

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20300186

研究課題名（和文） 運動療法のできない重症患者や高齢者に対する包括的筋力低下防止プログラムの開発

研究課題名（英文） Development of a comprehensive program to suppress muscle atrophy for elderly or patients who do not have the ability to do strength training

研究代表者

河上 敬介 (KAWAKAMI KEISUKE)

名古屋大学・医学部保健学科・准教授

研究者番号：60195047

研究成果の概要（和文）：

伸張刺激が、筋肥大や筋萎縮抑制を引き起こすこと、このメカニズムに Akt/mTOR/p70S6K 経路が大きく関与することを明らかにした。また、効果的な伸長刺激の強さ、時間、頻度を解明した。さらに、機械刺激に熱刺激や栄養学的アプローチを加えた場合の、萎縮軽減の相乗効果を検証した。これらの結果は、運動療法ができない絶対安静下の重症患者や寝たきり高齢者に対する包括的筋力低下防止プログラムの重要な情報となる。

研究成果の概要（英文）：

Denervation induced muscle atrophy was significantly suppressed by passive stretch for 15 min once daily stretching to the muscle though an upregulation of Akt/mTOR pathway. Extension of stretching duration for 15 to 30 min did not improve the suppression of muscle atrophy. However, increasing the frequency of stretching from once to twice daily improved the suppression of the atrophy. As no difference in the increased level of Akt phosphorylation in response to each stretching among different experimental groups, the improved suppression of atrophy in 15 min twice a day stretching group might arise from the increased frequency of Akt activation in this group. These results advance the development of a comprehensive program to suppress muscle atrophy for elderly or patients who do not have the ability to do strength training.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2009年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2010年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2011年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：理学療法学、筋、機械刺激、リハビリテーション

## 1. 研究開始当初の背景

救急医療や移植医療の発展に伴い、救急疾患や重症疾患の患者の生命予後は向上した。そのため、リハビリテーション（以下、リハビリ）対象となる患者の障害は重度化してい

る。例えば、交通事故などによる外傷患者や、移植を待つ重症心疾患患者の中には長期間臥床による絶対安静状態を強いられる者は少なくない。また、様々な合併症を持つ高齢者には、通常の筋力トレーニングなどの運動

療法が施行できず、長期間寝たきりの者も多い。臥床により活動が制限されると筋は萎縮し、筋力は低下する。一旦筋力低下してから運動療法を開始しても、リハビリの期間短縮や、本来患者が持つ能力を最大限に活用したリハビリは期待できない。よって、絶対安静下の重症患者や寝たきり高齢者でも行える筋力低下防止プログラムの構築は、重要である。近年、伸張刺激や熱刺激といった物理的的刺激を筋に与えると、筋肥大や筋萎縮軽減を引き起こすことが明らかになりつつある。これらの物理的的刺激は、通常の運動療法ができない絶対安静下の重症患者や寝たきり高齢者に対しても用いることのできる刺激である。一方、運動前後にタンパク質を摂食すると、筋肥大効果を高進させるという報告がある。スポーツの分野では既に応用されている栄養摂取が筋に及ぼす効果を、リハビリテーション分野ではほとんど用いられていない。

## 2. 研究の目的

そこで、本研究の目的は、伸張刺激や熱刺激といった、運動療法ができない絶対安静下の重症患者や寝たきり高齢者に対して用いることのできる刺激により、筋萎縮を軽減することができるかを明らかにすることである。また、これらの刺激の効果的な時間や強さ、および頻度などを検証することである。そして、これらの物理的的刺激の組み合わせ方による相乗効果を明らかにすることである。これに加えて、これらの物理的的刺激に栄養学的アプローチを加えたときの相乗効果も検証し、無意識下でも可能な包括的な筋力低下防止プログラムを開発することである。

