

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700789

研究課題名(和文) 糖尿病による筋萎縮の予防に向けた血流制限運動の有用性と機序の解明

研究課題名(英文) Effectiveness and mechanisms of exercise with blood flow restriction aimed at preventing muscle atrophy in diabetes.

研究代表者

須藤 みず紀 (SUDO, Mizuki)

福岡大学・身体活動研究所・ポストドクター

研究者番号：10585186

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、2型糖尿病における伸張性収縮は極めて高い筋損傷を誘発することが示された。さらに、ダウンヒルランニングトレーニングは、2型糖尿病骨格筋に対する物理的ストレスを軽減することが明らかとなった。したがって、糖尿病骨格筋の脆弱性は、筋量維持を目的とした本運動プロトコルにより抑制されることが示唆された。次に、血流制限運動における安全性を確認するために、異なる血流制限レベルにおける伸張性収縮負荷について検証した結果、血流制限レベルには、筋損傷を誘発する閾値が存在することが明らかとなった。これらの結果を考慮し、血流制限を伴った運動トレーニングの効果については、今後も継続して検証していく予定である。

研究成果の概要(英文)：This study indicated that the eccentric contraction induced marked skeletal muscle damage in type II diabetes. Moreover, downhill running training alleviated mechanical stress to type II diabetic skeletal muscle. Thus, fragility of diabetic skeletal muscle was inhibited by exercise protocol in present study aimed to maintain skeletal muscle mass. In addition, this study examined effects of eccentric contraction with differential level of blood flow restriction. As a result, there exists a threshold where blood flow restriction induces skeletal muscle damage. Based on these findings, further studies are required to examine the effects of exercise training with blood flow restriction in type II diabetes.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学

キーワード：糖尿病 運動 筋損傷

1. 研究開始当初の背景

(1) 糖尿病は、糖代謝能の破綻、末梢循環不全などの合併症に加え、病状の進行により糖尿病性筋萎縮を併発する。特に糖代謝能の中心でもある骨格筋のエネルギー代謝は、糖質への依存度が高く、消費量も大きいことから、糖尿病性の筋萎縮により糖代謝の破綻を促すだけでなく、筋機能低下による活動水準の減少も引き起こす。現在、糖尿病に対する運動療法は、主に有酸素運動による糖代謝能の改善を目的としたものが多い。しかしながら、糖尿病性筋萎縮が進行するに伴い、身体活動そのものが損なわれる危険がある。したがって、このような「糖尿病における負の連鎖」を筋萎縮の抑制、すなわち筋量の維持によって断切ることを可能とする運動処方 の確立が求められている。

(2) 筋量維持を目的とした単独な伸張性の筋収縮（エキセントリック収縮：ECC）負荷は、筋の損傷・再生過程を経て、筋肥大、および筋細胞の増殖を促す。これまでの研究より、我々は、正常な骨格筋において筋損傷を介さずに短期間で筋肥大を誘発する運動プログラムを検証した。このモデルは、ECC運動に血流制限を同時負荷することで、筋の損傷を抑制することが示唆されている。

(3) 我々は、1型糖尿病の骨格筋において、ECC収縮負荷によって損傷時の修復応答が遅延することを示し、過度な物理的ストレスに対する抵抗性が正常な筋細胞よりも著しく低いことを示唆した。そのため、糖尿病性筋萎縮における継続した単独なECC運動では、さらなる筋量減少を引き起こし、糖尿病の悪化を助長させる恐れがある。しかしながら、申請者が立証した血流制限を伴ったECC運動ならば筋損傷を惹起することなく、筋量を減少させずに筋肥大を誘発できる可能性がある。

したがって、本研究では、糖尿病性筋萎縮を誘発しているラットを用いて、筋量維持を目的とした運動負荷による物理的ストレスに対する抵抗性について着目した。

2. 研究の目的

(1) 糖尿病骨格筋に対するECC収縮負荷は筋の損傷・再生過程にどのように影響するかを明らかにすることを目的とした。(平成23年度課題)。

(2) ECC収縮負荷による抵抗性が著しく低いため、負担の小さいダウンヒルランニングトレーニング負荷による影響を明らかにすることを目的とした。(平成24年度課題)。

(3) 負担の小さいダウンヒルトレーニングの効果と物理的ストレスに対する抵抗性の

関係を明らかにすることを目的とした。また、血流制限を伴ったECC収縮が正常モデルの骨格筋に対してどの程度筋損傷を誘発するのかを検討した(平成25年度課題)。

3. 研究の方法

(1) 正常(NM)及び、Goto-Kakizaki(T2D)ラットを用いた。麻酔下のラットを小動物運動装置に固定し、前脛骨筋(TA)への電気刺激を伴った足関節背屈によるECC収縮40回を負荷し、発揮張力も同時に測定した。負荷1, 3, 7, 14日後に筋を摘出して20下にて、組織切片(10 μ m)の作成を行った(各群N=5-8)。作成した組織切片に各染色を施し、筋損傷・再生割合(ヘマトキシリン・エオジン染色)、再生筋出現観察(MHC免疫染色)について評価した。

