

令和 2 年 6 月 20 日現在

機関番号：43933

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K01885

研究課題名（和文）発育期の運動が老齢期の神経筋接合部形態および骨格筋に及ぼす影響

研究課題名（英文）Effects of exercise in the developmental period on skeletal muscle and neuromuscular junction morphology in old age

研究代表者

西沢 富江 (nishizawa, tomie)

至学館大学短期大学部・短期大学部・准教授

研究者番号：30283980

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000 円

研究成果の概要（和文）：老齢期に起こる筋力低下の要因として神経と筋の情報伝達の間である神経筋接合部の形態変化についての報告がされている。筋機能、筋及び神経筋接合部形態の加齢抑制には運動が効果的である。しかし、老齢期からのトレーニングは大きな効果を得られない。そこで発育期にトレーニングを行い骨格筋への効果を調べた。その効果は老齢期まで持続するのか、その効果はどれだけ残るのか、どの要因に大きく関与するのかを検討した。研究はラットを用いた動物実験を行い、発育期トレーニングの効果が老齢期の筋機能および形態に及ぼす影響を明らかにした。結果、発育期トレーニングは老齢期の筋持久力と神経筋接合部形態の退行抑制に効果を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

老齢期のトレーニングは発育期ほど効果は得られない。しかし発育期トレーニングの効果は老齢期になっても何らかの形で残っているだろうか。加齢に伴うシナプスの変遷に逆行することは、QOLの向上および健康寿命延伸を可能とする証拠となる。発育期のトレーニングが老齢期の骨格筋に及ぼす影響を明らかにすることによって、子どもの運動不足に警笛となることを期待する。また、この研究は骨格筋細胞レベルの成果が得られるだけでなくスポーツ科学における筋適応機構への理解が深まる。健康づくりの現場では、発育期の運動が運動神経終末の発達および加齢抑制に働くことが明らかになれば、発育期の運動の重要性が提唱できる。

研究成果の概要（英文）：Morphological changes in the neuromuscular junction, which is a site of information transmission between nerves and skeletal muscles, have been reported as a causative factor of skeletal muscle weakness in old age. Exercise is effective in inhibiting aging of muscle function, muscle and neuromuscular junction morphology. However, starting training in old age has no major effects. Thus, in this study, we conducted training in the developmental period and investigated the effects on skeletal muscles. We examined whether these effects lasted until old age, to what extent the effects remained, and what factors were most involved. In this study, we clarified, through animal experiments, the effects of training in the developmental period on muscle function and morphology in old age in rats. The results showed that training in the developmental period had inhibitory effect on decrease in muscular endurance and neuromuscular junction morphology in old age.

研究分野：運動生理学

キーワード：神経筋接合部形態 筋持久力 発育期トレーニング 加齢抑制

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 高齢者の「運動習慣のある者の割合」は50代、60代、70代と年齢が高くなるにつれ増加傾向にあった(厚生労働省「国民健康・栄養調査」2016)。一方、運動習慣が多いにも関わらず歩数は少なく、高齢者ではサルコペニアなどの筋力低下やロコモティブシンドローム等の運動器障害が問題となっている。我々の研究において、老齢期に運動を行うと筋力が向上するが、加齢とともに効果率は減少していた。そのため、老齢期以前の運動習慣も必要なのではないだろうか。一方30代、40代の女性の運動習慣は少なく、活動量が低下し目標運動量に達していなかった。出産、育児、家事のため余暇時間が減少する女性に関しては、ライフスパンにおける運動習慣のブランクがある可能性が高い。運動不足に伴う40代女性の筋力低下やロコモティブシンドロームが起こっている報告もある。

これらの点から、発育期の積極的なトレーニングが必要と考えた。発育期のトレーニングで骨格筋機能を上げ、老化が始まる以前に予備力を高めれば、一時期の運動不足をカバーし、老齢期の運動器障害を軽減するのではないだろうか。

