

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5月18日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700530

研究課題名（和文） 効率的トレーニング法解明の基盤となる筋衛星細胞活性化機構の研究

研究課題名（英文） Study of activation mechanism of satellite cell: Basis for elucidate an efficient training method

研究代表者

田中 正二 (TANAKA SHOJI)

金沢大学・保健学系・助教

研究者番号：70422657

研究成果の概要（和文）：本研究では、in vivo での骨格筋肥大における筋衛星細胞の活性化機構に対する肝細胞増殖因子の役割について検討した。骨格筋への負荷によって肝細胞増殖因子受容体および筋分化因子の増加が認められたが、肝細胞増殖因子は変化が認められなかった。筋衛星細胞活性化において、肝細胞増殖因子は量的な変化よりも質的变化が重要であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：We investigated the role of hepatocyte growth factor in the satellite cell mechanism of activation related to the skeletal muscle hypertrophy in vivo in rat. The results show that whereas the levels of the hepatocyte growth factor receptor and that of the muscle differentiation factor increased in response to muscle load, the levels of hepatocyte growth factor remained unchanged. These results suggest that the qualitative changes rather than quantitative changes of hepatocyte growth factor may be more important for the satellite cell activation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：リハビリテーション、骨格筋、肥大

1. 研究開始当初の背景

医学的リハビリテーションにおいて、外傷

後のギプス固定や慢性疾患による不動を契機とした二次的な廃用性筋萎縮の早期回復や、残存機能の強化を効率的に行うことが重要である。特に骨格筋を肥大させるために、効率的にトレーニングを実施することが必要であるが、その肥大メカニズムは十分には解明されていない。筋線維の伸張刺激や損傷を契機に肝細胞増殖因子（HGF）と衛星細胞表面に存在する HGF 受容体（c-Met）が結合し、骨格筋に存在する未分化な細胞である筋衛星細胞を活性化させ、増殖、分化、融合することで修復や肥大に関与していると考えられている。しかし、筋を肥大させるためには反復刺激もしくは長期的な刺激が必要であり、HGF および c-Met の発現変化と筋肥大の関連について検討した報告は見られない。

2. 研究の目的

持続的負荷が HGF 発現、筋衛星細胞活性化および筋肥大に及ぼす影響を調査することを目的として研究を実施した。

3. 研究の方法

骨格筋肥大に対する肝細胞増殖因子（HGF）の作用を検証するため、2つの実験を行った。すべての実験は金沢大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

(1) ラット下肢筋への単回刺激による HGF protein 発現の変化

9 週齢 Wistar 系雄ラットの electrical stimulator を用いて右坐骨神経へ 5V、5 分間の単回電気刺激を実施し、1、3、7 日後に足底筋および血液を採取した。ELISA 法を用いて試料中の Total HGF protein 量を定量した。

(2) 足底筋持続的過負荷の影響

麻酔下にて 9 週齢 Wistar 系雄ラットの右下腿末梢側を切開し、下腿三頭筋末梢部およびヒラメ筋末梢部を切除することで右足底筋の共同筋切断モデルを作成した。左下肢は皮膚切開のみ行い対照筋とした。24 時間、28 時間、28 日後に組織を採取した。その後、Real-time PCR 法を行い、HGF、c-Met、MyoD、

myogenin mRNA の発現量を対照群と比較した。また、一部の組織を凍結後、ヘマトキシリン-エオジン（HE）染色および MyoD、myogenin の免疫染色を行った。HE 染色画像より、筋線維横断面積を計測し、持続的過負荷筋と対照筋間の平均値差の差を統計学的に比較した。

4. 研究成果

(1) ラット下肢筋への単回刺激による HGF protein 発現の変化

ラット坐骨神経に対して電気刺激を加えたが、血清中および足底筋中の HGF protein 濃度は変化しなかった（図 1、2）。HGF は伸張刺激が加わっても即座に産生されるのではなく、非活性な状態から活性な状態へ移行することが知られており、電気刺激においても HGF 産生は急激な変化を示さなかった。

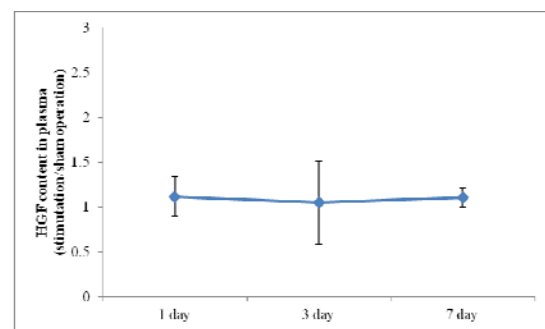


図 1. 血清中の HGF protein 濃度

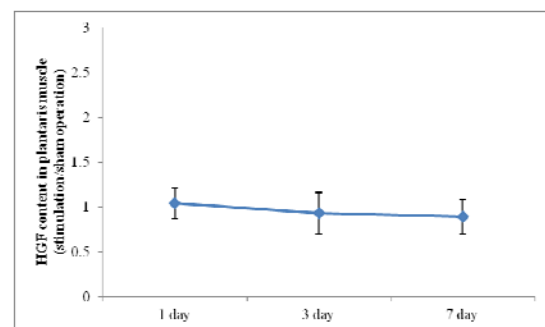


図 2. 足底筋中の HGF protein 濃度

(2) 足底筋持続的過負荷の影響

体重に対する筋湿重量は持続的過負荷によって 21%増加し、筋線維横断面積は 31%増加した（図 3、4、5）。

c-Met および myogenin mRNA 発現量は共同筋切断 24 時間から有意に増加し、MyoD mRNA は 48 時間後から有意に増加した。HGF mRNA

