原 著

廃用性萎縮モデルマウスに対する鍼通電療法の効果

遠田 明子¹⁾、宮本 俊和²⁾、福林 徹³⁾

1) 早稲田大学大学院 スポーツ科学研究科

2) 筑波大学大学院 人間総合科学研究科

3) 早稲田大学 スポーツ科学学術院

要 旨

【はじめに】長期臥床やギプス固定など様々な状況によって骨格筋萎縮は惹起される。鍼灸治療は筋疲労の回復等に用いられているが、その治効メカニズムは解明されていない。本研究では、骨格筋萎縮に対する低周波鍼通電療法の効果を、分子生物学的手法を用いて検証した。

【方法】8週齢のマウス（C57 BL/6）を用いて、2週間の後肢懸垂を行い、筋萎縮モデルを作成した。群分けは4群とし、通常飼育群（N群）、後肢懸垂コントロール群（HS群）、後肢懸垂＋置鍼群（Chishin群）、後肢懸垂＋鍼通電1 Hz群（1 Hz群）とした（各群n=5）。鍼通電刺激は、後肢懸垂開始の翌日から毎日30分間、深麻酔下のマウスの両肢腓腹筋遠位部2ヵ所に2週間連続して行った。

【結果】ヒラメ筋の筋湿重量は後肢懸垂により減少し、鍼刺激により減少していく状態が抑制された。HS群と1 Hz群間（ $P<0.01$ ）、HS群とChishin群間（ $P<0.05$ ）で統計学的有意差が見られた。また筋線維断面積においても、HS群と1 Hz群間（ $P<0.01$ ）、Chishin群と1 Hz群間（ $P<0.05$ ）で有意差が見られた。萎縮関連遺伝子Atrogin-1、MuRF1のmRNAは後肢懸垂により発現量が増加し、鍼刺激によって増加していく状態が有意に抑制された（各 $P<0.01$ 、 $P<0.05$ ）。以上のことから、鍼刺激による骨格筋萎縮の回復は、萎縮関連遺伝子Atrogin-1、MuRF1の発現量を抑制することによる可能性が示唆された。

【結論】本研究では、鍼通電療法は筋萎縮を起こしたヒラメ筋湿重量の減少の抑制、および筋線維断面積の減少の抑制に有効であり、また、萎縮関連遺伝子Atrogin-1、MuRF1の発現量の増加を抑制する可能性があることが示唆された。

キーワード：Atrogin-1、MuRF1、後肢懸垂、萎縮、マウス

連絡先：遠田 明子 〒359-1192 埼玉県所沢市三ヶ島2-579-15

早稲田大学 スポーツ科学研究科 スポーツ外科学 福林研究室

2-579-15 Mikajima Tokorozawa-shi Saitama prefecture 359-1192

Waseda University Graduate School of Sport Sciences FUKUBAYASHI Laboratory

受付日：2010.5.4 受理日：2010.12.23

I. はじめに

超高齢社会を迎えた昨今、長期臥床や転倒、傷害に伴うギプス固定、不活動などにより、廃用性の筋萎縮が引き起こされた症例は少なくない。様々な症状が現れる廃用症候群はその後のリハビリテーションによる回復過程にも重要な影響を与える。骨格筋の萎縮はデュシェンヌ型筋ジストロフィーなどの遺伝的な要因のみでなく、飢餓、不活動、重力免荷、糖尿病、クッシング症候群、グルココルチコイド治療などによっても引き起こされる。高齢化による筋量の低下は、加齢性筋肉減弱症（サルコペニア）と呼ばれており¹⁾、日常生活のQOLの確保のためにも、骨格筋の萎縮抑制に適切な対処法を行う必要がある。

