

# Sportsmedicine

**Media of Communication for Sportsmedicine People Monthly**

月刊スポーツメディスン4月号

# 219

Contents April, 2020

April Special

特集

## 睡眠とパフォーマンス

1

- 1 体内時計は何をどのように制御している  
田原 優

2

- 2 時差調整に向けたアドバイス  
星川雅子

9

Digest ニチバン×JFA「SOCCER MEDICAL CAMP」より  
FIFAワールドカップでのコンディショニング  
前田 弘

21

連載 Exercise Science Research Net-Work通信  
スポーツ科学再考 4  
エネルギーを補給し続けられるから、  
からだは動き続けられる  
宮下充正

24

Students power to 2020  
連載 2020 Hope Lights Our Way—若者のムーブメントを未来へつなぐ聖火リレー 最終回  
東京2020オリンピックにむけて  
小笠原孝斗、倉持梨恵子

26

新連載 スポーツ現場のヒヤリハット、アクシデント  
スポーツ現場で起こり得るヒヤリハット、アクシデント集(1) 28



新連載 図解 わかるとつながる 身体のしくみ 抑制性ニューロンによる筋出力の調節 得原 藍	30
MSM スペシャルレポート 中学生を対象としたメディカルチェックで目指すもの —— 高身長全国中学校バレーボール有望選手合宿 水石 裕	32
MSM スペシャルレポート 一般向けに情報を告知する意味 —— 新型コロナウイルス感染症に対して私たちができること 山本邦子	36
新連載 画像診断からみるスポーツ医学 画像診断の大原則 足立拓也	39
投稿 スポーツ関節障害の予防・改善における 別府温泉藻類RG92の有用性 宮田光義、高山 愛、御筆千絵、岩田俊祐、小林弘幸、加世田国与士	42
新連載 ストーリーで理解する痛みマネジメント 痛みのマネジメント 永田将行、江原弘之	45
新連載 形態学的特徴から考える身体の機能と役割 アキレス腱のねじれ 江玉睦明	49
Seminar 15 Books 51	

# スポーツ関節障害の予防・改善における別府温泉藻類RG92の有用性

宮田光義

株式会社 SARABIO 温泉微生物研究所 首席研究員

高山 愛

株式会社 SARABIO 温泉微生物研究所 研究員

御筆千絵

株式会社 SARABIO 温泉微生物研究所 主任研究員

岩田俊祐

株式会社 SARABIO 温泉微生物研究所 主任研究員

小林弘幸

順天堂大学 医学研究科 病院管理学 教授

加世田国与士

株式会社 SARABIO 温泉微生物研究所 専務取締役・所長、順天堂大学 医学研究科 病院管理学 協力研究員

## 要約

スポーツ関節障害に温泉療法は効果的と言われているが、その作用機序については十分に解明されていない。温泉には多種多様な微生物が存在し、温泉の効果効能の一部を担う可能性が示唆されている。私たちは、別府温泉で健康・美容の増進に有用な温泉微生物を探査し、ヒト皮膚由来の初代培養細胞において炎症反応を抑える微細藻類 *Mucidosphaerium* sp. RG92 を発見した。この微細藻類がスポーツ関節障害の予防・改善にも有用であるのではないかと考え、関節細胞を用いて効果を検証した。その結果、本藻類の抽出物は炎症や痛み、軟骨分解に関する一連の因子の遺伝子発現や酵素活性を抑えるとともに、炎症刺激によるミトコンドリアの形態変調と機能障害を抑制することがわかった。*Mucidosphaerium* sp. RG92 は過剰な運動によって起こるさまざまな炎症障害から関節を守り、コンディショニングやパフォーマンスの向上に有効であると考えられる。

**キーワード：**別府温泉、温泉藻類、RG92、関節、抗炎症作用、ミトコンドリア

## 1. はじめに

運動による関節障害は、関節の使い過ぎ

や外傷によって引き起こされる。関節に過度な負荷がかかることで炎症因子が誘導され、炎症反応が進んで痛みが生じる<sup>1,2)</sup>。そのような負荷が続くと炎症が悪化し、関節損傷が誘発される<sup>2,3)</sup>。このように、関節の障害は炎症と密接に関わっており、その予防・改善には過剰な炎症を早期に抑えることが極めて重要であると考えられる。