(2) 我々は、運動に伴う骨格筋の変化を細胞レベルで組織化学、形態学を主体として研究している。筋機能と筋線維、神経筋接合部(NMJ)形態には密接で相互的な関係があり、かつ可塑性が高いことを報告してきた。筋活動量の増減に伴い、筋は機能や形態を変化させ、神経筋の情報伝達場であるNMJも形態を変化させる。老齢期における筋力の低下時、NMJ形態は脱神経や退行変化を起こした。一方、運動に伴い筋力低下が抑制された時、NMJの脱神経、退行変化も制された。(平成24年度から平成26年度科学研究費補助金報告)

(3) NMJ研究は、1980年代に生体内における最大のシナプスとして、形態、機能に関する多くの研究がなされた。その後2000年代以降にバイオイメージング技術の発展および遺伝子研究の発展によるNMJ形態を維持するタンパク等が多く発見されてきた。老齢期に筋力、筋量減少から起こるサルコペニアに関してもNMJ形態や機能が関連することが報告され、NMJ研究は再び注目されている。さらにNMJ研究に関しては分子レベルの研究が盛んになっている。しかし、骨格筋は筋力を発揮する器官であり、それは運動神経に調節されている。よって、運動神経と骨格筋を相互的に、機能と形態との関連を主体に研究を行うことが必要である。

2. 研究の目的

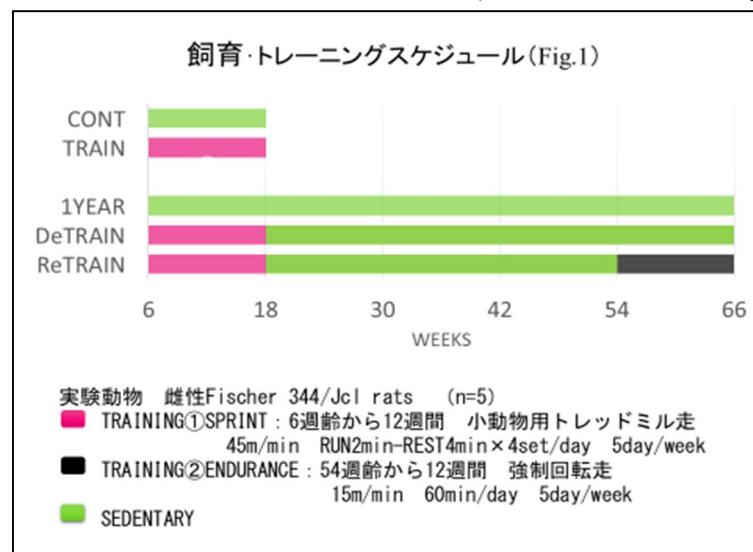
近年、老齢期に起こる骨格筋の問題としてサルコペニア(加齢性筋減弱症)やロコモティブシンドローム等があげられる。これら運動器障害軽減・予防には運動が効果的である。しかし、老齢期のトレーニングは発育期ほど効果を得られない。発育期のトレーニング効果が老齢期まで持続するのであれば、発育期のトレーニングは重要な意味を持つてくるだろう。その効果はどれだけ残るのか、どの要因に大きく関与するのか？

そこで本研究では発育期の運動が老齢期の骨格筋へ及ぼす影響を明らかにする。筋機能として発揮張力、形態特徴として骨格筋と神経筋接合部形態を測定し、その結果から発育期トレーニング効果の持続性に関して検討を行う。

3. 研究の方法

本研究は動物実験を行う。トレーニングに伴う骨格筋および神経筋接合部(NMJ)の形態変化を光学顕微鏡により観察する。加えて筋張力測定により筋機能的特性の変化を検討する。

(1) 発育期のトレーニング効果、(2) 発育期のトレーニング効果が老齢期まで持続するか、(3) 発育期のトレーニング-老齢期のトレーニング再開、の3つの方法で行う(Fig1)。



(1) 発育期トレーニングが骨格筋に及ぼす影響

筋張力測定、神経筋接合部形態変化観察から発育期トレーニングが骨格筋へ及ぼす影響を検討した。

実験動物は生後6週齢のFischer344系雌ラットを用いた。発育期のトレーニング(T)群、18週齢コントロール(C)群の2群を設けた。トレーニング開始から12週間後に被験筋を摘出し各測定を行った。被験筋は長指伸筋(EDL)、ひらめ筋(SOL)とした。筋機能は強縮張力と神経支配率および疲労耐性を測定した。NMJ形態はコリンエステラーゼ(ChE)染色と鍍銀染色にてNMJを染色し光学顕微鏡下で観察した。

