

研究種目：若手(B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19700531
 研究課題名（和文） 加圧トレーニングの分子機構の解明による高齢期における安全な
 トレーニング方法の開発
 研究課題名（英文） Development of safety training for elderly with elucidation of
 molecular mechanism on “KAATU “ training.
 研究代表者
 笥 佐織 (KAKEHI SAORI)
 財団法人 東京都高齢者研究・福祉振興財団・東京都老人総合研究所・研究員
 研究者番号：00450560

研究成果の概要：

本研究の目的は、高齢期の安全なトレーニング方法開発の一環として、加圧によってもたらされるとされる一過性の筋への血流制限の筋萎縮防止効果の明確な分子メカニズムを解明することである。C2C12 マウス筋芽細胞を用いて、酸化ストレス負荷による廃用性萎縮モデルに対して、低酸素刺激を 30 分加え、過酸化水素・低酸素の共刺激により骨格筋特異的ユビキチンリガーゼの発現は著明に抑制された。また、同様の系にて筋管細胞の直径の減少も抑制され、一過性の低酸素刺激は何らかのシグナル伝達を経て骨格筋萎縮に予防的に働くことが予想された。今後、この現象に係るシグナル伝達経路を解明することにより新規の骨格筋萎縮メカニズムの発見に繋がる可能性も予想され、将来の超高齢化社会において極めて重要な知見をもたらすものと期待される。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	0	2,200,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	330,000	3,630,000

研究分野：スポーツ科学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学

キーワード：細胞・組織、老化

1. 研究開始当初の背景

我が国においては、今後、高齢少子化社会の到来が予想される。従って、豊かな老後と医療費削減を目指すための対策は、最優先さ

れるべき課題である。実際に、政府の健康フロンティア戦略は「介護予防」を柱の一つとしており、その目的のために取り組まれるべき極めて重要な課題の一つに寝たきりの予防

がある。現在の日本における寝たきりの原因の約25%が衰弱や骨折、転倒であり、約40%が脳血管疾患によることが明らかになっている。これらのことから、寝たきりが出現する機序として、疾患が発症した時の長期臥床により廃用性筋萎縮が引き起こされ、物理的に自立する筋力が保てないことが原因として考えられる。実際に、安静臥床により1週間で10~15%、3~5週で約20%もの筋力低下が報告されており、安静時の筋萎縮は予想以上に急速に進むことがわかっている(Mittler E. Arch Phys Med Rehab, 1970, Dudley GA, et al. Physiologist, 1989)。そのため、早期リハビリテーションの必要性が繰り返し強調されているが、現状の寝たきり患者、要介護者の増加を鑑みると、今後の我が国において、さらなる画期的な取り組みが必要であると考えられる。

廃用性筋萎縮の効果的な予防手段として、筋力トレーニングがある。高齢期におけるトレーナビリティはさまざまな先行研究によって証明されており、Frontera らによると、60-72歳の高齢者を対象に週3回、12週間の筋力トレーニングを行った結果、大腿四頭筋横断面積が11.4%増加すること、この時の最大屈曲、伸展筋力がそれぞれ170%、227%増加することが示されている。これらは若齢者に対してのものと同様の効果を示しており、高齢者の筋力トレーニングに対する適応能力は若齢者と同等であることを示している(Frontera WR, J Appl Physiol. 1988)。また、Grimbyらは平均81歳の9名の男性に、約2ヶ月間に渡り求心性と遠心性トレーニングを行わせた結果、両者共に有意なトレーニング効果が認められたとしている(Grimby G, J Appl Physiol. 1992)。

しかしながら、現時点においては高齢期におこる加齢に伴う筋量の低下や、筋力トレ

ニングに対するトレーナビリティについて、明確な基礎的メカニズムとその起序が証明されていないのが現状である。また、高齢者や安静を必要とする患者においては筋力トレーニングが骨格系のみならず、循環器系にも負担が大きく、怪我や疾病を新たに引き起こす可能性があることから、もっと安全で効果的な廃用性筋萎縮防止法の開発が望まれている。骨格筋と同様、重要な運動器である骨について考えると、骨折の予防として栄養や運動療法のあり方の面から長く研究され、一定の効果が得られてきた。しかしながら、骨折やその重要なリスクである骨粗鬆症を予防・改善するために、骨代謝のメカニズムが分子レベルで解明されつつあり、これらに加えて薬物療法を行うことが治療のゴールドスタンダードになりつつある。その一方で、骨格筋の廃用性萎縮についての分子メカニズムは未だ不明な点が多く、効果的に筋萎縮を予防する薬剤も未だ開発されていない。よって、今後の廃用性筋萎縮の予防法のメカニズムに関する基礎的な研究は将来の超高齢化社会において極めてneedsの高い研究となると考えられる。

