

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19914

研究課題名(和文) 下腿遅筋を標的としたRAサルコペニア治療 分子シャペロン-マイオカイン誘導療法

研究課題名(英文) RA sarcopenia therapy targeting the lower leg slow-twitch muscle molecular chaperone-myokine induction therapy

研究代表者

遠山 将吾 (Toyama, Shogo)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・客員講師

研究者番号：00388183

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：動物関節炎モデルを用いて関節炎が速筋と遅筋に与える影響について解析したところ、速筋線維の豊富な長趾伸筋にくらべて遅筋線維の豊富なヒラメ筋で筋肉の萎縮・線維化が起こっていた。次にトレッドミル走行の効果を検討した。その結果、免疫感作後2週で筋たんぱく質のanabolic markerであるEif4eで、感作後6週でcatabolic markerであるAtrogin-1に運動の有無・筋肉の違いにおいて交互作用を認め、ヒラメ筋において発現が上昇していた。また、4週間の運動は遅筋で生じる筋萎縮を予防した。トレッドミル走行は筋肉の代謝回転を調節することで遅筋の萎縮や線維化を予防する可能性があると考えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

関節リウマチ(rheumatoid arthritis; RA)に対する薬物治療の進歩により関節炎の寛解が得られるようになったが、依然としてサルコペニアの罹患率が高くRA患者のADL障害の大きな要因となっている。一方、遅筋は速筋の約5倍マイオカインを分泌することがこれまで明らかになっており、遅筋の比率が高い下腿への刺激が全身の筋肥大をもたらすことができれば、サルコペニアの有効な治療法になり得ると考えた。

研究成果の概要(英文)：Using an animal arthritis model, we analyzed the effects of arthritis on fast-twitch and slow-twitch muscles. Muscle atrophy and fibrosis occurred in the soleus muscle, which is rich in slow-twitch muscle fibers, compared to the extensor digitorum longus muscle, which is rich in fast-twitch muscle fibers. Next, the effects of treadmill running were examined. Eif4e, an anabolic marker of muscle protein, was increased in the soleus muscle at 2 weeks after immunosensitization, and atrogin-1, a catabolic marker, was increased at 6 weeks after immunosensitization, depending on the presence or absence of exercise and the muscle. Four weeks of exercise also prevented muscle atrophy in slow-twitch muscles. We hypothesized that treadmill running may prevent atrophy and fibrosis of slow-twitch muscles by modulating the metabolic cycle of the muscles.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：関節リウマチ サルコペニア 遅筋 運動

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ(rheumatoid arthritis; RA)に対する薬物治療の進歩により関節炎の寛解が得られるようになったが、依然としてサルコペニアの罹患率が高く RA 患者の ADL 障害の大きな要因となっている。一方、骨格筋には速筋と遅筋があり、遅筋は速筋の約 5 倍マイオカインを分泌することがこれまで明らかになっている。遅筋の比率が高い下腿への刺激が全身の筋肥大をもたらすことができれば、サルコペニアの有効な治療法になり得ると考えた。

2. 研究の目的

以上の背景から、本研究では RA 動物モデルにおいて速筋と遅筋の萎縮の違いや、トレッドミル走行が両方の筋線維タイプに与える影響を評価することを目的とした。

3. 研究の方法

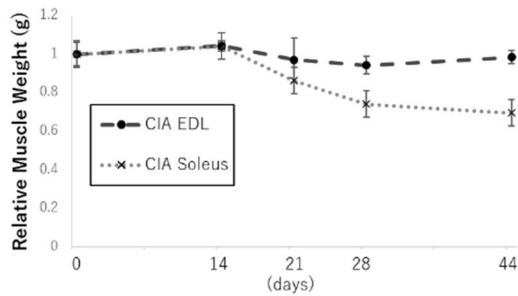
動物関節炎モデルを用いて速筋と遅筋における影響について解析した。8 週齢の DA ラットを用いて、タイプ 2 コラーゲンによる関節炎を惹起し、関節炎モデル (CIA)ラットを作成した。CIA ラットにおいて速筋線維が豊富な長趾伸筋(EDL)および遅筋線維が豊富なヒラメ筋(Soleus)の相対的筋湿重量を免疫感作 0, 14, 21, 28 および 44 日後に測定し、正常ラットと比較した。運動療法として 1 日 30 分間、12m/分、5 日/週の条件で、感作 14 日後から 28 日間トレッドミル走行 (CIA ex 群)させた。対照は自由飼育した CIA ラット (CIA no 群)とした。感作直後から 44 日後まで体重と足部体積を測定した。最終トレッドミル走行 48 時間後に両側の長趾伸筋とヒラメ筋の筋湿重量を計測した。組織学的検討として Picro-sirius red 染色を右側に行い、筋全体と筋線維の断面積、筋線維細胞数および線維化面積の割合を分析した。遺伝子学的検討を左側の筋肉に行い、筋合成の指標である Eif4e, p70S6K, 筋分解の指標である Atrogen-1, MuRF-1 とミトコンドリアの生成を司る PGC-1 の mRNA 発現を real time RT-PCR 法で解析した。感作 14 日後の単回トレッドミル走行後においても同様に mRNA 発現を解析した。二元配置分散分析法を用いて、筋線維のタイプと運動の有無の間との交互作用を検討した。

