

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：32672

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500788

研究課題名(和文)異なるラット系統種の筋力トレーニングへの応答の差をモデルとした筋肥大因子の探索

研究課題名(英文) Genetic strain differences for strength training trainability in rats and its application for understanding of muscle hypertrophy

研究代表者

中里 浩一 (NAKAZATO, Koichi)

日本体育大学・体育学部・教授

研究者番号：00307993

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：筋力トレーニングに対する応答性は個人差が存在する。我々はラット用筋力トレーニング装置を開発し、筋力トレーニングに対する応答性がラット系統種別に異なることを見出した。すなわち、Sprague Dawley系ラット種では筋力トレーニングにより有意な筋肥大が観察されたが、Wistar系ラットでは有意な筋肥大が観察されなかった。さらに筋力トレーニングで筋が成長しにくいWistar系統種では筋トレの種目を取り混ぜて実施したり、刺激強度を変更したりすることで筋肥大する場面があることを見出した。特に低強度電気刺激による筋肥大は損傷した選手などへのリハビリテーション領域への応用が期待できる重要な知見である。

研究成果の概要(英文)：It has been well recognized that trainability for strength training varies depending on individual difference. In this study, we originally developed strength training model for rats and found that genetic strain difference exist for strength training. Sprague Dawley rat shows significant muscle hypertrophy with strength training but Wistar rats did not. We also found that mixture of different muscle contraction modes (isometric contractions and isometric contractions) and low frequency electrical stimulation are effective for muscle hypertrophy in Wistar strain with low response for strength training. Since electrical stimulation has been used in rehabilitation, low frequency electrical stimulation will be useful not only for low responder but for injured athletes.

研究分野：健康・スポーツ科学

科研費の分科・細目：スポーツ科学

キーワード：筋肥大 動物モデル ラット 個体差 タンパク質合成 タンパク質分解

1. 研究開始当初の背景

我々は独自に開発したラットトレーニングモデルを用いて、Wistar 系ラットにおいて伸張性収縮トレーニングが有意な筋肥大を誘発することを報告した。一方で同様のモデルで筋肥大を研究している Adams らのグループは SD 系ラットを用いて等尺性収縮トレーニングによって筋肥大を誘発することを報告していた。我々は Dr Adams らと同様の方法で等尺性トレーニングを Wistar 系ラットに課したところ有意な筋肥大が観察されなかった。これらの結果から筋力トレーニングに対してラット系統種別に応答の差が存在する可能性が示唆された。

さらに Wistar 系ラットは伸張性収縮トレーニングのみにおいて筋肥大が観察されることから、筋肥大が誘発されにくい Wistar 系ラットにおいて筋肥大が誘発される条件を検索することは結果的に筋肥大の新規分子あるいは新規なトレーニング方法の開発につながる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は

- (1)SD 系ラットと Wistar 系ラットにおける筋力トレーニングに対する筋肥大応答の差を見出すとともに筋肥大を誘導する鍵分子を同定すること
- (2)Wistar 系ラットにおいて伸張性収縮トレーニング時のみに活性化されるシグナル伝達経路を解明すること
- (3)Wistar 系ラットにおける等尺性収縮トレーニングの条件を変化させることで Wistar 系ラットにおいて等尺性収縮トレーニングにより筋肥大を誘導しかつその分子機構を明らかにすることであった。

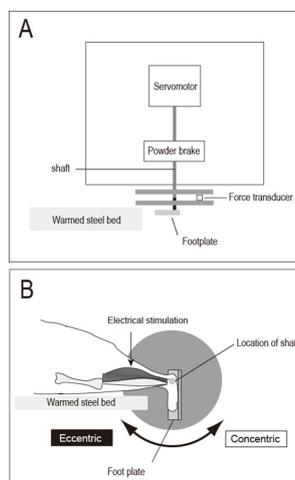
3. 研究の方法

(1) 対象

Wistar 系および SD 系ラットを対象とした。トレーニング開始の週齢は 10 - 13 週齢とし、オスを用いた。対象とする筋群は腓腹筋内側とした。

(2) トレーニング方法

フォーレンによる吸入麻酔下にて腓腹筋を皮膚電極を用いた電気刺激で強縮させるとともに、伸張性収縮トレーニングの場合は足関節を強制背屈させ、等尺性トレーニングの場合は足関節を 90° の位置に固定した。伸張性収縮における関節可動域



