

ギプス固定期間中の非固定部位での運動が 筋萎縮からの回復に与える効果

東京大学 高橋 祐美子
(共同研究者) 同 松本 竜 弥
同 八田 秀 雄

The Effect of Exercise by Non-immobilized Limbs on The Recovery From Atrophy Induced by Cast Immobilization

by

Yumiko Takahashi,
Tatsuya Matsumoto, Hideo Hatta
*The University of Tokyo,
Department of Sports Sciences*

ABSTRACT

Disuse of skeletal muscle leads to a reduction in muscle mass and alterations in mitochondrial function. We previously found that treadmill exercise primarily performed by forelimbs during a period of hindlimb muscle disuse attenuated atrophy and decrease in mitochondrial protein contents in the immobilized hindlimb muscles. In this study, we investigated the effects of treadmill exercise mainly performed by forelimb during bilateral hind limb immobilization on the adaptations in soleus muscle following cast removal in mice. Male Institute of Cancer Research (ICR) mice were divided into three groups: a control group without immobilization (CON), a remobilized group subjected to 14 days of hindlimb cast immobilization followed by 3 days of remobilization period (R), and an exercise-remobilized group that performed treadmill exercise during the immobilization period, followed by a 3 days of

remobilization period (ER). After the intervention, the soleus muscles were harvested and analyzed. The results showed that both R and ER groups had significantly lower total average cross-sectional area (CSA) and levels of mitochondrial-related proteins in the soleus muscle compared to those of the CON group. The average CSA of type IIa and IIx/b fibers were significantly lower in the R group compared to the CON group, while no significant difference was observed between the CON and ER groups. These findings suggest that treadmill exercise mainly performed by forelimb during hindlimb immobilization may induce fiber-type-specific responses in remobilized muscles.

キーワード

運動, ミトコンドリア, 不活動, 骨格筋, 筋線維タイプ

Keyword

exercise, mitochondria, disuse, skeletal muscle, fiber type

要 旨

骨格筋の不活動は筋量の低下, ミトコンドリアの機能変容を引き起こす. 一方, 我々は, マウスにおいて後肢不活動期間中に前肢を中心とした走行運動を実施することで, 後肢筋の萎縮の抑制やミトコンドリア適応が誘導されることを確認した. 本研究では, 両後肢不活動下における前肢を中心とした走行運動の実施が, ギプス固定解除後の後肢ヒラメ筋に与える影響を検討した.

雄性ICRマウスを, 安静群 (CON群), 14日間の後肢ギプス固定後に3日間の固定解除期間を設けた不活動回復群 (R群), および固定期間中に前肢を中心とした走行運動を行った後に固定解除期間を設けた群 (ER群) の3群に分けた. 介入終了後, ヒラメ筋を採取して解析した. その結果, ヒラメ筋の全体の横断面積およびミトコンドリア関連タンパク質量は, CON群と比較してR群, ER群にて有意に低値を示した. 一方, タイプIIaおよびIIx/b線維の横断面積は, CON群と比較して, R群にて有意に低い値を示したが, CON群とER群の間に有意な差は認められなかった. このこと

から, ギプス固定期間中の運動介入は不活動肢に対して, 固定解除後に筋線維タイプ特異的な適応をもたらす可能性が示唆された.

緒 言

骨格筋の量や筋力の維持は日常動作の実施機能に重要である. また, 骨格筋はエネルギー消費器官でもあり, 代謝性疾患の予防にも重要な役割を果たす. 一方, 日常生活では, 怪我や疾患治療などで身体活動の制限 (以下, 不活動) を余儀なくされる場面にしばしば直面する. ヒトを対象とした研究では, ベッドレストや装具固定, 歩数制限などの不活動時には1週間で概ね5%程度, 2週間で5-15%程度の骨格筋量の低下がみられる¹⁻³⁾. 怪我や疾患の治療など, 身体活動レベルを戻せるようになった後には, 可能な限り早い筋量や筋力の回復が求められる.

不活動は骨格筋でミトコンドリアの変容 (量的減少や呼吸機能低下, 活性酸素種増加など) をもたらす^{4,5)}. ミトコンドリアは骨格筋収縮やタンパク質合成のためのATP産生に関わる細胞小器官であり, 上記したミトコンドリアの変容が筋量・

筋力低下の進行に関わる可能性が示されている⁶⁻⁸⁾。一方で、遺伝子改変によりミトコンドリア生合成を促進すると筋萎縮が軽減される^{9,10)}。さらには、不活動期間終了後の筋量および筋力低下の継続とミトコンドリア変容の関連性が報告されている^{11,12)}。よって、不活動期間中のミトコンドリア変容を緩和する方法があれば、不活動期間終了後の回復にも有用な可能性がある。

