

■ 理学療法基礎系 11

469 培養骨格筋細胞への周期的一方向伸張刺激は糖の取込みを促進する

岩田全広¹⁾, 早川公英²⁾, 村上太郎³⁾, 河上敬介¹⁾, 宮津真寿美¹⁾, 鈴木重行¹⁾

1) 名古屋大学大学院医学系研究科リハビリテーション療法学専攻, 2) 科学技術振興機構・ICORP・細胞力覚プロジェクト
3) 名古屋工業大学大学院工学研究科物質工学専攻

key words 培養骨格筋細胞・周期的一方向伸張刺激・糖の取込み

【はじめに】骨格筋において細胞外の糖は、主に、細胞膜に存在する糖輸送担体4型(GLUT4)を介して細胞内に取込まれる。GLUT4はインスリン刺激や筋収縮に反応して細胞内から細胞膜上に移行し糖の取込みを行う。インスリンの場合はPI3K/Akt経路を介して起こることが分かっている。しかし筋収縮による糖の取込みのシグナル伝達経路はインスリンとは異なり、筋収縮に伴うAMPキナーゼの活性化や筋収縮の結果として生じる張力等の因子が関与すると考えられているが、どの因子がどの程度関与するのかは不明である。最近、伸張刺激が糖の取込みを促進することが報告された(Ihleman Jら,1999)。この報告によると、伸張刺激による糖の取込みはAMPキナーゼの活性を伴わずに促進されるが、そのシグナル伝達経路は不明である。そこで我々は伸張刺激による糖の取込み促進のシグナル伝達経路を解析する目的で、培養骨格筋細胞に伸張刺激を負荷し細胞レベルでの検討を行った。

【方法】培養細胞は、マウス骨格筋由来の筋芽細胞株C2C12を用いた。Collagen type Iをコーティングした伸張可能なシリコン膜上に培養し、筋管細胞に分化させた。分化誘導開始から5日目の筋管細胞を、伸張刺激装置でシリコン膜ごと伸張した。刺激条件は、頻度1Hz、伸張率10%、刺激時間30分の周期的一方向伸張刺激とした。また陽性対照としてインスリン(100 nM)を培養液に投与し30分間刺激した。各刺激直後に糖負荷試験を行い、糖の取込み量を測定した。さらに、伸張刺激とインスリン刺激の両刺激前にPI3Kの阻害薬であるwortmannin (100 nM)を

培養液に投与し、糖負荷試験を行うことによりPI3Kの関与を調べた。全ての刺激群の糖の取込みを非刺激群と比較した。

【結果】伸張刺激による糖の取込みは非刺激群に比べて26.4±2.6%、インスリン刺激による糖の取込みは16.1±5.0%増加した。wortmannin投与後の伸張刺激による糖の取込みは、非刺激群に対して22.7±6.7%増加したが、インスリン刺激による糖の取込みは2.2±0.3%減少した。

【考察】今回、伸張刺激により培養骨格筋細胞の糖の取込みが促進することが分かった。またPI3Kの阻害薬を用いた実験結果から、周期的伸張刺激による糖の取込み促進は、インスリン刺激と異なりPI3K/Akt経路を介さないことがわかった。今後、周期的伸張刺激がどのようなメカニズムで糖の取込みを促進するか確かめたい。伸張刺激による糖の取込み促進の分子機構が解明されれば、科学的根拠に基づく効果的で効率的な運動療法の開発につながると考える。

■ 理学療法基礎系 12

470 糖尿病ラットの糖負荷試験による血糖値の変動

中島里奈, 安村大拙, 石田和人, 鈴木重行

名古屋大学医学部保健学科

key words 糖尿病・ストレプトゾトシン・糖負荷試験

【はじめに】糖尿病患者の耐糖能を改善する手段のひとつとして運動療法の有効性が認められている。糖尿病モデルラットはストレプトゾトシン(STZ)投与による1型糖尿病が比較的容易に作成できることから多くの研究で使用されている。そこで今回我々は、STZ誘発糖尿病モデルラットを作成し、糖負荷試験による血糖値の変動を指標として、運動療法や物理療法介入の時期について検討したので報告する。

【方法】実験は名古屋大学医学部動物実験委員会の許可を得て行った。実験動物は7週齢のWistar系雄ラット(平均体重222.5g)を用いた。糖尿病は腹腔内にSTZを45 mg/kg濃度を1回投与し誘発した(以下、DM群、n=7)。DM群、対照群(以下、CONT群、n=8)ともに実験中、飼料および水を自由に摂取させ(糖負荷試験前日を除く)、体重、摂取量を毎日測定した。糖負荷試験はラットを前夜絶食させた後、麻酔下にて行った。方法は血糖値測定のため負荷前に採血し、ブドウ糖1 g/kgを頸静脈に設置したカテーテルより急速静注し、糖負荷後120分まで経時的に採血し、グルコースオキシダーゼ法により血糖値を測定した。なお、糖負荷試験はSTZ投与後4、5日目および14日目(n=4)、7日目(n=3)に施行した。

【結果】2週間後DM群の体重はCONT群に対し有意に低値であり、体重増加の抑制の傾向がみられた。DM群はCONT群に比べ水摂取量はSTZ投与翌日から有意に高値であったが、飼料摂取量に差はみられなかった。空腹時血糖は、STZ投与後糖負荷試験の施行日に関係なくCONT群より有意に高値であり、さらにDM群の中でも空腹時血糖は7日目、14日目が4、5日目より

有意に高値であった。血糖値の変動はSTZ投与後4、5日目に施行した糖負荷試験では個体差が大きかった。これに対してSTZ投与後7日目、14日目のそれはピーク時以後低下が抑制される傾向となり、糖負荷後120分の血糖値はCONT群に比べ高値であった。

【考察】STZ投与後の体重はSTZの濃度に依存して低下するとの報告と、本実験ではSTZ投与前の体重を維持していることから、45 mg/kgのSTZ投与は比較的マイルドな1型糖尿病ラットを誘発させたと考えられる。またSTZ投与後4、5日目では血糖値の変化に個体差が大きかったことよりその病態は完成していないと推測される。STZ誘発糖尿病ラットでは、諸家の報告と同様にSTZ投与後7日目、14日目では顕著な高血糖が出現することがわかった。これらより、STZ誘発糖尿病ラットを用いた理学療法の全身耐糖能への効果を検討する場合、その介入時期はSTZ投与1から2週間が適当であると考えられた。