



Effectiveness of daily eccentric contractions induced via kilohertz frequency transcutaneous electrical stimulation on muscle atrophy

Tanaka, Minoru

(Degree)

博士（保健学）

(Date of Degree)

2016-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6620号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006620>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(別紙1)

論文審査の結果の要旨

氏名	田中 稔		
論文題目	Effectiveness of daily eccentric contractions induced via kilohertz frequency transcutaneous electrical stimulation on muscle atrophy (遠心性収縮を伴う経皮的な中周波電気刺激の筋萎縮に対する有効性)		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	教授	藤野 英己
	副査	教授	森山 英樹
	副査	助教	前重 伯壯
	副査		
要旨			
本研究は廃用性萎縮に対する治療として、中周波電気刺激と他動運動を併用した収縮様式（求心性収縮、等尺性収縮、遠心性収縮）の相違が下腿深層筋の萎縮進行に与える影響を組織化学及び生化学による検証から分子機序を検証したものである。本研究では廃用性筋萎縮動物を用いて、中周波電気刺激による求心性収縮での治療、中周波電気刺激による等尺性収縮での治療、中周波電気刺激による遠心性収縮での治療を比較した。その結果、筋萎縮時に生じるユビキチン-プロテアソーム系の活性を示すユビキチン化蛋白質や筋特異的ユビキチナリガーゼであるAtrogin-1は中周波電気刺激による求心性収縮や等尺性収縮では抑制できなかったが、中周波電気刺激による遠心性収縮での治療では有意に抑制することを示した。また、筋蛋白質の合成系に関与するAkt-1のリン酸化やFoxOの脱リン酸化の抑制は中周波電気刺激による遠心性収縮での治療で効果があることを示した。さらに遠心性収縮によるリポゾームS6キナーゼのリン酸化の上昇も確認された。これらの結果から中周波電気刺激を用いた遠心性収縮は他の収縮様式より深層筋の高い萎縮予防効果が得られることを実証した。本研究で検証した結果は妥当であり、その解釈も適切と考えられる。本研究で明らかにされた知見はリハビリテーション科学分野の発展に寄与する価値ある集積であることを認める。よって、学位申請者の田中稔氏は、博士（保健学）の学位を得る資格があると認める。			
掲載論文名・著者名・掲載（予定）誌名・巻（号）、頁、発行（予定）年を記入してください。			
Effectiveness of daily eccentric contractions induced via kilohertz frequency transcutaneous electrical stimulation on muscle atrophy. Tanaka M, Nakanishi R, Murakami S, Fujita N, Kondo H, Ishihara A, Roy RR and Fujino H. Acta Histochem 118(1): 56-62, 2016. Epub 2015 Nov 25.			

論文内容の要旨

専攻領域 リハビリテーション科学

専攻分野 運動機能障害学

氏名 田中 稔

論文題目（外国語の場合は、その和訳を（ ）を付して併記すること。）

Effectiveness of daily eccentric contractions induced via kilohertz frequency transcutaneous electrical stimulation on muscle atrophy

（遠心性収縮を伴う経皮的な中周波電気刺激の筋萎縮に対する有効性）

論文内容の要旨（1,000字～2,000字でまとめるうこと。）

【目的】身体深層に位置する骨格筋は抗重力筋としての役割を果たすと言われており、その萎縮は、関節の安定性や姿勢調節機能を低下させ、高齢者の歩行能力低下や易転倒性を惹起する。また、深層筋は不活動時には抗重力筋としての特徴から筋萎縮が助長されやすい。このため廃用性筋萎縮の予防は深層筋に着目して介入する必要がある。一方、我々は、深層筋の萎縮の予防手段として、中周波電気刺激（ES）が有効であると報告した（Tanaka, 2013）。しかし、中周波電気刺激を用いた場合でも、完全な予防の実現には至っていない。一方、遠心性収縮は他の収縮様式より骨格筋へ高いストレスを負荷できるため、中周波電気刺激と組み合わせることで筋萎縮予防効果が高まると予想される。そこで、本研究では中周波電気刺激を用いた遠心性収縮による下腿深層筋の廃用性萎縮の予防効果とそのメカニズムを組織化学及び生化学的手法を用いて検証した。【方法】本実験には、20週齢の雄性SDラットを用い、対照群（Cont群）、後肢非荷重群（HU群）、後肢非荷重期間中に求心性収縮でESを行った群（HU+cES群）、等尺性収縮でESを行った群（HU+iES群）、遠心性収縮でESを行った群（HU+eES群）に区分した。ESは後肢非荷重開始日の翌日から行い、下腿後面に対して経皮的に実施した。刺激強度は超最大収縮とし、中周波電流を正弦波様に変調した100Hzの刺激周波数にて1秒間の刺激を2秒間隔で20回行い、6セットを1日2回実施した。実験期間終了後、ヒラメ筋を摘出し、作製した切片にATPase染色（pH4.2）を施し、染色所見より筋線維横断面積を計測した。また、ヒラメ筋のAkt1とFoxO3aの総タンパク質及びリン酸化タンパク質の発現量、ユビキチン化タンパク質発現量をWestern Blot法により測定した。また、HE染色を施し、組織化学的所見より筋損傷率についても検証した。測定データの統計解析には一元配置分散分析とTukey-Kramerの多重比較検定を用い、有意水準は5%未満とした。【結果】筋線維横断面積はHU群でCont群に比べて有意に低値を示した。HU+eES群はHU群に比べて有意に高値を示した。さらにHU+cES群、HU+iES群に対しても有意に高値を示した。Akt1、FoxO3a総タンパク質発現量に対するリン酸化タンパク質発現量の割合は、HU群でCont群に比べて有意に低値を示した。HU+eES群はHU群に比べて有意に高値を示した。さらにHU+cES群、HU+iES群に対しても有意に高値を示した。ユビキチン化タンパク質発現量はHU群でCont群に比べて有意に増加した。HU+eES群はHU群に比べて有意に減少した。さらにHU+cES群、HU+iES群に比べて有意に減少した。また、HU+eES群の筋損傷率は1%未満であり、機能的に問題となる筋損傷は観察されなかった。

【考察】本研究において、中周波電気刺激を用いた遠心性収縮により、他の収縮様式より深層筋の高い萎縮予防効果が得られた。筋萎縮は筋タンパク質合成の抑制と分解の亢進により惹起される。Aktは、筋タンパク質合成において重要な役割を果たし、筋へのストレス負荷の増加に伴って活性化する。さらに、Aktの活性上昇はFoxOを介して、ユビキチン・プロテアソーム系の活性を抑制する。一方、後肢非荷重により惹起される筋タンパク質分解の亢進では、ユビキチン・プロテアソーム系が主要な役割を果たすと言われている（Jackman, 2004）。そのため、筋萎縮予防においてユビキチン・プロテアソーム系の活性化の抑制は重要であると考える。本研究において、HU+eES群で他の収縮様式を組み合わせた群に比べてAktの活性が上昇し、ユビキチン化タンパク質の発現量が減少した。この結果から、中周波電気刺激が深層筋の収縮を誘発し、さらに遠心性収縮により深層筋へ高いストレスが負荷されたことで、Aktが活性化し、FoxOを介してタンパク質のユビキチン化による分解系を抑制したと考えられる。この分解系の抑制効果が深層筋の高い萎縮予防効果につながったと考える。