近年、運動は液性因子などを介して活動筋以外の組織でも適応をもたらす可能性が示されている¹³⁾。運動による非活動筋の適応に関しても、ヒトを対象として、片脚での自転車運動によって非運動脚での遺伝子発現の変化が報告されている¹⁴⁾。そこで我々はICR系統のマウスを対象に、14日間の後肢ギプス固定時に前肢を中心とした持久的運動トレーニングを実施し、立位姿勢維持の主働筋である後肢ヒラメ筋への影響を検証した。その結果、後肢ギプスで対照群（非固定・運動非実施）と比較してヒラメ筋の筋横断面積の低下やミトコンドリア構成タンパク質量の低下がみられた（松本ら、未発表データ）。一方、後肢ギプス固定期間中に前肢を中心とした走行トレーニングを実施した群では、ヒラメ筋の筋横断面積の低下やミトコンドリア構成タンパク質量の低下が抑えられた。

以上の研究成果を応用し、本研究ではギプス固定期間中の活動可能な部位による運動が、固定解除後の骨格筋の適応に与える効果を検証する。

1. 研究方法

1.1 実験動物および実験概要

雄性ICRマウス（日本エスエルシー、東京）を用いた。12週齢になるまで予備飼育し、実験を開始した。マウスは23℃、12時間の明暗サイクルの環境（暗期；07:00-19:00）で個別ケージにて飼育した。飼育期間中は実験用飼料（MF; 3.6 kcal/g, 炭水化物 60%, 脂質 13%, タンパク質 27%; オリエンタル酵母工業、東京）および水を自由に摂取
デサントスポーツ科学 Vol. 47

させた。なお、本実験は東京大学大学院総合文化研究科・教養学部実験動物委員会による承認のもと行われた（2021-11）。予備飼育期間の後、マウスを対照群（CON群; n = 10）、2週間固定→3日間固定解除群（R群; n = 10）、2週間固定+走行トレーニング→3日間固定解除群（ER群; n = 10）の3群にランダムに分けた。ギプス固定日の3日前より3日間、全てのマウスは動物用トレッドミル（MK-680; 室町機械、東京）上での走行運動への慣らしとして速度10 m/分、10分間の走行運動を実施した。R群およびER群は、両後肢をギプスにより14日間固定した後、ギプスを解除した状態で3日間飼育した。ER群はギプス固定3日後からトレッドミル上で前肢を中心とした走行運動を実施した。介入終了後に組織を摘出した。

1.2 ギプス固定方法

R群とER群に塩酸メデトミジン（メデトミン注「Meiji」; 明治アニマルヘルス、東京; 0.3 mg/kg）、ミダゾラム（ミダゾラム; サンド、東京; 4 mg/kg）、酒石酸ブトルファノール（ベトルファール; Meiji Seika ファルマ、熊本; 5 mg/kg）を混合した三種混合麻酔薬を体重10 gあたり100 μLを腹腔内注射にて投与した。麻酔状態にあることを確認して、ギプス固定を実施した。麻酔中は38℃に設定された小動物用電気マット（ほっとうさ暖りバーシブルヒーター; マルカン、岩手）で保温した。最初に、1.5 cmに切断した1.5 mLのマイクロチューブを用いてマウスの後肢の足先を覆った。その後、両後肢を足関節から股関節にかけて非伸縮性テープ（Multipore™ Sports White Athletic Tape; 3M Japan、東京）にて膝関節最大伸展位、足関節最大底屈位で固定した。その上から重合レジン（UNIFAST II; GC、東京）を塗布した。最後に、第4、5腰椎から足趾に向けて股関節と両後肢を熱可塑性キャスト材（プライトン®; アルケア、東京）によって固定し、上から重合レジンを

塗布した。固定処置終了後、三種混合麻酔の拮抗薬である塩酸アチパメゾール（アンチセダン®；日本全薬工業，福島；0.3 mg/kg）を体重10 gあたり100 μ L腹腔内注射によって投与し，全身麻酔からの覚醒を確認した。CON群もR群・ER群でのギプス固定処置と同等の時間，三種混合麻酔薬による麻酔状態においた。14日間のギプス固定期間終了後にイソフルランによる吸引麻酔下にて，ギプス固定を解除した。

1. 3 前肢を中心とした走行トレーニング

走行トレーニングは動物用トレッドミルを用いて実施した。走速度は毎分10 m，時間は60分間，トレッドミルの傾斜は0度とした。ER群は，ギプス固定3日後より，3日間走行実施と1日休みのサイクルを3回，すなわち，ギプス固定期間中に計9回の走行運動を行った。

