



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	神経一筋電気刺激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	檜森, 弘一
Degree number 学位記番号	第107号
Degree name 学位の種別	修士 (理学療法学)
Issue Date 学位取得年月日	2016-03-31
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 スポーツ理学療法学分野	学籍番号 14MP05 氏名 檜森 弘一
論文題名（日本語） 神経一筋電気刺激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） Effects of neuromuscular electrical stimulation on contractile function in extensor digitorum longus muscle from adjuvant-induced arthritis rat	
<p> 【目的】 関節リウマチ（RA）では、関節の変形や疼痛とともに、著しい筋力低下が認められ、日常生活が障害される。この RA に伴う筋力低下は、筋萎縮だけでなく、単位断面積あたりの張力である固有張力の低下に起因することが示唆されている。一方、神経一筋電気刺激（ES）は、関節に過度の負担をかけずに実施でき、低強度でも速筋が動員されやすいことから、関節疾患に対する有望な筋力増強方法であると考えられる。しかし、RA に伴う筋力低下に対する ES の効果は十分明らかにされていない。そこで本研究では、RA の動物モデルであるアジュバント関節炎（AIA）ラットを用い、ES トレーニングが速筋である長趾伸筋（EDL）の収縮機能に及ぼす影響について検討した。 </p> <p> 【方法】 9週齢の Wistar 系雄性ラットを対照（CNT）群、関節炎（AIA）群、それらに ES を負荷した AIA+ES 群に分けた。AIA ラットは、フロイント完全アジュバント（CFA）を膝関節腔に投与することで作成した。ES トレーニングは、負荷強度 60%、頻度 50 Hz、2 秒刺激/4 秒休息の電気刺激とし、1 回約 37 回の収縮を 2 日に 1 回、3 週間負荷した。また、最後の ES トレーニングから 48 時間後に、長趾伸筋を採取し、生理学的小および生化学的分析を行った。 </p> <p> 【結果】 AIA 群の EDL では、最大固有張力が低下した。また、この機能低下は、アクチンおよびデスミンの凝集化を伴っていた。一方、ES トレーニングは、関節炎の程度には影響せず、AIA の EDL におけるこれらの変化を防止した。また、αB-crystallin（ABC）と peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator（PGC）-1α の発現量は、CNT 群および AIA 群と比較して AIA+ES 群で増加した。さらに、CNT 群と比較して、AIA 群では神経型一酸化窒素合成酵素（nNOS）、NADPH 酸化酵素（NOX）2 およびユビキチン化タンパク質の発現量が増加した。 </p> <p> 【考察】 近年、我々は、AIA ラットにおいて、アクチンの凝集化が EDL の固有張力の低下に関与することを報告した。本研究では、張力の伝達を担うデスミ </p>	

ンの凝集化が認められたことから、AIA に伴う固有張力低下の原因には、アクチンだけではなく、デスミンの凝集化も関与する可能性が示唆された。重要なことに、本研究の結果、ES は AIA ラットの長趾伸筋における固有張力低下を防止するとともに、アクチンおよびデスミンの凝集化を抑制した。この ES による凝集化抑制機序には、アクチンおよびデスミンの凝集を抑制する ABC の増加が寄与する可能性が考えられる。また、nNOS や NOX2 は病理学的条件下で認められる酸化ストレスにおいて重要な役割を果たす。一方、PGC-1 α は、炎症-酸化ストレス系を抑制する作用を有することが示されている。したがって、ES トレーニングによる PGC-1 α の増加は、AIA ラットの EDL における nNOS および NOX2 の発現を抑制することで、酸化ストレスによるタンパク質凝集化を軽減したかもしれない。プロテアソームは、ユビキチン化したタンパク質を分解することで、それらが凝集化するのを防止する。したがって、本研究の AIA+ES 群において、タンパク質凝集体のユビキチン化が減少したことから、ES トレーニングは、プロテアソームを活性化することで凝集体の蓄積に伴う筋機能障害を防止した可能性が考えられる。

【結論】 本研究の結果、ES は AIA ラットの長趾伸筋における固有張力低下を抑制すること、また、それにはアクチンとデスミンの凝集化の防止を伴うことが示された。また、ES によるタンパク質の凝集化の軽減には、1) ABC を介した抗凝集化作用、2) PGC-1 α を介した抗炎症作用、3) プロテアソームを介した変性タンパク質の分解促進作用が関与することが示唆された。これらの知見から、ES トレーニングは、RA に伴う筋力低下に対する有効な対策であると考えられる。

キーワード：アジュバント関節炎，筋収縮機能，酸化ストレス，低分子量熱ショックタンパク質，神経—筋電気刺激

[OBJECTIVE] Patients with rheumatoid arthritis (RA) have joint deformity, pain and muscle weakness, leading to impairment in activity of daily living. The muscle weakness in RA patients was shown to result not only from muscle atrophy, but also from decreased force per cross-sectional area (i.e., specific force). On the other hand, neuromuscular electrical stimulation (ES) is a promising way of muscle strength training for RA because it can be applied without excessive stress on joint and can activate fast-twitch muscle fibers at relatively low contractile intensity. However, little is known about whether ES training overcomes decreased muscle strength in RA. Therefore, in this study, we evaluated the effects of ES training on muscle function in fast-twitch extensor digitorum longus (EDL) muscles from adjuvant-induced arthritis (AIA) rat, which is an animal model for RA.