## 3. 研究の方法

これまで、生きたラットの筋に高い再現性で一定の周期的伸張刺激を与える方法がなかった。そこでまず、ラットのヒラメ筋に対して、常に一定の張力で周期的な伸張刺激を与えるための装置を完成させた。そして、本装置を用いて周期的伸張刺激を与えたときに筋萎縮軽減効果が認められるかどうかを調べた。また、効果が認められたら、その最も効果的な強さ、時間、頻度などの条件を明らかにした。また、伸張刺激に熱刺激を加えることにより、伸張刺激による筋萎縮軽減効果が相乗的に高まるかどうかを明らかにした。これに加えて、伸張刺激の効果をさらに高める摂食の成分やタイミングの検証を行った。

効果判定は以下のように、組織学的方法と、生化学的方法とを用いて行った。(a)組織学的方法：ラット下腿から取り出したヒラメ筋の横断切片をH-E染色後、筋線維横断面積を測定した。(b)生化学的方法：筋萎縮軽減に関わるシグナルの活性化を、ウェスタンブロー

ディング法を用いて評価した。具体的には、Akt/mTOR/p70S6K or 4E-BP1経路の各情報伝達分子の活性を、阻害剤による影響の検証も含めて実施した。以上のように、現象からメカニズムまでの総合的な評価を行った。

## 4. 研究成果

(1) ラットの足関節の底・背屈筋に一定の伸張刺激を加えることのできる、小動物用足関節運動装置(研究成果有体物として当大学知財部に登録)を開発し、商品化に至った。開発した小動物用足関節運動装置の動力源には、コンピュータにより制御できるステップモータを用いた。側臥位にしたラットの下腿部を固定し、モータの軸の回転運動によりラットの足底に取り付けた足底板を回転させ、足関節の他動的背屈運動を制御した。モータの軸にはトルクセンサを取り付けた。足関節を背屈させるときのトルクを測定し、モータへのフィードバックにより、一定のトルクが足関節に加わるように調節した。これにより、ラットのヒラメ筋等の筋に、常にあらかじめ設定した一定量の伸張刺激を加えることができ、伸張刺激を筋へ与える治療のシミュレーションが可能となった。

(2) 研究成果(1)で完成した小動物用足関節運動装置により、除神経ヒラメ筋に対する周期的伸張刺激(足関節を背屈位保持5秒間-中間位5秒間を繰り返すことによるヒラメ筋への周期的伸張刺激、(1日15分間、14日間)を行うと、筋萎縮が軽減することが判明した(Fig. 1)。また、この効果に、Akt/mTOR/p70S6K or 4E-BP1経路が必須であることを、各情報伝達分子の活性と、その阻害剤による影響の検証により明らかにした(Fig. 2)。

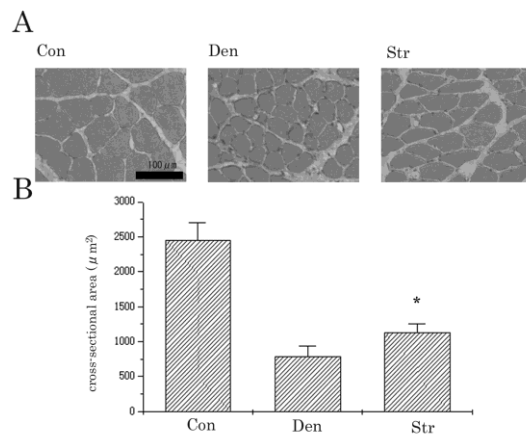


図1 除神経ヒラメ筋の筋線維横断面積に対する周期的伸張刺激の効果

AはCon群(sham手術のみを行ったコントロール群)、Den群(除神経のみを行ったコントロール群)、Str群(除神経後伸張刺激を行った群)の筋横断切片像。Scale bar = 100 μm。Bは各群の筋線維横断面積(mean ± standard deviation)。\*P < 0.05 Den群に対するStr群。

