

研究テーマ：骨格筋に萎縮耐性を獲得させる運動強度の探索と耐性獲得メカニズムの解明	
研究代表者：保健福祉学部 保健福祉学科 理学療法学科 助教 金指美帆	連絡先：m-kanazashi@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者：保健福祉学部 保健福祉学科 看護学コース 教授 津森登志子	
<p>【研究概要】</p> <p>骨格筋は加齢や活動性の低下に伴い萎縮（筋萎縮）するため、健康なうちから骨格筋の量を蓄えておく「貯筋」が重要である。本研究では、運動により獲得した骨格筋の質的特性が、その後に誘導された萎縮の進行に対して軽減効果を有するかどうかを運動の強度別に検証することを目的に、実験モデル動物を用いて検証した。結果、中強度の持久運動により廃用性筋萎縮の軽減効果が得られること、そしてその軽減効果には、廃用に伴う酸化ストレスやオートファジーの亢進に対する減弱効果が関与することが示唆された。</p>	

研究内容・成果

【背景】

筋萎縮は活動性の低下を招き、最終的に寝たきりの状態になるため、近年では健康なうちから骨格筋の量を蓄えておく「貯筋」が重要と認知されている。筋萎縮への備えとして、骨格筋の量的側面の重要性が注目される一方で、筋萎縮の進行を遅らせる質的側面については未だ不明点が多い。骨格筋は実施する運動の強度に応じて質的に異なる適応性変化を起こす。したがって、筋萎縮の影響を受けにくい骨格筋の質的特性（萎縮耐性）をもたらす運動強度が存在すると考えた。本研究では、事前に実施した運動により獲得した骨格筋の質的特性が、筋萎縮の進行を軽減するかどうかを運動の強度別に検証することを目的に、実験動物を用いて組織形態学的・分子生物学的な検証を実施した。

【方法】

雄性 Wistar 系ラット 42 匹を、①対照群 (Sed ; n=14)、②中強度持久運動 (MICT ; n=14) 群、③高強度インターバル運動 (HIIT ; n=14) 群の 3 つの実験グループに区分した。②と③の動物には、運動量と運動頻度を合わせた異なる強度の運動（動物用トレッドミル）をそれぞれ 2 週間実施した。運動期間終了後、①～③各群の動物の半数を 1 週間の通常飼育 (Con)、残りの半数を後肢非荷重 (HU) として、廃用性筋萎縮を誘導した (Fig. 1)。実験期間終了後、ヒラメ筋（遅筋）を採取して、組織形態学的・生化学的な解析を実施した。解析により得られた測定値は平均値±標準誤差で表示した。

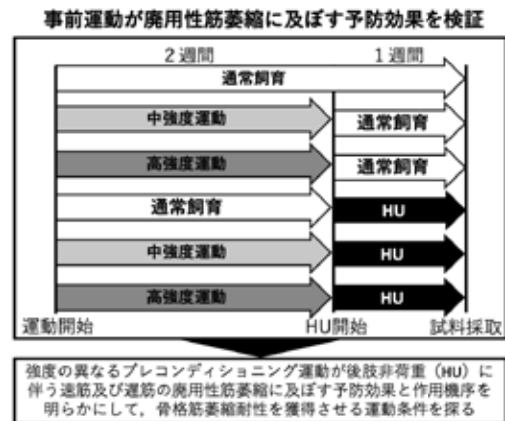


Fig 1. 実験動物の群分けと実験の概要

運動強度比較および 2 群間 (HU の有無) 比較には二元配置分散分析と多重比較検定を行った。また、Sed-Con 群、MICT-Con 群、HIIT-Con 群の各群に対して、それぞれ対応した HU による変化率の比較には一元配置分散分析と多重比較検定を行った。統計解析には、統計ソフト GraphPad Prism を使用し、有意水準は 5%未満とした。

【結果】

廃用導入前の異なる強度の事前運動が廃用による筋萎縮を軽減するか検討した結果、中強度の事前運動を行った後肢非荷重 (MICT-HU) 群におけるヒラメ筋の萎縮率が、事前運動を行っていない後肢非荷重 (Sed-HU) 群の筋萎縮率に比べて有意に低値を示した (Fig 2)。さらにヒラメ筋の筋線維横断面積の減少率はタイプ I 線維およびタイプ II 線維ともに、中強度の

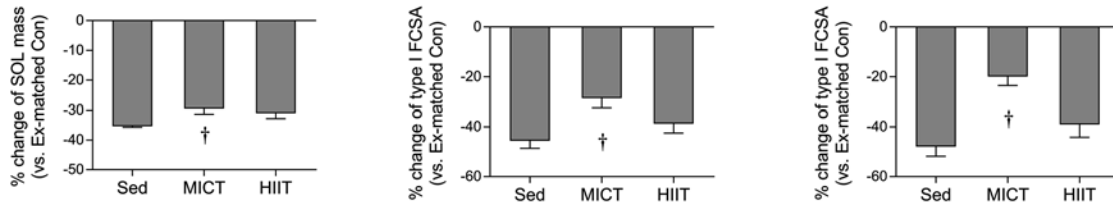


Fig 2. ヒラメ筋重量及び筋線維横断面積。グラフの値は平均値 ± 標準誤差を示す。†は Sed-Con 群に対する有意差あり ($p < 0.05$)。Sed 群：事前運動を行わなかった群、MICT 群：中強度持続運動を事前運動期間に行った群、HIIT 群：高強度間欠運動を事前運動期間に行った群。Sed: Sedentary, MICT: Moderate-intensity continuous training, HIIT: High-intensity intermittent training, Con: Control, HU: Hindlimb unloading.

事前運動により軽減されていた (Fig 2)。以上より、中強度の事前運動が廃用による筋萎縮の進行を軽減することが示唆された。

活性酸素種 (ROS) の産生増大による酸化ストレスは、筋萎縮の増悪因子であるため、ヒラメ筋薄切切片における ROS 産生をジヒドロエチジウム染色により検出し、測定した。その結果、MICT-HU 群における ROS の検出量は、中強度運動後に通常飼育した MICT-Con 群と差がみられず、Sed-HU 群に比べて有意に低値を示した (Fig 3)。このことから、中強度の事前運動による筋萎縮軽減効果には ROS 産生増大の抑制が関与したことが示唆された。

骨格筋の量は筋タンパク質合成と筋タンパク質分解のバランスにより調節され、筋タンパク質合成に対して分解が上回ると、骨格筋の分解が進み、筋が萎縮する。事前運動による筋萎縮軽減効果のメカニズムを明らかにするため、筋タンパク質合成系 (Akt/mTORC1/p70S6K 経路)、筋タンパク質分解系 (Ubiquitinated proteins)、オートファジー系 (LC3-II/LC3-I 比)、アポトーシス系 (BAX/Bcl-2 比) の各指標をウェスタンブロッティング法により測定した。その結果、中強度の事前運動が、HU によるオートファジー系の活性化を軽減させることが明らかになった (Fig 4)。

細胞のエネルギーセンサーを司る AMPK の活性化は筋タンパク質の主要な分解経路の一つであるオートファジー系を活性化させ筋萎縮の進行に関与する。そこで、AMPK の活性化をウェスタンブロッティング法で解析した結果、AMPK の活性化は中強度の事前運動を行った HU 群で、事前運動をマッチさせた対照群と比較して有意に低値を示した。したがって、本研究では中強度の事前運動により HU 時の AMPK の活性化が抑えられたことにより、オートファジー系を介した筋タンパク質分解が軽減され筋萎縮の進行が抑制された可能性がある。今後、中強度の事前運動により影響があった各因子の関連性について更なる解析を進める必要がある。

【結論】

廃用前の中強度運動が廃用による筋萎縮を軽減することを明らかにした。このメカニズムとして、中強度の事前運動が廃用期間中の ROS の産生、AMPK の活性化、オートファジー系の活性化をそれぞれ軽減したことが関与したと考えられる。

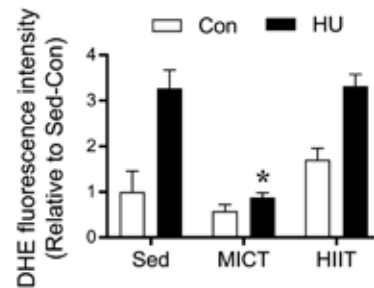


Fig 3. ジヒドロエチジウム染色により検出された ROS の蛍光強度。グラフの値は平均値 ± 標準誤差を示す。*は Sed-HU 群および HIIT-HU 群に対する有意差あり ($p < 0.05$)。

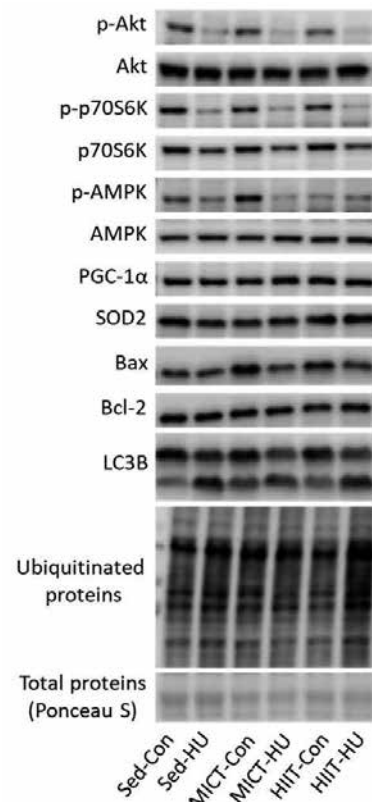


Fig 4. 各因子における代表的なウェスタンブロッティング像とポンソーS染色による総タンパク質染色像。