

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11172

研究課題名(和文) 新たな電気刺激法による骨格筋線維化予防-効果的な2次性サルコペニア治療法の開発-

研究課題名(英文) Prevention of Skeletal Muscle Fibrosis by a Novel Electrical Stimulation Method - Development of an Effective Treatment for Secondary Sarcopenia-

研究代表者

遠山 将吾 (TOYAMA, SHOGO)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・客員講師

研究者番号：00388183

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：われわれはこれまでの研究において、炎症性関節疾患のモデルラットにおける筋損耗(ヒトでいうサルコペニア状態)が、一般的にいう加齢にともなうサルコペニアとは異なる病態生理を持つことを明らかにしてきた。また同時に、これまで運動刺激はヒトにて有害と考えられてきたことから嫌忌されてきたが、モデルラットで炎症性関節疾患においては有益な効果をもたらすことも示唆した。本研究では、この有益な効果をより効率的にもたらし、低酸素下の運動や電気刺激装置を用いた最適条件の探索を行った。これらの成果は、すでに英文論文および国内学会で発表し、一定の反響と未来へのシードを作り出したと考える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存のサルコペニア治療、特に2次性サルコペニアの治療における業界の常識は、「栄養を十分に取って、できるだけ強度の高い運動をできるだけ多く行う」であった。これにより、若年者では時間がかかりつつも治療が可能であったが、高齢者では一定程度を超えると治療不可となっていた。一方でわれわれの結果は、人工的な低酸素環境や受動的刺激による代替治療が成立する可能性を示している。本研究で得られた知見は、現状のリハビリテーション医学における超高齢化社会への対応に一石を投じる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In our previous studies, we have elucidated that muscle wasting (equivalent to sarcopenia in humans) in a rat model of inflammatory joint disease exhibits a different pathophysiology from the sarcopenia commonly associated with aging. Additionally, while exercise has traditionally been considered harmful in humans and thus avoided, our findings suggest that it may have beneficial effects in the context of inflammatory joint disease in model rats. This study aimed to explore optimal conditions for maximizing these beneficial effects through hypoxic exercise and the use of electrical stimulation devices. These findings have been presented in English journals and at domestic conferences, generating significant interest and paving the way for future research.

研究分野：リハビリテーション医学

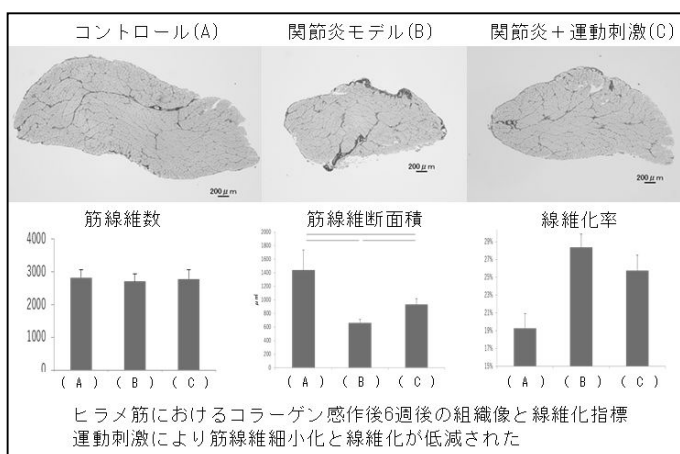
キーワード：サルコペニア 治療的電気刺激 慢性低酸素 遅筋

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会に突入した現代では、フレイルやサルコペニアと呼ばれる「脆弱な高齢者」の問題が深刻化している。フレイルやサルコペニアは、わずかなストレスでも要介護状態に陥りやすい高齢者の状態を指し、社会全体の問題となっている。特にサルコペニアは、加齢に伴う骨格筋量の減少を主徴とする1次性と、炎症性疾患などに続発する2次性に分類される。2次性サルコペニアは単なる骨格筋減少ではなく、線維化や脂肪浸潤を伴う病的状態であり、進行性で重篤なため、死に直結する合併症として考慮する必要がある。骨格筋線維化の主要因としては、筋内の低酸素環境が関与し、線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化が重要な役割を果たす。従来の治療法では効果が見られないため、新たな治療アプローチの開発が求められている。

