

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：13501
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2012～2015
課題番号：24700719
研究課題名(和文)酸化ストレスに着目した膝前十字靭帯再建術後にみられる骨格筋萎縮の予防戦略の開発

研究課題名(英文)Influence of antioxidant supplementation on muscle atrophy following anterior cruciate ligament reconstruction

研究代表者
安藤 大輔(ANDO, Daisuke)

山梨大学・総合研究部・准教授

研究者番号：10447708
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は膝前十字靭帯(ACL)再建術後に生じる筋萎縮に対する α-リポ酸摂取の影響を検討することである。ACL再建術を行う被験者を無作為に α-リポ酸摂取群(10名)とプラセボ摂取群(10名)に割り付けた。被験者には手術の1日前から4週間に渡り1日2回サプリメントを摂取させた。大腿四頭筋の筋体積はMRIにより測定した。大腿四頭筋の筋萎縮は両群に認められた。しかしながら、α-リポ酸摂取による筋萎縮の抑制効果は認められなかった。ACL再建術後に炎症や筋損傷が認められた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to evaluate the influence of α-lipoic acid (LA) supplementation on muscle atrophy following anterior cruciate ligament (ACL) reconstruction. A randomized controlled trial was conducted in subjects undergoing ACL surgery, who were randomly assigned to either: (1) LA (n=10), or (2) placebos (n=10). Subjects took supplements twice daily for 1 day prior to and up to 4 weeks after surgery. Quadriceps muscle volume was measured on magnetic resonance imaging (MRI). Muscle atrophy of quadriceps was apparent in both groups. However, LA supplementation did not inhibit muscle atrophy. Following ACL surgery, inflammation and muscle damage increased in both groups.

研究分野：複合領域

キーワード：前十字靭帯 筋萎縮 酸化ストレス 抗酸化物質 α-リポ酸

1. 研究開始当初の背景

膝前十字靭帯 (ACL) 損傷の多くは、スポーツ活動中に引き起こされ、受傷後にスポーツ活動へ復帰するためには、ACL 再建術とその後のリハビリテーションが必須である。しかしながら、復帰には、半年から一年の期間を要するといわれており、スポーツ外傷としては、重度の損傷として知られている。このような競技復帰の遅延の要因には再建靭帯の成熟のみならず、骨格筋萎縮をはじめとする筋機能回復の遅れに起因しているといわれている。ACL 再建術後の骨格筋萎縮の特徴として、長期にわたり大腿四頭筋に生じることが示唆されている。すなわち、この膝伸筋群の骨格筋萎縮を効果的に予防することがスポーツ現場への早期の復帰につながると考えられる。しかし、再建術後には、移植腱の生物学的固定が得られるまで力学的負荷を与えないようにすることが重要とされる。そのため、再建術後の早期から実施できるリハビリテーションは限られ、その間に骨格筋萎縮が進行することが問題となる。したがって、特に再建術後の早期から実施できる骨格筋萎縮の新たな予防方法を検討することが重要である。

近年、廃用性萎縮のみならずサルコペニア (加齢に伴う骨格筋量や筋力の低下) や糖尿病・癌などの疾患に伴う骨格筋萎縮にも生体内の酸化ストレスが影響していることが示唆されている。これまでに、ACL 再建術中、再建術後に酸化ストレスレベルが上昇することが示されている。したがって、ACL 再建術後に生じる骨格筋萎縮の原因の一部に酸化ストレスが関わっている可能性もある。しかしながら、ACL 再建術後の骨格筋萎縮と生体内の酸化ストレスの関連は十分に検討されていない。これまで酸化ストレスを軽減する抗酸化物質投与の影響を検討している報告は1件のみであり、その報告では骨格筋萎縮の抑制効果は認められていない。しかし、抗酸化物質には様々な種類が存在し、それぞれで消去できる活性酸素種・フリーラジカルの種類が異なり、その消去能力にも違いがある。また、抗酸化効果を発現する部位にも特徴があることから、ACL 再建術後の骨格筋萎縮と生体内の酸化ストレスの関連を明らかにするためには、投与する抗酸化物質の違いやその投与量などを考慮した新たな研究プロトコルを用いて検討する必要がある。

2. 研究の目的

本研究の究極的な目標は、骨格筋萎縮と酸化ストレスの関連に着目した ACL 再建術後の骨格筋萎縮を抑制する新たな予防戦略の確立であった。そこで、酸化ストレスを軽減する抗酸化物質の投与が ACL 再建術後の骨格筋萎縮を抑制することができるかを検討した。本研究では抗酸化物質として α -リポ酸 (α -lipoic acid) を用いた。

3. 研究の方法

(1) 研究デザイン

ランダム化比較試験

(2) 研究対象者

研究対象者は、膝 ACL の再建術を受けるものとした。研究対象者に対し、倫理委員会承認の得られた同意説明書により、文書及び口頭による説明を行い、研究への参加についての同意を文書で得た。対象者数は 20 名とし、ブロックランダム化法により抗酸化物質投与群 (10 名) と対照群 (10 名) に割り付けた。