は 45° (90° ~ 135°) とした(右図参照)。

(3) タンパク質発現分析

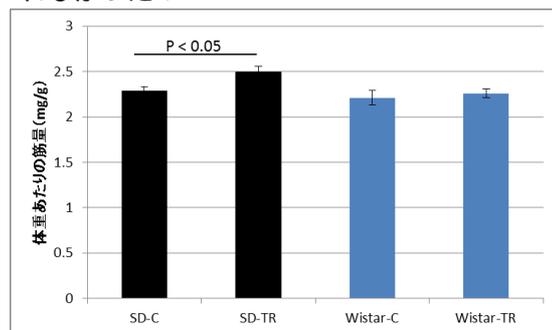
特定のタンパク質発現分析にはウエスタンブロット法を用いた。

4. 研究成果

(1) ラット腓腹筋トレーニングによる筋肥大応答は系統種間に差異が存在する

本研究ではレジスタンストレーニングに対するラット系統間の骨格筋の反応性の差異について検討することで、トレーニングに対するラット系統依存的な筋タンパク代謝応答と筋肥大とを明らかにすることを目的とした。

SD ラット及び Wistar ラットといった異なる系統のラットに対して 12 セッションの等尺性レジスタンストレーニングを実施した結果、SD ラットでは筋湿重量の増加が確認されたものの、Wistar ラットでは筋湿重量に変化がなかった(下図)。また、その時の筋タンパク質合成・分解関連シグナルの活性及びタンパク質の分解に関わる E3 の発現量を測定した結果、SD ラットでは筋タンパク質合成が活性化し、筋タンパク質分解が抑制されていることが示唆された。一方、Wistar ラットではすべての測定結果において変化が確認されなかった。



これらのことから、等尺性レジスタンストレーニングに対する感受性は Wistar ラットよりも SD ラットの方が高く、レジスタンストレーニングに対する骨格筋の適応には系統差が存在することが示された。

この結果を受け、以下の成果(2)(3)においては同化作用の強い SD ラットを対象に実験を進めることとし、最終的に同化作用の低い Wistar 系ラットに対しても筋肥大を誘発しうるトレーニングを見出すことを試みた。

(2) 慢性的な等尺性筋力トレーニングによって鈍化した同化応答は伸張性収縮トレーニングによって回復する

一般に同一の筋力トレーニングを慢性的に行っていくと、筋肥大率はあたかも感覚器における馴化のように徐々に低下していくことが知られている。そこで本検討では等尺性収縮(ISO)によるレジスタンストレーニングによって力学的刺激に適応した骨格筋

に対して、これまでと同様の筋収縮様式である ISO もしくは異なる収縮様式である伸張性収縮 (ECC) によるレジスタンスエクササイズを実施し筋収縮形態の違いが筋肥大に影響を与える影響を明らかにすることを目的に実験を実施した。

その結果, ERK1/2 はレジスタンストレーニングによって力学的刺激に対する適応が生じやすいことが示された。また, p38 に関しても力学的刺激に対する適応は生じるものの, その程度は ERK1/2 よりも低い可能性が示された。さらに, p38 は適応していない力学的刺激に対して活性が高まり易いことが明らかとなった。p70s6k に関しては, ISO レジスタンストレーニング適応時に ECC による刺激を与えると ISO による刺激を入れた時よりも活性が高まること分かった。

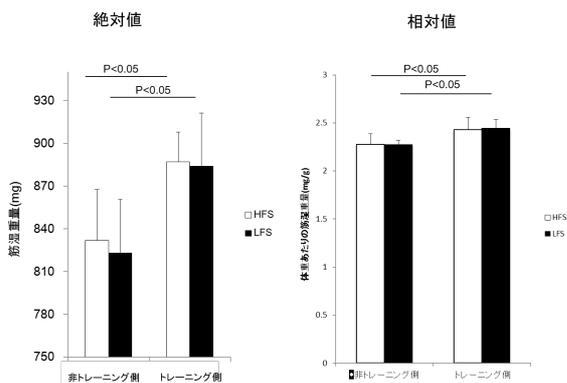
以上から同一様式の筋力トレーニングにより馴化した筋に対して異なる様式の筋力トレーニングを付与することで応答性が変化することが示された。

(3) 間欠的な低周波数電気刺激による筋収縮は筋肥大を誘発する

低周波数電気刺激は通常筋持久力の向上を目的として長時間負荷される。我々は高周波数電気刺激の代替として、低周波数電気刺激を間欠的に与えることにより筋肥大が誘発されるかどうかを検討した。対象動物は Sprague-Dawley (SD) ラットとし、腓腹筋を対象筋とした。

電気刺激によるトレーニング群は高周波数 (HFS: 100Hz) および低周波数 (LFS: 10Hz) とし、各群の右内側腓腹筋をトレーニング側 (T), 反対側を非トレーニング側 (UT) とし, UT は内部標準として用いた。

