



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	神経筋電気刺激療法が Colon 26 癌モデルマウスの筋萎縮に及ぼす影響
Author(s) 著者	舘林, 大介
Degree number 学位記番号	甲第 38 号
Degree name 学位の種類	博士 (理学療法学)
Issue Date 学位取得年月日	2019-03-31
Original Article 原著論文	
Doc URL	
DOI	
Resource Version	

博士論文の内容の要旨

保健医療学研究科 博士課程後期 理学療法学・作業療法学専攻 高齢者・地域健康科学分野	学籍番号 16DP04 氏名 舘林 大介
論文題名 (日本語) 神経筋電気刺激療法が Colon 26 癌モデルマウスの筋萎縮に及ぼす影響	
論文題名 (英語) Effects of neuromuscular electrical stimulation on muscle wasting in colon 26 tumor-bearing mice	
<p>【目的】癌性カヘキシアでは、著しい骨格筋量の減少が認められる。先行研究では、電気刺激 (ES) を用いた短縮性収縮 (CONC) もしくは等尺性収縮 (ISO) トレーニングは、癌モデルマウスに生じる筋萎縮を防止しないこと、一方、癌誘引性の筋タンパク質合成率の低下を、グルタミン (GLN) の投与が改善することが示されている。そこで本研究では、ISO-ES トレーニングと GLN 投与の併用もしくは高強度の伸張性収縮 (ECC) トレーニングが、マウス直腸癌由来細胞株 (C-26) の移植マウスに生じる筋萎縮を軽減するか検討を行った。</p> <p>【方法】癌性カヘキシアは、マウスの側腹部皮下に C-26 細胞を播種することで誘導した。実験 1 では、マウスを以下の 8 群に分けた；対照 (CNT), CNT+ISO, CNT+GLN, CNT+ISO+GLN, C-26, C-26+ISO, C-26+GLN, C-26+ISO+GLN。また、ISO-ES は左下腿三頭筋に対し、最大底屈トルクの 60% の負荷を、2 秒刺激/4 秒休息で 1 日 3 セットを、1 日おきに計 14 回負荷した。一方、GLN は、毎日 1 g/kg ずつ投与した。実験 2 では、マウスを CNT 群, CNT+ECC 群, C-26 群, C-26+ECC 群の 4 群に分け、C-26 播種より 28 日後に、マウスの下腿三頭筋に一過性の ECC-ES (45 V, 100 Hz, 2 秒刺激/4 秒休息, 20%/s, 5 収縮×4 セット) を負荷した。その 6 時間後に腓腹筋を採取し、筋タンパク質合成系について検討を行った。実験 3 では、C-26 播種翌日より、実験 2 と同じ刺激条件の ECC-ES を 2 日に 1 度の頻度で計 14 回実施した。最終 ECC-ES の 24 時間後に腓腹筋を採取し、筋タンパク質分解系について検討を行った。</p> <p>【結果】CNT マウスと比較して C-26 マウスでは除癌体重が減少し、これが腓腹筋重量の低下を伴っていた。さらに、C-26 マウスの腓腹筋では、タンパク質合成率を表すピューロマイシン取り込み量の減少に加え、タンパク質分解系の活性化の指標である forkhead box protein O1 (FoxO1), atrogen-1, muscle ring finger 1 (MuRF-1) の mRNA 発現量の増加が認められた。GLN の投与と ISO-ES の併用は、C-26 マウスの腓腹筋の萎縮を防止しなかった。ECC-ES ト</p>	

レーニングは C-26 マウスの腓腹筋の萎縮を軽減するとともに、筋タンパク合成率を改善させ、さらに、主要なタンパク合成経路の構成体である p70S6K および rpS6 のリン酸化を顕著に増加させた。また、ECC-ES トレーニングは C-26 マウスの腓腹筋における MuRF-1 の mRNA 発現量の増加を抑制した。