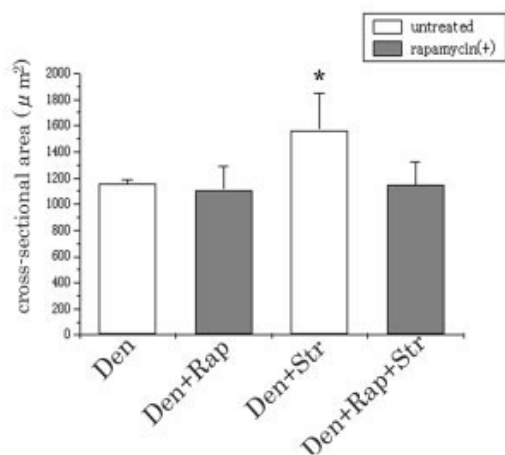


図2 除神経ヒラメ筋の筋線維横断面積に対するラパマイシンの効果

Den群(除神経のみを行ったコントロール群)、Den+Rap(除神経を行にラパマイシンを投与したコントロール群)、Den+Str群(除神経を行いストレッチングを与えた群)、Den+Rap+Str群(除神経を行いストレッチング前にラパマイシンを投与した群)の筋線維横断面積(mean ± standard deviation)。\*P < 0.05 他の全ての群に対するDen+Str群。

(3) シグナル活性と筋線維断面積とを指標に、小動物用足関節他動的背屈装置を用いて、伸張刺激の強さと筋萎縮軽減効果との関係を調べた。伸長刺激を与える期間や時間、周波数は研究成果(2)と同じ設定のもと、強さを3から8 mN・mの範囲で変えて比較した。その結果、ラットの足関節に他動的な背屈を6 mN・m以上のトルクで行うことにより、ヒラメ筋へ周期的伸張刺激を加えないと、筋萎縮軽減効果が出現しないことが判明した。

(4) 周期的伸張刺激を1日に加える時間と、筋萎縮軽減効果の関係について、小動物用足関節他動的背屈装置を用いて調べた。具体的には、1日に加える伸長刺激の時間を、7.5分間、15分間、30分間で比較した。なお、伸張刺激の強さは、研究成果(3)で明らかになった結果をもとに、ラットの足関節を7 mN・mのトルクで他動的に背屈させる周期的伸張刺激とした。その結果、1日に伸長刺激を加える時間が7.5分間では筋萎縮軽減効果は得られず、少なくとも、刺激を加える時間は15分間以上必要であることが判明した。ただ、本効果は、30分間の刺激でも有効であるが、15分間の刺激とほぼ同じか、若干小さい効果に留まることが判明した。

(5) 伸張刺激を加えるタイミング、すなわち30分間の伸張刺激を、1日1回で加えるか、2回に分けて15分間ずつ加えるかについて検討した。なお、伸長刺激は研究成果(4)と同様の、7 mN・mのトルクで他動的に背屈させる周期的伸張刺激とした。その結果、30分間の伸長刺激を2回に分け、6時間空けて15

分間ずつ1日2回加える方が、1回で30分間加えたものに比べ、筋萎縮軽減効果が高く、その効果が2倍になることが判明した。

(6) 包括的な理学療法として、周期的伸張刺激による筋萎縮軽減効果に対する熱刺激または栄養摂取の相乗効果の検証を行った。熱刺激に関しては、タイミングや時間の検討を詳細におこなった。その結果あらゆる条件において検証したにもかかわらず、本実験モデルにおいて周期的伸張刺激による筋萎縮軽減効果をさらに有意に高めるような熱刺激の条件は見つからなかった。一方、周期的伸張刺激の直前の栄養摂取による萎縮軽減効果向上に関しては、その効果的な方法について絞られてきた。その結果、周期的伸張刺激による筋萎縮抑制効果に対する栄養摂取は、若干の加算的效果が認められるが、相乗効果が認められるほどではないことが判明した。他者の研究で、熱刺激や栄養摂取による筋肥大効果の報告はある。しかしながら、少なくとも我々の実験系で、周期的伸張刺激による筋萎縮軽減効果を相乗的に高めることを、熱刺激や栄養摂取に期待することはできないと考える。

