

一般演題 2-5

骨格筋損傷に対する高気圧酸素治療の有効性とその作用機序の解明

堀江正樹 榎本光裕 下田 学 柳下和慶

東京医科歯科大学医学部附属病院 高気圧治療部

近年、高気圧酸素治療 (HBO) は、骨格筋損傷を伴うスポーツ外傷の回復促進治療としても応用されてきており、その有効性が報告されている。骨格筋損傷を伴うスポーツ外傷に対しても、HBOはその有効性および回復促進効果を持つことが報告されている。しかしながら、その作用機序は不明瞭のままである。損傷した骨格筋の回復・再生には、筋衛星細胞が重要な役割を担い、その働きは筋分化制御因子と呼ばれる転写因子や、成長因子の制御を受けていることが知られている。そこで本検討では、ラット骨格筋損傷モデルを用いて、HBOの筋損傷回復促進効果を確認すると共に、その作用機序の解明を目的に、骨格筋再生過程、特に筋衛星細胞へHBOが与える影響を解析した。

骨格筋損傷には、コブラ蛇毒由来の骨格筋破壊性ペプチドであるCardiotoxin (CTX) による、薬剤性筋損傷モデルを使用した。CTXをラット前脛骨筋 (TA) 両側に10 μ M, 500 μ L注入し、骨格筋損傷モデルを作製した。損傷ラットは無治療 (NT) 群, HBO群, 常圧酸素曝露 (NBO) 群, 高気圧空気曝露 (HBA) 群の4群に分け、損傷後1日目から、HBO 群には2.5気圧下にて、NBO群には大気圧下にて2時間の100%酸素曝露を、HBA 群には2.5気圧下にて2時間の空気曝露を週5回、2週間行った。損傷後1, 3, 5, 8, 15日目に、各群のラットから損傷筋 (TA) を摘出した。解析項目は、筋組織学的解析による筋線維横断面積の測定、筋生理学的実験手法を用いた損傷筋筋力の測定、筋分化制御因子 (MyoD, Myogenin, Pax7), 定量的RT-PCR法による成長因子 (bFGF, HGF, IGF1) のmRNA発現解析、免疫染色法によるPax7, MyoD陽性細胞の発現解析とした。

筋組織学的解析から、NT, HBO群ともにCTXによって破壊された骨格筋線維が再生していく過程が確認でき、損傷後5日目頃から中心に核を持った再生

筋線維の形成が確認された。各群での再生筋線維の横断面積を定量的に解析したところ、損傷後5, 8, 15日目にHBO群の再生筋線維横断面積が、他群に比べ有意に増大していることを確認した。さらに損傷後8日目のHBO群の損傷骨格筋の筋収縮力は、NT群に比べ有意に高値であった。損傷骨格筋内での筋分化調節因子mRNAの発現解析では、筋衛星細胞を分化へ導くMyoD, Myogenin mRNA発現量が損傷後3・5日目にHBO群で有意に高値であることが確認された。さらに、栄養因子IGF1の発現がHBO群で、損傷後5日目にNT群より高値であることが確認された。しかしながら、その他の因子については各群間での有意な差は認められなかった。免疫染色法によるPax7陽性細胞の発現解析では、各群間での発現量の差は認められなかったが、MyoD陽性細胞数の解析では損傷後3, 5日目にHBO群で、MyoD陽性細胞数の有意な増加を確認した。

本研究結果より、HBO群での再生筋線維面積の増大、筋収縮力の回復促進、損傷後3, 5日目におけるMyoD, Myogenin, IGF-1 mRNA発現量の増加、MyoD陽性細胞の増加が確認された。これらの結果は、HBOが骨格筋再生を促進させることを強く示唆する。また、HBO群のみによってこれらの効果が確認されたことから、HBOによる高気圧・高酸素曝露は、損傷組織中の酸素濃度の増加をもたらす、その酸素濃度の増加は筋衛星細胞の筋芽細胞への分化を促進、骨格筋再生を促進させる可能性を持つことが示唆された。今後も骨格筋損傷に対するHBOの有効性およびその分子メカニズムを研究していき、骨格筋損傷に適したHBOの治療プロトコルの確立を目指す。