

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700605

研究課題名(和文)ステロイド筋症に対する低強度筋収縮運動と温熱刺激を併用した新たな治療の効果を探る

研究課題名(英文) Investigation of a new combination therapy of low-intensity exercise and heat stress for steroid myopathy

研究代表者

森本 陽介 (MORIMOTO, Yosuke)

長崎大学・大学病院・理学療法士

研究者番号：40534409

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：現在の医療においてステロイド剤を用いる治療は多いが、多岐にわたる副作用が問題となる。その中でも、筋萎縮が生じるステロイド筋症は患者の生活において重要な問題となる。その治療法として、低強度の筋収縮運動および温熱刺激は筋萎縮の進行を抑制することが明らかとなった。さらに、両者を併用するとステロイド筋症の進行抑制効果はより大きいことも明らかにした。そして、温熱刺激による筋萎縮進行抑制効果のメカニズムには、Hsp72の増加による筋タンパク質分解の抑制が関与している可能性がある。

研究成果の概要(英文)：A number of patients with various medical conditions undergo steroid therapy to prevent inflammation or immunization in several medical conditions. However, it is well known that steroids progressively impact health during continued use owing to their side effects. Amongst these, steroid myopathy, characterized by muscle fiber atrophy, is one such condition that drastically affects a patient's life. In this study, we elucidate that low-intensity exercise and heat stress can prevent steroid myopathy and establish that a combination of both is more effective than an individual treatment in preventing the progress of steroid myopathy. It is possible that the mechanism by which heat stress prevents steroid myopathy involves an increase in heat shock protein 72 and an inhibition of muscle protein breakdown.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学

キーワード：ステロイド筋症 温熱刺激 低強度筋収縮運動

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチや重症筋無力症、気管支喘息などに対して、抗炎症・抗免疫効果を狙ってステロイド剤が投与されることは多いが、多岐にわたる副作用が問題となるのも事実で、中でも運動器の副作用として知られているステロイド筋症の発症は速筋線維優位の筋萎縮が生じることから筋力低下が顕著に認められる。つまり、上記の疾患群のリハビリテーションを進める上では疾患特有の病態のみならず、ステロイド筋症に伴う筋萎縮・筋力低下の進行を予防することが重要である。先行研究においては、ステロイド筋症に対する筋収縮運動は筋萎縮・筋力低下の予防に有効であることが示唆されており、実際、申請者が所属する研究室においても同様の結果を報告している。しかし、ステロイド筋症を呈した症例の中には原疾患そのものの特異的な病態や二次的な廃用症候群のために積極的な筋収縮運動が実施できない場合も少なくなく、筋収縮運動以外の方法で筋萎縮・筋力低下を治療する新たな方法の開発が求められている。

そこで、申請者はステロイド筋症に対する新たな治療方法の開発を目的に、その実験モデルラットに対する温熱刺激の影響について検討してきた。その結果、ステロイド筋症の進行過程において温熱刺激を負荷すると、完全ではないものの、すべての筋線維タイプに筋萎縮の進行抑制効果が認められた。しかしその反面、ステロイド筋症が発症した後に温熱刺激を負荷してもすべての筋線維タイプで萎縮の改善効果は認められなかった。

一方、近年の先行研究を概観すると、健康成人に対して筋肥大を起こさないような低強度の筋収縮運動に温熱刺激の負荷を併用して実施すると、それぞれを単独で実施するよりも筋力増強効果ならびに筋肥大効果が著しかったという報告がなされている。そして、この報告を裏付ける基礎研究の成果として、ラット骨格筋に温熱刺激を負荷した後に代償性肥大が惹起される高強度の筋収縮運動を負荷しても筋肥大は生じないことが報告されている。そこで、申請者らもこれまで、低強度の筋収縮運動と温熱刺激を併用した方法がラット腓腹筋の廃用性筋萎縮におよぼす影響を検討してきた。その結果、単に温熱刺激を負荷するよりも低強度の筋収縮運動と温熱刺激を併用した方が筋萎縮の進行抑制効果が顕著であり、しかも、正常筋においても筋肥大効果が認められる高強度の筋収縮運動に温熱刺激を併用しても廃用性筋萎縮の進行抑制効果は認められないことが確認できている。つまり、ステロイド筋症の筋萎縮の治療としても低強度の筋収縮運動と温熱刺激を併用する方法は有効ではないかと考えられる。