1. 4 骨格筋摘出

固定解除期間終了後に，イソフルランによる吸入麻酔下にて後大静脈より採血して安楽死処置を行った後，ヒラメ筋を摘出した。ヒラメ筋は摘出後すぐに液体窒素で凍結し，-80℃で保管した。

1. 5 ホモジナイズ

摘出した片脚のヒラメ筋サンプルを2 mLネジ口マイクロチューブに入れ，5 mmステンレスビーズと筋湿重量の30倍量のRIPA Lysisバッファ [50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 150 mM NaCl, 0.25% deoxycholic acid, 1% NP-40, 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (Merck Milipore, Bedford, MA, USA) に，タンパク質分解酵素阻害剤 (cOmplete Mini; EDTA-free; Roche Applied Science, Germany) とリン酸化化合物加水分解酵素阻害剤 (PhosSTOP; Roche Applied Science) を添加したもの] を加えた後に，ビーズクラッシャーにて2,500 rpmでの30秒間の振盪を

3回行って破碎した。その後，可溶化処理として水上で30分間振盪させた後，4℃，2,800 rpmで15分間の遠心分離を行い，上清を回収し，サンプル溶液とした。

1. 6 クエン酸合成酵素 (CS) 最大活性の測定

CS最大活性は骨格筋ミトコンドリア量と高い正の相関関係にあることから，ミトコンドリア量の指標として多くの研究で用いられている (Larsen et al., 2012)。CS最大活性の測定はSrereの方法をもとにして実施した (Srere, 1969)。サンプル溶液を5倍量のホモジネートバッファ (100 mM KH_2PO_4 , 0.05% Bovine Serum Albumin, pH7.3) で希釈し，これをCS最大活性測定用サンプル溶液とした。サンプル溶液6 μ L, Tris-HCl 207 μ L, 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) 18 μ L, アセチルCoA 12 μ L, オキサロ酢酸9 μ Lを37℃の96穴マイクロプレート内で混合し，マイクロプレート吸光分光光度計 (SpectraMax ABS Plus; モレキュラーデバイスジャパン，東京) を用いて，412 nm波長における吸光度 (Abs) の変化を測定した。CS活性 (μ mol/g wet tissue weight/min) は以下の式により算出した。

CS 活性 = Abs/min \times Total volume \times Dilution factor / (13.6 \times Sample volume)

Dilution factorは (tissue weight + buffer volume) / tissue weightとして求めた。また，13.6は412 nmにおけるDTNBのモル吸光係数である。

1. 7 ウェスタンブロット

サンプル溶液中のタンパク質濃度をBicinchoninic Acid Assay (BCA法) にて測定した (BCA Protein Assay Kit; 富士フイルム和光純薬，大阪)。RIPA Lysisバッファおよびサンプルバッファ (0.25 mol/L Tris-HCl, pH6.8, 8 (w/v) %Sodium Dodecyl Sulfate (SDS), 40 (w/v) %Glycerol, 0.02 (w/v)

%Bromophenol Blue, 20 (v/v) %3-mercapto-1,2-propandiol; 富士フィルム和光純薬) を用いてサンプル溶液を $1.0 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ となるように希釈し、ウェスタンブロットリング用サンプルとした。この際、ウェスタンブロットリング用サンプルを2つに分け、一方は 90°C で5分間ボイルした。もう一方は OXPPOS のウェスタンブロット用サンプルとしてボイルを実施しなかった。7.5-15% の SDS ポリアクリルアミドゲルに、各レーン $10 \mu\text{g}$ のタンパク質をアプライし、150 V で60分間 SDS-ポリアクリルアミド電気泳動を行った。電気泳動後、ウェット法によりゲルから Polyvinylidene difluoride (PVDF) 膜 (Merck Millipore) への転写を行った (電圧 75-100 V で75分間)。転写終了後、メンブレンを Tris-buffered saline containing 0.1% Tween 20 (TTBS) に浸し、PVDF Blocking Reagent (東洋紡, 大阪) で60分間ブロッキング処理を行った。その後 TTBS で5分間3回洗浄し、一次抗体希釈液に浸して室温 (20°C) で1時間、 4°C で一晩反応させた。使用した一次抗体は OXPPOS (1:5000, ab110413, abcam, Cambridge, UK), COX IV (1:2000, ab14744, abcam), PGC-1 α (1:1000, #516557, Merck Millipore), 4HNE (1:1000, ab48506, abcam), SOD2 (1:1000, #13141, Cell Signaling Technology, Danvers, MA) である。反応終了後に TTBS で5分間3回洗浄し、Anti IgG (H+L) マウス (American Qualex, San Clemente, CA) または Anti IgG (H+L) ラビット (American Qualex) の二次抗体と60分間反応させた。二次抗体反応終了後、膜を再び TTBS で5分間3回洗浄し、化学発光検出試薬 (Pierce ECL Western Blotting Substrate; Thermo Fisher Scientific, USA) と反応させてバンドを可視化し、化学発光検出装置 (ChemiDoc XRS; Bio-Rad, Hercules, CA, USA) で撮影した。検出したバンドは、ImageLab software v 6.1.0. (Bio-Rad) により定量した。その後、メンブレンをボンソー S 溶液 (Beacle Inc., 京都) で染