4. 研究成果

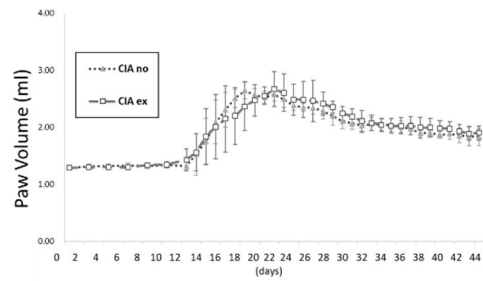
(1)研究結果

CIA ラットの長趾伸筋の相対的筋湿重量は正常ラットと同様に感作 44 日後まで変化しなかったが、ヒラメ筋の重量は経時的に減少した(図 1)。CIA no 群と CIA ex 群の間で全観察期間において、体重および足部体積に有意差を認めなかった(図 2)。感作 44 日後の Picro-sirius red 染色で、筋湿重量、筋全体と筋線維の断面積および筋線維細胞数それぞれに有意な交互作用を認めた。線維化面積の割合に交互作用はなかった。ヒラメ筋と運動の組み合わせで、筋湿重量および筋全体と筋線維の断面積は増加し、長趾伸筋と運動の組み合わせで筋線維細胞数は増加した。(表 1) 感作 14 日後の Eif4e および感作 44 日後の Atrogen-1 と PGC-1 の mRNA 発現において有意な交互作用を認めた。ヒラメ筋と運動の組み合わせで、それぞれの mRNA の発現は上昇した。感作 14 日後の p70S6K, Atrogen-1, MuRF-1 と PGC-1 や感作 44 日後の Eif4e, p70S6K と MuRF-1 の mRNA 発現に交互作用はなかった。(表 2,3)

(図 1)



(図 2)



(表 2)

day 44		Mean	SD		F value	p value	
Muscle Weight	EDL	CIA no	1	0.486	muscle type	1.879	0.401
		ex	1.033	0.412	exercise	1.6	0.426
	Soleus	CIA no	0.708	0.377	interaction	32.815	0.000*
		ex	0.987	0.75			
total CSA	EDL	CIA no	1	0.137	muscle type	0.966	0.505
		ex	1.015	0.456	exercise	1.2	0.471
	Soleus	CIA no	0.692	0.14	interaction	8.966	0.007*
		ex	1.017	0.155			
fiber CSA	EDL	CIA no	939	173	muscle type	0.32	0.888
		ex	740	51.7	exercise	0.23	0.903
	Soleus	CIA no	662	167	interaction	19.609	0.000*
		ex	933	82.7			
Number of Muscle fibers	EDL	CIA no	2769	230	muscle type	1.408	0.446
		ex	3472	221	exercise	1.571	0.429
	Soleus	CIA no	2711	340	interaction	8.021	0.01*
		ex	2790	272			
Fibrosis Index	EDL	CIA no	0.252	0.196	muscle type	2.007	0.391
		ex	0.252	0.149	exercise	1.004	0.499
	Soleus	CIA no	0.284	0.336	interaction	1.995	0.173
		ex	0.258	0.176			

(表 3)

day 14		Mean	SD		F value	p value	
Eif4e	EDL	CIA no	1	0.152	muscle type	1.122	0.482
		ex	1.163	0.225	exercise	1.848	0.404
	Soleus	CIA no	1.027	0.239	interaction	12.956	0.002*
		ex	2.096	0.5			
p70S6K	EDL	CIA no	1	0.17	muscle type	0.968	0.505
		ex	1.046	0.17	exercise	2.045	0.388
	Soleus	CIA no	0.998	0.151	interaction	1.984	0.174
		ex	1.26	0.246			
Atrogin-1	EDL	CIA no	1	0.129	muscle type	100.629	0.063
		ex	0.856	0.195	exercise	9.677	0.198
	Soleus	CIA no	0.383	0.148	interaction	1.386	0.253
		ex	0.102	0.0664			
MuRF-1	EDL	CIA no	1	0.301	muscle type	14.227	0.165
		ex	1.016	0.121	exercise	0.738	0.548
	Soleus	CIA no	0.685	0.369	interaction	1.096	0.308
		ex	0.474	0.201			
PGC-1α	EDL	CIA no	1	0.396	muscle type	0.875	0.521
		ex	6.63	3.272	exercise	9.095	0.204
	Soleus	CIA no	0.82	0.503	interaction	2.52	0.128
		ex	12.035	7.95			

