

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K01445

研究課題名(和文)高齢ラットにおけるストレッチによる筋力増強効果の分子生物学的検討

研究課題名(英文) Effects of stretching on muscle strengthening in elder model animal by molecular biological approach

研究代表者

池田 聡 (Ikeda, Satoshi)

北海道大学・大学病院・准教授

研究者番号：00343369

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、高齢動物における機械的伸長刺激の筋力増強効果を調べるため麻酔下で高齢動物の骨格筋に他動伸長を加え、筋関連転写因子などのmRNA発現を定量遺伝子増幅装置を用いたリアルタイムRT-PCR法を用いて計測した。麻酔下での他動的ストレッチにより高齢モデル動物において骨格筋重量の増加、筋断面積筋の増大、Akt、P70S6K、Myf5、4EBP1の遺伝子発現増加が認められた。このことにより、他動的機械刺激が筋組織の増大を促進する可能性が示唆され、臨床において、高齢者の筋力増強、自力で筋力増強が困難な種々の疾患における筋力増強を促すことができる可能性を示すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会を迎え高齢者の筋力低下が問題となっている。我々は筋力増強の基盤は、遺伝子転写促進による筋蛋白の合成という観点から、動物モデルを用いて筋力増強の分子生物学的検討を行ってきた。本研究で、高齢モデル動物における機械的伸長刺激により骨格筋重量の増加、筋断面積筋の増大、Akt、P70S6K、Myf5、4EBP1の遺伝子発現増加が認められ、他動的機械刺激が筋組織の増大を促進する可能性が示唆された。このことは、臨床において、高齢者の筋力増強、種々の疾患における筋力増強を促すことができる可能性を示すことができ、脳卒中後遺症や脊髄損傷の予後改善や介護量の軽減、寝たきり老人の減少に貢献できると思われる。

研究成果の概要(英文)：In this Study, we investigate the effects of mechanical stretching to the skeletal muscle of aged model animal under deep anesthesia. We measured the mRNA expression of myogenic transcription factors, muscle growth related factors and so on. Mechanical stretch induced muscle weight gain, enlarge cross sectional area, increased Akt, P70S6K, Myf5, 4EBP1 mRNA expression. These findings are useful to muscle strengthen of elder patients on clinical rehabilitation.

研究分野：リハビリテーション医学

キーワード：高齢者 筋力増強 機械的刺激 分子生物学 遺伝子発現 定量RT-PCR SAMマウス サルコペニア

1. 研究開始当初の背景

筋力増強に関する研究は、これまで筋の張力に関する研究、筋肥大に関する研究、筋線維の特性などに関するものが多く、分子生物学的視点からの研究はまだ少ない。我々は、分子生物学を基盤とした筋肥大および筋力増強の解析を行い、摘出した筋の他動的ストレッチにより最初期遺伝子 *c-fos* mRNA 発現増加、筋特異的転写因子 *Myogenin* mRNA 発現増加を明らかにし、筋組織に対する機械的伸長刺激が筋肥大を促すことを報告した。(Ikeda S. et. al. Arch Phys Med Rehabil. 84(3):419-23, 2003) また、臨床におけるリハビリテーションに応用できる時間的プロトコールでの他動的筋伸長による筋肥大の可能性について報告した。(Ikeda S. et. al. Arch Phys Med Rehabil. 2004 Jan;85(1):166-7. Ikeda S. et. al. ScientificWorldJournal. 2013 May23; 2013: 493656.) しかし、高齢動物を用いた研究はまだほとんどなく今後の研究が望まれている。

