

論文の和文要旨

氏名 葛木 新

(博士論文の題目)

Effects of an intermittent low-frequency electrical stimulation on skeletal muscle

(博士論文の要旨)

レジスタンストレーニングは骨格筋肥大を招来する最も一般的な手段である。通常、筋肥大には TypeII 線維の動員が必要であることから、筋肥大を招来するためのトレーニング方式には大きな力発揮が必要であると考えられる。そのため、筋肥大を目的としたトレーニングでは最大拳上重量 70%以上を多くの指標としている。一方で、より軽い負荷ながらも骨格筋肥大を招くトレーニング方式として血流制限や低負荷高回数などのトレーニングモデルも報告されており、筋肥大を起こさせるためのトレーニング条件は完全に定義されていない。

筋肥大を招く手段の一つとして神経筋電気刺激(Neuromuscular electrical stimulation: NMES)が報告されている。40Hz 以上の高周波数電気刺激は筋が強縮を起こすことによりレジスタンストレーニングと同様の効果をもたらすとされ、実際に筋肥大とともに筋力の増加が起きる。一方で、10~20Hz の低周波数電気刺激は長時間持続的に負荷することにより筋線維の遅筋化と共に、筋サイズの維持に働く。しかしながら、NMES による筋線維の動員様式は非選択的であり、意識下での筋動員様相とは異なることから、低周波数電気刺激によっても方法に工夫を加えることによって筋肥大を招く可能性があると考えられる。

本研究の目的は、筋肥大をもたらす低周波数電気刺激の方法の確立、その分子メカニズムの探索、およびその対象を明らかにすることである。

Chapter2: Effect of intermittent low-frequency electrical stimulation on the rat gastrocnemius muscle

Chapter2 では、間欠的低周波数電気刺激が Sprague-Dawley (SD)ラットの腓腹筋に与える影響を検討した。電気刺激によるトレーニング群は高周波数(HFS: 100Hz)および低周波数(LFS: 10Hz)とし、各群の右内側腓腹筋をトレーニング側(T)、反対側を非トレーニング側(UT)とし、UT は内部標準として用いた。その結果、

様式 3 号

内側腓腹筋湿重量および筋原線維量が HFS・LFS とともに UT に対して T が有意に高い値を示した。また、単回のトレーニングにより筋タンパク質合成関連シグナルである p70S6K および ERK1/2 の検討を行った。その結果、HFS では mTOR 下流標的であるリン酸化 p70S6K が運動直後および 3 時間で有意に亢進していたものの、LFS では亢進していなかった。一方で ERK 1/2 は運動直後の LFS でのみ有意に亢進していたものの、HFS では亢進していなかった。そのため、HFS では mTOR 経路依存的、LFS では MAPK 経路依存的に筋タンパク質の合成が起きる可能性が示された。

Chapter 3: The molecular events of low-frequency electrical stimulation induced skeletal muscle hypertrophy

現在まで、筋肥大は単回のトレーニングによる筋タンパク合成の蓄積によって起こる。なかでも、mTOR 経路は筋タンパク合成の鍵因子と考えられている。そのため Chapter 3 では LFS 誘因性筋肥大の筋タンパク合成が mTOR 経路を介すかどうかを検討することを目的とした。

トレーニング群は HFS および LFS として運動直後、3 時間後、12 時間後、24 時間後で解剖を行った。トレーニング方法は Chapter 2 と同じ方法で行った。生化学的解析としてウエスタンブロット法を用いて、mTOR、ERK 1/2、p70S6K(T389,T421/S424)、rpS6 のリン酸化発現量を解析した。

その結果、mTOR は HFS 群の 3 時間後に有意に亢進しており、p70S6K (T389) も同時に亢進していた。しかしながら LFS では mTOR は亢進しなかったものの、12 時間後の p70S6K (T389) が有意に亢進していた。また p70S6K 下流標的である rpS6 は HFS、LFS とともに運動後 3 時間で有意に亢進していた。また ERK 1/2 は HFS、LFS とともに同様の動態を示した。以上のことから、LFS 誘因性筋タンパク合成は mTOR の貢献度は少ないものと考えられる。

Chapter 4: Intermittent low-frequency electrical stimulation suppresses ubiquitin proteasome dependent protein degradation and induces skeletal muscle hypertrophy

生体内における骨格筋肥大反応は人種や個人差などの遺伝的背景などに左右されることも多い。実験動物レベルにおいても Kobayashi et al. は SD 系ラットにくらべ Wistar 系ラットは筋肥大反応が起こりにくく、mTOR への反応が Wistar 系では起こりにくいことも報告している。本論の Chapter 3 において、LFS 誘因性筋肥大は mTOR 非依存性である可能性を示した。そのため、LFS は大きな力発揮を個体差に関わらず筋肥大が起きるのではないかと考えた。

Chapter 4 では Wistar ラットを用いて LFS が筋肥大を惹起するかどうかを検討

様式 3 号

することを目的とした。その結果、HFS では有意な筋湿重量の増加は認められなかったものの、LFS では筋湿重量が有意に増加していた。また、筋タンパク合成の指標である p70S6K および筋タンパク分解の指標である MAFbx/Atrogin-1 および MuRF-1 は HFS では有意に亢進していたものの、LFS では亢進していなかった。LFS では mTOR 非依存性の筋タンパク合成が関与している可能性があることから、筋肥大が起きたものと考えられる。さらに LFS はユビキチンプロテアソーム依存性の筋タンパク分解を抑制する可能性が示された。

本研究では低周波数電気刺激が骨格筋に与える影響を調査した結果、低周波数電気刺激を間欠的に骨格筋に負荷することで筋肥大を起こすことを示した。また、LFS 誘因性筋肥大は現在まで考えられてきた mTOR 依存性タンパク合成の貢献が少ない可能性を示した。さらに筋肥大反応が起きにくい対象においても筋肥大を起こすことがわかった。

本研究は低周波数電気刺激が骨格筋肥大を起こす有用な方法であることを示した。今後は LFS 誘因性筋タンパク合成の鍵因子を探ることによって筋肥大そのものの鍵因子を同定することおよび、ヒトレベルでの実験を行っていく必要があると考えられる。

様式 3 号