## 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 7 件)

- ① Kiyoshima D., Kawakami K., Hayakawa K., Tatsumi H., Sokabe M.: Force- and Ca<sup>2+</sup>-dependent internalization of integrin in cultured endothelial cells. The Journal of Cell Science, Vol.124(22): 3859-3870, 2010. 査読有
- ② 河上敬介:機械刺激による筋の肥大や萎縮軽減のメカニズム、日本物理療法学会会誌、38: 15-20、2011、査読無
- ③ Sasai N., Agata N., Inoue-Miyazu M., Kawakami K., Kobayashi K., Sokabe M., Hayakawa K.: Involvement of PI3K/Akt/TOR pathway in stretch-induced hypertrophy of myotubes. Muscle and Nerve, Vol.41(1): 100-106, 2010. 査読有
- ④ 河上敬介, 縣信秀, 宮津真寿美:運動、荷重、伸張が筋萎縮予防に与える効果とそのメカニズム、理学療法ジャーナル、43(7): 581-590、2009、査読無
- ⑤ Agata N., Sasai N., Inoue-Miyazu M., Kawakami K., Hayakawa K., Kobayashi K., Sokabe M.: Repetitive stretch suppresses denervation-induced atrophy of soleus muscle in rats. Muscle and Nerve, 39(4): 456-462, 2009.

査読有

[学会発表] (計 24 件)

- ① Agata N., Kataoka A., Inoue-Miyazu M., Hayakawa K., Kawakami K.: Influence of duration and frequency at suppressive effect of repetitive stretching on muscle. World Confederation for Physical Therapy, 2011.6.20, Amsterdam Holland
- ② Agata N., Kataoka A., Inoue-Miyazu M., Hayakawa K., Sokabe M., Kawakami K.: Passive stretch suppresses muscle atrophy in rats: effects of duration and frequency of stretch. International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry 2011, 2011.6.2, Nagoya
- ③ Sasai N., Agata N., Inoue-Miyazu M., Kawakami K., Sokabe M., Hayakawa K.: Association between PI3K/Akt/TOR pathway and stretch-induced hypertrophy in primary cultured chick myotubes. International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry 2011, 2011.6.2, Nagoya
- ④ Kiyoshima D., Kawakami K., Hayakawa K., Tatsumi H., Sokabe M.: Force-and Ca<sup>2+</sup>-induced internalization of integrin in cultured endothelial cells. The 88th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan, 2011.3.30, 誌上開催
- ⑤ Mochizuki M., Hasegawa N., Kawakami K., Yoshimura A., Toyokuni Y.: Metabolic effect of exercise in ovariectomized mature multiparous rats. The 88th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan, 2011.3.29, 誌上開催
- ⑥ 中川季美絵、鈴木惇也、岡元信弥、縣信秀、宮津真寿美、村上太郎、河上 敬介: 周期的伸張刺激直前の摂食が筋萎縮軽減に対する効果を高めるか、第 45 回日本理学療法学会大会、2010.5.27、岐阜
- ⑦ 鈴木惇也、縣信秀、宮津真寿美、河上 敬介: 伸張刺激の筋萎縮軽減効果は、伸張刺激の周波数によって異なる、第 15 回理学療法の医学的基礎研究会学術集会、2010.5.26、名古屋
- ⑧ Sasai N., Agata N., Inoue-Miyazu M., Kawakami K., Kobayashi K., Sokabe M., Hayakawa K.: Involvement of PI3K/Akt/TOR pathway in stretch-induced hypertrophy of primary cultured myotubes. The 87th Annual Meeting of The Physiological Society of Japan, 2010.5.19, Morioka
- ⑨ Agata N., Sasai N., Inoue-Miyazu M., Kawakami K., Hayakawa K., Kobayashi K., Sokabe M.: Repetitive stretching suppresses muscle atrophy of denervated soleus muscle via Akt/mTOR pathways. International Congress of Physiological Science, 2009.7.27, Kyoto
- ⑩ 河上 敬介: 機械刺激による筋萎縮抑制効果の研究—培養細胞、実験動物、そして臨床の検証と応用へ—、第 44 回日本理学療法学会大会、2009.5.29、東京
- ⑪ 片岡亮人、縣信秀、宮津真寿美、河上 敬介: 伸張刺激による筋萎縮軽減効果—1日に与える刺激量や時間が同じなら、1回よりも2回に分けた方が効果的である—、第 44 回日本理学療法学会大会、2009.5.28、東京
- ⑫ 片岡亮人、縣信秀、宮津真寿美、河上 敬介: 周期的伸張刺激による筋萎縮軽減効果—1日に与える刺激時間が同じなら、1回よりも2回に分けた方が効果的である—、第 14 回理学療法の医学的基礎研究会学術集会、2009.5.27、東京
- ⑬ Murakami T.: Relationship between mood profiles and plasma tryptophan ratio during the competition period in elite female wrestler. APS Intersociety meeting, 2008.9.25, South Carolina, USA
- ⑭ 川島 隆史、縣 信秀、宮津 真寿美、山本 創太、河上 敬介: 除神経ラットに対する他動的足関節背屈トルクとヒラメ筋萎縮抑制効果の関係、第 43 回日本理学療法学会大会、2008.5.16、福岡
- ⑮ 片岡 亮人、縣 信秀、宮津 真寿美、河上 敬介: 周期的伸張刺激で除神経筋に発生する特異筋線維の特徴、第 43 回日本理学療法学会大会、2008.5.16、福岡
- ⑯ 吉永麻里子、伊藤亜沙美、吉澤貴子、村上太郎: 持久運動前の分岐鎖アミノ酸投与が骨格筋の 4E-BP1 のリン酸化に及ぼす影響、第 62 回日本栄養・食糧学会大会、2008.5.3、埼玉