その結果, 内側腓腹筋湿重量および筋原線維量が HFS・LFS とともに UT に対して T が有意に高い値を示した (下図)。また, 単回のトレ



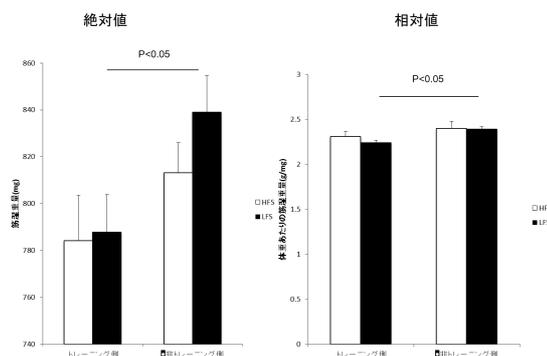
SDラットにおける間欠的な低周波数電気刺激による筋湿重量の変化

ーニングによる p70S6K および ERK1/2 の応答は, HFS では mTOR 下流標的であるリン酸化 p70S6K が運動直後および3時間で有意に亢進していたものの, LFS では亢進していなかった。一方で ERK 1/2 は運動直後の LFS でのみ有意に亢進していたものの, HFS では亢進していなかった。

以上から通常筋持久力のみを亢進させると考えられていた LFS は間欠的に負荷することで筋肥大を導くこと、および HFS では mTOR 経路依存的, LFS では MAPK 経路依存的に筋タンパク質の合成が起きる可能性が示された。

(4) 高周波数ではなく低周波数電気刺激トレーニングにより Wistar 系ラット腓腹筋は筋肥大する

研究成果 (1) において我々は SD 系ラットに比べ Wistar 系ラットは筋肥大反応が起こりにくく, mTOR への反応が Wistar 系では起こりにくいことを見出した。研究成果 (3) において LFS 誘因性筋肥大は mTOR 非依存性



Wistarラットにおける間欠的な低周波数電気刺激による筋湿重量の変化

である可能性を示した。そのため, HFS において筋肥大が誘発されなかった Wistar 系ラットにおいても LFS によって筋肥大が起きるのではないかと考えた。そこで本検討では Wistar ラットを用いて LFS が筋肥大を惹起するかどうかを検討することを目的とした。

結果的に HFS では有意な筋湿重量の増加は認められなかった。一方で LFS では筋湿重量が有意に亢進していた (下図)。また, 筋タンパク合成の指標である p70S6K および筋タンパク分解の指標である MAFbx/Atrogin-1 および MuRF-1 は HFS では有意に亢進していたものの, LFS では亢進していなかった。

LFS では mTOR 非依存性の筋タンパク合成が関与している可能性があることから, 筋肥大が起きたものと考えられる。さらに LFS はユビキチンプロテアソーム依存性の筋タンパク分解を抑制する可能性が示された。以上から HFS では筋肥大が起きない Wistar 系ラットにおいても LFS では筋肥大が起きると結論した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Genetic strain-dependent protein metabolism and muscle hypertrophy under chronic isometric training in rat gastrocnemius muscle.

Kobayashi K, Ogasawara R, Tsutaki A, Lee K, Ochi E, Nakazato K.
Physiol Res. 2012 Dec 14;61(5):527-35.

Effect of intermittent low-frequency electrical stimulation on the rat gastrocnemius muscle.

Tsutaki A, Ogasawara R, Kobayashi K, Lee K, Kouzaki K, Nakazato K.
Biomed Res Int. 2013;2013:480620. doi: 10.1155/2013/480620. Epub 2013 Jul 9.

〔学会発表〕(計3件)

蔦木 新, 小笠原 理紀, 李 基赫, 鴻崎 香里奈, 小林 幸次, 中里 浩一, 間欠的低周波電気刺激によるタンパク質合成関連シグナルについての検討. 第68回日本体力医学会、2013年9月22日、東京都港区

蔦木 新, 小笠原 理紀, 小林 幸次, 鴻崎 香里奈, 中里 浩一, ラット腓腹筋における低周波電気刺激下での等尺性収縮は筋肥大を誘発する. 第67回日本体力医学会、2012年9月15日、岐阜県岐阜市

小林 幸次, 越智 英輔, 小笠原 理紀, 蔦木 新, 李 基赫, 中里 浩一, レジスタンストレーニングによる筋肥大にはタンパク質分解抑制が重要である. 第66回日本体力医学会 2011年9月16日、山口県下関市

〔その他〕

<http://www.nittai.ac.jp/department/exphys/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中里 浩一 (NAKAZATO Koichi)
日本体育大学・体育学部・教授
研究者番号：00307993

(2) 研究分担者

越智 英輔 (OCHI Eisuke)
明治学院大学・教養部・准教授
研究者番号：90468778

廣瀬 立朗 (HIROSE Tatsuro)
横浜桐蔭大学・スポーツ健康科学部・講師
研究者番号：80468800