も増加傾向であったが、対照筋に対して有意な増加ではなかった (図 6)。

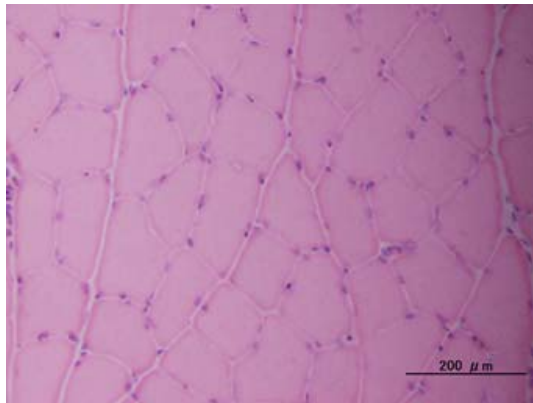


図 3. 共同筋切断 28 日後の筋線維横断面 (対照筋)

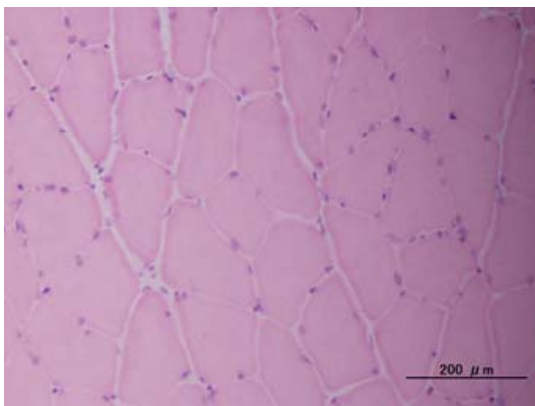


図 4. 共同筋切断 28 日後の筋線維横断面 (持続的過負荷筋)

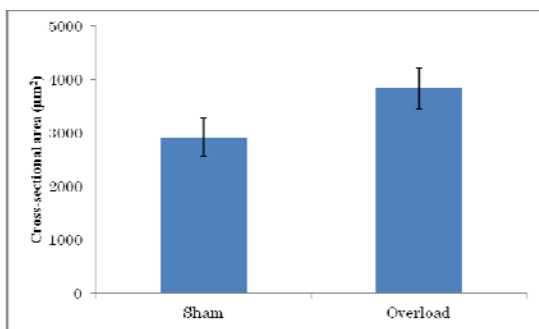


図 5. 共同筋切断 28 日後の筋線維横断面積

免疫染色において、MyoD は共同筋切断 48 時間、myogenin は 24 時間から明らかなシグナル増強が確認された (図 7、8)。

これらの結果は、骨格筋への持続的負荷が肝細胞増殖因子受容体の発現と筋衛星細胞

の活性化を誘導し、筋肥大をもたらしたことを示唆しているが、HGF との関与については、十分な解明には至らなかった。

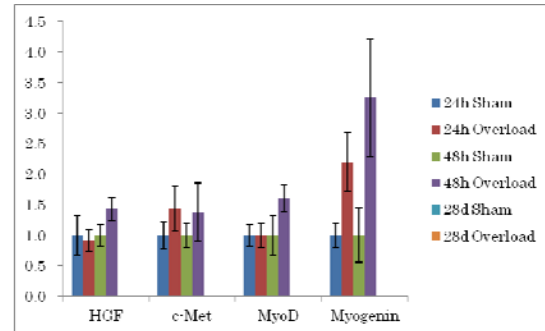


図 6. 共同筋切断後 24 時間、48 時間後の mRNA 発現量

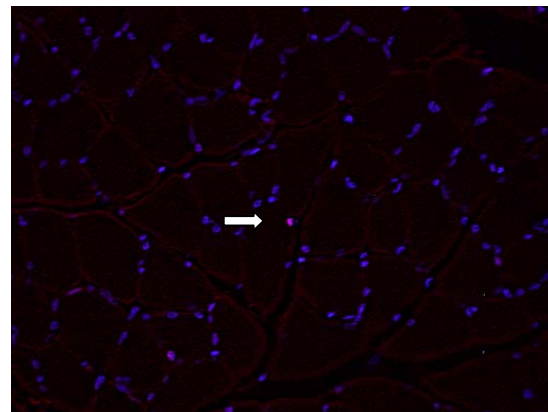


図 7. 共同筋切断 48 時間後の免疫染色。Red は MyoD、Blue は核。

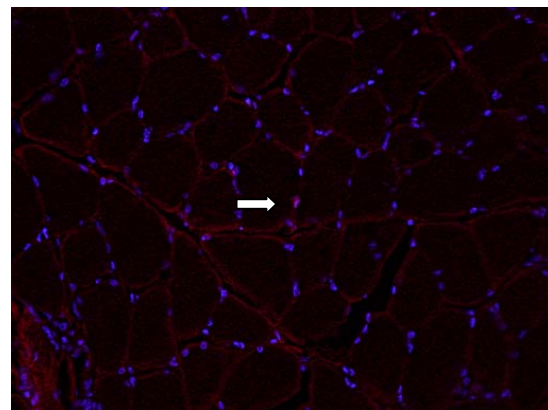


図 8. 共同筋切断 48 時間後の免疫染色。Red は Myogenin、Blue は核。

今後、HGF シグナル伝達経路についても十分な検討が必要であると考えられた。

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)

[学会発表] (計1件)

田中正二：筋活動が AChR 凝集機構に与える影響. 第 45 会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)

[その他]

ホームページ等

http://phys_ther.w3.kanazawa-u.ac.jp/staff_10/staff_10.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 正二 (TANAKA SHOJI)
金沢大学・保健学系・助教
研究者番号：70422657

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし