

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 1 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20500441

研究課題名（和文） 骨格筋衛星細胞活性化と MyoD ファミリー発現を指標とした至適運動負荷量の設定

研究課題名（英文） The setting of proper exercise load used activation in satellite cell and expression of MyoD family in skeletal muscle as index.

研究代表者

山崎 俊明 (YAMAZAKI TOSHIAKI)

金沢大学・保健学系・教授

研究者番号：00220319

研究分野：理学療法学

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：筋衛星細胞、MyoD ファミリー、運動負荷量、骨格筋

1. 研究計画の概要

骨格筋の肥大および萎縮現象のメカニズム解明は、リハビリテーション分野の理学療法学領域における介入方法の確立に必要な重要課題である。近年の研究結果から、筋肥大に関しては筋衛星細胞 (satellite cell; SC) 活性化の関与が示されている。筋萎縮に関しても筋核アポトーシスの可能性が示唆されている。また、筋細胞の分化制御因子として MyoD ファミリーの作用が解明されつつある。以上の背景から、筋衛星細胞の活性化と MyoD ファミリーの発現を指標とした運動負荷量の設定が臨床的に効率的と考えた。しかし、「筋衛星細胞の活性化に閾値が存在するか？」さらに「正常筋と萎縮筋で閾値が異なるか？」という問題が残存する。理学療法の臨床でも、正常筋と萎縮筋では運動負荷量の設定条件は異なると考えられているが明確な根拠はない。そこで本研究では、まず正常筋で筋衛星細胞の活性化閾値を検索し、さらに萎縮筋と正常筋の違いの有無を検証することを主目的とした。

2. 研究の進捗状況

(1) 平成20年度(2008年度)

運動負荷強度の違いによる骨格筋衛星細胞活性化および MyoD ファミリー発現への影響を調べた。MyoD、Myogenin および増殖細胞核抗原 (PCNA) mRNA 発現量を指標として正常ラットを用いて検討した。16度下り坂で30分間連続走行を実施、走行速度を5段階に設定した。運動負荷終了72時間後に、後肢よりヒラメ筋 (SOL) および長趾伸筋 (EDL) を採取した。抗ジストロフィン染色と抗 BrdU 染色の免疫二重染色を実施した。筋衛星細胞活性化を分析した結果、20m/min 以上群で有意に増加した。逆転

写酵素 - ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) 法を用いて目的遺伝子の存在を確認し、リアルタイム定量PCR法を用いて目的遺伝子 mRNA 量を測定した。その結果、20m/min 以上の運動負荷強度で Myogenin 発現量が増加傾向を示した。一方、PCNA 発現量は運動負荷により有意に減少した。MyoD と PCNA は類似した傾向を示したが、Myogenin と PCNA では類似した傾向を示さなかった。

(2) 平成21年度(2009年度)

運動負荷後の筋特異的遺伝子発現の継時的変化を調べた。低強度単回運動における影響について MyoD、myogenin、MHC-1、MHC-2a mRNA を指標として、運動負荷後 24、48、72 および 96 時間後に分析した。運動を実施しない対照群 (CON) と運動実施 24 (P24)、48 (P48)、72 (P72)、96 (P96) 時間後に両側ヒラメ筋を採取する計 5 群とした。結果、MyoD、MHC-1 発現量は変化なく、myogenin 発現量は P24 で CON に対して約 1.7 倍に、MHC-2a 発現量は P24、P48、P96 で CON に対して約 1.8 倍に増加したが群間に有意差はなかった。

(3) 平成22年度(2010年度)