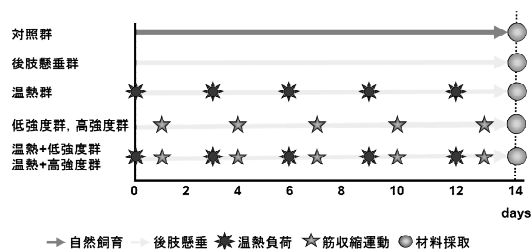
2. 研究の目的

- (1) 低強度の筋収縮運動単独と温熱刺激を併用した方法の効果の違いについての検討
- (2) ステロイド筋症由来の筋萎縮に対する低強度の筋収縮運動と温熱刺激を併用した方法の効果の検討
- (3) 筋量を増大させるインスリン様成長因子 (Insulin-like growth factor; IGF)-1 と分子シャペロン機能により変性タンパク質の修復を行う熱ショックタンパク質 (Heat shock orptein; Hsp)72, タンパク質分解に重要な役割を示す ubiquitine proteasome system (UPS) の指標となる MuRF1 および atrogen-1 の検索を実施し、ステロイド筋症の進行抑制効果に関するメカニズムの検討

3. 研究の方法

実験 1

実験動物には 8 週齢の Wistar 系雄性ラット (n=36) を用い、これらを無作為に対照群と廃用性筋萎縮を惹起させる目的で 2 週間の後肢懸垂を行う後肢懸垂群、後肢懸垂期間中に温熱負荷を実施する温熱群、後肢懸垂期間中に低強度の筋収縮運動を実施する低強度群、後肢懸垂期間中に温熱負荷と低強度の筋収縮運動を併用して実施する温熱+低強度群、後肢懸垂期間中に高強度の筋収縮運動を実施する高強度群、後肢懸垂期間中に温熱負荷と高強度の筋収縮運動を併用して実施する温熱+高強度群に振り分けた。

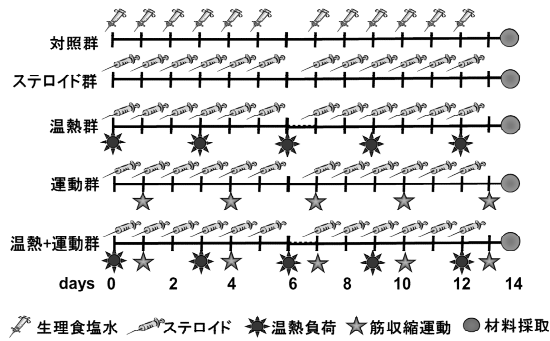


温熱負荷は約 42 °C の温水浴内に 60 分間ラットの後肢を浸漬する方法で行い、筋収縮運動は経皮的に電気刺激する方法で行い、刺激条件は周波数 50Hz, パルス幅 250 μsec, 実施時間 20 分とした。なお、刺激強度として低強度の場合は 2mA とし、これは腓腹筋の筋収縮が触診可能であるが、関節運動が引き起こされない程度の強度である。一方、高強度の場合は 4mA とし、これは関節運動が最大に引き起こされる強度である。実験終了後は両側腓腹筋を採取し、左側筋試料の凍結横断切片をミオシン ATPase 染色し、深層部のタイプ IIb 線維の筋線維直径を計測した。

実験 2

実験動物には 8 週齢の Wistar 系雄性ラット 25 匹を用い、これらを無作為に、生理食塩水を投与する対照群、ステロイド筋症を惹起させる目的で 2 週間のステロイド剤投与を行うステロイド群、ステロイド剤投与中に温熱負荷を実施するステロイド+温熱群、ステロイド剤投与中に低強度の筋収縮運動を実施する運動群、ステロイド剤投与中に温熱負