研究代表者を含むグループは、これまでの研究において炎症性関節炎モデルラットを作製し、筋線維化の筋線維タイプによる局在の違いと、トレッドミル走行のような有酸素運動が筋萎縮および筋線維化に対して及ぼす影響を明らかにしてきた(研究応募時には未公開データであったが、現在は公表済: Treadmill running prevents atrophy differently in fast versus slow-twitch muscles in a rat model of rheumatoid arthritis, Kamada Y, Toyama S, et al., Journal of Muscle Research and Cell Motility, 2021)。これらの知見により、筋への適切な刺激はサルコペニア治療の革新につながると考え、本研究計画を立案するに至った。



2. 研究の目的

本研究の目的は、骨格筋線維化の予防および治療に関する新たな方法を開発することである。具体的な筋への刺激方法として、アスリートにおける高地トレーニングを模す形での低酸素環境、および受動的・強制的な筋収縮をおこさせるものとして骨格筋電気刺激法を用いて、骨格筋の線維化を予防する効果を検証し、その分子メカニズムを解明することを目指した。これにより、安全かつ効果的な2次性サルコペニアの治療法を確立し、臨床応用に繋がれると考えた。また、研究の中でHIF-1(低酸素環境)とPGC-1(ミトコンドリアおよび遅筋線維との関連)の関与を調査し、これらの因子が骨格筋再生および線維化予防に果たす役割を明らかにすることで、実際の治療法確立へのシーズを生むことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物実験用低酸素環境トレッドミル装置

動物用実験装置として、実験チャンバー内の酸素濃度を調整可能なラット用トレッドミルを作製した。

(2) 動物実験用 B-SES 装置の開発とモデル確立

骨格筋電気刺激装置として、医療機器としてすでに実用化されているベルト式骨格筋電気刺激装置 B-SES の原理に基づいた動物実験用機器を作製する。医療機器のメーカーと共同開発し、関節炎モデルラット(CIAラット)を用いた研究モデルを確立した。

(3) 骨格筋線維化の予防効果の確認

確立されたモデルを用いて、低酸素チャンバーおよび動物用 B-SES の骨格筋線維化予防効果を検証した。感作後2週目から電気刺激を開始し、最終刺激48時間後に検体を採取して分子生物学的および組織学的検討を行った。具体的には、蛋白合成マーカーや筋蛋白分解マーカー、線維化指標などの解析を行い、筋重量、筋線維数、筋線維径などの組織学的解析も実施した。

(4) 分子メカニズムの解明

得られたデータから、運動刺激の骨格筋線維化予防効果とその分子メカニズムを解明する。特にHIF-1とPGC-1の関与について詳しく調査し、これらの因子がどのようにして骨格筋再生および線維化予防に関与するかを検討した。

4. 研究成果

(1) 低酸素環境での運動効果

低酸素条件下でのトレッドミル走行が CIA ラットの関節と筋肉に及ぼす影響を調べた。CIA ラットは低酸素状態に暴露して 2 日目で、HIF-1 α の発現量が増加した。低酸素運動(+)群では、さらに低酸素誘導因子 1 (EGLN1) と血管内皮増殖因子 (VEGF) の発現も増加した。低酸素に暴露して 44 日目では低酸素に暴露した 2 群で HIF-1 α や VEGF の発現増加は認められなかったが、筋合成指標である p70S6K の発現量が増加した。組織学的には、低酸素に暴露すると関節破壊が緩和され、遅筋の筋重量の減少が防止され、筋の線維化が抑制された。低酸素運動(+)では、これらの効果に加えて遅筋の筋萎縮予防効果が認められた。これらの結果から低酸素療法にトレッドミル運動を併用すると、CIA ラットの関節炎と関節破壊が抑制され、さらに遅筋の筋萎縮と繊維化の抑制が期待できる。