骨格筋の筋量は合成と分解のバランスの上に成立しているが、そのバランスが崩れたとき、筋萎縮は引き起こされる。2001年、筋萎縮を引き起こす遺伝子として、筋特異的萎縮関連遺伝子（E3 ユビキチン・リガーゼ）である Atrogin-1、MuRF 1が同定された^{2,3)}。骨格筋萎縮の原因は多岐にわたるが、ほとんど全ての骨格筋萎縮においてこれら2遺伝子の発現が亢進し、骨格筋構造タンパク分解を促進することから、Atrogin-1、MuRF 1は筋萎縮の原因遺伝子と考えられている⁴⁾。

今日、廃用症候群に対しては様々な治療方法が行われている。鍼治療もまた、筋萎縮に対する治療の選択肢の一つである。本研究では、廃用性筋萎縮に対する鍼の治効メカニズム解明のため、実験動物を用いて介入実験を行い、鍼通電療法による筋特異的萎縮関連遺伝子 Atrogin-1、MuRF 1の発現動態を検討した。また、鍼通電療法のみではなく、古くから用いられている置鍼も比較検討の対象とした。

II. 方 法

1. 対象

実験には8週齢の近交系雄マウス（C57 BL/6）を用いた。各群とも室温22℃の恒温室内にて飼育し、食餌と水は自由摂取とした。実験期間中マウスは個別飼育とした。なお、本研究は東京大学大学院医学系研究科、動物実験委員会の承認を得て行われた（医-P07-40）。

2. 実験モデル

廃用性萎縮モデル作成は、Morey 変法⁵⁾に則り、臀部より1cmの位置の尾部にテープを貼り、金具を取り付けて飼育ケージの天井より2週間の後肢懸垂を行った。

3. 実験デザイン

群分けは通常飼育群（Normal; 以下N群と略記）、後肢懸垂群（Hindlimb suspension; 以下HS群）、後肢懸垂+置鍼群（以下Chishin群）、後肢懸垂+鍼通電1Hz群（以下1Hz群）とした（各群n=5）。N群においては、後肢懸垂を施した群と同期間、同じ飼育室の通常的环境下で飼育を行った。

4. 刺鍼および鍼通電条件

ベントバルビタール（共立製薬、東京）による深麻酔下にて、ディスプレイザブル鍼（30ミリ・12号・ステンレス鍼、セイリン、静岡）を用いて、両肢腓腹筋下部各2カ所に刺鍼を行った。麻酔投与は腹腔内投与とした。刺鍼法は、採取筋であるヒラメ筋の刺鍼による損傷を回避するため、地面と水平に尾部から頭部方向に向かって5mmの深さで腓腹筋に刺鍼した。鍼による刺激は後肢懸垂開始の翌日から行った。低周波鍼通電はオームバルサー（LFP4000、(株)全医療器、福岡）を用いて、6.5mAの強度で毎日30分、2週間続けて行った。

5. サンプル採取

2週間の後肢懸垂後、両肢のヒラメ筋を摘出し、筋湿重量を測定した。左後肢のヒラメ筋はRNA抽出に用いた。右後肢のヒラメ筋は、凍結切片作成後、蛍光免疫染色による筋線維断面積測定のため急速凍結した。サンプルはクライオスタット（ライカマイクロシステムズ、東京）による凍結切片作製まで、-80℃にて保存した。

6. Real-time PCR

RNA抽出：摘出した骨格筋組織はRNA抽出試薬ISOGEN（ニッポンジーン）1ml中で破碎した。破碎した組織はクロロホルム（シグマアルドリッチジャパン、東京）、イソプロパノール（シグマアルドリッチジャパン）、80%エタノール（和光純薬）で処理をし、蒸留水（ニッポンジーン）を20 μ l添加して溶解した。

逆転写反応：完全に溶解した総RNAは、電気泳

動像によりRNaseによる分解がないことを確かめた上で、SuperScript III (Invitrogen, Grand Island, NY) を用いてcDNAを合成した。反応温度は、65℃ 5分、4℃ 10分、50℃ 60分、70℃ 15分、4℃で保持した。

