キーワード解説

加圧トレーニング—骨格筋の虚血プレコンディショニング—

坂本 多穂

1. はじめに

酸素は細胞の生存・成長に必須であり、血行障害による虚血性疾患は組織の壊死を引き起こす。特に、酸素要求量が多く、再生能力の低い心臓および神経における虚血性疾患の発症は、不可逆的かつ致命的な障害をもたらす。このため、如何にして血流を維持し、心筋梗塞や脳卒中の発症を予防するかが、長年にわたる医療・薬物開発の重要な研究課題である。ところが、心筋において、分単位の短期的な虚血状態を経験することで、その後の長期的な虚血による障害が緩和されることが明らかになり、「虚血プレコンディショニング」として注目を集めた(1)。同様の現象は、神経においても見つかっている(2)。骨格筋では、短期的な血流制限によって筋力トレーニングの高効率化を目指す手法が注目を集めている。世にいう「加圧トレーニング」である。加圧トレーニングでは、四肢の基部をベルトで適度に圧迫し、一定時間だけ血流を制限し、低負荷のトレーニングで筋肥大効果を得る方法である(残念ながら、血流制限だけでは筋肥大は起こらない)(3)。このため、加圧トレーニングは、サルコペニア・カヘキシアなど筋力が低下してしまった患者への運動療法への応用が期待される。現在では加圧方法はより洗練され、空気圧で加圧をし、適正な圧力をモニターしつつ自動制御する域に達している(4)。本稿では、その効果のメカニズムを主に細胞分子薬理学的視点から考察する。

2. 筋力トレーニングと骨格筋肥大

まず、筋力トレーニングによる骨格筋の肥大のメカニズムを説明する。骨格筋組織の肥大は、骨格筋線維の肥大と数の増加による。筋線維のタンパク質合成は、複数のリン酸化タンパク質を介したシグナル経路で制御されている。中でもホスファチジルイノシトール 3 リン酸キナーゼ (PI3K)/Akt/ 哺乳類型ラパマイシン

標的タンパク質 (mTOR) 経路は、骨格筋線維の肥大を制御する代表的な経路である。mTORはタンパク質キナーゼの一種であり、他の分子と結合し、複合体を形成する (mTORC)。この複合体の一つ mTORC1 は高栄養環境において活性化、リボソームタンパク質 S6 キナーゼ (S6K) をリン酸化し、タンパク質合成を促進させる。骨格筋は運動刺激を受けると、インスリン様成長因子 (IGF-1) の分泌が増加し、IGF-1 受容体を介して PI3K/Akt/mTOR 経路を活性化させる(5)。また運動は、骨格筋の一酸化窒素合成酵素 (nNOS) を活性化させ、筋小胞体からの Ca^{2+} 動員を介して mTORC1 が活性化し、筋肥大に至ると報告がある(6) (図1)。筋線維は多核細胞であり、肥大した筋線維は多数の核を必要とする。筋線維が運動などで刺激を受けると、筋幹細胞は増殖・分化し、既存の筋線維と融合し、筋肥大を促す。また、増殖した筋幹細胞が互いに融合・分化すると、新たな筋線維が形成される。骨格筋に放射線照射を行うとトレーニングによる筋肥大効果が無くなることから、幹細胞の働きが重要だと考えられる(7)。

図1 運動による筋肥大のメカニズム

運動により nNOS が活性化し、筋小胞体からの Ca^{2+} 放出を介して、mTOR 活性化が起こる。また、運動は骨格筋からの IGF-1 分泌を増やすので、PI3K/Akt/mTOR 経路の活性化を引き起こす。ActRIIB: アクチビン受容体 II 型, IGF-1R: IGF-1 受容体。

キーワード: HIF-1 α , 非古典的 Wnt 経路, 低酸素

福島県立医科大学 医学部 薬理学講座 (〒960-1295 福島県福島市光が丘 1)