色し、タンパク質の泳動像を確認した。

1. 8 組織標本作成

摘出した片側のヒラメ筋をトラガカントゴム (富士フィルム和光純薬) を付けた円状コルク上に垂直に立て、液体窒素で冷却させたイソペンタン中で素早く攪拌させることで凍結した。その後、クライオスタット (CM1950; Leica Microsystems, Germany) を用いて $8 \mu\text{m}$ で薄切し、組織標本を作成した。組織標本は免疫組織化学染色を行うまで -80°C で保管した。

1. 9 免疫組織化学染色

作成した組織標本を -20°C のアセトンで固定後に自然乾燥させた。十分に乾燥させた後、組織標本を 5% goat serum, 1% BSA/phosphate buffered saline (PBS), M.O.M. blocking reagent (Vector Laboratories, Newark, CA, USA) で60分間ブロッキング処理を行った。その後、一次抗体を加え、 4°C で一晩反応させた。使用した一次抗体は MyHC type I (1:50, # BA-D5; Developmental Studies Hybridoma Bank (DSHB), Iowa, IA), MyHC type IIa (1:100, # SC-71; DSHB), MyHC type IIb (1:100, # BF-F3; DSHB), Laminin (1:200, SC-59854, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX) である。反応終了後、PBS で5分間2回洗浄し、二次抗体と 37°C で60分間反応させた。反応終了後、組織標本を VECTASHIELD Vibrance Antifade Mounting Medium (Vector Laboratories) で封入し、蛍光顕微鏡である BIOREVO BZ-X810 (KEYENCE, 大阪) にて撮影した。撮影した画像から、Hybrid Cell Count アプリケーション (KEYENCE) を用いて筋線維の横断面積を算出した。

1. 10 ヘマトキシリン/エオジン (HE) 染色

作成した組織標本を Mayer' s hematoxylin (富

士フィルム和光純薬)で7分間染色した。染色後、50°Cで3分間流水洗浄を行い、エオジン(富士フィルム和光純薬)で50秒間染色した。その後、95%エタノール(富士フィルム和光純薬)で5秒間2回、100%エタノール(富士フィルム和光純薬)で5秒間2回脱水し、キシレン(富士フィルム和光純薬)で5分間3回透膜処理を行った。組織標本はDPXマウンティングメディウム(Sigma-Aldrich)で封入した。すべての標本を蛍光顕微鏡BIOREVO BZ-X810(KEYENCE)で撮影した。

1. 11 統計処理

データはすべて平均値±標準偏差で示した。また、統計処理にはGraphPad Prism 7を用いた。すべてのデータにおいて、Shapiro-Wilk検定を実施し正規性の検定を行なった。3群間の比較に関して、正規性が認められた場合は一元配置分散分析を行い、その後Tukey-Kramer法による多重比較検定を実施した。正規性が認められなかった場合、クラスカル・ウォリス検定を実施し、その後Dunn検定を用いて多重比較検定を実施した。すべての統計において、危険率が5%未満を有意とした。

2. 研究結果

2. 1 筋線維横断面積

筋線維全体における平均横断面積は、CON群と比較して、R群、ER群ともに有意に低い値を示した($p < 0.001$, $p < 0.01$; 図1-B)。

筋線維タイプ別の平均横断面積について、タイプI線維ではR群、ER群ともにCON群と比較して有意に低い値を示した($p < 0.001$; 図1-C)。タイプII aおよびII x/b線維では、CON群と比較してR群にて有意に低い値を示したが($p < 0.01$)、ER群とCON群の間に有意な差は認められなかった(図1-D, E)。

2. 2 ミトコンドリア関連酵素最大活性・タンパク質量

CS最大活性は、CON群と比較してR群およびER群ともに有意に低値を示した($p < 0.001$; 図2-B)。

電子伝達系を構成する主要な呼吸鎖複合体タンパク質についてウェスタンブロット法により定量化した。複合体Iの構成因子であるNDUFB8(図2-C)、複合体IIのSDHB(図2-D)、複合体IIIのUQCRC2(図2-E)、複合体IVのMTCO1(図2-F)、およびATP合成酵素である複合体VのATP5A(図2-G)いずれもCON群と比較してR群およびER群ともに有意に低値を示した($p < 0.05$)。複合体IVを構成するCOX IVタンパク質もCON群と比較してR群およびER群で有意に低い値を示した($p < 0.001$, 図2-H)。

