったため、ピークに達した後の血中CPK濃度の早期回復に影響しているとは考えられない(図3-a)。一方(2)に関係する好中球1個当たりの貪食能力(PI)においては、筋破壊処理72時間後においてココア投与群が高い値を示す傾向を示した( $p=0.088$ )。したがって、ココアの投与によってPI活性化が、機械的張力による筋損傷処理によって損傷マーカーがピークに達した後の血中CPK濃度の早期回復に影響していると考えられる(図3-b)。

筋損傷処理によって損傷マーカーがピークに達した後の血中CPK濃度の早期回復については、今後さらに生活活動の中でさえ、筋損傷を生起している可能性の高い要支援や要介護高齢者においてココア投与の影響などの追加研究によって証例を重ねる所存である。

図3-a, b



### 【まとめ】

本研究では、次のココア効果が示唆された。

- ①筋損傷の指標である血中CPK濃度の平均値が筋破壊処理24時間後に、両群ともにピーク値に達した。その後、ココア投与群にココア投与による回復効果が認められた。回復促進効果が両群の値の動態の違いから証明された。
- ②ココアが含有するポリフェノールが、好中球1個当たり貪食能力(PI)を高進、する傾向がある。そのことによって、異物化した損傷細胞の除去能力を高進し、損傷部位から拡大する第二次的筋損傷を抑制させた可能性がある。
- ③ウルトラマラソンなどや、介護・介助、リハビリテーションにおいて発症頻発多発が考えられる、筋収縮のエネルギー代謝に伴う内因的タンパク質崩壊に起因する筋損傷抑制効果を図る飲料製品開発が期待できる。

#### 【参考文献】

- 1) Smith LL : Acute inflammation:the underlying mechanism in delayed onset muscle soreness?.  
Med Sci Sports Exerc, 23, 542-551, 1990
- 2) 鈴木克彦ら：運動負荷による生体のストレス応答と適応機構の解析。日本衛生学雑誌, 53, 152-153, 1998
- 3) 埜中征哉：筋損傷から修復のしくみ。臨床スポーツ医学, Vol. 8, No. 7, 779-783, 1991-7
- 4) 加藤邦彦：運動はからだに悪い：活性酸素と老化促進。体力科学,43:25-26,1994
- 5) Kanter,Mitchell et al : Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. J. Appl. Physiol, 72,965-969, 1993
- 6) 滝沢登志雄：カカオの機能性。食品と開発,Vol. 31, No. 6, 48-51