

報告番号	※甲	第	号
------	----	---	---

主 論 文 の 要 旨

論文題目

Training at non-damaging intensities facilitates recovery from muscle atrophy

(筋萎縮からの回復促進には筋損傷の起こらない程度の筋力トレーニングが有効である—マウス萎縮筋に対する等尺性筋力トレーニングによる検証—)

氏 名 伊 東 佑 太

論 文 内 容 の 要 旨

【背景】

健常筋の筋力増強のための筋力トレーニングには、適切な負荷量のエビデンスが構築されている。一方、理学療法分野の萎縮筋を回復させるための筋力トレーニングも、健常筋へのトレーニングと同じエビデンスに基づいて行われている場合が多く、独自のエビデンスはない。そもそもこの筋力トレーニングが、萎縮筋の様な病態を持った筋に対して有効かどうか不明である。そこでこれまでに、尾部懸垂(TS)によって廃用性筋萎縮を起こしたマウスに対して、自重による立ち上がり運動を負荷し、筋萎縮からの回復促進効果を検証してきた(Itoh, 2014【参考論文】)。その結果、立ち上がり運動は筋線維の太さの回復を促進することがわかった。このとき、筋線維の太さの回復に要した期間は、健常筋が運動によって有意に肥大するまでの期間に比べ極めて短かった。また、萎縮から回復した筋の筋線維核数が正常値以上に増加していることも判明し、筋衛星細胞の活性化の積極的な関与が示唆された。以上のことから、筋力トレーニングによって萎縮筋の太さが回復するときには、健常筋が太くなるときと異なるメカニズムの関与が考えられる。つまり、萎縮筋の回復促進のためには健常筋に対する筋力トレーニングとは異なる条件のトレーニングが必要かもしれない。一方、健常筋を肥大させるための筋力トレーニングには、筋損傷が生じる程度の強度が必要であるという報告がある。しかし、筋萎縮からの回復促進のために筋損傷の発生が必要であるかどうか明らかでなく、どのような条件、強度の筋力トレーニングが筋萎縮からの回復促進に効果的であるかは不明である。

そこで本研究は、筋力トレーニングの運動強度と筋萎縮からの回復促進効果との関係を、筋線維核数の変化や筋損傷の発生を指標に明らかにすることを目的とした。

【方法】

2週間のTSにより萎縮したICRマウスの足関節底屈筋群に対して、TSから解放して7日目まで収縮強度が異なる等尺性筋収縮を筋力トレーニングとして毎日行わせた。筋力トレーニングは、麻酔下のマウス下腿後面に電気刺激（周波数 40Hz、持続時間 2.0ms）を1日50回与えることで行った。収縮強度は電気刺激の電流値を変えることにより調整し、刺激1回目に発揮される足関節底屈トルクを、最大足関節底屈トルクの10%、40%、60%、90%に設定した（各々10% MC、40% MC、60% MC、90% MC群、各n=12）。対照群として、TS後トレーニングを行わない群（NT群）と同週齢のTSを行わない群（CON群）を作製した。

筋萎縮からの回復促進効果の評価は、最大足関節底屈トルクや筋の組織学的変化を指標に行った。最大足関節底屈トルクは、筋力トレーニングを実施する4時間前に毎日、電気刺激（周波数 100Hz、電流値 5.0mA、持続時間 1.0ms）を与え測定した。また、TSから解放して3、7日目のマウスからヒラメ筋を採取、薄切し、ヘマトキシリンエオシン（HE）染色および免疫組織染色を施して、筋線維横断面積、筋線維の損傷や再生像、筋線維核数、筋衛星細胞の活性化を評価した。

【結果】

40% MC 群と 60% MC 群の最大足関節底屈トルクは、TS から解放して 1 日目には、NT 群のトルクよりも有意に大きかった。そして、TS から解放後 4 日目には、CON 群のトルクとの間に有意な差がなくなった。一方、10% MC 群と 90% MC 群では、TS 開放直後から 7 日目まで NT 群との間に有意な差がなかった。