【考察】我々と他のグループは、CONC もしくは ISO での ES トレーニングは癌モデルマウスの筋萎縮を防止しないことを報告した。本研究の結果、我々の予想に反して、ISO-ES トレーニングと GLN の併用は、C-26 マウスにおける筋萎縮を防止しなかった。したがって、これらの併用は癌性カヘキシアに伴う同化耐性を改善しないことが示唆された。一方、ECC-ES トレーニングは、カヘキシア状態の筋の筋線維径の増加とタンパク合成経路の活性化を引き起こすが、筋タンパク質合成率を完全には改善しないことが示されている。しかしながら、これらの研究では ECC 中の発揮トルクが測定されていないため、筋萎縮の防止と負荷強度の役割が不明瞭である。この点に関して、本研究では収縮中の発揮トルクを測定し、萎縮軽減効果が認められた ECC-ES トレーニングにおける最大発揮トルクの平均値が、先行研究において C-26 マウスの筋萎縮を防止しなかった ISO-ES トレーニングの約 5 倍であることを示した。これらの知見は、たとえカヘキシアの状態にあっても、負荷強度を増大させることで筋の同化反応が生じることを示唆している。

【結論】本研究の結果、GLN の投与と ISO-ES の併用は、C-26 マウスの腓腹筋の萎縮を防止しなかった。一方で、ECC-ES トレーニングはタンパク合成経路の活性化とタンパク分解経路の抑制をとともに引き起こすことで C-26 マウスの筋萎縮を軽減することが示唆された。したがって、ECC-ES トレーニングは癌性カヘキシア患者の筋量低下を効果的に改善すると考えられる。

【キーワード】 癌性カヘキシア，電気刺激療法，伸張性収縮，負荷強度，筋タンパク質合成

【OBJECTIVE】 Cancer cachexia is a multifactorial syndrome characterized by severe skeletal muscle wasting. Previous studies have shown that isometric (ISO) or concentric (CONC) training using electrical stimulation (ES) fails to prevent muscle atrophy in tumor-bearing mice. On the other hand, glutamine (GLN) administration improves tumor-induced decrease in muscle protein synthesis rate. Here we investigated the effects of ISO-ES training in combination with GLN administration or high-intensity eccentric (ECC)-ES training on muscle wasting in colon 26 (C-26) tumor-bearing mice.

【METHODS】 Cancer cachexia was induced by a subcutaneous injection of C-26 cells. In experiment 1, mice were divided into 8 groups; control (CNT), CNT+ES, CNT+GLN, CNT+ES+GLN, C-26, C-26+ES, C-26+GLN, C-26+ES+GLN. ISO-ES (60% of maximum torque, 50 Hz, 0.5 ms, 2 s on/4 s off) was performed to the left triceps surae muscles every other day. GLN (1 g/kg) was daily intraperitoneally administered starting one day after C-26 injection. In experiment 2, we investigated the effects of acute

ECC-ES on muscle protein synthesis and mammalian target of rapamycin complex (mTORC) 1 signaling. Mice were randomly assigned into 4 groups: CNT, CNT+ECC, C-26, and C-26+ECC. At 28 days after C-26 injection, a single bout of ECC-ES (45 V, 100 Hz, 2 s on/4 s off, 20°/s, 4 sets of 5 contractions) was performed to triceps surae muscles and gastrocnemius muscles were dissected from each mouse 6 h after ECC-ES. In experiment 3, we evaluated the effects of ECC-ES training on cancer-induced muscle wasting and protein degradation pathways. According to experiment 2, mice were randomly assigned into 4 groups. ECC-ES was performed unilaterally to the left triceps surae muscles every other day starting one day after C-26 injection (a total of 14 sessions). Gastrocnemius muscles were excised 24 h after the last ECC-ES session.

【RESULTS】 Compared to the CNT mice, the gastrocnemius muscle weight was significantly decreased in the C-26 tumor-bearing mice. This change was accompanied by a reduction in protein synthesis rate and a marked increase in the expression levels of genes including forkhead box protein O1 (FoxO1), atrogin-1, and muscle ring finger 1 (MuRF-1). Neither ISO-ES nor GLN administration, alone or in combination, prevent the loss of muscle mass in C-26 mice. On the other hand, ECC-ES attenuated the loss of muscle weight. Moreover, ECC-ES increased the protein synthesis rate and the phosphorylation levels of p70S6K and rpS6, markers for mTORC1 signaling, and reversed an upregulation of MuRF-1 mRNA in muscles from C-26 mice.

【DISCUSSION】 We and others have reported that ISO- or CONC-ES training fails to prevent muscle atrophy in tumor-bearing mice. In contrast to our expectations, ISO-ES training in combination with GLN administration did not prevent muscle wasting in C-26 mice, suggesting little effects of these intervention in anabolic resistance associated with cancer cachexia. Among the contraction modes, ECC contractions elicit higher torque production than ISO or CONC contractions, and have been regarded as an effective way to increase muscle mass. It has been shown that repeated ECC-ES can induce fiber growth and the activation of mTORC1 signaling, but not completely restore protein synthesis rate, in cachexic muscles. However, in these studies, the torque production during ECC contractions was not measured and hence the role of loading intensity in prevention of muscle atrophy under the cachectic condition is incompletely understood. In this regard, the mean peak torque of ECC-ES training in this study was about 5-fold higher than that of ISO-ES training which has not inhibited muscle wasting in C-26 mice. Thus, our data suggests that the anabolic and regulatory responses are functions of the intensity of mechanical loading even under the cachexia condition.

【CONCLUSION】 In this study, we demonstrate that ECC-ES training, but not ISO-ES training in combination with GLN administration, ameliorates skeletal muscle atrophy in C-26 tumor-bearing mice. This beneficial effect is likely to be induced by the activation of mTORC1 signaling and the inhibition of ubiquitin-proteasome pathway. Thus, ECC-ES training might be used to effectively ameliorate muscle wasting in patients with cancer cachexia.

Keywords : cancer cachexia, electrical stimulation, eccentric contraction, loading intensity, protein synthesis.

博士論文審査の内容の要旨

報告番号	第 38 号	専攻 理学療法学・作業療法学 教育研究分野 高齢者・地域健康科学 氏名 舘林 大介
論文題名	神経筋電気刺激療法が Colon 26 癌モデルマウスの筋萎縮に及ぼす影響 Effects of neuromuscular electrical stimulation on muscle wasting in colon 26 tumor-bearing mice	
審査委員	主査 教授 古名 丈人 副主査 教授 松山 清治 副主査 教授 齋藤 重幸 審査委員 教授 片寄 正樹	
<p>癌性カヘキシアでは著しい骨格筋量の減少が認められる。先行研究では、電気刺激を用いた短縮性収縮もしくは等尺性収縮トレーニングは、癌モデルマウスに生じる筋萎縮を防止しないこと、一方、癌誘引性の筋タンパク質合成率の低下を、グルタミンの投与が改善することが示されている。</p> <p>本研究は、等尺性収縮での電気刺激トレーニングとグルタミン投与の併用もしくは等尺性収縮よりも筋に加わる負荷強度が高い伸張性収縮での電気刺激トレーニングが、マウス直腸癌由来細胞株 (C-26) の移植マウスに生じる筋萎縮を軽減するか検討された。</p> <p>分析の結果、グルタミンの投与と等尺性収縮での電気刺激トレーニングの併用は、C-26 マウスの腓腹筋の萎縮を防止しなかった。一方で、伸張性収縮での電気刺激トレーニングはタンパク合成経路の活性化とタンパク分解経路の抑制をとともに引き起こすことで C-26 マウスの筋萎縮を軽減した。したがって、伸張性収縮での電気刺激トレーニングは癌性カヘキシア患者の筋量低下を効果的に改善することが示唆された。</p> <p>以上のように、本研究によって癌性カヘキシア予防に繋がる基礎的・科学的根拠を付与する重要な知見が得られたと言える。</p> <p>上記に加え、審査会において発表された研究成果および質疑応答を踏まえ、本研究はテーマが明確であり、独創性に富み、学術価値が高いなど博士の論文審査基準に照らし合わせ、審査委員会では本研究を博士 (理学療法学) の学位論文に値するものと判断した。</p>		

※報告番号につきましては、事務局が記入します。