(2) 正常(NM)及び、Goto-Kakizaki(T2D)ラットを用いた。ダウンヒルランニングトレーニングは、傾斜-10 $^{\circ}$ 、20 m/minのトレッドミル走を6週間実施した(NM-TR群、T2D-TR群)。また、対照群は、無負荷のラットをもちいた(NM-CONT群、T2D-CONT群)。最終ダウンヒルランニングトレーニング終了から24時間後に、右後肢前脛骨筋へECC収縮負荷を施した(NM-TR-ECC群、T2D-TR-ECC群)。各群N=5-8とした。摘出された筋は、組織染色の後、筋線維横断面積を解析した。

(3) 最終ダウンヒルランニングトレーニング終了から24時間後に、右後肢前脛骨筋へECC収縮負荷を施した(NM-TR-ECC群、T2D-TR-ECC群、各群N=5-8)。対象筋は、ECC収縮負荷3日後に摘出した。摘出された筋は、組織染色の後、筋損傷割合、筋線維横断面積を解析した。また、血流制限を伴ったECC収縮は、麻酔下のラットの大腿部にカフを用いた血流制限(各血流制限強度;120, 140, 160, 200mmHg)を施し、同時にECC収縮を負荷した(各群N=4)。筋組織の損傷は、ECC負荷3日後の筋細胞損傷程度を評価した。

4. 研究成果

(1) ECC収縮負荷時の平均発揮張力は、T2D(5.9 \pm 3.7 mNm)がNM(11.1 \pm 5.2 mNm)よりも有意に低い値を示した(p<0.05)。筋損傷割合は、1, 3日後においてT2D(1日: 14.8 \pm 4.8%, 3日: 35.6 \pm 7.0%)がNM(1日: 6.2 \pm 2.5%, 3日: 29.6 \pm 12.3%)よりも有意に高い値を示した(p<0.05)。再生筋の割合は、7日後ではT2D(5.4 \pm 3.4%)がNM(18.1 \pm 10.1%)よりも有意に低かった(p<0.05)。中心核を有する再生筋の横断面積は、T2D(7日: 182 \pm 98, 14日: 900 \pm 133 μ m²)においてNM(7日: 307 \pm 60, 14日: 1461 \pm 562 μ m²)よりも有意に小さいことが示された(p<0.05)。これらの結果よ

り、T2D の骨格筋は、ECC 負荷による発揮張力が NM よりも低いにも関わらず炎症応答が顕著であり、さらに再生過程の遅延が生じることが示唆された。したがって、T2D の骨格筋は、物理的ストレスに対する抵抗性が低いことが考えられる。

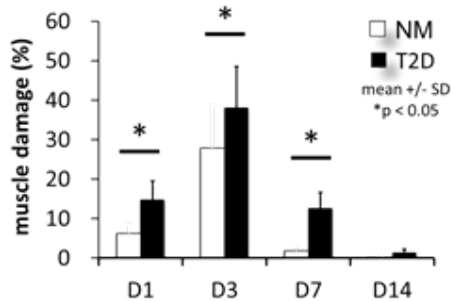


図1 ECC収縮による筋損傷割合

(2) 平成 24 年度は 2 期に分けてダウンヒルトレーニングをそれぞれ 6 週間実施した。トレーニング前の血糖値は、NM-CONT 群: 86.0 +/- 15.6 mg/dL, NM-TR 群: 77.4 +/- 10.6 mg/dL, T2D-CONT 群: 84.4 +/- 9.4 mg/dL, T2D-TR 群: 92.4 +/- 12.5 mg/dL であった。これに対し、トレーニング後では、T2D-TR 群 (92.7 +/- 6.0 mg/dL) は T2D-CONT 群 (106.0 +/- 10.4 mg/dL) よりも有意に低下していた。また、体重、摂餌量は、各群間における差はみられなかった。さらに、筋線維横断面積は、T2D-TR 群 (2130 +/- 163 μm^2) が T2D-CONT 群 (1884 +/- 64 μm^2) よりも有意な増加を示した。

Table1. The Cross-sectional area after DH-TR in each group.

CSA(μm^2)	NM-CONT	NM-DH	T2D-CONT	T2D-DH
total	1971 ± 256	1847 ± 328	1884 ± 64	2130 ± 163*
surface	2686 ± 243	2262 ± 390*	2402 ± 129	2482 ± 215
deep	1551 ± 168	1581 ± 318	1510 ± 80	1893 ± 159*

Value is mean +/- SD. *p > 0.05 vs. CONT group.