(3) 介入内容

抗酸化物質投与群は、ACL 再建術 1 日前から 4 週間に渡り、 α -リポ酸を経口摂取させた。対照群には、同じ期間プラセボ (Placebo) を摂取させた。

(4) 抗酸化物質の投与 :

本研究では、安全性を考慮し市販されている α -リポ酸のカプセル剤を使用した。摂取方法としては、1 日 2 回 (朝食後及び夕食後) の経口摂取とし、摂取量としては 1 回 105 mg とした。

(5) 主要評価項目

大腿四頭筋の筋体積を算出するため ACL 再建術前と再建術 4 週間後に大腿部の MR 撮像を実施した。画像の解析は、画像解析ソフト (Image J) を用い大腿四頭筋の連続横断面の各筋断面積を求め、筋体積を算出した。筋体積は、撮像した画像の横断面積を連続的に加算することにより求め、骨格筋萎縮の評価に用いた。

(6) 副次評価項目

血液を手術の前日、直前、直後、翌朝、3 日後、1 週間後、4 週間後に採取した。得られた血清・血漿を各種指標の測定まで -80°C で保存した。測定項目は、血中酸化ストレスマーカー (d-ROMs)、血中抗酸化能 (BAP)、血中逸脱酵素 (CPK)、血中炎症反応マーカー (高感度 CRP)、血清ミオスタチンとした。なお、各種血液指標の変化に関しては、手術前日からの変化率を算出した。

4. 研究成果

(1) ACL 再建術前と 4 週間後の大腿四頭筋体積の変化

患側の大腿四頭筋の筋体積は両群共に術後 4 週間で低下することが確認された (図 1)。再建術前の大腿四頭筋体積に群間で違いが認められたため、再建術前からの大腿四頭筋の萎縮率を算出し、群間の差を観察した (図 2)。その結果、両群とも 4 週間後には再建術前から大腿四頭筋体積が約 15% 低下することが認められたが、群間での差は認められなかった。この結果から、今回用いた量の α -リポ

酸の経口摂取では大腿四頭筋の筋萎縮は抑制できないことが明らかとなった。また、健側の大腿四頭筋の萎縮率は患側の萎縮率に比較し、有意に小さかったことから、患側での筋萎縮は廃用性の筋萎縮のみでは説明できない面がある可能性が示唆された (図 3)。

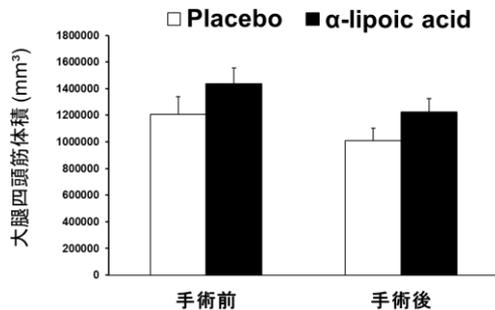


図 1. ACL 再建術前後での大腿四頭筋体積

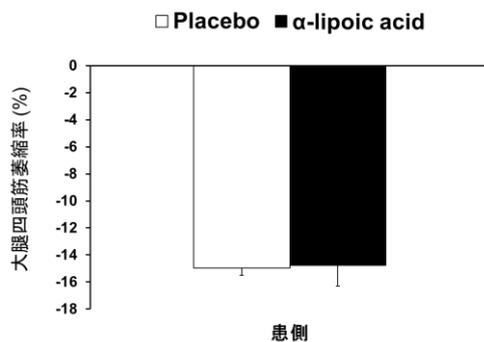


図 2. 患側での大腿四頭筋の萎縮率

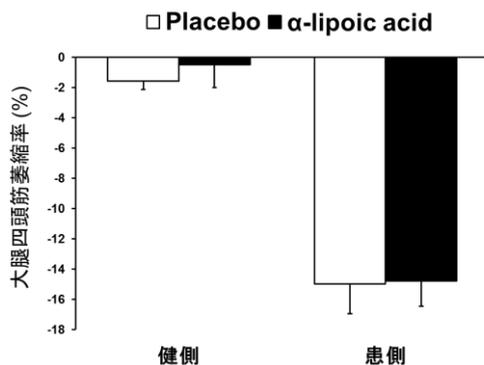


図 3. 健側及び患側の大腿四頭筋の萎縮率

(2) ACL 再建術前から 4 週間の血中酸化ストレス指標の変化

酸化ストレス指標として用いた血清 d-ROMs は手術 3 日後, 1 週間後にかけて増加することが示された。しかしながら, 群間に有意な差は認められなかった (図 4)。また, 生体内の抗酸化能力の指標として用いた血清 BAP は手術後に低下することが確認された

が, d-ROMs と同様に群間での差は認められなかった (図 5)。本研究では安全性を考慮し市販されている α-リポ酸を用い摂取量も目安量を採用したが, ACL 再建術後に認められる全身の酸化ストレスの増加を抑制する効果は認められなかった。本研究では萎縮した大腿四頭筋内の酸化ストレスレベルや抗酸化レベルは測定していないため推測の域を出ないが, 骨格筋内における酸化ストレスを十分に抑制できなかったことが筋萎縮を軽減できなかった理由の 1 つである可能性もある。したがって, ACL 再建術後に生じる大腿四頭筋の筋萎縮と酸化ストレスの関連はさらに検討する必要があると考えられる。