TS から解放後 7 日目に、40% MC 群と 60% MC 群の筋線維横断面積は、NT 群の面積よりも有意に大きく、CON 群との間に有意な差がなかった。90% MC 群の筋線維横断面積は、NT 群と比べて有意に大きかったが、CON 群の面積と比べて有意に小さかった。60% MC 群の筋線維横断面積のヒストグラムは 40% MC 群や CON 群の分布と似ていたが、90% MC 群は 10% MC 群や NT 群に似た分布であった。さらに、60% MC 群と 90% MC 群には、他の群には見られない小さい径の筋線維が観察された。

TS から解放後 3 日目の筋の HE 染色像において、60% MC 群、90% MC 群で損傷したと考えられる単核細胞が浸潤した筋線維が多く観察されたが、10% MC、40% MC 群ではほとんど観察できなかった。抗 developmental myosin heavy chain (dMHC) 抗体を用いた免疫組織化学染色で、TS から解放後 3 日目の 60% MC、90% MC 群に、新たに生まれたと考えられる dMHC 陽性の筋線維が観察された。TS 解放後 7 日目の抗 dystrophin 抗体と DAPI を用いた染色では、数日以内に新生したと考えられる中心核を持った筋線維が観察され、これらの筋線維の割合は 90% MC 群で、NT 群や CON 群と比べ有意に多かった。

TS から解放して 7 日目の 40% MC 群、60% MC 群、90% MC 群の筋線維核数は、CON 群と比べ有意に多かった。静止期の筋衛星細胞に発現する Pax7 の免疫組織染色では、Pax7 陽性の細胞数が、40% MC 群、60% MC 群、90% MC 群に多く見られた。さらに、筋衛星細胞の分化誘導因子 (MyoD、myogenin) の免疫組織染色において、40% MC 群、60% MC 群、90% MC 群には、Pax7 と MyoD、MyoD と myogenin の共染像が観察された。

【考察】

萎縮した筋に対して強度が異なる運動を行わせた結果、最大足関節底屈トルクや筋線維の太さの回復量、筋線維核数が増加する量に違いが生じることがわかった。特に40% MCの強度での筋力トレーニングが、最大足関節底屈トルク、筋線維横断面積の回復促進と筋線維核数の増加が著明であり、至適強度であったと考える。60%、90% MCの強度では、ある程度の最大底屈トルクや筋線維横断面積の回復促進を認めたものの、筋損傷像や新生した径が小さい筋線維像が観察された。一方、最も回復促進効果が大きかった40% MCの強度ではほとんど筋損傷を起こした様子が観察できず、筋損傷が起きていなくとも筋萎縮からの回復が促進されることがわかった。正常筋の肥大には、強い運動強度でおこる筋損傷が必要であるという報告があるが、必ずしも筋損傷が必要ではないという報告もある。萎縮筋の回復促進に関しては、少なくとも回復の早い段階での筋損傷は、回復促進を遅延させることが本研究で判明した。その理由には、筋損傷後に起こる筋線維の新生から、その太さの成長過程に要する時間が加わったことが考えられる。具体的には、60%、90% MCの強度の運動では、萎縮した筋線維の太さの回復を促進させるのと同時に、筋線維を損傷させ、そこから再生する経過を辿る。そのため、筋全体として1週間では筋線維が正常な太さまで回復しなかったと考える。ただ、損傷量が少なかった60% MCのトレーニングでは、TS後1週間の底屈トルクが、最も効果のあった40% MCの強度と同等のトルクまで回復していた。また、筋線維横断面積はコントロールに比べて小さく40% MC群に及ばなかったものの、そのサイズ分布は40% MC群やCON群に近い分布を示した。1週目以降の回復変化を検証することは今後の課題であるが、少なくとも、数回の収縮で発揮トルクが低下するような筋力トレーニングを萎縮筋に実施すべきでないと考える。

【結語】

マウス萎縮筋に対して強度の異なる筋力トレーニングを施行すると、健常筋と同様に異なる形態応答をおこすことが判明した。しかし、萎縮筋は健常筋とは異なり、損傷を起こさない程度の強度のトレーニングが、少なくとも1週間の回復期間においては効果が高いことがわかった。本法を用いれば、萎縮筋に対する効果的なトレーニング方法の開発や、様々な強度のトレーニングに対する筋応答メカニズムの解明につながると考える。