

運動強度の違いが肺気腫モデルマウスの骨格筋に及ぼす影響

熊谷雄基 (PT, MSc)¹⁾²⁾, 木戸聡史 (PT, PhD)³⁾,
善田督史 (PT, MSc)⁴⁾⁵⁾, 丸岡 弘 (PT, PhD)³⁾

1) 埼玉県立大学大学院博士前期課程

2) 草加整形外科内科リハビリテーション科

3) 埼玉県立大学理学療法学科

4) 埼玉県立大学大学院博士後期課程

5) 国際医療福祉大学市川病院リハビリテーション科

キーワード：慢性閉塞性肺疾患，骨格筋，トレッドミル運動

はじめに

慢性閉塞性肺疾患（以下，COPD）は，呼吸機能の低下や骨格筋における有酸素能力の低下により，呼吸困難や運動耐容能の低下などの症状を呈する全身性の疾患である。COPD 患者に運動介入を行うことでこれらの症状が改善することが示されており，そのメカニズムとして，運動により骨格筋における有酸素能力の改善が関与している¹⁾。これまでに，COPD 患者を対象に運動強度の比較を行った研究は報告されているが，骨格筋機能は検討されていない。また，齧歯類を対象に運動強度の違いが骨格筋代謝特性に与える影響が検討されているが，肺疾患モデル動物の骨格筋機能に与える影響は解明されていない。そのため本研究では，肺気腫モデルマウスを対象に，異なる強度の運動が骨格筋機能に及ぼす影響を検証することとした。

方 法

1. 対象とデザイン

10 週齢の雄性野生型 C57BL/6 マウス 20 匹を使用した。マウスを無作為に肺気腫群 15 匹と対照群 (Con 群) 5 匹に分け，肺気腫群に対してタバコ煙の溶液を気管支内に投与し 4 週間で肺気腫モデルを作製した²⁾。肺気腫群をさらに運動を行わない CSS 群，低強度のトレッドミル運動 (12 m/min で 45 分) を行う LIT 群，中強度のトレッドミル運動 (18 m/min で 30 分) を行う MIT 群の 3 群に分けた。運動介入は，モデル作製期間中に 1 日 1 回，週 5 日，4 週間行った。

2. 評価と分析

モデル完成時点で筋力，呼吸機能，運動耐容能の評価を行った。運動耐容能はトレッドミルを用いて漸増負荷試験により走行時間を測定した³⁾。測定から数日後に屠殺し，ヒラメ筋，腓腹筋を採取した。採取した骨格筋は連続切片を作成し ATPase 染色⁴⁾ と SDH 染色⁵⁾ を行い，

筋線維タイプ，筋線維断面積，SDH 光学濃度を測定した。また，腓腹筋の mRNA を抽出し real time PCR 法を用いて有酸素系酵素のクエン酸シンターゼ (CS)，筋萎縮に関連する筋特異的 RING-Finger タンパク質 1 (以下，MuRF-1)，炎症性サイトカインの腫瘍壊死因子 α (以下，TNF α) の発現量を検討した³⁾。統計処理は群間比較に一元配置分散分析，多重比較検定に Tukey 法を用いた ($p < 0.05$)。

3. 倫理的配慮

本研究は所属機関の動物研究倫理委員会において承認 (番号：19-02) 済みである。

結 果

1. 身体機能評価

走行時間は CSS 群と比較して MIT 群で有意に高値を示したが，CSS 群と LIT 群の間に有意差を認めなかった (図 1)。筋力，体重，安静時呼吸機能は LIT 群，MIT 群ともに各群との間に有意差を認めなかった。

2. 病理組織評価

腓腹筋深層の筋線維タイプは，Con 群と比較して MIT 群で type II A 線維の割合が有意に低値を示した (図 2)。筋線維断面積，SDH 光学濃度は，LIT 群，MIT 群ともに各群との間に有意差を認めなかった。

3. 分子機序の検討

CSS 群と比較して LIT 群，MIT 群で CS，MuRF-1 の mRNA 発現量は有意に低値を示したが，LIT 群と MIT 群の間には有意差を認めなかった。Con 群と比較して LIT 群，MIT 群で TNF- α の mRNA 発現量は有意に低値を示したが，LIT 群と MIT 群の間には有意差を認めなかった。

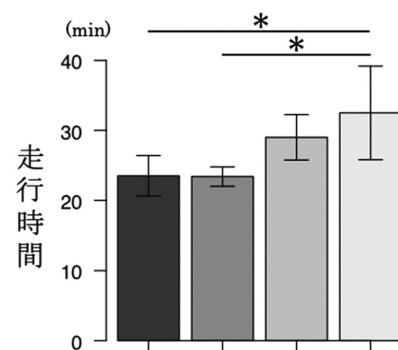


図 1 漸増負荷試験による運動耐容能の評価結果
小動物用トレッドミルを用いて傾斜 0°，10 m/min で 5 分間の warm up 後に，3 分ごとに 2 m/min ずつ速度を上げた。後方で電気刺激を行い，30 秒以上電気刺激を受けても走らなくなった時点で終了とした。

