

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：34104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K10797

研究課題名(和文) 機械刺激による骨格筋の肥大・萎縮予防における効果持続性に関わるメモリー機能

研究課題名(英文) Memory of mechanical loading in skeletal muscle hypertrophy and atrophy

研究代表者

笹井 宣昌 (Sasai, Nobuaki)

鈴鹿医療科学大学・保健衛生学部・准教授

研究者番号：20454762

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：骨格筋を十分に鍛えると、運動中止により肥大筋が萎縮したあとの運動再開において、加速的に再肥大する。この運動履歴が筋に記憶されているかのような現象は「筋メモリー」として経験的に知られている。一方、モデル動物の確立やメカニズム解明は十分でない。そこで本課題では、その「加速的な再肥大」を再現するモデルを確立した。トレーニング(トレ)による筋肥大、その後のトレ中止による肥大効果の消失、再トレによる加速的な再肥大を捉えられた。また細胞培養の実験系で、肥大に続く萎縮を再現した。これらにより関連するメカニズム解明のための準備が整った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

筋メモリーの研究は、比較的に新しくメカニズム解明は十分でない。解明に必要な動物モデルも少ない。惹起した肥大を消失させたうえで再肥大させる手順が、先行する多くの筋肥大・萎縮実験とは異なる。今回、マウスでモデルを確立したことで、細胞・分子レベルのメカニズム解明の準備が整った。

ヒト筋メモリーの残存を、経験的に少なくとも十年程度は想定する。このメカニズム解明が進むことで、筋肥大・萎縮予防のための運動の解釈やプログラムが大幅に更新する可能性がある。より長期スパンでとらえる必要がある。また加齢による萎縮、成長期の運動、アスリートのリハビリテーションなど、さまざまに波及することが予想される。

研究成果の概要(英文)：Muscle hypertrophy induced by strength training disappears when undergoing cessation of training. And then, if the training was sufficient, re-training causes muscle hypertrophy more rapidly than in non- or insufficient-trained muscle. This phenomenon is known as “muscle memory” empirically in actual training scenes. However, the mechanism is elucidated inadequately. In this study, the rapid hypertrophy was caused by re-trainings in mice as the model. This model allows the elucidation of the mechanisms.

研究分野：骨格筋のリハビリテーション

キーワード：骨格筋 肥大 萎縮 レジスタンス・トレーニング 機械刺激 効果持続性 メモリー機能

1. 研究開始当初の背景

骨格筋の運動による肥大や不使用による萎縮はよく知られている。即ち、たとえ運動により強化した筋でも不使用が続けば萎縮する。では「その後の運動再開による筋量回復や萎縮予防に、以前の強化履歴は影響するだろうか?」この点は十分に解明されていない。本研究代表の経験では、ヒトの十分に強化した筋では、少なくとも数年~10年程度にわたる中止後の運動再開における筋量の回復が速い。逆に、高度に萎縮した筋では線維化も進み回復が遅い。

もし筋の肥大・萎縮に関する“メモリー機能”があるならば、メカニズムおよびメモリー獲得に必要な運動までを解明すべきであると考えた。なぜなら、運動による効果をとらえる時間的スパンを、現在の理解よりも大幅に拡大する。また実際の運動プログラムをも更新する可能性がある。

しかしながら、メモリー様の現象や機能にかんする学術的報告は少ない。これまでの研究代表を含めた先行研究の多くは、直接・短期的に運動による肥大や萎縮予防、あるいは廃用による萎縮をターゲットとしてきた。筋に加わる機械的刺激(力)の変動にともなう筋量の変動や、筋細胞内のタンパク質合成・分解系シグナルの関連を解明するものである。

したがって、筋の肥大・萎縮に関するメモリー機能やそのメカニズムの解明を効率的に進めるための急務は、動物あるいは細胞培養の実験による現象の捕捉(モデル化)が必須と考えた。

2. 研究の目的

そこで本課題では、これまでに確立したマウスの運動による筋肥大・萎縮の予防/回復と、細胞培養のストレッチや電気刺激による筋肥大を活用して、筋肥大メモリー解明のための実験モデルを確立することを目的とした。

3. 研究の方法



図1. 階段を昇る ICR マウス

マウス実験1: 筋肥大のための昇段運動条件の策定

マウス(ICR系統、雄性)の成体を対象に、自作の階段を昇らせるトレーニング(図1)で後肢筋に肥大を惹起した。昇段中はマウスの尾に錘を负荷した。以前の課題では2週間の運動期間で负荷はマウス自重のみであった。今回、メモリー様現象の捕捉するために、錘负荷の漸増プログラムと数週間にわたる運動期間について、運動群と非運動群の後肢筋量を比較することで検討した。なお加齢によりメモリー機能やその獲得が抑制されるとの予測のもと、若・中・高齢体につ