Real-time PCR：逆転写反応終了後、7500 fast Real-time PCR system (Applied Biosystems, California) により、Atoragin-1、MuRF1および内部標準としては β -actinを用いて、それぞれの発現量を計測した。希釈列は、4段階10倍希釈列のスタンダードを用いた。Real-time PCRに用いる総RNA template量は1 μ gとした。Real-time PCRの反応温度は、第1ステージとして95℃ 1分の後、第2ステージとして95℃ 15秒、60℃ 1分を40回繰り返した。Primer 配列は、表1の通りである。

7. 筋線維断面積

凍結切片作製：-80℃冷凍保存した凍結組織は、クライオスタットにて、凍結切片を作製した。凍結切片の厚さは、5 μ mとし、切片作製後免疫染色を行うまで-80℃にて凍結保存した。

免疫染色：凍結切片は4%paraformaldehyde/PBS (和光純薬) で組織を固定後、0.3%Triton/PBS (Sigma) に浸し、細胞の透過処理を行った。5% Normal Goat serum/PBS (Jackson Immuno Research, Pennsylvania) によって、ブロッキングを行った後、一次抗体として抗ジストロフィン抗体 (Sigma) を反応させた(1:100)。二次抗体としてFITC 標識抗マウス IgG1抗体 (Jackson Immuno Research) を1:25で希釈し、筋線維膜を蛍光免疫染色し、組織を封入した。

顕微鏡観察並びに画像解析：蛍光顕微鏡 IX-71 (Olympus, 東京) および3-CCD カメラ C7780 (浜松ホトニクス、静岡) を用いた。20倍対物レ

ンズで画像取得したヒラメ筋は、ImageJ (NIH, Maryland) にてキャリブレーションならびにバイナリ-処理後、粒子解析によって筋線維1本ずつの断面積を測定した。筋線維の数は各個体50-100本の平均値を基準として計測した (図1)。

8. 統計処理

すべての統計量は平均値 $\pm$ 標準誤差で表した。筋湿重量、筋線維断面積、mRNAの平均の差の検定には一元配置分散分析を用い、有意差のあるものは、post-hoc testとして、Tukey-Kramer法を用いた。

Ⅲ. 結 果

1. ヒラメ筋湿重量

後肢懸垂によって、ヒラメ筋の湿重量は50%以上減少した (N群 0.30 ± 0.034 , HS群 0.13 ± 0.016 , Chishin群 0.15 ± 0.03 , 1Hz群 0.16 ± 0.05)。後肢懸垂によって引き起こされたヒラメ筋の萎縮は、置鍼並びに1Hzの鍼通電療法において減少していく状態が有意に抑制された (各 $P < 0.05$, $P < 0.01$)。ヒラメ筋湿重量は体重で除し補正を行った (図2)。

2. ヒラメ筋線維断面図

ヒラメ筋の筋線維断面積では (N群 $1145 \mu\text{m}^2$, HS群 $818 \mu\text{m}^2$, Chishin群 $899 \mu\text{m}^2$, 1Hz群 $1012 \mu\text{m}^2$)、HS群と1Hz群間で有意差が見られた ($P < 0.01$)。また、Chishin群と1Hz群間でも有意差が認められた (図3)。

3. ヒラメ筋の Atoragin-1、MurF1の mRNAの発現量

Quantitative RT-PCRによるヒラメ筋の Atoragin-1の mRNAの発現量は (N群 1.0 ± 0.54 , HS群 2.2 ± 1.66 , Chishin群 1.46 ± 0.73 , 1Hz群 0.62 ± 0.44)、後肢懸垂によって増加し (図4)、1Hzの鍼刺激に