[図書] (計 2 件)

- ① 河上 敬介: 実践 MOOK 理学療法プラクティス 関節可動制限 (発展途上の理学療法—その可能性) 第 1 章 ミニレクチャー コラーゲンについて理解しよう!、45~46 頁、2009、文光堂
- ② 村上太郎: 運動トレーニングと骨格筋のタンパク質代謝. 身体トレーニング. (宮村実晴編)、428、2009、真興交易

[産業財産権]

○出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

研究者番号：40292841  
(H22～H23)

○取得状況（計 1 件）

名称：1. 小動物用足関節運動装置  
発明者：河上敬介  
権利者：国立大学法人名古屋大学産学官連携  
推進本部知的財産部  
種類：研究成果有体物  
番号：K20100098  
取得年月日：2010.07.01  
国内外の別：国内

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河上 敬介 (KAWAKAMI KEISUKE)  
名古屋大学・医学部・保健学科・准教授  
研究者番号：60195047

(2) 研究分担者

曾我部 正博 (SOKABE MASAHIRO)  
名古屋大学・医学系研究科・教授  
研究者番号：10093428

村上 太郎 (MURAKAMI TAROU)  
至学館大学・健康科学部・教授  
研究者番号：10252305

伊東 佑太 (ITO YUTA)  
名古屋学院大学・リハビリテーション学  
部・助手  
研究者番号：30454383  
(H23)

秋間 広 (AKIMA HIROSI)  
名古屋大学・総合保健体育科学センター・  
准教授  
研究者番号：40292841  
(H20～H21)

(3) 連携研究者

秋間 広 (AKIMA HIROSI)  
名古屋大学・総合保健体育科学センター・  
准教授