(2) 発育期トレーニングの影響が老齢期まで持続するか

実験動物は生後6週齢のFischer344系雌ラットを用いた。発育期トレーニング+1年齢までの通常飼育(DT)群、1年齢コントロール(1Y)群を設けた。トレーニング条件は(1)の研究手法と同様とし、測定項目も(1)の研究手法と同様とした。

(3) 発育期トレーニング-老齢期のトレーニング再開が骨格筋へおよぼす影響

実験動物は生後6週齢と54週齢のFischer344系雌ラットを用いる。発育期トレーニング-通常飼育-老齢期再トレーニング(RT)群、1年齢コントロール(1Y)群を設ける。発育期トレーニング条件は(1)の研究手法と同様とし、54週齢から自発走トレーニングを12週間行う。測定項目は(1)(2)の研究手法と同様とした。

(4) 実験動物の扱いおよびトレーニング条件

実験における飼育：室温23°C、湿度55%に保った動物飼育施設にて12時間の明暗サイクルで飼育を行なった。摂餌・飲水は自由摂取とし、餌はマウス・ラット・ハムスター用固形飼料(日本クレア株式会社CE-2)を使用した。

発育期の走トレーニングは、小動物用トレッドミル(TMS-8D/メルクエスト社製)で、1日1回、週5日、分速45mのスピードで傾斜10%、2分間の走行と4分間の休息をいれる間欠走トレーニングを行わせる。54週齢からのトレーニングは自発走回転装置での運動を12週間行う。

トレーニング、屠殺時の動物の扱いは「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」「至学館大学・至学館大学短期大学部動物実験規則」に従って行った。

(5) 測定方法

筋の機能的特性：トレーニングおよび飼育終了後、麻酔下において血流を維持した状態での筋の発揮張力特性を測定する。被験筋は長指伸筋(EDL)とヒラメ筋(SOL)とした。

坐骨神経を介した極大電気刺激による強縮張力を測定した。神経支配率は筋への間接強縮張力と筋への直接電気刺激による発揮張力を測定し、直接刺激発揮張力に対する間接刺激発揮張力の比率を求める(Fig2)。

筋疲労耐性は1回/21秒の頻度で22回の連続刺激を与え、発揮張力を測定する。2分後、3分後、5分後の発揮張力と開始時の発揮張力からの減少率から疲労耐性を調べる。

骨格筋、神経筋接合部の形態観察・解析

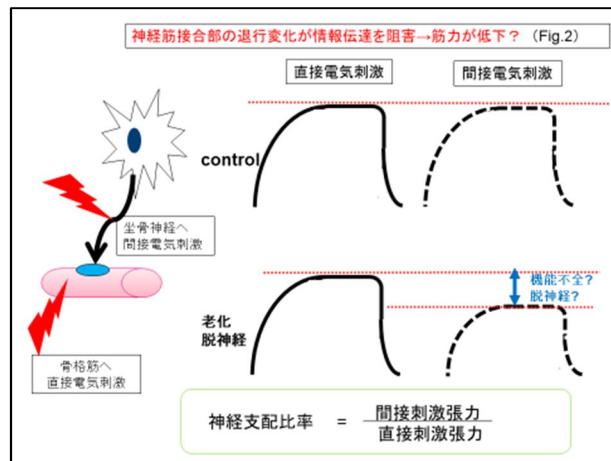
光学顕微鏡下にて神経筋接合部の形態観察を行う。被験筋は長指伸筋(EDL)とする。筋摘出後、液体窒素により冷却したイソペンタン中にて筋を静止長位で固定凍結し、クリオスタット(Leica社製CM1550)内で50μmの筋縦断凍結切片を作成する。切片にコリンエステラーゼ染色(運動終板染色)、銀染色(神経染色)を行った。光学顕微鏡下で神経終末、運動終板を観察し、筋損傷および脱神経を確認した。顕微鏡用CCDカメラからコンピュータに画像を取り込み、NMJの神経終末面積、運動終板をFahimらの方法によって分析した。運動終板長(LEL)、筋線維径(FD)の計測はcell Sense(OLIMPUS社製)ソフトにて測定した。NMJの形態はTufferyの分類を参考にして定量化を行い、筋機能との関係を検討する。