ミトコンドリア生合成の主要な制御因子であるPGC-1 α タンパク質はCON群と比較してR群およびER群で有意に低値を示した($p < 0.01$, $p < 0.001$, 図2-I)。

酸化ストレスの指標の一つである4HNEタンパク質はCON群と比較してR群およびER群で有意に高値を示した($p < 0.001$; 図2-J)。一方、抗酸化酵素であるSOD2タンパク質はCON群と比較してR群およびER群で有意に低値を示した($p < 0.001$, 図2-K)。

評価したいずれの項目においても、R群とER群の間に有意な差は認められなかった。

3. 考察

本研究では、後肢ギプス固定期間中の前肢を中心とした走行トレーニングの実施は、ギプス固定解除3日後において、不活動肢であるヒラメ筋の全体での筋横断面積の低下およびミトコンドリアに関連するタンパク質量の低下を抑制することはできなかったものの、タイプII a, II x/b線維の横断面積の低下を抑制した。

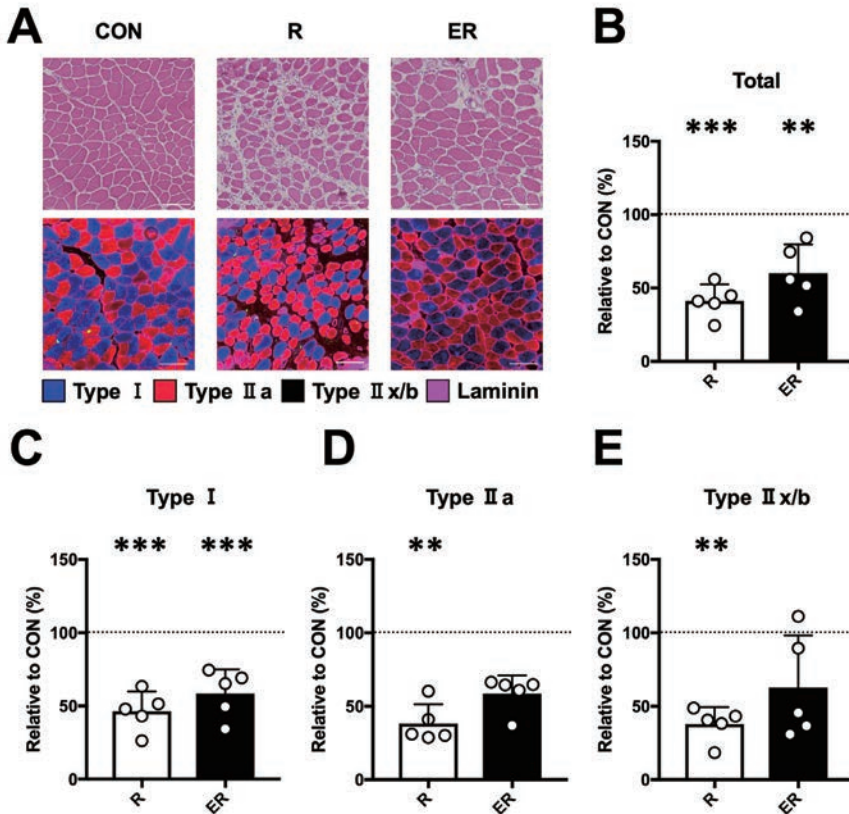


図1 ヒラメ筋の筋線維横断面面積

CON: 対照群 (固定をしない安静群); R: 2週間固定→3日間固定解除群; ER: 2週間固定+走行運動→3日間固定解除群. A: 筋線維免疫染色代表画像; B: 全体の筋線維横断面面積; C: タイプI線維横断面面積; D: タイプIIa線維横断面面積; E: タイプIIx/b線維横断面面積. データは平均値±標準偏差で示した. すべてのデータは, CON群に対する相対値で示した. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. CON群

我々は, ギプス固定期間中の前肢を中心とした走行トレーニングの実施が固定期間終了直後の筋横断面面積の低下やミトコンドリア関連タンパク質量の低下を抑制したことを確認している (松本ら, 未発表データ). 一方, 本研究の結果, ギプス固定解除から3日後の時点では, 筋線維全体での平均横断面面積の低下やミトコンドリアに関連するタンパク質量の低下に対して, 固定期間中の運動の効果は見られなかった. これには, ギプス固定解除後に筋萎縮が一時的に進行する現象が関与した可能性がある. ラットを用いてギプス固定解除後の骨格筋応答の経時的変化を追った研究で, 固定解除初期 (3~7日後) において, 固定期間終了直後よりも筋萎縮が一時的に進行し, 2週間後には筋横断面面積が固定解除初期より高まることが報告