表 1 : primer 配列

Quantitative RT-PCRで使用した primerの配列を示す。

標的遺伝子	PCR products	5' $\rightarrow$ 3'	プライマー配列	配列の決定方法
Atoragin-1	166	Forward	CTCTGTACCATGCCGTTCTCT	Sultan et al., 2006
		Reverse	GGCTGCTGAACAGATTCTCC	
MuRF1	206	Forward	ACCGAGTGCAGACGATCATCTC	Primer Express
		Reverse	AAAGTCAATGGCCCTCAAGGC	
β -actin	131	Forward	TGACAGGATGCAGAAGGAGA	Primer3
		Reverse	GCTGGAAGGTGGACAGTGAG	

図 1 ヒラメ筋線維断面図

ヒラメ筋線維膜を抗ジストロフィン抗体によって蛍光免疫染色した画像。20倍の対物レンズを用いた。スケールは50μm。

図 2 ヒラメ筋湿重量相対値の変化

2週間の後肢懸垂により、ヒラメ筋の湿重量は減少し、鍼刺激によって減少していく状態が抑制された。ヒラメ筋の筋量を体重で除した相対値として示す。*: $P<0.05$, **: $P<0.01$. $n=5$. 平均値±標準誤差。

図 3 ヒラメ筋繊維膜断面積の変化

後肢懸垂により、ヒラメ筋線維断面積は減少し、鍼刺激によって回復した。*: $P<0.05$, **: $P<0.01$. $n=5$. 平均値±標準誤差。

よって発現量が増加していく状態が有意に抑制された ($P<0.01$)。

MuRF1の発現量も(相対値; N群 1.0 ± 0.23 , HS群 2.1 ± 1.73 , Chishin群 1.3 ± 0.67 , 1Hz群 0.84 ± 0.16) 後肢懸垂によって増加し(図5)、1Hzの鍼刺激によって増加していく状態が有意に抑制された ($P<0.05$)。

Atrogin-1、MuRF1の半定量PCRの電気泳動画像は図6の通りであった。

IV. 考 察

骨格筋の萎縮に対する鍼通電療法の治効メカニズムは不明な部分が多いが、2007年には、Takaokaらによって、ミオスタチン遺伝子の発現量が鍼通電療法により低下し、筋衛星細胞(サテライトセル)が増殖することが報告された⁶⁾。また、2010年、池宗らにより、2週間の後肢懸垂後の鍼通電療刺激によってヒラメ筋のミオスタチン遺伝子の発現が抑制され、マクロファージが浸潤することが報告された⁷⁾。これらの報告により、

図4 ヒラメ筋のAtrogin-1 mRNAの発現量

Atrogin-1をquantitative RT-PCRによって定量した。Atrogin-1発現は、後肢懸垂で増加し、鍼刺激によって抑制された。Atrogin-1の発現量は、10倍希釈列の検量線を引き、内部標準β-actinで補正を行い相対値として示した。*: $P<0.01$. n=5. 平均値±標準誤差。

図5 ヒラメ筋のMuRF1 mRNAの発現量

MuRF1をquantitative RT-PCRによって定量した。MuRF1発現は、後肢懸垂で増加し、鍼刺激によって抑制された。Atrogin-1の発現量は、10倍希釈列の検量線を引き、内部標準β-actinで補正を行い相対値として示した。*: $P<0.05$. n=5. 平均値±標準誤差。

図6 ヒラメ筋の半定量PCRによるAtrogin-1, MuRF1の発現量の変化
Atrogin-1, MuRF1の発現量を半定量PCRによって表した。内部標準はβ-actinを用いた。

マクロファージなどの白血球の活性化がみられることから、鍼通電療法によって免疫系のシステムが活性化されていることが示唆されている。

本研究は、2001年に解明された^{2,3)}、骨格筋の萎縮を引き起こす原因とされる遺伝子のmRNAの発現量を定量化することにより、萎縮関連遺伝子に鍼通電療法が与える影響を解析した実験である。本研究の標的遺伝子は、骨格筋の分解を引き起こすE3ユビキチン・リガーゼであるAtrogin-1、MuRF1であり、骨格筋分解経路の遺伝子である。