いて同様に検討を進めた。

マウス実験2: 運動で惹起した肥大の消失条件の策定

マウス実験1で策定した条件の筋肥大トレーニング期間につづく通常飼育(トレーニング中止)下で、後肢筋に惹起された肥大が消失する期間について、運動群と非運動群の後肢筋量を比較することで検討した。実験1と同様に、若・中・高齢体について実施した。

マウス実験3: 運動再開による再肥大のための運動条件の策定

マウス実験1と2で策定した条件につづく再トレーニングによる再肥大について検討した。この再トレーニングにより、初めてのトレーニングよりも筋肥大が早く惹起されることを捉えることが、今回最大の要点である。再トレーニング群と初トレーニング群の後肢筋量を比較することで検討した。初トレーニング群として、実験1と2の同期間を通常飼育した非運動群にたいして、再トレーニングと同条件のトレーニングを実施した。実験2までと同様に、若・中・高齢体について実施した。

細胞培養実験1: ストレッチや電気刺激による肥大実験系における肥大の消失条件の策定

これまでに確立した筋細胞のストレッチや電気刺激による肥大について、惹起した肥大が刺激中止(通常培養)により消失する期間を、刺激群と非刺激群の筋管の横径を比較することで検討した。

細胞培養実験2: 肥大を消失させた後の再刺激による再肥大

細胞実験1で策定につづく再刺激による再肥大について検討した。この再刺激により、初めての刺激よりも肥大が早く惹起されることを捉えることが、今回最大の要点である。再刺激群と初刺激群の筋管の横径を比較することで検討した。初刺激群として、実験1と同期間を通常培養した非刺激群にたいして、再刺激と同条件の刺激を実施した。

4. 研究成果

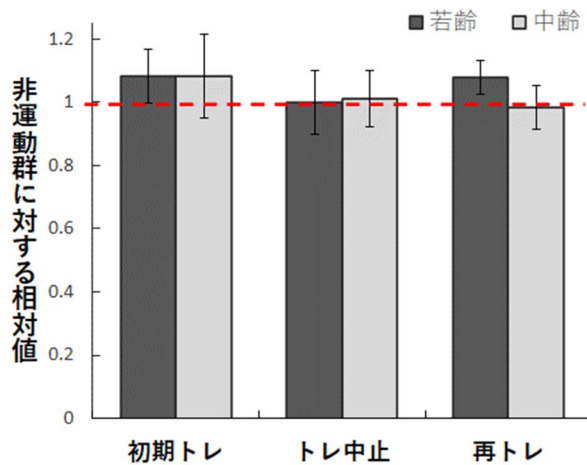


図2. マウス大腿四頭筋の再トレーニング(トレ)による加速的な再肥大(筋湿重量の平均値)

初期トレでは、若齢()と中齢()個体とも筋湿重量が非運動群に比べ増加(筋肥大)した(左の柱)。初期トレに続くトレ中止でその増加(肥大)は消失した(真中の柱)。さらに続けた再トレでは、若齢体()のみで、初めてトレする非運動にくらべ早くに筋量が増加(肥大)した(右の柱, $p < 0.05$)。N = 5~6

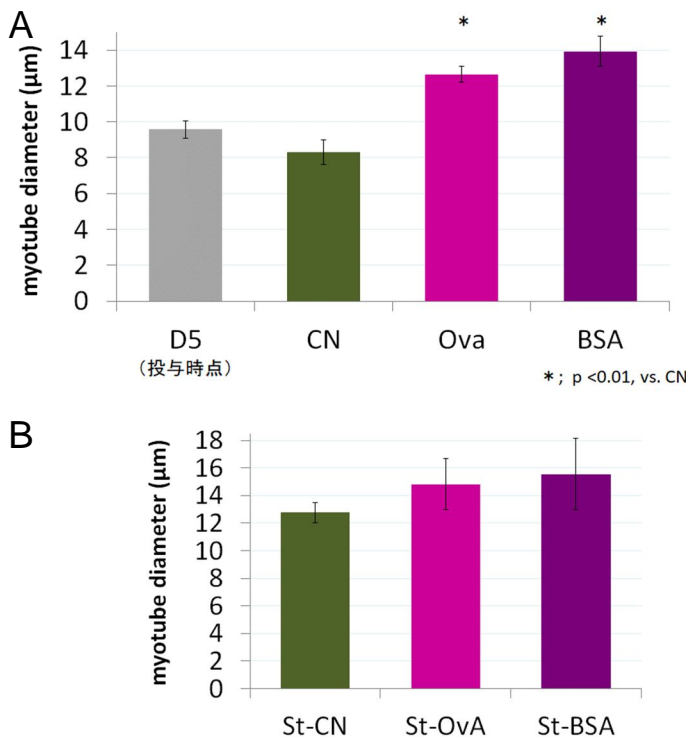


図3. アルブミン投与による筋細胞の肥大(筋管細胞・横径の平均値)