2. 研究の目的

高齢化社会を迎え高齢者の筋力低下、サルコペニアが問題となっている。高齢者リハビリテーション医療において筋力増強は非常に重要であるが、分子生物学的視点から筋力増強をとらえ、解析した研究は少ない。我々は筋力増強の基盤は、遺伝子転写促進による筋蛋白の合成という観点から、動物モデルを用いて筋力増強と関連した転写因子や初期遺伝子の発現につき解析を行い、筋力増強の分子生物学的検討を行ってきた。しかし、高齢動物における筋力増強に関する分子生物学的知見は殆どない。高齢者における筋力増強や高齢者の脳卒中、大腿骨頸部骨折など筋力低下を来たしやすい疾患が増加する中、高齢者の筋力増強に関する研究が必要である。高齢者の筋力増強に関する研究により脳卒中後遺症や脊髄損傷の予後改善や介護量の軽減、寝たきり老人の減少に貢献することが期待できる。このため、高齢動物における機械的ストレッチ刺激の筋力増強効果を調べるため麻酔下で高齢動物の骨格筋に他動伸長を加え、筋関連転写因子 *MyoD*、*Myogenin* 等、筋関連成長因子、*MGF*、筋構成タンパクであるミオシン、筋肥大経路の *mTOR* 関連因子 *Akt*、*P70S6K1* 筋萎縮関連因子 *Myostatin* などの mRNA 発現を定量遺伝子増幅装置を用いたリアルタイム RT-PCR 法を用いて計測し、高齢動物における機械的ストレッチ刺激の筋力増強に与える効果を検討した。当初高齢ラットを使用する予定であったが、高齢ラットは入手が困難になっており、動物を加齢促進モデルである SAM マウスに変更した。

3. 研究の方法

動物実験に関しては国立大学法人北海道大学動物実験に関する規程および The Council for International Organization of Medical Science, CIOMS による動物実験の国際指導原則に則り、苦痛不快をできる限り避け、痛みを与える方法を実施する際は麻酔を用い使用数は最小限にとどめることを留意して研究を遂行した。高齢モデルマウス SAMP8 オス、60 から 67 週令 6 匹を用いた。イソフルレン吸入麻酔下で他動的に足関節背屈を 15 回/分で 15 分間 1 日 1 回、週 5 回実施、2 週間施行し腓腹筋、を摘出、体重、筋重量、組織学的に筋断面積の計測および RNA の抽出

を行い、リアルタイム RT-PCR 法にて MyoD、Myogenin 等、筋関連成長因子、MGF、筋構成タンパクであるミオシン、筋肥大経路の mTOR 関連因子 Akt、P70S6K1 筋萎縮関連因子 Myostatin などの mRNA の発現を定量した。

4. 研究成果

麻酔下での他動的ストレッチにより高齢モデル動物において伸長刺激により骨格筋重の増加、筋断面積筋の増大（図 1）、Akt、P70S6K1、4EBP1、Myf5 の遺伝子発現増加が認められた（図 2）。このことは高齢モデル動物において、深麻酔下での骨格筋他動的ストレッチにより、筋原性転写因子の発現増加、筋タンパク合成系の亢進、筋線維の増大、筋組織の増大を得ることができることが示された。これらから、臨床において、他動的機械刺激により高齢者の筋力増強、自力で筋力増強が困難な種々の疾患における筋力増強を促すことができる可能性を示すことができた。

