

## O-0361

## 炎症性サイトカインによるミトコンドリア機能障害に対する治療的電気刺激の予防効果

田中 孝平<sup>1)</sup>, 田中 稔<sup>1,2)</sup>, 竹垣 淳也<sup>1)</sup>, 藤野 英己<sup>1)</sup><sup>1)</sup>神戸大学大学院保健学研究科, <sup>2)</sup>大阪行岡医療大学**key words** 治療的電気刺激・ミトコンドリア・炎症性サイトカイン

## 【はじめに, 目的】

心不全, 慢性閉塞性肺疾患, 腎臓病等の慢性疾患では, 呼吸循環器系の機能低下に伴い身体活動量が減少し, 骨格筋の代謝機能の低下が生じる。さらに, 疾患の重症化により炎症性サイトカインの血中濃度が上昇し, 代謝異常症候群である悪液質を呈する。悪液質では, 身体活動量の低下だけでなく炎症性サイトカインの増加が骨格筋の代謝機能を低下させる主要な原因となる。炎症性サイトカインはミトコンドリア新生や TCA 回路における酵素活性を抑制し, 骨格筋の有酸素性代謝能力を低下させることが知られている。一方, 治療的電気刺激 (TES) は積極的な運動療法が困難な場合に筋活動を代償するための代替手段として注目されており, 骨格筋の代謝機能を改善する効果が多く報告されている。骨格筋の有酸素性代謝能力の維持は, 効率的な ATP 産生により運動耐容性を維持する効果が期待できるが, これまで悪液質状態の骨格筋に対する TES の効果は検討されていない。そこで, 本研究では悪液質モデルマウスを用いて, 炎症性サイトカインによるミトコンドリア機能障害に対する TES の効果を検討することを目的とした。

## 【方法】

5週齢の雄性 ICR マウス (n=15) を使用し, 対照群 (Cont 群), リポポリサッカリド (LPS) 投与により悪液質を惹起した群 (LPS 群), LPS 投与期間中に TES を行った群 (LPS+TES 群) の 3 群を設けた。LPS は 1 日あたり 10 $\mu$ g/g を腹腔内に投与した。TES は前脛骨筋に対して超最大収縮の刺激強度にて実施した。刺激波形には 2500Hz の中周波を 100Hz に変調した変調波を使用し, 1 秒間の刺激を 2 秒毎に 20 回行い, 5 分間の休憩を設けて 6 セット行うセッションを 1 日 2 セッション行った (Kim, 2007)。介入期間は 4 日間とし, 介入期間終了後に前脛骨筋を摘出し, 体重, 筋湿重量を計測した。悪液質の指標として血液サンプルを採取し, 血清中の腫瘍壊死因子 (TNF- $\alpha$ ) 産生量を ELISA 法にて測定した。また, ミトコンドリア機能の指標としてコハク酸脱水素酵素 (SDH) 活性を SDH 染色より計測し, クエン酸合成酵素 (CS) 活性を Srere 法にて測定した。ミトコンドリア新生因子である PGC-1 $\alpha$  発現量, 炎症性サイトカインからのシグナルを受ける p38 のリン酸化蛋白及び総蛋白発現量を Western blot 法にて測定した。得られた結果の統計処理には一元配置分散分析と Tukey の多重比較検定を使用し, 有意水準は 5% とした。

## 【結果】

LPS 群及び LPS+TES 群の体重は Cont 群と比較して低値を示した。また, LPS 群及び LPS+TES 群の筋湿重量は Cont 群と比較して低値を示したが, LPS+TES 群は LPS 群と比較して高値を示した。TNF- $\alpha$  は Cont 群では検出されなかったが, LPS 群及び LPS+TES 群では発現が認められ, 2 群間で発現量に有意差は認められなかった。また, LPS 群の SDH 及び CS 活性は Cont 群と比較して低値を示したが, LPS+TES 群は LPS 群と比較して高値を示した。さらに, LPS 群及び LPS+TES 群の PGC-1 $\alpha$  発現量は Cont 群と比較して低値を示したが, LPS+TES 群は LPS 群と比較して高値を示した。また, LPS 群の p38 のリン酸化割合 (リン酸化 p38/総 p38) は Cont 群と比較して高値を示したが, LPS+TES 群は LPS 群と比較して低値を示した。

## 【考察】

LPS 投与による悪液質では, TCA 回路の律速酵素である SDH 活性や CS 活性の低下が認められた。SDH 活性や CS 活性等のミトコンドリア酵素活性はミトコンドリア数と密接に関係すると報告されており, 本研究では LPS 投与によりミトコンドリア新生に重要な蛋白である PGC-1 $\alpha$  発現量の減少が認められた。また, LPS 投与により TNF- $\alpha$  発現量や p38 リン酸化割合が増加した。悪液質において産生が亢進する TNF- $\alpha$  等の炎症性サイトカインは, p38 のリン酸化を促進し, PGC-1 $\alpha$  の発現を抑制すると報告されている。本研究では, TNF- $\alpha$  によってリン酸化した p38 が PGC-1 $\alpha$  の発現を抑制し, ミトコンドリア新生が抑制され, ミトコンドリア数が減少し, TCA 回路の機能低下が惹起されたと考えられる。一方, TES による介入は p38 のリン酸化を抑制すると報告されている。本研究では, TES によって炎症性サイトカインによる p38 のリン酸化を介した PGC-1 $\alpha$  発現量の減少を抑制した。PGC-1 $\alpha$  発現量の維持によりミトコンドリア新生が促進され, 一定のミトコンドリア数が保たれた為, ミトコンドリア酵素活性が維持されたと考えられる。本研究の結果より, TES は悪液質における TCA 回路の機能低下を予防する介入方法として有効であることが示唆された。

## 【理学療法学研究としての意義】

活動量の低下をもたらす背景となる慢性疾患特有の病態である悪液質に対する治療的電気刺激の有効性を示した点で理学療法研究として意義を持つと考える。