E-mail: kazuho@fmu.ac.jp 原稿受領日: 2017 年 7 月 26 日, 依頼原稿

Title: Ischemic preconditioning in skeletal muscle Author: Kazuho Sakamoto

3. 低酸素が筋組織に及ぼす影響

加圧トレーニングのメカニズム解析は、*in vivo* 研究が先行した。骨格筋は収縮器官であるのみならず、分泌器官である。収縮に伴って様々なサイトカイン（マイオカイン）や栄養因子を放出する。インターロイキン6 (IL-6) は、骨格筋から分泌され、骨格筋幹細胞の働きを刺激するマイオカインとして注目された(8)。運動選手の大腿部の基部で血流制限し、膝伸展運動をさせると、非制限時よりも有意な血中 IL-6 の上昇が認められる(9)。ラットの大腿静脈を熱凝固させ筋肥大を起こすモデルでは、血流制限 2 週間後に骨格筋形成抑制マイオカインであるマイオスタチンの発現量上昇が報告された。また、nNOS の発現増加と血中 NO 濃度の上昇が認められた(10)。ラットの血管を反復的に血行抑制（5 分加圧，3 分再灌流を 6 セット）した実験では、S6K のリン酸化上昇が認められた。ただしマイオスタチンの変化は認められなかった(11)。このように、ヒト・動物実験モデルでは、骨格筋組織中の一時的な血行制限により、骨格筋から分泌されるサイトカイン・栄養因子が増減し、オートクリン効果によって筋肥大が起こるとする説が主流である。

4. 低酸素が筋細胞におよぼす影響

筋細胞への低酸素の直接効果も近年明らかにされつつある。培養マウス骨格筋細胞株 C2C12 細胞は、骨格筋前駆細胞の性質を保持することから、*in vitro* での骨格筋の分化・代謝等の解析モデルとして汎用される。興味深いことに、この細胞で分化誘導を行うと、通常酸素環境でも低酸素誘導因子 (HIF-1 α) が増加する。そして、HIF-1 α をノックダウンすると分化は抑制される(12)。従って、骨格筋幹細胞は低酸素応答により筋分化を高める可能性が示唆された。2017 年、Cirillo らの論文(13)では、C2C12 細胞をまず 24 時間低酸素環境 (1%O₂) に置いて虚血プレコンディショニングし、その後、細胞を通常酸素環境に戻して 7 日間分化させた。すると形成された筋管は、虚血プレコンディショニング無しの場合よりも肥大した。HIF-1 α のノックダウンおよび HIF-1 α 阻害薬 XAV939 は、虚血プレコンディショニングによる筋肥大を打ち消すことから、HIF-1 α の転写産物のなかに筋肥大因子があると考えられた。中でも Cirillo らが注目したのが Wnt である。Wnt は 19 種類の分泌性糖タンパク質であり、G タンパク質共役型受容体 Frizzled (Fzd) に結合して生理活性をしめす。古典的 Wnt 経路による核内 β カテニン蓄積は筋組織の線維化や萎縮を起こすが、非古典的 Wnt

図2 一過性低酸素による筋肥大の想定メカニズム

一過性低酸素刺激により HIF-1 α タンパク質が安定化し、Wnt7a などの、非古典的 Wnt 経路の刺激因子の転写が増加する。Fzd7 受容体が活性化し、PI3K/Akt/mTOR 経路が活性化する。加圧トレーニングでマイオスタチンが減少するかどうかは議論の余地がある。IL-6 による筋肥大機構は不確定なので図中より外した。

経路は逆に Akt/mTOR 経路を活性化させて筋肥大を促進する(14)。虚血プレコンディショニングを行った C2C12 細胞では、非古典的 Wnt 経路を活性化する Wnt4、Wnt7a、Wnt9a の発現増加が認められた。HIF-1 α 阻害薬により、これらの増加は抑えられることから、虚血プレコンディショニングによる筋肥大には HIF-1 α が関与すると考えられる (図 2)。