湯治や温泉療法で知られるように、温泉は疲労回復をはじめ、関節痛、筋肉痛、神経痛などの炎症に伴う症状を緩和する。このことから、温泉はスポーツにおけるコンディショニングやリハビリテーション、パフォーマンスの向上に有効であると考えられるが、その作用機序解明の研究は緒に就いたばかりである。

温泉水や温泉泥にはミネラルや有機物のほかに、多種多様の微生物が存在する<sup>4)</sup>。イタリア・アバノ市のファンゴと呼ばれる温泉泥からは、ある種のラン藻が単離されており、それがファンゴの薬理効果の一部を担う可能性が示唆された<sup>5)</sup>。私たちは泉種が豊富で源泉数世界一の別府温泉に生息する微生物に着目し、健康・美容の増進に有用な温泉微生物を求めて単離・スクリーニングを行ってきた。その中で、最も安全性と有効性に秀でた新種の藻類を *Mucidosphaerium* sp. RG92 と名付けた<sup>6,7)</sup>。

この微細藻類から得られた抽出物（RG92エキス）は真皮線維芽細胞や毛乳頭細胞において、炎症刺激によって誘導される過剰な炎症因子の発現を抑えることを見出した。関節由来の細胞においても同様の効果が得られれば、炎症によるスポーツ障害の予防・改善が期待できると考え、検討を重ねた。本稿では、関節滑膜の線維芽細胞における RG92 エキスの効果について解説する。

## 2. RG92 の効果

### 2-1. 炎症・痛み因子の抑制

過剰な運動で誘導される炎症因子として、インターロイキン 1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) や腫瘍壞死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor-  $\alpha$ , TNF-  $\alpha$ ) 等がある<sup>1,2)</sup>。IL-1 $\beta$  刺激したヒト滑膜線維芽細胞では、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  の mRNA レベルが増加する。RG92 エキスはこれらの炎症性サイトカインの mRNA 発現をそれぞれ 93.1%、64.0%、85.9% 抑制した（図 1A）。タンパク質レベルにおいても顕著な抑制が確認された（図 1B）。このことから、RG92 は、炎症因子の発現を抑えることで、関節における様々なスポーツ障害の緩和につながると考えられる。