[METHODS] Male Wistar rats were divided into three groups: control (CNT), AIA, and AIA with ES (AIA+ES) group. AIA was induced by an injection of complete Freund's adjuvant to the knee joint cavity. The ES training was performed at 60% of

isometric maximum contractions lasting 2 s with a 4 s resting period between each contraction with 50 Hz stimulation frequency. Each training session included ~37 contractions and was applied every other day for 3 weeks. Forty-eight hours after the last ES training, EDL muscle was excised and analyzed for physiological and biochemical analyses.

[RESULTS] EDL muscles from AIA rats showed reduced maximum specific force. This contractile dysfunction was accompanied by aggregation of actin and desmin molecules. ES training prevented these alterations in AIA EDL muscles without having any deleterious effect on the arthritis development. Moreover, the levels of α B-crystallin (ABC) and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator (PGC) 1- α were increased in the AIA+ES group. Compared to CNT group, neuronal NO synthase (nNOS), NADPH oxidase (NOX) 2, and protein ubiquitination were significantly increased in AIA group.

[DISCUSSION] We recently suggested that the aggregation of actin results in loss of specific force in EDL muscles from AIA rat. In addition to the modification of actin, the present study showed the desmin aggregation in AIA EDL muscles. Desmin has an important role in force transmission in skeletal muscle. Thus, aggregation of desmin as well as actin is likely to contribute to the decreased specific force in AIA EDL muscles. Importantly, ES training prevented both the reduction in specific force and the formation of aggregation in actin and desmin in AIA EDL muscles. These protective effects of ES could be mediated by increased ABC content in AIA EDL muscles because ABC has been shown to act as molecular chaperon in preventing proteins from aggregation. nNOS and NOX2 are known to play a critical role in oxidative stress observed in pathological conditions. In contrast, PGC-1 α was shown to inhibit the inflammation-oxidative stress pathway in skeletal muscle. Thus, our data imply that ES training-induced increase in PGC-1 α expression may contribute to the decrease in nNOS and NOX2 expression. This then leads to the reduction in protein aggregation induced by the oxidative stress in AIA EDL muscle. It was shown that proteasome protects against formation of protein aggregates by degradation of ubiquitinated proteins. Therefore, our results of decreased ubiquitination in protein aggregates in AIA+ES group suggest that ES training prevents actin and desmin aggregation by an activation of proteasome function in AIA EDL muscles.

[CONCLUSION] This study showed that the decrease in specific force was prevented by ES training, which was accompanied by reduction in actin and desmin aggregation in AIA EDL muscle. Furthermore, our data suggest that the ES training inhibits aggregation of these proteins through an augmentation of 1) anti-aggregation effects of ABC, 2) anti-inflammatory effects of PGC-1 α , and/or 3) pro-degradation effects of proteasome. These data implies that ES training can be used to effectively overcome muscle weakness in patients with rheumatoid arthritis.

Keywords : adjuvant-induced arthritis, contractile function, oxidative stress, small heat shock proteins, neuromuscular electrical stimulation

修士論文審査の要旨及び担当者

報告番号	第 107 号	氏名	檜森 弘一
論文審査担当者	<p style="text-align: center;">理学療法学第二講座 主査：教授 片寄正樹</p> <p style="text-align: center;">作業療法学第一講座 副査：教授 今井富裕</p> <p style="text-align: center;">理学療法学第二講座 副査：教授 渡邊耕太</p>		
論文名	<p style="text-align: center;">神経一筋電気刺激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</p> <p style="text-align: center;">Effects of neuromuscular electrical stimulation on contractile function in extensor digitorum longus muscle from adjuvant-induced arthritis rat</p> <p>本論文は、関節リウマチの動物モデルであるアジュバント関節炎ラットの骨格筋における収縮機能低下を神経筋一電気刺激が防止するか検討することを目的としたものである。結果として、神経一筋電気刺激がアジュバント関節炎ラットの長趾伸筋における固有張力の低下を防止することを示した。さらに、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低下に、いままで示されていたアクチンの凝集化に加えて、新たにデスミンの凝集化が関与することを明らかにした。また、電気刺激を負荷したアジュバント関節炎ラットの筋では、低分子量熱ショックタンパク質の一種である αB-crystallin、抗炎症効果が報告されている PGC-1αが増加すること、また、プロテアソーム機能の低下に起因するタンパク質凝集体のユビキチン化が減少することを観察した。</p> <p>以上より、神経一筋電気刺激が、アジュバント関節炎に伴う収縮機能低下を防止すること、およびその作用メカニズムに神経一筋電気刺激の抗凝集化作用、抗炎症作用、変性タンパク質の分解促進作用が関与することが見出された。また、これらの知見より、神経一筋電気刺激トレーニングは、関節リウマチに伴う筋力低下に対する有効な対策である可能性が考えられた。</p> <p>以上の研究成果および質疑応答を踏まえ、審査委員会では、修士（理学療法学）の学位論文に値するものと判断した。</p>		