5. おわりに

ここまでの知見を繋ぎ合わせると、加圧トレーニングでは、短期間の血流制限によって骨格筋で HIF-1 α が活性化し、非古典的 Wnt 経路と Akt/mTOR 経路の活性化により筋肥大が活性化、筋肥大にいたるというストーリーが考えられる (図 2)。しかし、*in vivo* で得られた知見の中には相反するものもある。また、骨格筋以外の多くの因子の支配を受けるヒトの筋肉トレーニングと骨格筋培養細胞との間には隔絶がある。統合的な解釈には、もう少し時間を要するだろう。

虚血プレコンディショニングの生体にとってのメリットは、心筋・神経では、虚血耐性であったが、骨格筋においては筋肥大であることは大変興味深い。骨格筋線維は、疲労に強い赤筋（遅筋）と、瞬発力の強い白筋（速筋）に大別できる。前者は好氣的代謝、後者は嫌氣的代謝を主として呼吸する。加圧トレーニングでは、白筋がより肥大するとの報告もあるので(15)、骨格筋なりの低酸素適応として生理的意義があるのかもしれない。

加圧トレーニングの問題として、血栓のリスクがある。そのため血管・循環器系に異常のある患者には適用できない。また、四肢を結紮するため、体幹部への効果が限定的となる可能性がある。薬で加圧トレーニング

ングの効果が再現できれば、これら問題点が解決するかもしれない。虚血プレコンディショニングによる筋肥大のキーの一つとして見出された分子に Wnt7a がある。以前より Wnt7a は、筋ジストロフィー治療薬として有望視されており、製剤化を目指して水溶性を上昇させた短縮型ペプチドの開発も進められている(16)。

心虚血プレコンディショニングの発見とそのメカニズム解析は、その後の薬物プレコンディショニング研究へと発展した。骨格筋の虚血プレコンディショニング研究から得られる知見にも期待したい。骨格筋の虚血プレコンディショニングによる筋肥大は、非古典的 Wnt 経路だけで説明がつくのだろうか？ また逆に、心筋・神経における虚血プレコンディショニングに非古典的 Wnt 経路の関与は無いのだろうか？ 依然、研究すべき課題は多く残されている。

著者の利益相反：開示すべき利益相反は無い。

文 献

- 1) Murry CE, et al. *Circulation*. 1986;74:1124-1136.
- 2) Dirnagl U, et al. *Lancet Neurol*. 2009;8:398-412.
- 3) Takarada Y, et al. *Jpn J Physiol*. 2004;54:585-592.
- 4) 石井直方. 加圧トレーニングの理論と実践：骨格筋に対する効果とメカニズム. 講談社サイエンティフィク; 2007. p. 33-47.
- 5) Sandri M, et al. *Biogerontology*. 2013;14:303-323.
- 6) Ito N, et al. *Nat Med*. 2013;19:101-106.
- 7) Rosenblatt JD, et al. *J Appl Physiol*. 1992;73:2538-2543.
- 8) Pedersen BK, et al. *J Muscle Res Cell Motil*. 2003;24:113-119.
- 9) Takarada Y, et al. *J Appl Physiol*. 2000;88:61-65.
- 10) Kawada S, et al. *Med Sci Sports Exerc*. 2005;37:1144-1150.
- 11) Nakajima T, et al. *Heart Vessels*. 2016;31:1685-1695.
- 12) Ono Y, et al. *J Cell Biochem*. 2006;98:642-649.
- 13) Cirillo F, et al. *FASEB J*. 2017;31:2146-2156.
- 14) von Maltzahn J, et al. *Nat Cell Biol*. 2011;14:186-191.
- 15) Yasuda T, et al. *Int J KAATSU Train Res*. 2005;1:65-70.
- 16) von Maltzahn J, et al. *Nat Commun*. 2013;4:2869.