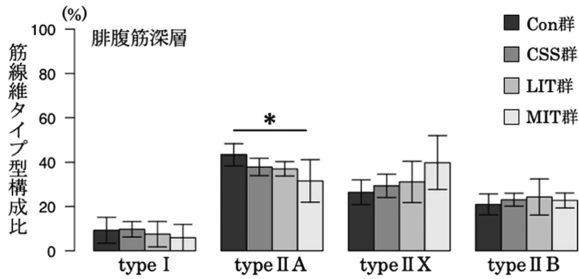


図2 腓腹筋深層における筋線維タイプ型構成比
 腓腹筋の連続切片を作成し、ATPase 染色 (pH4.55) と SDH 染色を行った。検体ごとに100本以上の筋線維を含む画像を分析し、筋線維のタイプ分類を行った。

考 察

本研究は、肺気腫モデルマウスに対して運動強度の違いが骨格筋に与える影響を検証した。運動耐容能は骨格筋のSDH活性やCSと相関し⁶⁾、これらの有酸素系酵素は運動によって増加することが報告されているが¹⁾、本研究ではLIT群、MIT群ともに有酸素系酵素の変化がみられなかった。一方で、MIT群で運動耐容能の上昇、type II A 線維割合の減少がみられ、LIT群ではこれらの変化はみられなかった。ICRマウスを対象にした研究では、18 m/minの運動でtype II X 線維割合が減少することが報告されているが⁷⁾、本研究で使用したC57BL6マウスは、ICRマウスと比べて最大走行速度が遅く、ICRマウスと同じ速度の運動を行った場合、C57BL6マウスには高負荷になっていた可能性がある。齧歯類の骨格筋に電気刺激を行うと、持続的な低周波刺激が遅筋化を誘導し、間欠的な高周波刺激が速筋化を誘導する⁸⁾。そのため、C57BL6マウスにおいて中強度の運動は、間欠的な高周波刺激に類似した効果をもたらす可能性が示唆された。また、マウスの骨格筋において酸化能力は、II A > I = II X > II Bの順に高く、解糖能力は、II B > II X > II A > Iの順に高い⁹⁾。本研究における運動耐容能の評価は、漸増負荷試験を行ったため、C57BL/6マウスの乳酸産生域値を超える20 m/min以降は解糖系代謝の割合が増えることが考えられる。そのため、type II A 線維の割合が減少したことにより相対的に解糖能力の高い筋線維の割合が増加し、漸増負荷試験におけるパフォーマンスの上昇に寄与した可能性が示された。

結 論

中強度の運動は、肺気腫モデルマウスにおいて骨格筋のtype II A 線維割合を減少させ、有酸素系酵素とは関係なく運動耐容能を改善させることが示唆された。

文 献

- 1) Brønstad E, Rognmo O, *et al.*: High-intensity knee extensor training restores skeletal muscle function in COPD patients. *Eur Respir J.* 2012; 40(5): 1130-1136.
- 2) Amano H, Murata K, *et al.*: p38 Mitogen-activated protein kinase accelerates emphysema in mouse model of chronic obstructive pulmonary disease. *J Recept Signal Transduct.* 2014; 34(4): 299-306.
- 3) Maruoka H, Tanaka K, *et al.*: Effects of neuromuscular electrical stimulation on pulmonary alveola and cytokines in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and skeletal muscle atrophy model mice. *J Phys Ther Sci.* 2021; 33(1): 1-8.
- 4) Glaser BW, You G, *et al.*: Relative proportions of hybrid fibres are unaffected by 6 weeks of running exercise in mouse skeletal muscles. *Exp Physiol.* 2010; 95(1): 211-221.
- 5) Van Der Zwaard XS, De Ruiter CJ, *et al.*: Maximal oxygen uptake is proportional to muscle fiber oxidative capacity, from chronic heart failure patients to professional cyclists. *J Appl Physiol.* 2016; 121(3): 636-645.
- 6) Granata C, Oliveira RSF, *et al.*: Training intensity modulates changes in PGC-1 α and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. *FASEB J.* 2016; 30(2): 959-970.
- 7) Suzuki J: Endurance performance is enhanced by intermittent hyperbaric exposure via up-regulation of proteins involved in mitochondrial biogenesis in mice. *Physiol Rep.* 2017; 5(15): 1-13.
- 8) Pette D, Staron RS: Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem Cell Biol.* 2001; 115(5): 359-372.
- 9) Bloemberg D, Quadriatero J: Rapid determination of myosin heavy chain expression in rat, mouse, and human skeletal muscle using multicolor immunofluorescence analysis. *PLoS One.* 2012; 7(4): e35273.

発表実績

- 1) 熊谷雄基, 丸岡 弘, 他: 強度の異なる運動が肺気腫モデルマウスの骨格筋に及ぼす影響. 第26回日本基礎理学療法学会学術大会 (北海道). 2021; 10: 23-24.