炎症刺激によって誘導されたシクロオキ

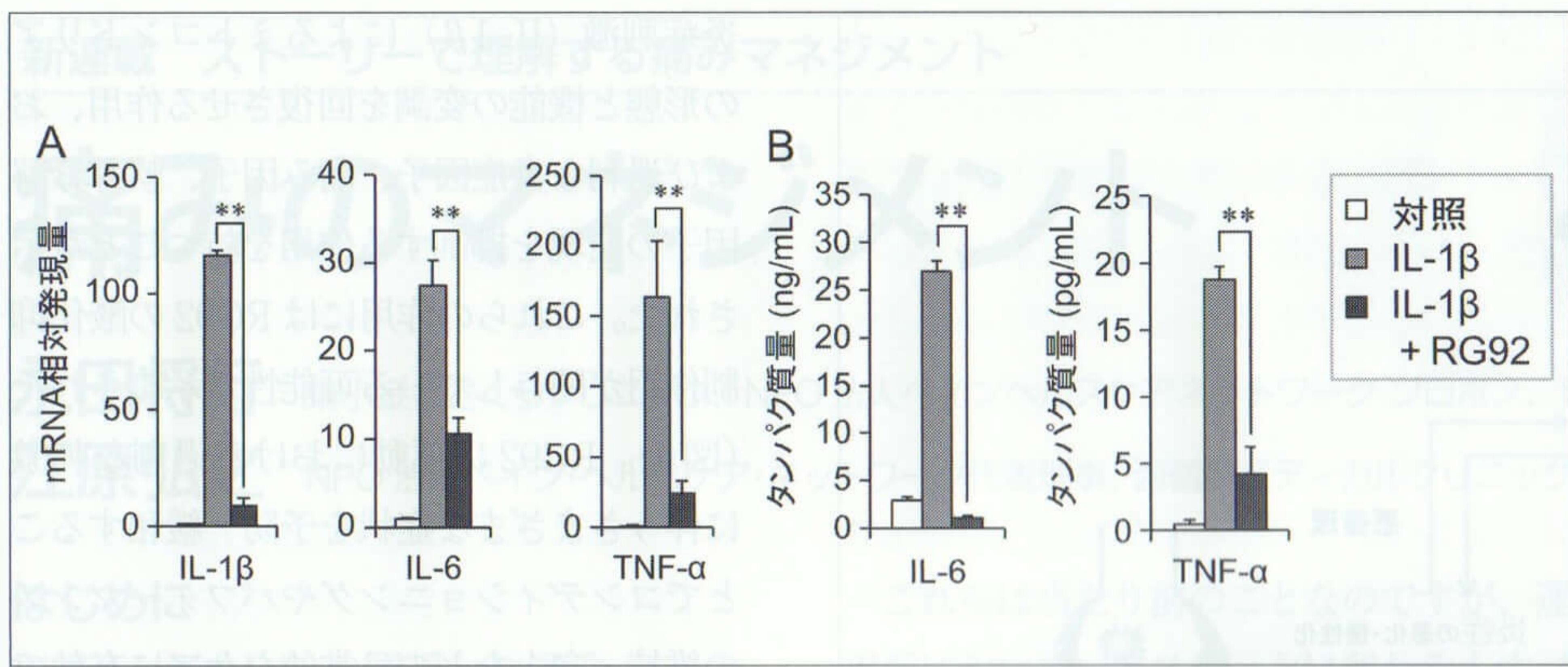


図1 抗炎症作用

A) 炎症性サイトカインの mRNA 発現に及ぼす RG92 の影響 B) 炎症性サイトカインのタンパク量に対する RG92 の影響 値は平均値土標準偏差で表す ( $n = 3$ )。\*\*,  $p < 0.005$ 。

シゲナーゼ-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) は、主な痛み増強物質であるプロスタグランジン E2 の合成を促す<sup>8</sup>。RG92 エキスは濃度依存的に COX-2 の酵素活性を阻害するとともに ( $IC_{50} = 27.7 \mu\text{g}/\text{mL}$ )、IL-1 $\beta$  によって誘導される COX-2 の mRNA レベルも抑制した (data not shown)。つまり、RG92 は COX-2 の遺伝子発現および酵素活性の両方に働きかけ、痛みを抑えることが示唆された。

## 2-2. 軟骨分解因子の抑制

軟骨の消耗はスポーツ障害における代表的な関節損傷である。軟骨は軟骨細胞とⅡ型コラーゲンやプロテオグリカン等の細胞外マトリックス成分から構成される。激しい運動で誘導される炎症因子は細胞外マトリックスの分解酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinases, MMPs) の発現を促す<sup>6, 9</sup>。この酵素群の働きにより、軟骨が破壊される<sup>2</sup>。

ヒト滑膜線維芽細胞において IL-1 $\beta$  は MMP-1、MMP-3、MMP-9 の mRNA レベルを増加させたが、RG92 エキスはこれら分解酵素の mRNA およびタンパク質発現をほぼ完全に抑えた (図 2A, B)。このことから、RG92 は炎症に伴う MMP の発現を抑えることで、軟骨の細胞外マトリックスの分解を阻止し、軟骨の消耗を予防する効果が期待される。

