



北海道公立大学法人  
**札幌医科大学**  
Sapporo Medical University

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title 論文題目	熱刺激負荷がアジュバント関節炎ラットの長趾伸筋における収縮機能に及ぼす影響
Author(s) 著 者	李, 宰植
Degree number 学位記番号	第 101 号
Degree name 学位の種別	修士 (理学療法学)
Issue Date 学位取得年月日	2015-03-31
Original Article 原著論文	
Doc URL	
DOI	
Resource Version	

## 修士論文の内容の要旨

保健医療学研究科 博士課程前期 理学療法学・作業療法学専攻 身体機能代償学分野	学籍番号 13MP05 氏 名 李幸植
論文題名 (日本語) 熱刺激負荷がアジュバント関節炎ラットの長趾伸筋における収縮機能に及ぼす影響	
論文題名 (英語) Effect of intermittent heat stress on contractile function in extensor digitorum longus muscle from adjuvant-induced arthritis rats	
<p>[目的] 関節リウマチ (Rheumatoid arthritis; RA) は、自己免疫異常による慢性炎症性疾患であり、関節の変形や疼痛とともに筋収縮機能の著しい低下が認められる。これまで、RA に伴う筋力の低下は、主に活動量の低下による筋萎縮を原因として引き起こされると考えられてきた。しかしながら、RA 患者及びモデル動物において、単位断面積あたりの張力である固有張力の著しい低下が報告されている。さらに近年、この固有張力の低下には、炎症性サイトカインである TNF-<math>\alpha</math> を上流因子とする酸化ストレスが関与することが示唆されている。一方、熱刺激負荷は、熱ショックタンパク質 (Heat shock protein; HSP) の発現を誘引することで、TNF-<math>\alpha</math> の発現を抑制すること、また、種々のストレスによるタンパク質の修飾、あるいは立体構造の変化を修復すると考えられている。これらの知見から、熱刺激負荷は、HSP72 発現量の増加を介して、RA に伴う骨格筋機能の低下を防止する可能性が示唆される。そこで、本研究では、アジュバント関節炎 (Adjuvant-induced arthritis; AIA) ラットを用い、熱刺激負荷が長趾伸筋における筋収縮機能低下に及ぼす効果を検討した。</p> <p>[方法] 9 週齢の Lewis 系雄性ラット 24 匹を、対照 (C) 群、熱刺激 (C+H) 群、関節炎 (A) 群、関節炎+熱刺激 (A+H) 群に分けた。関節炎は、ラットの膝関節腔内にフロイント完全アジュバント (Complete freund's adjuvant; CFA, 2 mg/0.2 ml) を投与することで惹起した。また、熱刺激負荷として、CFA 投与 1 日前を初回とし、2 日に 1 回ずつ、42 度の温水浴を 30 分間実施した。CFA 投与 3 週</p>	

間後に、長趾伸筋を採取し、電気刺激 (1-120 Hz) による張力測定と生化学的分析を行った。

[結果] A 群及び A+H 群では、C 群と比較して、長趾伸筋の最大固有張力が低下し、A 群と A+H 群の間に差異は認められなかった。A 群と A+H 群では、TNF- $\alpha$  及び 3-nitrotyrosine の発現量が増加したが、これらの値に両群間で差異は認められなかった。また、C+H 群と A+H 群では、HSP72 の発現量は増加したが、HSP25、 $\alpha$ B-crystallin、superoxide dismutase 2 及び catalase の発現量に変化は認められなかった。

[考察] 本研究において、熱刺激は、AIA ラットの長趾伸筋における固有張力の低下を抑制しなかった。また、熱刺激は、HSP72 の発現量を著しく増加させたが、固有張力の低下の原因の一つであると考えられる、酸化ストレスを軽減しなかった。先行研究において、遺伝的に HSP72 発現量を増加させた尿細管細胞では、過酸化水素に対する耐性が増強することから、HSP72 には抗酸化作用があることが示唆されている。一方、遺伝学的に HSP72 を過発現させた筋細胞では、酸化ストレスに対する防御能に変化が認められないこと、また、酸化ストレスが病態に強く関与すると考えられている虚血再灌流障害において、熱刺激は、HSP72 発現量を増加させるが、骨格筋保護作用を示さないことが報告されている。このように、HSP72 の抗酸化作用に関しては否定的な報告も存在しており、本研究もそれらの報告を支持する結果となった。

[結論] 熱刺激負荷は、AIA ラットの長趾伸筋における収縮機能の低下を防止しないことが示された。また、熱刺激による HSP72 発現量の増加は、AIA ラットの長趾伸筋における炎症性サイトカインの発現量の増加や酸化ストレスに対して影響を及ぼさないことが示された。

キーワード：アジュバント関節炎、筋収縮機能、炎症性サイトカイン、酸化ストレス、熱ショックタンパク質

[Purpose] Muscle wasting and weakness are prominent features in patients with rheumatoid arthritis. Although decreased muscle strength is traditionally thought to be caused by a loss of muscle mass, impaired intrinsic contractility is also present in patients and animal model with RA. Furthermore, it was suggested previously that redox stress mediated by

TNF- $\alpha$ , an inflammatory cytokine, contributes to the arthritis-induced muscle dysfunction. On the other hand, heat shock protein (HSP) 72 has been shown to reduce the TNF- $\alpha$  expression and protect the cells against oxidative stress. In this study, we examined the effects of intermittent heat stress on contractile properties of extensor digitorum longus (EDL) muscle from adjuvant-induced arthritis (AIA) rats.