過去2年間の正常筋における結果を踏まえ、廃用性萎縮筋に対する荷重刺激の影響を分析した。実験群は7日間の後肢懸垂を実施後さらに1日あるいは7日間、1) 後肢懸垂群 (HS8、HS14)、2) 毎日1時間荷重群 (WB8、WB14)、3) 通常飼育群 (RL8、RL14) に分類した。目的遺伝子は細胞増殖促進作用のある MGF と筋特異的転写因子の一つである MyoD を用いた。結果、MGF 発現量は8日目では RL8 が HS8 や WB8 と比べて有意に大きく、14日目では HS14 に対して RL14 が大きかったが有意差はなかった。MyoD 発現量は8日目では HS8 と WB8 は小さい値を示したが、RL8 は他の群と比較して有意に大きかった。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

研究計画書に記載した、研究計画・方法に従い、平成20年度は正常筋を対象に運動負荷強度の違いによる筋衛星細胞活性化、MyoDファミリー発現への影響を検討した。20m/min以上の運動負荷強度でMyogenin発現量が増加傾向を示した結果を踏まえ、平成21年度は閾値上と考えられる24m/minの30分間連続走行を採用し、単回運動負荷後の筋特異的遺伝子発現の継時的変化を調べた。平成22年度は、過去2年間の正常筋における結果を踏まえ、廃用性萎縮筋に対する(運動負荷を加えない)荷重刺激の影響を分析した。その結果、荷重刺激は廃用性筋萎縮の進行を抑制したが、反応は筋全体で一様ではなく長軸部位(近位・筋腹中央部・遠位)により反応が異なることが新たに判明した。廃用性萎縮筋では荷重刺激により微細な筋損傷が生じ、効果のある運動許容範囲が狭いことが示唆され、運動負荷量の閾値を考慮した負荷量設定の重要性が確認できた。

研究成果としては後記した(代表的な研究成果)以外に、現在、本研究内容の一部を論文文化し投稿中である。

また、2011年6月にオランダで開催される国際理学療法学会に、本研究内容に関する演題が採択されており発表予定である。

4. 今後の研究の推進方策

3年間の研究結果を踏まえ、最終年度である平成23年度(2011年度)は荷重刺激より負荷量が多い歩行刺激による影響を分析する予定である。さらに、反応は骨格筋全体で一様ではなく長軸部位(近位・筋腹中央部・遠位)により異なることが新たに判明したことを踏まえ、部位別の対応の可否を検討することを考えている。

臨床では、臥床後に歩行練習を実施する機会が多いが、廃用性萎縮筋に対する歩行と荷重刺激に対する反応の違いが分析できれば、より効果的かつ効率的な理学療法介入方法(例えば、段階的負荷量漸増法など)を示唆する基礎データを提示できると考えている。

5. 代表的な研究成果

(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2件)

- ① 西川正志, 山崎俊明, 都志和美: 再荷重がラットヒラメ筋廃用性萎縮の回復に及ぼす影響-筋の部位による相違-. 理学

療法科学 26 (2011), 133-137, 査読有

- ② Miyata T, Tanaka S, Yamazaki T.: MyoD, myogenin and myosin heavy chain mRNA expression in rat skeletal muscle after a single session of low-intensity treadmill exercise. J Phys Ther Sci. 21 (2009), 379-383, 査読有

[学会発表] (計3件)

- ① Miyata T, Tanaka S, Yamazaki T.: Walking and weight bearing prevent skeletal muscle atrophy in hindlimb-suspended rat. 11th International Congress of the Asian Confederation for Physical Therapy. 2010. 10. 12, Sanur Paradise Plaza Hotel (Bali, Indonesia)
- ② 西川正志, 山崎俊明, 足立和美: 再荷重がラットヒラメ筋廃用性萎縮の回復に及ぼす影響-筋の部位による相違-. 第45回日本理学療法学会大会, 2010年5月27日, 長良川国際会議場(岐阜県)
- ③ 宮田卓也, 田中正二, 山崎俊明: ラット骨格筋における単回のトレッドミル運動負荷後のMyoD, myogenin, MHC mRNA発現量の検討. 第34回日本運動療法学会, 2009年6月21日, 早稲田大学国際会議場(東京都)