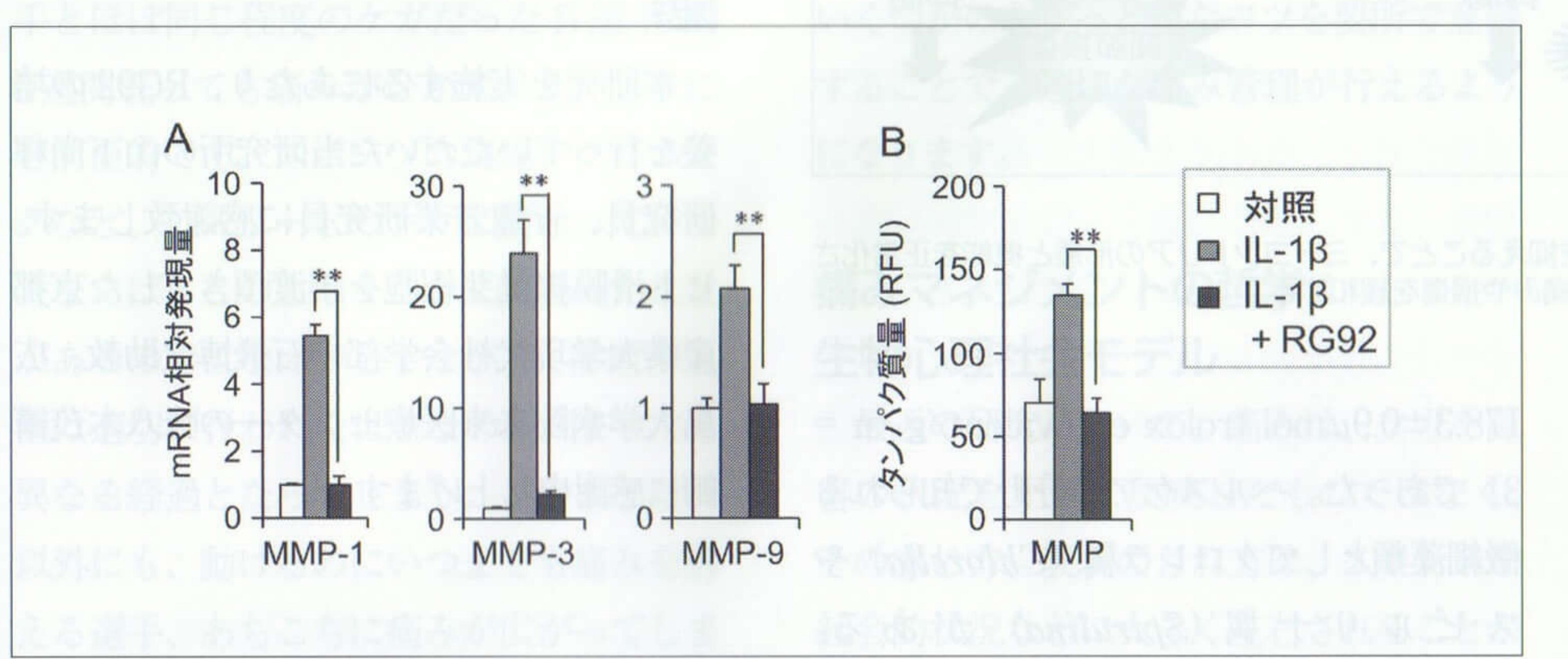


図2 軟骨分解因子の抑制作用

A) 細胞外マトリックス分解酵素 (MMP) の mRNA 発現に及ぼす RG92 の影響 B) MMP タンパク量に対する RG92 の影響 値は平均値土標準偏差で表す ( $n = 3$ )。\*\*,  $p < 0.005$ 。