骨格筋の分解の経路は、オートファジーによるリソソーム系、Ca²⁺依存性タンパク分解（カルパイン）系、ユビキチン-プロテアソーム系の3つに大別することが出来る⁸⁾。E3ユビキチン・リガーゼはこのユビキチン-プロテアソームの経路である。ユビキチンは76個のアミノ酸からなるタンパク質であるが、同じユビキチン同士で共有結合を繰り返し、ポリユビキチン鎖を形成する。そして、このポリユビキチン鎖がプロテアソームという分解機構の標的となって、基質であるタンパク質とともにポリユビキチン鎖は分解されるという経路をたどる。この時、分解されるべきタンパク質とユビキチンを結合するのがE3ユビキチン・リガーゼという酵素である⁹⁾。つまり、Atrogin-1、MuRF1は骨格筋の分解を促す酵素であり、これらの発

現量が高まると骨格筋が分解され、結果として筋重量が減少するという経路をたどる。

2004年には、Atrogin-1が心筋のサルコメアを構成するZ-discのαアクチニンを介して、カルシニューリンをユビキチン化することが報告された¹⁰⁾。また、MuRF1は、サルコメアのM-line領域で、Titinと結合領域があることが報告された¹¹⁾。これらの研究の重要性は、Atrogin-1、MuRF1という萎縮関連遺伝子が、サルコメアを構成するZ-discとM-line領域をそれぞれの標的としてユビキチン化し、分解を行う可能性が高いということを解明した点である。

本研究では、Atrogin-1、MuRF1のmRNAの発現量は、2週間の後肢懸垂によって増加し、鍼通電療法によって増加していく状態が有意に抑制された（各P<0.01、P<0.05）。筋湿重量も置鍼ならびに鍼通電療法によって、有意に減少していく状態が抑制されたことから（各P<0.05、P<0.01）、置鍼および鍼通電療法の筋萎縮に対する有用性を示唆する結果となった。

また、除神経によって筋萎縮を惹起するモデルを用いて、（刺鍼は行わず）表面電極による電気刺激を行った結果、Atrogin-1の発現量が減少するという報告もある¹²⁾。今回の実験の鍼通電群は、これらの研究と同様に電気刺激自体によって筋萎

縮関連遺伝子の mRNA 発現の増加が抑制された可能性があるが、置鍼によってもこれらの mRNA 発現量は減少しているの、電気刺激のみでは筋萎縮関連遺伝子の mRNA 発現抑制システムを説明できない。2010年、捻鍼による鍼刺激は、アデノシンを伝達物質とするという報告がなされた¹³⁾。本研究においても、置鍼によりヒラメ筋の湿重量は減少していく状態が有意に抑制されているので ($p<0.05$)、伝達物質としてのアデノシンの発現量の定量化も今後の課題である。また、刺鍼筋は腓腹筋であるのに、ヒラメ筋の mRNA の発現動態が有意に変化している点も、未だ解明されていないメカニズムである。本実験では、腓腹筋では誤差が大きく、mRNA の発現における有意差は認められなかった。

その他のシグナル伝達の経路としては、先行研究によって、骨格筋の分解の経路は、転写因子である Foxo の脱リン酸化により、Foxo が核移行して Atrogin-1、MuRF1 の転写を開始すること、また Foxo が核移行するのを Akt というタンパク質リン酸化酵素が、Foxo をリン酸化することによって防いでいることが既に報告されている¹⁴⁾。今後はウエスタンブロット法などを用いて、Foxo、Akt などのタンパク質のリン酸化の定量化を行い、さらなるシグナル伝達経路の解明を試みたい。

また、今回の実験では、サンプル採取前の最後の鍼刺激から、翌日のサンプル採取までに約24時間のインターバルがあるにも関わらず、筋萎縮関連遺伝子の mRNA 発現が増加していく状態を抑制する効果が認められた。本実験では、骨格筋は実験2週間後に一様に採取したため、その間の萎縮関連遺伝子の発現動態は不明である。鍼刺激による遺伝子発現量の変化が鍼刺激の直後にピークに達するのであれば、鍼刺激直後の mRNA 発現抑制効果は今回得た結果よりも高い可能性がある。今後は刺鍼後の mRNA の発現動態のタイムコースを設定して、時間経過に伴って検討する必要がある。

今回の実験の結果により、鍼通電療法が Atrogin-1、MuRF1 の発現増加を抑制することにより筋萎縮を抑制する可能性が存在することがわかったが、骨格筋の分解の経路に焦点を当ててい

るので、骨格筋合成の経路まで着手できなかった。今後はタイムコースの設定を含めて、合成の経路を含めたより詳細な解析を行うことで、筋萎縮に対する鍼通電療法の治効メカニズムの解明を深めてゆきたい。またその解明により、長期臥床やギプス固定などで不活動を強いられる状況に対して、鍼通電療法の効果の確かなエビデンスを確立し、臨床応用に役立てるような実験を行いたいと考える。

V. 結 語

後肢懸垂型筋萎縮によって引き起こされた骨格筋の筋湿重量と筋線維断面積は1 Hzの鍼通電によって減少していく状態が抑制された。一方、萎縮関連遺伝子の mRNA の発現量は後肢懸垂によって増加し、鍼通電によって増加していく状態が抑制された。これらのことは、鍼通電療法が萎縮関連遺伝子の発現を抑制する可能性を示唆した。また、置鍼によっても骨格筋重量の減少は抑制されたので、電気刺激を加えない従来の鍼の治療法である置鍼法によっても萎縮が抑制される可能性が示された。

謝 辞

本研究を行うにあたり、東京大学大学院医学系研究科牛田多加志教授、秋本崇之講師、和田正吾氏、筑波技術大学池宗佐知子先生、早稲田大学先進理工学部南沢亨教授、また鍼のご指導を頂きました諸先生に心から感謝いたします。

なお、この研究は、早稲田大学人間総合研究センター・井深基金「東洋医学に関する学際的研究プロジェクト」ならびに、早稲田大学スポーツ科学研究科グローバルCOEプログラム「アクティヴ・ライフを創出するスポーツ科学」(09-II-04)の研究事業の一環として助成されました。

文 献

- 1) 町田修一. 加齢性筋肉減弱症 (サルコペニア) 発症の分子機構の解明とその治療. *Jpn J Rehabil Med.* 2007; 44: 144-9.
- 2) Sue C. Bodine, Esther Latres, Susanne Baumhueter, Venus K.-M. Lai, Lorna Nunez,

- Brian A. Clarke, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science*. 2001; 294: 1704-08.
- 3) Gomes MD, Lecker SH, Jagoe RT, Navon A, Goldberg AL. Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(25): 14440-5.
  - 4) Glass DJ. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005; 37(10): 1974-84.
  - 5) Morey ER. Spaceflight and bone turnover-correlation with a new rat model of weightlessness. *Bioscience*. 1979; 29: 168-72.
  - 6) Takaoka Y, Ohta M, Ito A, Takamatsu K, Sugano A, Funakoshi K, et al. Electroacupuncture suppresses myostatin gene expression: cell proliferative reaction in mouse skeletal muscle. *Physiol Genomics*. 2007; 30(2): 102-10.
  - 7) 池宗佐知子, 大田美香, 町田正直, 武政徹, 高岡裕, 宮本俊和. 後肢懸垂により引き起される筋萎縮の回復過程における鍼通電刺激の効果. *全日鍼灸会誌*. 2010; 60: 707-15.
  - 8) 後藤勝正, 大平充宣. 宇宙環境暴露および老化による骨格筋の萎縮. *宇宙航空環境医*. 2007; 44(2): 49-58.
  - 9) 田中啓二. ユビキチンがわかる. 東京. 羊土社. 2006.
  - 10) Hui-Hua Li, Vishram Kedar, Chunlian Zhang, Holly McDonough, Ranjana Arya, Da-Zhi Wan, et al. Atrogin-1/muscle atrophy F-box inhibits calcineurin-dependent cardiac hypertrophy by participating in an SCF ubiquitin ligase complex. *J Clin Invest*. 2004; 114(8): 1058-71.
  - 11) Thomas Centner, Junko Yano, Eiichi Kimura, Abigail S McElhinny, Katarina Pelin, Christian C Witt, et al. Identification of Muscle Specific Ring Finger Proteins as Potential Regulators of the Titin Kinase Domain. *J Mol Biol*. 2001; 306: 717-26.
  - 12) hiago Luiz Russo MS, Sabrina Messa Peviani MS, Camila Marques Freria, Davilene Gigo-Benato MS, Stefano Geuna MD, Tania Fatima Salvini MS. Electrical stimulation based on chronaxie reduces atrogin-1 and myoD gene expressions in denervated rat muscle. *Muscle Nerve*. 2007; 35: 87-97.
  - 13) Nanna Goldman, Michael Chen, Takumi Fujita, Qiwu Xu, Weiguo Peng, Wei Liu, et al. Adenosine A1 receptors mediate local antinociceptive effects of acupuncture. *Neuroscience*. 2010; 13(7): 883-U130.
  - 14) Marco Sandri, Claudia Sandri, Alex Gilbert, Carsten Skurk, Elisa Calabria, Anne Picard, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell*. 2004; 117(3): 399-412.

Original Research

Effect of electro-acupuncture on skeletal muscle atrophy in miceONDA Akiko¹⁾, MIYAMORO Toshikazu²⁾, FUKUBAYASHI Toru³⁾

1) Graduate School of Sport Sciences, Waseda University

2) Graduate School of Comprehensive Human Science Doctoral Program in Sports Medicine,
University of Tsukuba

3) Faculty of Sport Sciences, Waseda University

Abstract

[Objective] Skeletal Muscle atrophy is induced in response to unloading by Hindlimb Suspension (HS). Numerous studies have been performed to prevent Skeletal Muscle atrophy. However, the molecular mechanisms underlying Electro-acupuncture (EA) on skeletal muscle have not been identified, and the effect of EA to prevent skeletal muscle atrophy is unknown. Therefore, we aimed to determine the effect of EA and Chishin (where the needles are kept in muscle for thirty minutes) on skeletal muscle atrophy in an animal experiment.

[Methods] Twenty mice (8 week, C57BL6) were randomly grouped into 4 groups; Normal group (N group), Hindlimb Suspension Group (HS group), HS + Chishin group (Chishin group), and HS + EA 1Hz group (1 Hz group) (n = 5/group, respectively). Acupuncture interventions were conducted on the gastrocnemius of the Chishin and 1Hz groups. We measured the muscle mass, the cross sectional area, the percentage of Atrogin-1 and MuRF1 (Atrophy related E3 ubiquitin ligases) expressions of the soleus of each mouse at 2 weeks after acupuncture interventions.

[Result] The weight and Cross sectional area of the soleus of the 1Hz group were significantly greater than the HS group ($P < 0.01$, $P < 0.01$, respectively). On the contrary, the percentage of Atrogin-1 and MuRF1 expressions of the 1Hz group was significantly less than the HS groups ($P < 0.01$, $P < 0.05$, respectively).

[Conclusion] These results suggest that EA and Chishin may influence the activity of Atrogin-1 & MuRF1 expression.

Zen Nihon Shinkyu Gakkai Zasshi (Journal of the Japan Society of Acupuncture and Moxibustion: JJSAM). 2011; 61(1): 59-67. Received 4 May, 2010 Accepted 23 Dec, 2010

Key word: Atrogin-1, MuRF1, Hindlimb suspension, atrophy, mice