荷と低強度の筋収縮運動を併用して実施する温熱+運動群に振り分けた。



生理食塩水およびステロイド剤は1週間に6日間の頻度で2mg/kg量を傍脊柱に皮下投与した。温熱負荷は約42℃の温水浴内に60分間ラットの後肢を浸漬する方法で行った。筋収縮運動は経皮的に電気刺激する方法で行い、刺激条件は刺激強度2mA、周波数50Hz、パルス幅250μsec、実施時間20分とした。いずれも3日に1回の頻度で実施した。ステロイド投与はリン酸デキサメタゾンナトリウムを傍脊柱に皮下注射(2mg/kg, 6回/週)し、対照群に対しては同様に生理食塩水を皮下注射した。また、温熱刺激は42℃に設定した温水浴内に後肢を60分間浸漬する方法(1回/3日)で行った。2週間の実験期間終了後は体重測定と速筋線維主体の長指伸筋を採取し筋湿重量を測定した。対照群、ステロイド群、温熱群では生化学的検索として、ELISA法でIGF-1含有量を、Western blot法でHsp72発現量を測定した。また、分子生物学的検索としてreal time RT-PCR法を用い、MuRF1、atrogen-1のmRNA量を相対定量解析にて算出した。

いずれの実験結果にも統計処理には一元配置分散分析(以下、ANOVA)を適用し、ANOVAにて有意差を認めた場合は多重比較検定にFisherのPLSD法を用い、各群間の比較を行った。なお、すべての統計手法とも有意水準は5%未満とした。

4. 研究成果

実験1の結果として、筋線維直径は、対照群と比較するとその他のすべての群で有意に低値を示し、HS群と比較すると温熱+低強度群と高強度群が有意に高値を示した。

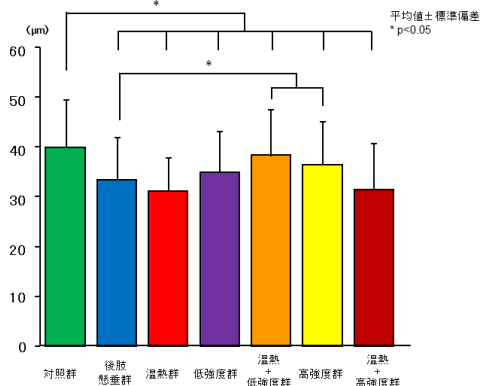


図1. 平均筋線維直径

この結果から、低強度の運動単独よりもそれに加えて温熱刺激を併用する方法の方が筋萎縮を予防するのに効果的であることがわかった。

次に実験2の結果として、相対重量比はステロイド群が最も低値を示し、次いで温熱群、運動群、温熱+運動群の順に高値となった。

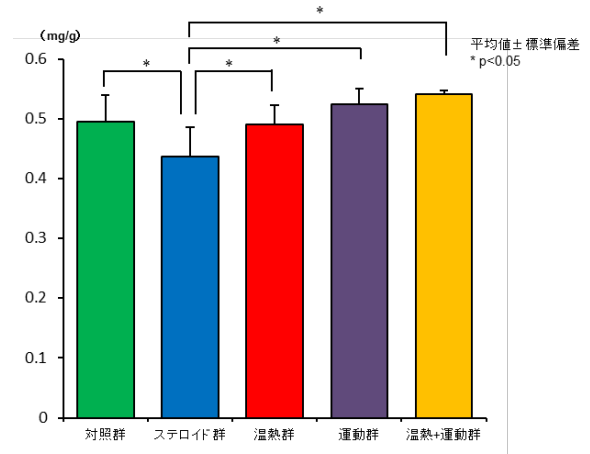


図2. 相対重量比

従って、ステロイド筋症ラットに対して温熱刺激または低強度の筋収縮運動を単独で負荷するよりも、両者を併用した方が筋萎縮の進行抑制効果を得られることが示唆された。

そして、対照群、ステロイド群、温熱群の3群において、IGF-1含有量は対照群と比較してステロイド群と温熱群で有意に低値を示し、Hsp72発現量は対照群と比較してステロイド群に有意差はないものの、温熱群はこの2群と比較して有意に高値を示した。さらに、MuRF1およびatrogen-1 mRNAは対照群と比較してステロイド群で有意に高値を示し、ステロイド群と比較して温熱群は有意に低値を示し、コントロール群と同程度であった。