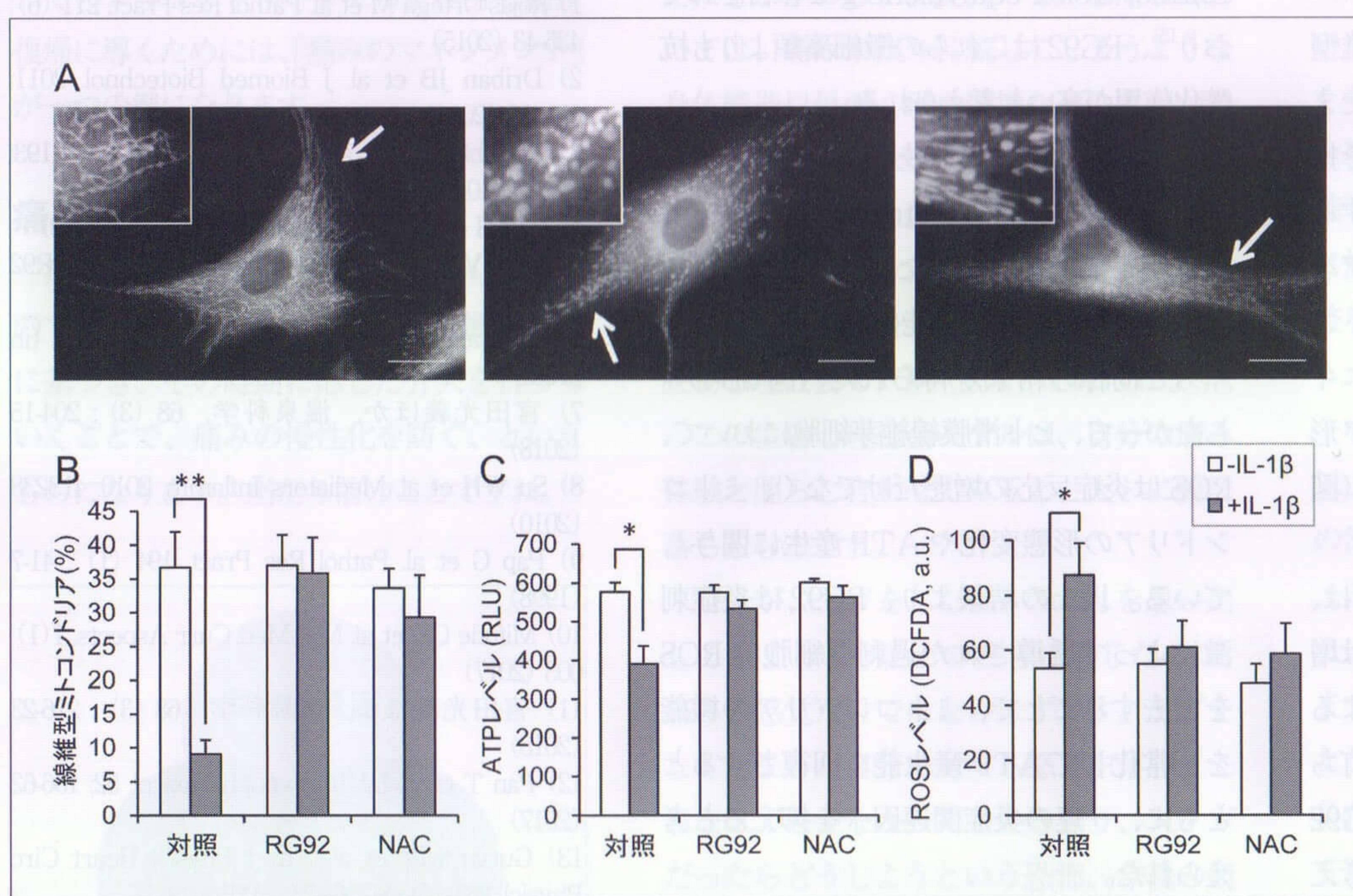


図3 ミトコンドリアの機能正常化

A) ミトコンドリアの蛍光染色像 左から線維型、丸型、混合型ミトコンドリアを示す。矢印部分の拡大画像を左上に示す。Bar =  $20 \mu\text{m}$ . B) 線維型ミトコンドリアをもつヒト滑膜線維芽細胞の割合 C) 細胞内 ATP 量 D) 細胞内 ROS 量 値は平均値土標準偏差で表す ( $n = 3-6$ )。NAC, N- アセチルシステイン ; \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.001$ .

## 2-3. ミトコンドリア調節

炎症はミトコンドリアを介してスポーツ関節障害に関与する可能性が示唆されている<sup>10-12</sup>。ミトコンドリアは真核生物の細胞に存在し、その主な機能は細胞のエネルギー源となるアデノシン三リノ酸 (adenosine triphosphate, ATP) の产生である。この細胞小器官は ATP 产生過程で活性酸