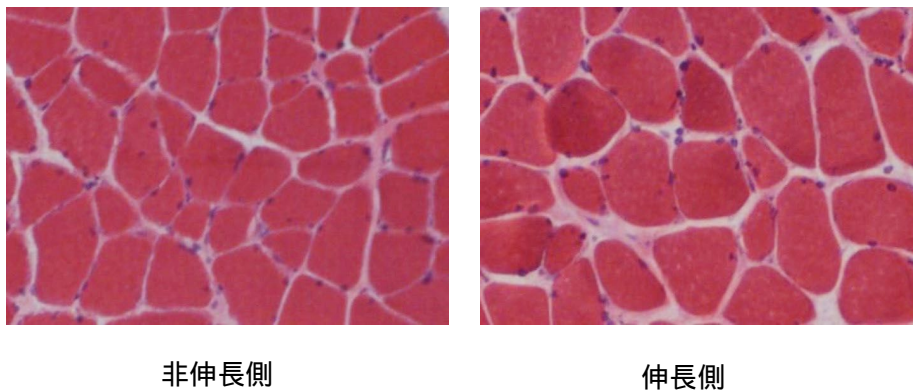


図1 他動的機械刺激による骨格筋線維の変化

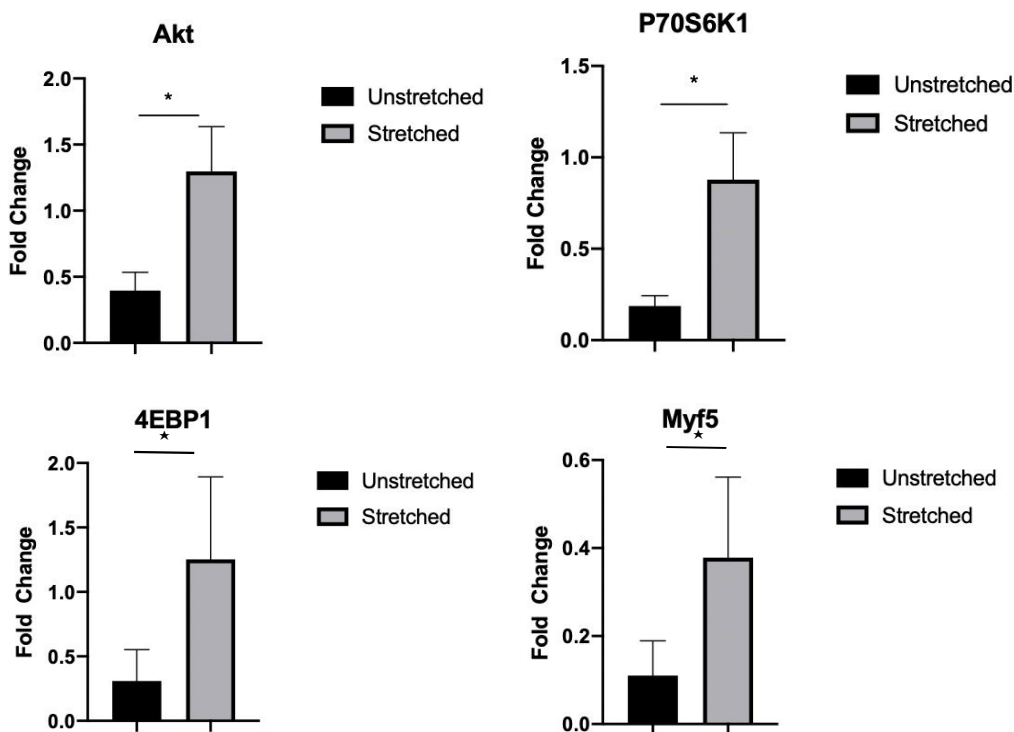


図2 他動的機械刺激による骨格筋の遺伝子発現

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 池田 聡	4. 巻 27
2. 論文標題 筋力増強のリハビリテーション	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 クリニカルリハビリテーション	6. 最初と最後の頁 342-346
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 池田 聡	4. 巻 27
2. 論文標題 筋力増強のリハビリテーション	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 クリニカルリハビリテーション	6. 最初と最後の頁 342-346
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 池田 聡	4. 巻 68
2. 論文標題 高齢者の筋力低下・サルコペニアとリハビリテーション	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 整形外科	6. 最初と最後の頁 473-478
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15106/J00764.2017275246	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 池田 聡
2. 発表標題 リハビリテーション医療における筋力増強のメカニズム
3. 学会等名 日本リハビリテーション医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田 聡
2. 発表標題 筋力増強とストレッチ
3. 学会等名 第44回日本生体電気・物理刺激研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Satoshi Ikeda
2. 発表標題 Measurement of Body Composition by Bioelectrical Impedance Analysis in the Patients of Post-Polio Syndrome
3. 学会等名 13th International Society of Physical and Rehabilitation Medicine World Congress（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	生駒 一憲 (Ikoma Katsunori) (70202918)	北海道大学・大学病院・教授 (10101)	