**[Method]** Rats were divided into four groups (n = 6/group): a control (C), heat stress (C+H), AIA (A), and AIA with heat stress (A+H) group. AIA was induced by an injection of complete Freund's adjuvant to the knee joint cavity. Rats in the C+H and A+H groups were exposed to heated water at 42°C for 30 min every other day. After 21 days of injection, EDL muscles were removed and analyzed for force production and immunoblotting.

**[Result]** Compared with C group, the maximum specific force was decreased in the EDL muscles from the A and A+H groups. Moreover, the reduction in force production was accompanied by increased expression of TNF- $\alpha$  and 3-nitrotyrosine content in both groups. The levels of HSP72 were markedly increased in the C+H and A+H groups. There was no change in the expression levels of HSP25,  $\alpha$ B-crystallin, superoxide dismutase 2, and catalase.

**[Discussion]** In the present study, intermittent hyperthermia has no effect on contractile dysfunction in AIA EDL muscles, despite significantly increased expression of HSP72. HSP72 is a cytoprotective molecule, which has been shown to play a direct role in protecting the renal tubular cells against oxidative injury. Conversely, it was shown in in vitro experiment that the over-expression of HSP72 in skeletal myocytes does not confer protection against exogenous oxidative stress. Moreover, HSP72 induction by heat stress was not sufficient to provide resistance against ischemia-reperfusion-induced oxidative stress. Thus, our results are consistent with these latter studies showing that HSP72 does not have an anti-oxidative capacity.

**[Conclusion]** These results demonstrate that the increased HSP72 expression by intermittent heat stress does not ameliorate muscle

dysfunction and inflammatory redox stress in AIA EDL muscles.

Keyword: adjuvant-induced arthritis, heat shock protein 72, contractile dysfunction, oxidative stress, inflammatory cytokine

- 1 論文内容の要旨は、研究目的・研究方法・研究結果・考察・結論等とし、簡潔に日本語で1,500字程度に要約すること。併せて英語要旨も日本語要旨と同様に作成すること。
- 2 2枚目からも外枠だけは必ず付けること。

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	第 <b>101</b> 号	氏名	李 幸植
論文審査担当者	主査： 乾 公美 副主査： 古畑 智久 副主査： 小塚 直樹		
<p>熱刺激がアジュバンド関節炎ラットの長趾伸筋における収縮機能に及ぼす影響                  Effect of intermittent heat stress on contractile function in extensor digitorum longus muscle from adjuvant-induced arthritis rats</p> <p>RA(関節リュウマチ)は、関節の変形や疼痛に加え顕著な筋力低下により、ADLやQOLを障害する。RAでは、筋量よりも面積あたりの固有張力の低下が指摘され、その張力低下は不活動以外の要因が関与することが示唆されている。近年、慢性炎症性疾患に起きる固有張力低下の要因として、酸化ストレスが注目されている。AIA(アジュバンド関節炎)ラットの骨格筋においてTNF(腫瘍壊死因子)-<math>\alpha</math>mRNAの発現が増加することが知られており、RAにおける酸化ストレスの要因として炎症性サイトカインが関与することが推察できる。熱刺激により発現するHSP(熱ショックタンパク質)72は、ラット骨格筋のTNF-<math>\alpha</math>を抑制し、酸化ストレスによる筋タンパク質の修飾を軽減するとの報告があり、RAによって起こる筋収縮機能低下を抑制する可能性があると考えられる。</p> <p>本研究では、RA動物モデルであるAIAラットを用い、熱刺激がEDL(長趾伸筋)の筋収縮機能低下に及ぼす効果とTNF-<math>\alpha</math>、酸化ストレス量に及ぼす影響を検討することである。</p> <p>結果は、体重や筋湿重量はC(対照群)に比べて低下した。固有張力は、高頻度刺激域でA(Complete Freund's Adjuvant (CFD)投与)群やA+H(Aに熱刺激を加える)群で低下した。A群A+H群、低頻度刺激領域でC群C+H群Cに熱刺激を加える)群よりも増加した。TNF-<math>\alpha</math>や3-NTは、A群及びA+H群はC群に比べて2倍以上に増加した。HSP72は、C+H群とA+HでC群に比べて4倍以上に増えた。SOD2やcatalaseは、差がなかった。</p> <p>以上により、熱刺激はAIAラットのEDLのHSP72を増加させるが固有張力低下を抑制できなきこと、抗酸化酵素の増殖に寄与しないことが明らかになった。</p> <p>本研究は、RA患者の筋変性に対する温熱療法の基礎的研究である。論文審査会において、研究の意義や成果は修士の学位に値するとの評価を受けたが、研究が未完であり今後の方針についてや、考察について一層の推敲を重ねるようとの意見が出された。指摘を受けた事項について修正されたので合格とした。</p>			

※報告番号につきましては、事務局が記入します。