(表 4)

day 44		Mean	SD		F value	p value	
Eif4e	EDL	CIA no	1	0.49	muscle type	8.557	0.21
		ex	0.788	0.522	exercise	18.366	0.146
	Soleus	CIA no	0.659	0.494	interaction	0.051	0.824
		ex	0.662	0.431			
p70S6K	EDL	CIA no	1	0.252	muscle type	4.755	0.274
		ex	1.123	0.143	exercise	0.945	0.509
	Soleus	CIA no	1.091	0.34	interaction	0.293	0.594
		ex	1.168	0.24			
Atrogin-1	EDL	CIA no	1	0.516	muscle type	0.66	0.566
		ex	1.268	0.239	exercise	1.914	0.398
	Soleus	CIA no	0.869	0.676	interaction	6.076	0.023*
		ex	2.53	1.07			
MuRF-1	EDL	CIA no	1	0.253	muscle type	31.443	0.112
		ex	1.077	0.351	exercise	3.515	0.312
	Soleus	CIA no	1.407	0.66	interaction	0.17	0.685
		ex	1.661	0.695			
PGC-1α	EDL	CIA no	1	0.337	muscle type	1.254	0.464
		ex	1.291	0.355	exercise	2.06	0.387
	Soleus	CIA no	1.08	0.432	interaction	13.577	0.001*
		ex	2.71	0.605			

(2)考察

本研究では、RA 動物モデルで速筋と比べて遅筋の有意な萎縮を示した。また、運動療法としてトレッドミル走行をさせたところ、CIA ラットのヒラメ筋で筋重量および筋全体と筋線維の断面積が増加したことから、適度な運動は遅筋の筋萎縮を予防できることを明らかにした。一方、RA 動物モデルでは感作 14 日後から関節炎が増強する前関節炎期を経て 28 日以降に定常化した関節炎期となる。本研究では、前関節炎期の筋代謝を調べたところ、単回トレッドミル走行は遅筋の Eif4e の mRNA 発現を亢進し、筋合成を促進した。また、関節炎期までの継続的なトレッド

ミル走行は遅筋の Atrogin-1 と PGC-1 の発現を亢進し、筋分解とミトコンドリアの生合成を促進した。ミトコンドリアは筋肉の代謝や生理的適応に重要な役割を果たしており、機能が障害されると筋肉が萎縮し、活性化されると筋萎縮の予防が可能である。このため、持続的なトレッドミル走行は、遅筋のミトコンドリア機能を活性化し、筋の合成・分解といった代謝回転を調整することで筋萎縮を防いだと考えた。

本研究において RA 動物モデルでは遅筋が有意に萎縮し、トレッドミル走行は遅筋の萎縮を予防することが明らかとなった。遅筋は RA で生じるサルコペニア克服のキーとなる筋肉である。適度なトレッドミル走行による遅筋への刺激は、遅筋の萎縮を防ぐことで、RA に対する有効な運動療法になりうると考えた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 Fujii Yuta, Inoue Hiroaki, Arai Yuji, Shimomura Seiji, Nakagawa Shuji, Kishida Tsunao, Tsuchida Shinji, Kamada Yoichiro, Kaihara Kenta, Shirai Toshiharu, Terauchi Ryu, Toyama Shogo, Ikoma Kazuya, Mazda Osam, Mikami Yasuo	4. 巻 20
2. 論文標題 Treadmill Running in Established Phase Arthritis Inhibits Joint Destruction in Rat Rheumatoid Arthritis Models	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5100 ~ 5100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20205100	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 Kamada Yoichiro, Toyama Shogo, Arai Yuji, Inoue Hiroaki, Nakagawa Shuji, Fujii Yuta, Kaihara Kenta, Kishida Tsunao, Mazda Osam, Takahashi Kenji	4. 巻 42
2. 論文標題 Treadmill running prevents atrophy differently in fast- versus slow-twitch muscles in a rat model of rheumatoid arthritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Muscle Research and Cell Motility	6. 最初と最後の頁 429 ~ 441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10974-021-09610-0	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yoichiro Kamada, Shogo Toyama, Hiroaki Inoue, Shuji Nakagawa, Yuta Fujii, Kenta Kaihara, Yuji Arai, Osam Mazda, Kenji Takahashi
2. 発表標題 Analysis of muscle atrophy and fibrosis in fast and slow muscles in a rat model of arthritis
3. 学会等名 67th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuta Fujii; Hiroaki Inoue; Yuji Arai; Seiji Shimomura; Shuji Nakagawa; Shinji Tsuchida; Yoichiro Kamada; Kenta Kaihara; Osam Mazda; Yasuo Mikami
2. 発表標題 Treadmill Running Suppressed Joint Destruction In A Rheumatoid Arthritis Rat Model
3. 学会等名 2020 Annual Meeting of Orthopaedic Research Society (国際学会)
4. 発表年 2020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
---------	---------