これらの研究結果は公表済 : Hypoxia with or without Treadmill Exercises Affects Slow-Twitch Muscle Atrophy and Joint Destruction in a Rat Model of Rheumatoid Arthritis, Kamada Y, Toyama S, et al., Int J Mol Sci. 2023

(2) 受動的筋収縮の効果

B-SES が CIA ラットの筋肉に及ぼす影響を調べた。CIA ラットを B-SES(-)ラット、B-SES(+)ラットに無作為に分けた。B-SES(+)ラットは感作後 14 日目に B-SES の初回刺激を施行した。B-SES は 2 週間で合計 4 回、右後肢のみに実施した。B-SES(-)ラットの右後肢を CONT 群、B-SES(+)ラットの B-SES を実施した右後肢を STIM 群、B-SES を実施していない左後肢を CL 群とした。遅筋と速筋における効果を検討した。組織学的解析としてピクロシリウス染色を行い、筋線維横断面積を比較した。分子生物学的解析として RT-PCR、Western blot を施行した。

ラットの体重は B-SES(+)ラットでは体重減少の開始が遅延したが、感作 28 日時点では B-SES の有無で差を認めなかった。下肢の腫脹の程度を示す paw volume は CONT 群と比較して STIM、CL 群で増加の開始が遅延したが、感作後 28 日時点では 3 群間で有意差を認めなかった。組織学的解析ではヒラメ筋の STIM 群の筋湿重量、筋線維横断面積は CONT 群と比較してともに高値であった。一方で長趾伸筋では筋湿重量、筋線維横断面積は 3 群間で有意差を認めなかった。

分子生物学的解析ではヒラメ筋、長趾伸筋とも STIM 群で筋分解指標である Atrogin-1、MuRF1 の発現量が抑制された。一方で筋合成指標である p70S6K、Eif4e とミトコンドリアの活動指標である PGC-1 の発現量は 3 群間で有意差を認めなかった。これらの結果から B-SES は CIA ラットの筋分解指標の発現を抑制することで、炎症に伴う筋萎縮を抑制する可能性がある。

これらの研究結果を第 38 回日本整形外科学会基礎学術集会で発表した。
関節炎モデルラットを用いたベルト電極式骨格筋電気刺激法の筋萎縮予防効果の検討。
久本和史, 遠山将吾ら

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Kamada Yoichiro, Arai Yuji, Toyama Shogo, Inoue Atsuo, Nakagawa Shuji, Fujii Yuta, Kaihara Kenta, Cha Ryota, Mazda Osam, Takahashi Kenji | 4. 巻 24 |
| 2. 論文標題 Hypoxia with or without Treadmill Exercises Affects Slow-Twitch Muscle Atrophy and Joint Destruction in a Rat Model of Rheumatoid Arthritis | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 9761 ~ 9761 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms24119761 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 遠山 将吾, 菱川 法和, 柴田 直紀, 島原 範芳 |
| 2. 発表標題 RAサルコペニアに対して治療的電気刺激と運動療法の併用で著明に筋肉量が増加した1例 |
| 3. 学会等名 日本関節病学会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 久本 和史, 大久保 直輝, 遠山 将吾, 鎌田 陽一郎, 中村 恵, 車 龍太, 中川 周士, 井上 敦夫, 新井 祐志, 松田 修, 高橋 謙治 |
| 2. 発表標題 関節炎モデルラットを用いたベルト電極式骨格筋電気刺激法の筋萎縮予防効果の検討 |
| 3. 学会等名 日本整形外科学会 |
| 4. 発表年 2023年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|--|----|
| 研究分担者 | 中川 周士 (Nakagawa Shuji) (30643382) | 京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教 (24303) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|---|----|
| 研究分担者 | 新井 祐志 (Arai Yuji) (50347449) | 京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授 (24303) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |