

P14-6 飲水糖負荷がラットの大腿四頭筋における Myosin Light chain 1 の発現に及ぼす影響

○森 拓也(もり たくや)¹⁾²⁾, 川原 勲¹⁾²⁾, 後藤 桂²⁾³⁾, 國安 弘基¹⁾

- 1) 奈良県立医科大学 医学部 医学研究科 分子病理講座,
2) 医療法人 和幸会 阪奈中央病院 リハビリテーション科,
3) 医療法人 和敬会 星田南病院 リハビリテーション科

Key word : グルコース, 骨格筋, ミオシン軽鎖

【目的】 骨格筋は、生体内における最大の代謝器官であり、骨格筋量は生命予後と相関する。骨格筋における活動のエネルギーとして必須である ATP は主に糖代謝から生成する。骨格筋における糖代謝に関する報告は多いが糖質摂取が骨格筋の増殖・分化に与える影響についての報告は少なく、Grabiec らがマウス筋芽細胞株 C2C12 で高糖濃度が増殖・分化を促進すると報告しているのが目を引く。われわれも先行研究として Glucose 濃度の筋芽細胞増殖への影響を検証し、高 Glucose 濃度により筋芽細胞の増殖・分化の促進と筋成熟に寄与することを明らかにした。これらの知見から、糖摂取が骨格筋構造タンパクの形成において促進性に作用すると考えられた。このため、本研究においては、飲水糖負荷マウスモデルにより下肢骨格筋の構造タンパクの変化を明らかにすることを目的とした。

【方法】

〈In vitro 予備実験〉 マウス筋芽細胞株 C2C12 を使用し、10% FBS 添加ダルベッコ変法イーグル最小培地 (DMEM) により、37℃、5% CO₂にて培養を行った。Glucose 濃度 0、1、2.25、4.5 g/L の4群を作成し、Insulin 濃度 10 μg/mL で各群同数の C2C12 細胞を処理し分化誘導を行った。6日後に細胞形態を暗視野で観察、写真撮影を施行し細胞数を計測した。

〈In vivo 本実験〉 BALB/c マウス(雄、週齢6週)7匹(両側大腿四頭筋14肢)について群分けを行い、自動給水の Control 群3匹と2群の Glucose 飲水群; 10%Glucose 群2匹、50% Glucose 群2匹とした。2週後に飲水量、体重、血糖値を測定、安楽殺を施行、両側大腿四頭筋を採取した。得られた骨格筋は湿重量を測定し、-80℃保存後ハンマーにより粉碎、筋膜等の線維を除去した。各群同重量のサンプルから RIPA-Buffer を用いてタンパク抽出を行い骨格筋構造タンパクである Myosin Light chain 1 含量を ELISA KIT (COSMOBIO) にて解析した。なお得られたデータの統計解析は Steel-Dwass 検定により、有意水準は 0.05 未満とした。

【説明と同意】 本研究は、奈良県立医科大学、動物倫理審査委員会の承認を得て実施された。

【結果】

〈In vitro 予備実験〉 処理前細胞数(個/mL) 1807.6 ± 149 処理後細胞数は、0、1、2.25、4.5 g/L の各群それぞれ 38.3 ± 4、31.6 ± 3、408 ± 20.3、2554 ± 46.4 であった。顕微鏡

像では、4.5 g/L 群で myotube への分化が著明であった。

〈In vivo 本実験〉 本研究の結果(Control 群 / 10%Glucose 群 / 50%Glucose 群)は、飲水量 (mL) (自動給水 / 362 / 430)、血糖値 (mg/dL) (141 ± 7 / 128 ± 0 / 115 ± 6.3)、体重 (g) (23.1 ± 0.1 / 22.9 ± 0.7 / 23.8 ± 1.5) で、いずれも各群に有意差は認められなかった。骨格筋湿重量 (mg) に関しては、(219 ± 40 / 259 ± 37 / 251 ± 32) であり、有意差はないものの糖摂取群で重量増加の傾向が見られた。Myosin Light chain 1 の筋タンパク含量 (μg/mg) は (1.42 ± 0.6 / 1.74 ± 0.5 / 1.99 ± 0.4) であり、50%Glucose 群が Control 群と比較し有意に増加していた (P < 0.05)。

【考察】 本実験では、Glucose 負荷マウス群において Control 群と比較し血糖・体重に有意差が認められず、2型糖尿病とは異なりインスリン抵抗性のない状態が確認された。今回の結果では、骨格筋構造タンパクである Myosin Light chain 1 の筋タンパクに占める重量が糖質負荷に伴い上昇し、50%Glucose 群で有意な増加を示した。これはわれわれの先行研究での C2C12 細胞において高 Glucose 濃度で分化が誘導された結果と一致した。また Grabiec らの報告とも矛盾しない。このことより生体内においても Glucose の摂取は骨格筋量の維持と成熟に対し促進性に作用する可能性が示唆された。なお、本基礎実験では、50%Glucose 飲水負荷を行っているが、この系を直接ヒトに対し当てはめることは、負荷強度の点で問題がある。今後、適切な糖負荷量や期間、運動との併用等を検討・考慮し、適切なヒト・モデルを確立していきたい。

【理学療法研究としての意義】 本実験の理学療法研究の意義として、運動療法における筋力増強運動やその効果である骨格筋肥大を促進するために有用な方法となる可能性が期待される基礎医学的研究である。また糖尿病等の糖代謝異常における骨格筋変性を解明する上でも有効なモデルとなる基礎医学的知見であると考えられる。