(3) ダウンヒルトレーニングによる発揮張力は、T2D-TR 群 (30.60 +/- 4.85 mNm/g) において T2D-CONT 群 (21.30 +/- 6.55 mNm/g) と比較して有意に増加した (p < 0.05)。ECC 収縮誘発性筋損傷の割合は、T2D-CONT 群 (38.1 ± 10.5%) において NM-CONT 群 (23.3 ± 9.9%) よりも有意に高かった (p < 0.05)。トレーニングごの ECC 収縮負荷における筋損傷割合は、NM-TR 群 (5.87 ± 4.56%) だけでなく T2D-TR 群 (3.18 ± 2.49%) においても著しい低下を示した (p < 0.001)。したがって、2 型糖尿病骨格筋におけるダウンヒルトレーニングは運動誘発性筋損傷を抑制することが示唆された。

血流制限 (BFR) を伴った ECC 収縮負荷後の筋組織は、120BFR+ECC 群のみにおいて、筋細胞の浮腫、血球の浸潤などの炎症応答が観察された。筋損傷の割合は、単独の ECC 群

(26.4 +/- 4.0%) と比較して、120BFR+ECC 群 (26.2 +/- 7.0%) では同等レベルであった。しかしながら、140 (2.6 +/- 0.5%), 160 (2.7 +/- 0.7%), 200 (0.3 +/- 0.01%) BFR+ECC 群においては、筋細胞における炎症応答は観察されず、単独の ECC 収縮負荷の筋損傷割合を比較して有意に低かった (p < 0.05)。

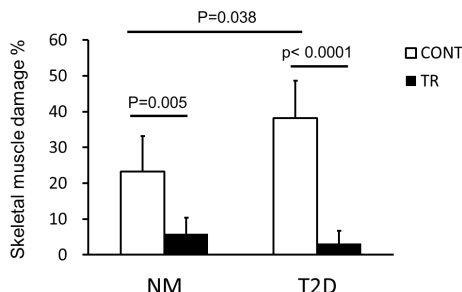


図2 トレーニング効果後のECC収縮による筋損傷割合

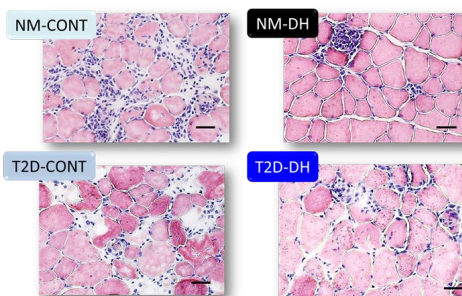


図3 トレーニング効果のECC収縮による筋損傷の横断面図

本研究では、2 型糖尿病におけるエキセントリック収縮が誘発する筋損傷度合いが極めて高いことが示された。この結果より血流制限を伴ったエキセントリック収縮運動を負荷するにあたり、その連続的な負荷における危険性について検証する必要があると判断した。そこで、擬似運動プロトコルとして、エキセントリック収縮成分を含むダウンヒルランニング着目し、そのトレーニング実験を最優先とした。その結果、ダウンヒルランニングトレーニングは、2 型糖尿病骨格筋に対する物理的ストレスを軽減することが明らかとなった。また、血流制限運動における安全且つ有効性を検証するために、異なる血流制限レベルにおける ECC 収縮負荷後の筋損傷について観察した。その結果、血流制限レベルには、筋損傷を誘発する閾値が存在することが明らかとなった。これらの結果を考慮し、血流制限を伴ったエキセントリックトレーニングの効果については、今後も継続して検証していく予定である。

4. 主な発表論文等

[学会発表](計 3 件)

. Sudo M, Eshima H, Ando S, Kano Y, Tanaka H, Higaki Y (2013) Eccentric exercise-induced inflammatory response is augmented in type II diabetic skeletal

muscle. Experimental Biology, 2013年4月20日, Boston, USA.

・須藤みず紀, 安藤創一, 富賀裕貴, 三好耕太, 田中宏暁, 狩野豊, 桧垣靖樹. 2型糖尿病骨格筋におけるダウンヒルトレーニングは運動誘発性筋損傷を抑制する. 日本体力医学会 2013年9月22日, 東京.

・須藤みず紀, 安藤創一, 清永明, 田中宏暁, 狩野豊, 桧垣靖樹. エキセントリック収縮誘発性の炎症応答は2型糖尿病において増大する. 日本体力医学会, 2012年9月18日, 岐阜.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

須藤 みず紀 (SUDO Mizuki)
福岡大学・身体活動研究所・ポストドクター
研究者番号: 10585186