(6) 統計処理

各測定にて得られた結果は、平均値±標準偏差で示す。コントロール群との有意差はSTUDENTのt-testを用いて検討を行う。群間比較はFisher法による分散分析を用いる。統計有意水準はp<0.05とする。全ての統計処理はStatView5.0ソフトを用いる。

4. 研究成果

(1) 筋重量 体重あたりの相対筋重量は、速筋の長指伸筋(EDL)、遅筋のヒラメ筋(SOL)と



も発育期コントロール (C) と発育期トレーニング群 (T) 間に差は認められなかった。一方、1 年齢コントロール (1Y) と発育期トレーニング + 1 年齢までの通常飼育 (DT) 群間に差は認められなかったが、1Y 群と発育期トレーニング-通常飼育-老齢期再トレーニング (DT) 群間に有意な差が認められた。

(2) 筋機能 強縮張力と神経支配率は、トレーニングおよび加齢に伴う変化が認められなかった。神経支配率は全ての群で 95% 以上を示した。NMJ の機能低下は認められず、脱神経は起っていないことが推察される。

有意な差は認められなかったものの C 群が約 50% の張力維持したのに対し、1Y 群は約 36% まで張力は減少し、加齢に伴い疲労耐性が低下する傾向があった。SOL, EDL とともに C 群に対して T 群が優位に高値を示した。老齢期では 1Y 群に対して DT 群と RT 群が優位に高値を示した。DT 群と RT 群間には差が認められなかった。筋持久力は、発育期のトレーニング効果が持続することが示唆された。

(3) 筋および神経筋接合部形態

筋直径 (FD) は、加齢およびトレーニングに伴う変化が認められなかった。

運動終板長 (LEL) は C 群に対し DT 群, RT 群は変化がなかった。トレーニングによって加齢に伴う変化が抑制されていた。加齢に伴い LEL は延長することが報告されており、1Y 群は有意な高値を示した。筋線維径 (FD) あたりの運動終板長 (LEL) EL/FD は、各群間に差は認められなかったが、1Y 群は高値を示した。 EL/FD は、正常な NMJ では指数として 1.5 を示す。1Y 群は 2 以上を示し、加齢に伴う退行の傾向があった。

(4) 本研究結果から、発育期トレーニングは、神経筋接合部の形態、機能を維持し、筋持久力維持に効果を与えた。さらに老齢期にトレーニングを行うことで持久力の増大が認められた。神経筋接合部形態は筋発揮張力と関係があることが示唆された。

老齢期までの筋持久力維持に対して、発育期トレーニングの重要性を示すことが出来た。小中学生の運動参加へとつながるエビデンスとなることを期待する。文科省の子どもの体力に関する報告では、子どもの日常運動量の減少、運動能力、筋力の低下が報告され警鐘を鳴らしている。筋持久力はいわゆる疲れにくい能力であり、スポーツシーンだけでなく日常生活を送るうえでも必要不可欠な能力である。

今後は、より効果的で持続性が高いトレーニング方法を検討していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Tomie Nishizawa, Norikatsu Kasuga, Hideki Suzuki
2. 発表標題 Morphological changes of muscle and motor end plate during recovery from muscle atrophy.
3. 学会等名 22th Annual Congress ECSS, (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西沢富江、春日規克
2. 発表標題 老齡期の運動がラット骨格筋機能および形態に及ぼす影響
3. 学会等名 日本体力医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西沢富江、春日規克
2. 発表標題 発育期の運動が老齡期の神経筋接合部形態および骨格に及ぼす影響
3. 学会等名 日本体力医学会
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	春日 規克 (KASUGA NORIKATSU) (60152659)	愛知教育大学・教育学部・特別教授 (13902)	