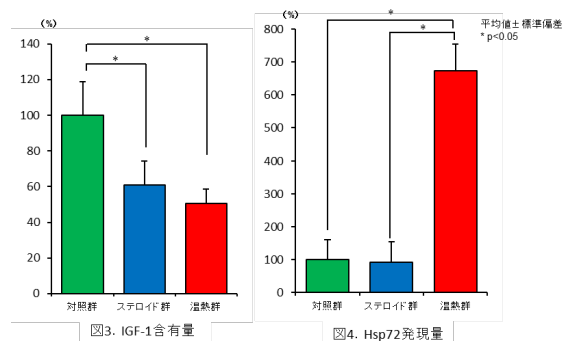


図3. IGF-1含有量

図4. Hsp72発現量

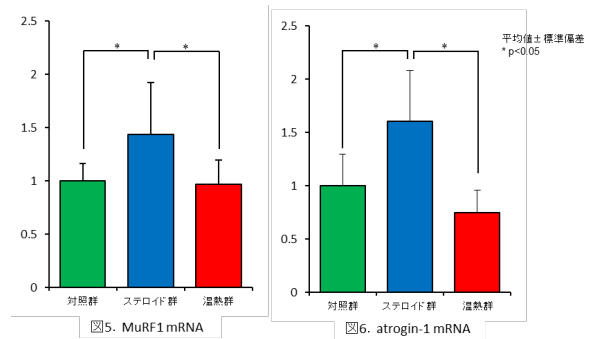


図5. MuRF1 mRNA

図6. atrogen-1 mRNA

つまり、温熱刺激によるステロイド筋症の進行抑制効果には、Hsp72 の増加による UPS の抑制が関与していることが示唆される。

国内外において、ステロイド筋症に対し温熱刺激の影響を検討した報告は見当たらず、さらに低強度の筋収縮運動を併用した報告もみられない。つまり、本研究成果は国内外において温熱刺激と低強度の筋収縮運動の併用がステロイド筋症の進行を抑制することを初めて報告したことになる。さらに、本研究の治療法は臨床においても簡便に応用することが可能であり、費用対効果の高い治療法でもあるため、本研究成果のインパクトは大きいと考えている。

今後の展望として、温熱刺激単独でのステロイド筋症の進行抑制効果に関するメカニズムの一端は解明できたが、低強度の筋収縮ならびに温熱刺激の併用におけるステロイド筋症の進行抑制効果については検討できていない。そのため、このメカニズム関わる分子の検索を実施し、ステロイド筋症に対する温熱刺激と低強度の筋収縮運動という新たな治療法のエビデンスを確立していく必要があると考えている。

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 1 件)

Yoshida Nao, Morimoto Yosuke, Kataoka Hideki, Sakamoto Junya, Nakano Jiro, Okita Minoru, Effects of combination therapy of heat stress and muscle contraction exercise induced by neuromuscular electrical stimulation on disuse atrophy in the rat gastrocnemius, journal of Physical Therapy Science, 査読有, 25 巻, 2013, 201-206, <http://dx.doi.org/10.1589/jpts.25.201>

〔学会発表〕(計 3 件)

Morimoto Yosuke, kataoka Hideki, Honda Yuichiro, Kondo Yasutaka, Junya Sakamoto, Kozu Ryo, Nakano Jiro, Okita Minoru, Effects of heat stress on glucocorticoid-induced myopathy, XXIst World Congress of Neurology, 2013 年 9 月 23 日, ウィーン
森本陽介, 吉田奈央, 近藤康隆, 片岡英樹, 坂本淳哉, 神津玲, 中野治郎, 沖田実, 温熱刺激によるステロイド性筋萎縮の進行抑制効果のメカニズムの検討, 第 47 回日本理学療法学会大会, 2012 年 5 月 27 日, 神戸市
吉田奈央, 片岡英樹, 坂本淳哉, 森本陽介, 中野治郎, 沖田実, 温熱負荷と筋収縮運動の併用がラット腓腹筋の廃用

性筋萎縮におよぼす影響, 第 46 回日本理学療法学会大会, 2011 年 5 月 27 日, 宮崎市

〔その他〕

ホームページ等

http://www.am.nagasaki-u.ac.jp/pt/basic_pt/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森本 陽介 (MORIMOTO, Yosuke)
長崎大学・大学病院・理学療法士
研究者番号: 40534409

(3) 連携研究者

沖田 実 (OKITA, Minoru)
長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 50244091

中野 治郎 (NAKANO, Jiro)
長崎大学・医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号: 20380834

坂本 淳哉 (SAKAMOTO, Junya)
長崎大学・医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号: 20584080