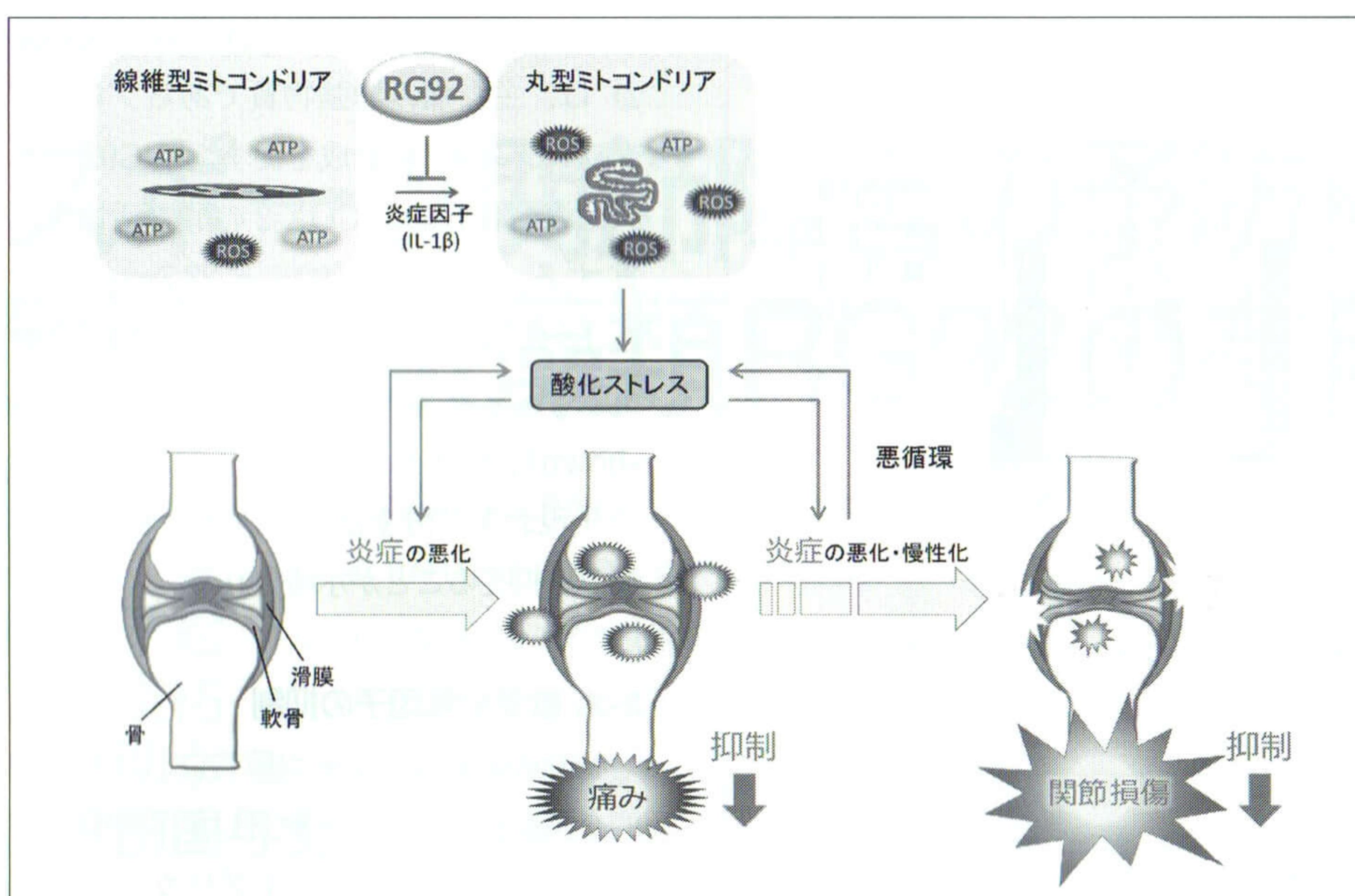


図4 RG92の作用機序

RG92は炎症刺激 (IL-1 $\beta$ ) によって誘導されるROSを抑えることで、ミトコンドリアの形態と機能を正常化させる。これにより、一連の炎症反応が抑制され、関節の痛みや損傷を緩和する。

素 (reactive oxygen species, ROS) を発生する。炎症ストレスにさらされると、その機能バランスが崩壊し、より多くのROSがつくられる<sup>13)</sup>。近年、ミトコンドリアは細胞機能や各種のストレスに応じて、融合・分裂して形態を変化させることが分かってきた<sup>14)</sup>。

ヒト滑膜線維芽細胞には、細長い線維型のミトコンドリアを持つ細胞、折りたたまれて丸くなった丸型のミトコンドリアを持つ細胞、これらが混在する細胞が存在する(図3A)。IL-1 $\beta$ は線維型ミトコンドリアを有する細胞の割合を減少させ、丸型ミトコンドリアの割合を増加させる。RG92エキスはこの炎症刺激によるミトコンドリア形態の変調をほぼ正常レベルまで戻した(図3B)。

IL-1 $\beta$ 刺激したヒト滑膜線維芽細胞では、細胞内ATP量は減少し、逆にROS量は増加する。RG92エキスはこの炎症刺激によるATP産生阻害およびROS過剰生成を打ち消した(図3C, D)。この結果から、RG92の効果は酸化抑制に由来する可能性が考えられた。事実、酸素ラジカル吸収能(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)の解析において、RG92エキスのORAC値は

$178.3 \pm 0.9 \mu\text{mol trolox equivalent/g}$  ( $n = 3$ ) であった。ヘルスケアの分野で知られる微細藻類としてクロレラ属(*Chlorella*)やスピルリナ属(*Spirulina*)がある。*Chlorella vulgaris*と*Spirulina platensis*の抽出物のORAC値はそれぞれ~30、~ $12 \mu\text{mol trolox equivalent/g}$ と報告されており<sup>15)</sup>、RG92はこれらの微細藻類よりも抗酸化作用が高いと考えられる。

代表的な抗酸化剤であるN-アセチルシステイン(N-acetylcysteine, NAC)を上述した各種試験に供したところ、ミトコンドリアの形態および機能においてRG92エキスと同様の結果が得られた(図3B-D)。したがって、ヒト滑膜線維芽細胞において、ROSは炎症反応の増悪だけでなく、ミトコンドリアの形態変化やATP産生に関与している。以上の結果より、RG92は炎症刺激によって誘導された過剰な細胞内ROSを消去することで、ミトコンドリアの機能を正常化してATP産生能を回復させるとともに、一連の炎症関連因子を抑えると考えられた。

### 3. おわりに

RG92はヒト滑膜線維芽細胞において、

炎症刺激(IL-1 $\beta$ )によるミトコンドリアの形態と機能の変調を回復させる作用、および過剰な炎症因子、痛み因子、軟骨分解因子の発現を抑制する作用を持つことが示された。これらの作用にはRG92の酸化抑制作用が関与している可能性が示唆された(図4)。RG92は運動における過剰な刺激に伴うさまざまな症状を予防・緩和することでコンディショニングやパフォーマンスの維持・向上などの日常的なケアに有効であることが期待される。

### 謝辞

本研究を実施するにあたり、RG92の培養を行っていただいた当研究所の山下尚輝研究員、青龍若菜研究員に感謝致します。ヒト滑膜線維芽細胞を譲渡頂きました京都産業大学現代社会学部の石飛博之助教、広島大学病院未来医療センターの味八木茂講師に感謝申し上げます。

### 【参考文献】

- 1) Rojas-Ortega M et al. Pathol Res Pract. 211 (6): 435-43 (2015)
- 2) Driban JB et al. J Biomed Biotechnol. 2011: 691412 (2011)
- 3) Schaible HG et al. Ann N Y Acad Sci. 1193: 60-9 (2010)
- 4) Hou H et al. PLoS One. 8 (1): e53350 (2013)
- 5) Uliivi V et al. Arthritis Res Ther. 13 (3): R92 (2011)
- 6) Miyata M et al. Altern Ther Health Med. (in press)
- 7) 宮田光義ほか, 温泉科学, 68 (3) : 204-15 (2018)
- 8) Su WH et al. Mediators Inflamm. 2010: 413238 (2010)
- 9) Pap G et al. Pathol Res Pract. 194 (1) : 41-7 (1998)
- 10) Mifude CK et al. Mol Med Curr Aspects. 1(1): 003 (2017)
- 11) 宮田光義ほか, 温泉科学, 68 (3) : 216-23 (2018)
- 12) Pan T et al. Int Immunopharmacol. 52: 156-62 (2017)
- 13) Gurjar MV et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 281 (6): H2568-74 (2001)
- 14) Picard M et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 304 (6): R393-406 (2013)
- 15) Agregán R et al. Medicines (Basel). 5 (2): 33 (2018)