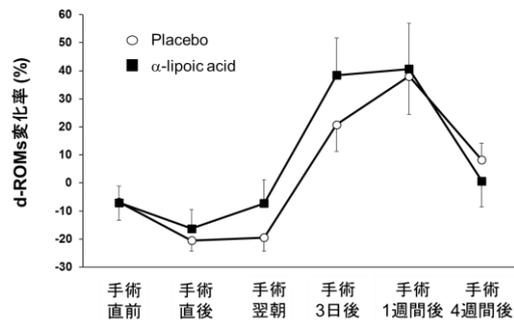


図 4. 血清 d-ROMs の変化

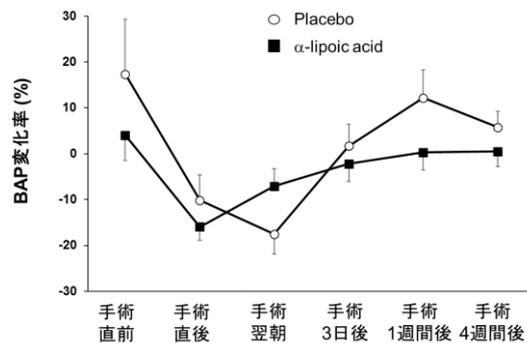


図 5. 血清 BAP の変化

(3) ACL 再建術前から 4 週間の血中炎症指標及び筋損傷指標の変化

本研究にて炎症指標として用いた C 反応性蛋白 (CRP) は手術 3 日後に顕著に増加したが, 群間に有意な差は認められなかった (図 6)。また, 筋損傷指標として用いたクレアチンキナーゼ (CPK) 活性も同様に手術翌朝から手術 3 日後にかけて増大したが, 群間に有意な差は認められなかった (図 7)。本研究では, これらの指標の増加が ACL 再建術後の大腿四頭筋の萎縮と何からの関連をもつかは明らかにできないため, 今後さらに検証する必要がある。

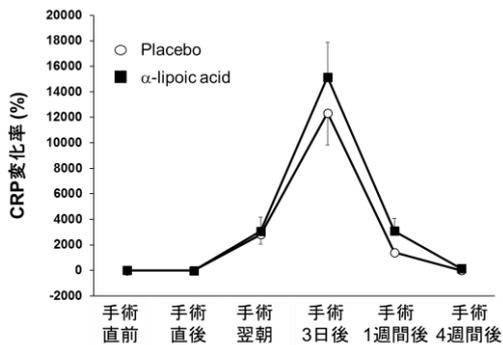


図 6. 血清 CRP の変化

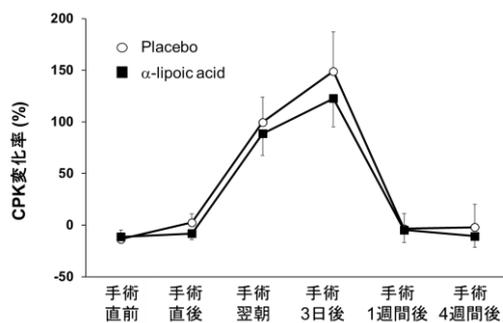


図 7. 血清 CPK 活性の変化

(4) ACL 再建術前と 4 週間後の血清ミオスタチンの変化

本研究では、筋萎縮関連因子として血清のミオスタチンの変化を観察した。ミオスタチンは萎縮時に上昇することが予想されたが、予想に反し、顕著な上昇は認められなかった(図 8)。

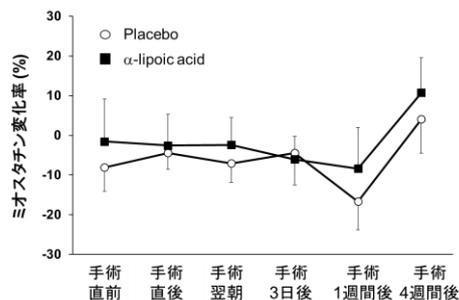


図 8. 血漿ミオスタチンの変化

5. 主な発表論文等

[その他]

① 臨床研究登録

https://dbcentre3.jmacct.med.or.jp/JMACTR/App/JMACTRE02_04/JMACTRE02_04.aspx?kbn=3&seqno=5222

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安藤 大輔 (ANDO, Daisuke)

山梨大学・総合研究部・准教授
研究者番号：10447708

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

萩野 哲男 (HAGINO, Tetsuo)

落合 聡司 (OCHIAI, Satoshi)

千賀 進也 (SENGA, Shinya)

山下 隆 (YAMASHITA, Takashi)

塚寄 哲史 (TSUKAZAKI, Satoshi)

杉浦 崇夫 (SUGIURA, Takao)

三原 政彦 (MIHARA, Masahiko)

小西 優 (KONISHI, Yu)

小山 勝弘 (KOYAMA, Katsuhiko)

木内 政孝 (KIUCHI, Masataka)

土橋 祥平 (DOBASHI, Shohei)

藤本 康奨 (FUJIMOTO, Kosuke)