されている¹⁵⁾. この現象は固定解除後の再荷重に伴う筋損傷が関わっている可能性がある. 先行研究にて, 後肢懸垂や宇宙飛行後の微小重力環境からの復帰後の再荷重初期に遠心性収縮様の筋損傷が生じることが報告されている¹⁶⁾. また, ギプス固定モデルを用いた研究でも, 固定解除2日後に損傷がみられると報告されている¹⁷⁾. このような現象の原因として, 除負荷状態によって骨格筋内部のサルコメアなどの構造的要素が弱体化し, 再荷重時の張力に耐えきれず損傷が誘発される可能性が示唆されている. 筋損傷は筋萎縮を誘発する要因の一つとして考えられていること¹⁸⁾から, 本研究におけるギプス固定解除後の筋萎縮には損傷が関与した可能性がある.

筋損傷の発生は, 筋線維タイプごとの活動特性

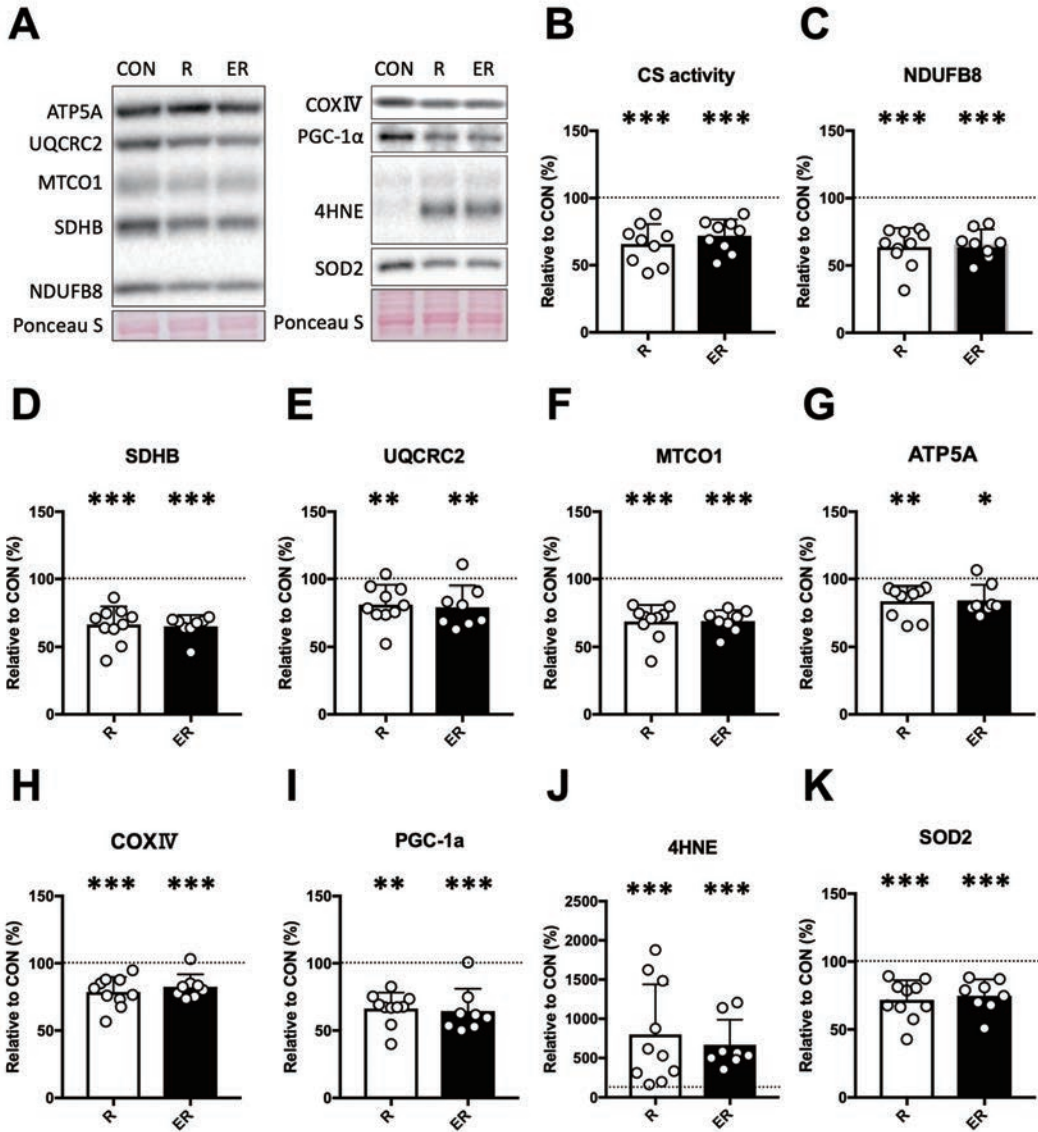


図2 ヒラメ筋のミトコンドリアに関連するタンパク質量

CON: 対照群 (固定をしない安静群) ; R: 2週間固定+3日間固定解除群; ER: 2週間固定+走行運動→3日間固定解除群. A: ウェスタンブロット代表画像; B: クエン酸合成酵素 (CS) 最大活性; C-H: 呼吸鎖複合体構成タンパク質量 (C: 複合体I_NDUFB8; D: 複合体II_SDHB; E: 複合体III_UQCRC2; F: 複合体IV_MTCO1; G: 複合体V_ATP5A; H: COX IV) ; I: PGC-1 *a* タンパク質量; J: 4HNE タンパク質量; K: SOD2 タンパク質量. データは平均値±標準偏差で示した. すべてのデータは, CON群に対する相対値で示した. **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001 vs. CON群

に応じて異なる可能性がある. ラットにおいて, 日常的な行動では遅筋型運動単位 (S型) は速筋型運動単位 (FF型, FR型) に比べて高い活動時間を示すことが報告されており¹⁹⁾, S型運動単位が支配するタイプI線維は日常的な行動時に高頻度で活動していると考えられる. 本研究における

ギプス固定解除3日後というサンプリング時点では, 活動量の高いタイプI線維は再荷重による損傷の影響を受けやすかった一方, タイプII線維では再荷重によるダメージが比較的少なかった可能性がある. よって, ギプス固定期間中に実施した前肢を中心とした走行運動による効果がタイプII

線維でのみみられた可能性がある。

ミトコンドリアに関連する指標については、ギプス固定解除3日後において、後肢ギプス固定期間中に前肢を中心とした走行運動を実施していた群においても、運動を実施していなかった群と同様の低下がみられた。この結果は、ギプス固定解除後のミトコンドリア関連のタンパク質量の低下を報告した先行研究とも一致している¹⁵⁾。ラットを対象とした研究で、筋損傷を起こす実験モデルの一つの下り坂走行を行った後、ヒラメ筋にてCS最大活性や電子伝達系タンパク質の減少が報告されている^{20,21)}。固定解除初期には筋損傷の影響でミトコンドリア関連タンパク質量の顕著な低下が起こった可能性がある。

本研究では、タンパク質量の評価を骨格筋全体を破碎したサンプルで行ったことから、筋線維タイプ別のミトコンドリアの適応応答を検証できていない。よって、今後は筋線維タイプごとにミトコンドリア適応応答と筋横断面積変化の関係性を明らかにする必要がある。また、本研究のサンプリング時点では、ギプス固定解除に伴い一時的に増大するストレス応答の影響が大きかった可能性がある。そのため、今後はギプス固定期間中の運動実施が固定解除後の回復過程にもたらす効果について、より長期間での検証も必要である。

結 論

ギプス固定期間中の前肢を中心とした走行トレーニングは、固定解除3日後のヒラメ筋の全体の横断面積やミトコンドリア関連タンパク質量の低下を抑制することはできなかった。しかし、速筋線維であるタイプIIa, II x/b線維の横断面積の低下を抑制した。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、ご支援を賜りました公
デサントスポーツ科学 Vol. 47