近年、さまざまなところで話題をよんでいる「加圧筋力トレーニング」という方法は、筋肉への血液供給を強制的に少なくした状態で低負荷のトレーニングを行うというもので、低負荷での運動にもかかわらず、筋力・筋断面積の飛躍的な増加が認められている

(Takarada Y, J Appl Physiol. 2000)。さらに、ヒトにおけるギプス固定と松葉杖による廃用性筋萎縮モデルにおいて、血流制限単独で等尺性収縮トレーニングと同等の骨格筋萎縮予防が可能であることが明らかとなった

(Kubota A. et al. Med Sci Sports Exerc, 2007)。これは、世界で初めてヒトにおいて骨格筋を収縮させる以外の方法で廃用性萎縮を予防した画期的な報告であり、その分子メカ

ニズムは全く不明で、今後はin vitro, in vivoの実験系でより詳細な機序の解明が求められている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、高齢期の安全なトレーニング方法開発の一環として、低負荷でも効果が得られるといわれる加圧トレーニングによる効果や、一過性の筋肉への血流制限の筋萎縮防止効果の明確な基礎メカニズムを解明することである。具体的には、血流制限によってもたらされると考えられる一過性の低酸素刺激が筋萎縮に対してもたらす影響を調べるために、低酸素チャンバーを用いた実験を行い、骨格筋萎縮の鍵分子である遺伝子群の発現や培養筋管細胞の径などについて検討を加える。

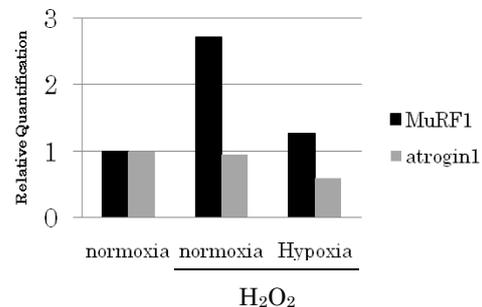
3. 研究の方法

C2C12細胞を用いて、酸化ストレス負荷（過酸化水素負荷）によるin vitroの廃用性萎縮モデルにおいて実験を行った。C2C12マウス筋芽細胞を分化誘導させた筋管細胞に過酸化水素を添加し、同時に低酸素刺激を加えた。30分後にmRNAを抽出し、骨格筋特異的ユビキチンリガーゼであるMuRF1、atrogin1の発現をreal-time PCRにて調べた。また、低酸素刺激のタンパク分解系に与える影響を証明するために、刺激開始24時間後の、筋管細胞の直径の測定を測定した。

4. 研究成果

C2C12細胞を用いて、酸化ストレス負荷によるin vitroの廃用性萎縮モデルにおいて、酸化ストレスによる骨格筋特異的ユビキチンリガーゼであるMuRF1・atrogin1の発現が増加したが、30分の低酸素の刺激によりそれらの発現が著明に抑制されたことを見出した（図1）。しかしながら、同じ系を用いて3

時間後のMuRF1・atrogin1の発現量を調べたところ、低酸素による抑制効果は見られなかった。



（図1） C2C12筋萎縮モデルにおける、低酸素刺激（0.5h）によるMurfl,atrogin1 mRNA発現

これらの事象より、一過性の低酸素刺激によるタンパク分解系への影響が示唆されたため、30分間の低酸素刺激を行い24時間後の筋管細胞の直径の測定を行った。その結果、コントロールと比して、酸化ストレスのみでは直径の減少が見られたが、低酸素刺激を30分間加えることにより直径の減少が抑制された。

以上の結果より、一過性の低酸素刺激は何らかのシグナル伝達を経てMuRF1やatrogin1の発現を減少させ骨格筋萎縮に予防的に働くことが予想されたが、今後さらなる検討が必要であると考えられた。

今後は、上記の系を用いてこの現象に係るシグナル伝達経路を解明する予定である。具体的には、現在までにMuRF1、Atrogin1の発現を上流でコントロールしている転写因子として、FOXO3A, NFkappa-B, glucocorticoid receptor (GR) が知られており、これらの発現や活性について定量的RT-PCR法、ウェスタンブロッティング法、クロマチン免疫沈降法により検討する。また、マウス大腿オクルーダーを作成し、マンシットを用いたin vivoのモデルを作成しており、in vitroのモデ

ルと合わせ妥当性を確認している。

本研究からもたらされる結果は、新規の骨格筋萎縮メカニズムの発見に繋がる可能性も期待され、将来の超高齢化社会において極めて重要な知見をもたらすものと期待される。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕（計1件）

笥佐織, 高橋龍太郎：療養病床における施設運営と勤務医師の現状について, 第50回日本老年社会科学大会, 大阪 堺, 2008年6月27日～29日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

笥 佐織 (KAKEHI SAORI)

研究者番号：00450560