

523 後肢懸垂前に行う運動が筋機能に及ぼす効果

森 大輔¹⁾, 藤野英己²⁾, 田崎洋光²⁾, 武田 功²⁾

1) 誠愛リハビリテーション病院リハビリテーション部, 2) 鈴鹿医療科学大学保健衛生学部

key words 筋張力・筋原線維タンパク質量・Heat shock protein

【目的】

不活動により骨格筋の廃用性筋萎縮が生じ、筋張力の低下や筋原線維タンパク質量の減少がみられる。我々は後肢懸垂前に運動を行うことで骨格筋の萎縮予防が可能かについて検証し、筋張力や筋原線維タンパク質量の低下を一定の期間予防することが可能であることを明らかにした。しかし、この現象のメカニズムについては不明であった。近年、これらの現象を説明するに至ってHeat shock protein (Hsp) が注目されている。そこで、本研究では廃用性筋萎縮の予防という視点から、筋原線維タンパク質量、筋張力およびHsp量の相互変化について検討した。

【方法】

Wistar系雄ラット15匹(10～11週齢)を無作為に対照群(CONT群: n=5)、後肢懸垂群(HS群: n=5)および運動負荷した後に後肢懸垂を行う群(HE群: n=5)の3群に分類した。HSはMorey法で2週間懸垂し、HE群はラット用トレッドミル走行(傾斜角20度、速度20m/min、30分)を行った後にHSと同様に2週間懸垂した。2週間の飼育後、ネブタール(50mg/kg.i.p.)で麻酔し、ヒラメ筋を摘出し、95%酸素および5%二酸化炭素の混合ガスをバブリングするKrebs溶液中で保生した。筋の一端を固定し、他端を張力トランスジューサ(BG-300, Kulite)に装着し、単収縮張力、強縮張力を記録、解析した。摘出筋は筋湿重量を測定し、-80℃で凍結保存した。筋原線維タンパク質量は凍結保存した摘出筋をホモジネートして、Tsikaらの方法により筋1g当たりに含まれる筋原線維タンパク質量の計測を行った。また、Hspの測定はヒラメ筋の全タンパク質をBradford法により

測定し、1μg/μLの筋タンパク質をアクリルアミドゲルで電気泳動した。ウエスタンブロッティング法によりHsp72(モノクローナル抗体, Stressgen)の同定をした。

統計処理は分散分析(Bonferroni検定)を用いて特定の2群間の比較を行い、危険率5%未満を有意差ありとした。

【結果】

筋湿重量、体重に対する筋湿重量の比および単収縮ではHE群、HS群ともに有意な低下がみられたが、HE群とHS群間では有意差はみられなかった。強縮ではHE群がCONT群の65.1%、HS群は53.0%となり、HE群、HS群ともに有意な低下がみられたが、HE群はHS群よりも有意に高値を示した。筋原タンパク質量はHE群がCONT群の79.9%、HS群が54.2%となり、HE群はHS群よりも有意に高値であった。また、HE群ではHsp72の発現が増加していたが、HS群では低下していた。

【考察】

これらの結果から不活動前に運動することで、Hsp72の発現が増加し、筋原タンパク分解が抑えられ、強縮張力が維持されたと思われる。これらの結果は、安静臥床前の運動療法の有効性が示唆された。

■ 理学療法基礎系 22

524 培養骨格筋細胞の伸張刺激による肥大

笹井宣昌¹⁾, 宮津真寿美¹⁾, 河上敬介¹⁾, 早川公英²⁾, 小林邦彦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

key words 筋肥大・伸張刺激・培養細胞

【目的】適度な運動により骨格筋が肥大して筋力が増強されることは経験的によく知られている。しかし、その分子メカニズムは明らかにされていない。負荷運動において筋が収縮すると、収縮力に対する応力(張力)が筋に働く。この張力が筋肥大を引き起こすことに重要であると考えられている。昨年の本大会では、培養骨格筋細胞に伸張刺激を加えるとPI3K/Akt経路が活性化することを報告した。PI3K/Akt経路は、成長因子のひとつであるIGF-1により活性化して筋肥大を引き起こすことが示されている。今回は、昨年使用したシステムにおいて伸張刺激により筋肥大が引き起こされるかどうか確認した。

【方法】ニワトリ胚の胸筋から採取した筋芽細胞を、collagen type Iをコーティングした薄いシリコン膜上に初代培養した。シリコン膜の表面に溝をつけ、筋線維が一定方向に並ぶように工夫をした。培養開始後5日目の筋管細胞に、シリコン膜を伸張して、筋線維の長軸方向に伸張刺激を与えた。昨年と同じ頻度1/6 Hz、伸張率10%の周期的伸張刺激を72時間加えた(伸張群)。同じ期間に伸張刺激を加えず、シリコン膜上で培養した細胞を非伸張群とした。以下の手順により各群の筋線維直径を計測して肥大の評価をした。4%パラフォルムアルデヒドで固定した細胞の位相差顕微鏡像をデジタルカメラで撮影して、その画像上の筋線維の直径をScion image (Scion co.)を用いて計測した。撮影では、シリコン膜(縦40mm×横10mm)を凡そ縦4分割×横3分割した12領域から各1枚の画像を得た。直径の計測では、長方形の画像に1本の対角線を引き、その対角線と筋線維が交差する箇所を筋線維の長軸方向と垂直な

線維径を計測した。

【結果】実験開始時の筋線維直径は、平均15.1±2.5 μm (n=150)であった。実験開始から72時間後の非伸張群の筋線維直径は平均15.3±1.5 μm (n=143)であり、実験開始時と比べ差はなかった。これに対し伸張群では、筋線維直径が平均24.5±4.8 μm (n=136)と非伸張群の約1.6倍であり、筋肥大が確認できた。

【考察】非伸張群の筋線維が実験期間中に肥大しなかったことから、筋管細胞への新たな筋芽細胞の融合や筋管の成長は停止していたと考えられる。このような成熟した筋管細胞において伸張刺激により筋線維の肥大が引き起こされたことは、成熟した個体における筋肥大においても我々の実験系と同様なシグナル伝達経路が働いていることを示唆している。伸張刺激により活性化したPI3K/Akt経路が筋肥大に必須であるか否かという点について今調べている。以上のような筋肥大にかかわる分子メカニズムが明らかにされることは、筋力増強あるいは筋力低下の予防のための科学的根拠に基づく効果的で効率的な理学療法の開発につながると考える。