益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に深く感謝申し上げます。また、実験遂行全般にご協力頂きました、東京大学大学院総合文化研究科の八田研究室ならびに高橋研究室の皆様、筋横断面積の評価にご協力いただきました筑波大学医学医療系の高橋智教授、藤田諒准教授、並びに高橋智研究室の皆様にご心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) Dirks M.L., Wall B.T., van de Valk B., Holloway T.M., Holloway G.P., Chabowski A., Goossens G.H., van Loon L.J., One Week of Bed Rest Leads to Substantial Muscle Atrophy and Induces Whole-Body Insulin Resistance in the Absence of Skeletal Muscle Lipid Accumulation., *Diabetes*, 65 (10), 2862–2875(2016)
- 2) Preobrazenski N., Janssen I., McGlory C., The effects of single-leg disuse on skeletal muscle strength and size in the nonimmobilized leg of uninjured adults: a meta-analysis., *Journal of applied physiology*, 134 (6), 1359–1363(2023)
- 3) Deane C.S., Piasecki M., Atherton P.J., Skeletal muscle immobilisation-induced atrophy: mechanistic insights from human studies., *Clinical science*, 138 (12), 741–756(2024)
- 4) Ringholm, S., Biensø, R.S., Kiilerich, K., Guadalupe-Grau, A., Aachmann-Andersen, N. J., Saltin, B., Plomgaard, P., Lundby, C., Wojtaszewski, J. F., Calbet, J. A., & Pilegaard, H., Bed rest reduces metabolic protein content and abolishes exercise-induced mRNA responses in human skeletal muscle., *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 301 (4), E649–E658(2011)
- 5) Brocca L., Cannavino J., Coletto L., Biolo G., Sandri M., Bottinelli R., Pellegrino M.A., The time course of the adaptations of human muscle proteome to bed rest and the underlying mechanisms., *The Journal of physiology*, 590 (20), 5211–5230(2012)
- 6) Min K., Smuder A.J., Kwon O.S., Kavazis A.N., Szeto H.H., Powers S.K., Mitochondrial-targeted antioxidants protect skeletal muscle against immobilization-induced muscle atrophy., *Journal of applied physiology*, 111 (5), 1459–1466(2011)