A) 通常培養下での投与実験. B) ストレッチ(St)下での投与実験. CN: 非投与, Ova: オボ・アルブミン投与, BSA: 牛血清アルブミン投与

マウス実験における再トレーニングによる加速的な筋肥大の補足(図2)

マウス実験1により、若・中・高齢体の後肢筋(大腿四頭筋、腓腹筋、足底筋、ヒラメ筋)に肥大を惹起させるための漸増負荷プログラムと運動実施期間が策定できた。

また実験2では、実験1で肥大を惹起させたのと同じ期間の通常飼育を経ることで、実験1の筋肥大が消失できることが分かった。

さらに実験3では、若齢体を用いて、再トレーニングと、非運動群の初トレーニングによる筋肥大の差を捉えることができた。実験1と同様のトレーニングにより、再トレーニング群では、実験1の半分の期間で筋湿重量の増加(筋肥大)が加速的に起こった。即ち、筋肥大にかかわるメモリー様の現象を捕捉すること(モデル確立)ができた。

マウス筋肥大のけるメモリー様現象の加齢による抑制(図2, 右の柱)

実験3の若齢体で捉えた、再トレーニングによる加速的な再肥大は、中高齢体では観測できなかった。即ち、当初に予測した通り、加齢によりメモリー様の現象が抑制されることが示唆された。

細胞培養におけるストレッチや電気刺激による筋肥大とその消失

ストレッチや電気刺激について、2~3日の刺激期間で肥大が惹起され、それに続く同期間の通常培養で、惹起された肥大が消失した。一方、さらなる期間の延長では、刺激と培養期間の延長により受けるダメージにより細胞の死滅が顕著なため、再刺激実験は成功に至らなかった。細胞の死滅を緩和するための刺激条件や培養環境について、さらなる検討が必要である。

細胞培養におけるアルブミンによる筋肥大

培養環境を検討するうちで、アルブミン投与が筋細胞の肥大に寄与することを確認した(図3A)。また、そのアルブミンによる肥大が、ストレッチによる肥大と相乗することが示唆された(図3B)。

成果のまとめと展望

今回の目的であった筋肥大にかんするメモリー様現象の補足(モデル確立)について、マウス実験で達成できた。今後、メモリー・メカニズム解明の足掛かりとなる。また、加齢によるメモリー抑制を示唆するデータも得られた。加齢による抑制メカニズムや予防策に関する展開も展望できる。

細胞培養実験では、モデル確立に至っていないが、刺激による肥大につづく萎縮(惹起した肥大の消失)までは再現できた。現段階でも、例えば、マウス実験で分かった細胞シグナルや遺伝子発現などの関連メカニズムにかんする検証を進める環境は整った。効率的な解明という点では、より実験期間が短い培養系でのモデル確立も望まれる。

また副次的に得られたアルブミンによる筋細胞肥大の成果は、機械刺激による肥大やメモリー・メカニズムと栄養の関連を探索する足掛かりとなる。近年、臨床ではサルコペニアに合併する低栄養、あるいは対策としての運動/栄養療法の併用が注目されている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Kiyoshi Yoshioka, Nobuaki Sasai, Yuko Kurogi, Kimihide Hayakawa, Yuta Itoh, Nobuhide Agata, Taro Murakami, Masumi Inoue-Miyazu, Masahiro Sokabe, Keisuke Kawakami	4. 巻 533
2. 論文標題 Cessation of electrically-induced muscle contraction activates autophagy in cultured myotubes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and biophysical research communications	6. 最初と最後の頁 410-416
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.09.009.	査読の有無 有
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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 笹井宣昌
2. 発表標題 培養系における骨格筋細胞のアルブミンによる肥大
3. 学会等名 第7回日本予防理学療法学会学術大会・第3回産業理学療法部門研究会・第3回栄養・嚥下理学療法部門研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 笹井宣昌
2. 発表標題 尾部懸垂マウス後肢筋における昇段運動による萎縮の予防
3. 学会等名 第25回日本基礎理学療法学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 笹井宣昌
2. 発表標題 昇段を用いた再トレーニングによるマウス骨格筋量の加速的増加
3. 学会等名 第7回日本スポーツ理学療法学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笹井宣昌
2. 発表標題 直線的パターンニングによるトリ初代培養筋管の配向制御
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会・第98回日本生理学会大会合同大会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------