- 7) Hyatt H., Deminice R., Yoshihara T., Powers S.K., Mitochondrial dysfunction induces muscle atrophy during prolonged inactivity: A review of the causes and effects., *Archives of biochemistry and biophysics*, **662**, 49–60(2019)
- 8) Memme J.M., Erlich A.T., Phukan G., Hood D.A., Exercise and mitochondrial health., *The Journal of physiology*, **599** (3), 803–817(2021)
- 9) Cannavino J., Brocca L., Sandri M., Bottinelli R., Pellegrino M.A., PGC1-*α* over-expression prevents metabolic alterations and soleus muscle atrophy in hindlimb unloaded mice., *The Journal of physiology*, **592** (20), 4575–4589(2014)
- 10) Kang C., Ji L.L., PGC-1*α* overexpression via local transfection attenuates mitophagy pathway in muscle disuse atrophy., *Free radical biology & medicine*, **93**, 32–40(2016)
- 11) Kang C., Ji L.L., Muscle immobilization and remobilization downregulates PGC-1*α* signaling and the mitochondrial biogenesis pathway., *Journal of applied physiology*, **115** (11), 1618–1625(2013)
- 12) Trevino M.B., Zhang X., Standley R.A., Wang M., Han X., Reis F.C.G., Periasamy M., Yu G., Kelly D.P., Goodpaster B.H., Vega R.B., Coen P.M., Loss of mitochondrial energetics is associated with poor recovery of muscle function but not mass following disuse atrophy., *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, **317** (5), E899–E910(2019)
- 13) MoTrPAC Study Group, Lead Analysts, & MoTrPAC Study Group, Temporal dynamics of the multi-omic response to endurance exercise training., *Nature*, **629** (8010), 174–183(2024)
- 14) Catoire M., Mensink M., Boekschoten M.V., Hangelbroek R., Müller M., Schrauwen P., Kersten S., Pronounced effects of acute endurance exercise on gene expression in resting and exercising human skeletal muscle., *PloS one*, **7** (11), e51066(2012)
- 15) Wang F., Zhou T., Zhou C.X., Zhang Q.B., Wang H., Zhou Y., The worsening of skeletal muscle atrophy induced by immobilization at the early stage of remobilization correlates with BNIP3-dependent mitophagy., *BMC musculoskeletal disorders*, **24** (1), 632(2023)
- 16) Riley D.A., Thompson J.L., Krippendorf B.B., Slocum G.R., Review of spaceflight and hindlimb suspension unloading induced sarcomere damage and repair., *Basic and applied myology : BAM*, **5** (2), 139–145(1995)
- 17) Frimel T.N., Kapadia F., Gaidosh G.S., Li Y., Walter G.A., Vandenborne K., A model of muscle atrophy using cast immobilization in mice., *Muscle & nerve*, **32** (5), 672–674(2005)
- 18) Kozakowska M., Pietraszek-Gremplewicz K., Jozkowicz A., Dulak J., The role of oxidative stress in skeletal muscle injury and regeneration: focus on antioxidant enzymes., *Journal of muscle research and cell motility*, **36** (6), 377–393(2015)
- 19) Hennig R., Lømo T., Firing patterns of motor units in normal rats., *Nature*, **314** (6007), 164–166(1985)
- 20) Shang H., Xia Z., Bai S., Zhang H.E., Gu B., Wang R., Downhill Running Acutely Elicits Mitophagy in Rat Soleus Muscle., *Med. Sci. Sports Exerc.*, **51** (7), 1396–1403(2019)
- 21) Shang H., Ma R., Chen S., Deng H., Li M., Zheng S., Zhang H., Zhang D., Yang T., Yang Y., Xia Z., Downhill running induced mitophagy in rat soleus muscle via the AMPK pathway., *J. Physiol Biochem.*, Epub ahead of print(2025)