

研 究 室

体力医学研究室

教授：竹森 重 筋生理学, 体力医学
 講師：山内 秀樹 体力医学

教育・研究概要

I. 非荷重による高齢ラット骨格筋の筋萎縮とオートファジー機能不全

骨格筋は長期非荷重により筋原線維の乱れを伴う萎縮を呈する。この筋原線維の乱れは高齢期で顕著にみられるが、非荷重期間に筋へ抵抗負荷を加えると軽減される。類似の構造的な乱れは、オートファジー機能不全でも異常タンパク質凝集とともに生じることが知られている。そこで、長期非荷重の高齢ラットで、筋原線維の乱れを伴う筋萎縮とオートファジー機能を調べ、抵抗負荷の効果を含めた関連性を探った。2年齢のF344系雌性ラットを対照群(n=7)、非荷重群(n=6)、非荷重+抵抗負荷群(n=8)に分けた。加齢の影響を知るために最大筋量を示す1年齢ラットの対照群(n=7)も用いた。尾部懸垂による非荷重期間は3週間、抵抗負荷は1日30分間(10分間の負荷を4時間毎に3回)、被検筋はヒラメ筋とした。1年齢と2年齢の各対照群間で筋湿重量、筋特異的ユビキチンリガーゼMAFbx、オートファジー関連タンパク質LC3-2に有意な差はみられなかったが、タンパク質変性の指標であるユビキチン化タンパク質は2年齢で多かった。2年齢では非荷重により約40%筋湿重量が低下し、ユビキチン化タンパク質、MAFbxは増加したが、LC3-2は激減した。抵抗負荷は非荷重による筋湿重量低下を約30%軽減したが、ユビキチン化タンパク質やMAFbxは増加したままであった。しかし、非荷重により激減したLC3-2は抵抗負荷で回復した。非荷重による筋原線維の崩壊を伴う筋萎縮にはオートファジー機能不全が関係していると考えられた。

II. 遠心性収縮(ECC)負荷後における筋硬度亢進

ECCは他の収縮様式と比較し、効率的な筋力増強作用とともに容易に損傷を引き起こすことが報告されている。我々は、ECCをリハビリテーションに応用するためにECC負荷後の収縮能、シグナル

タンパク活性化ならびに筋節内微細構造変化について報告してきた。今回、ECC後における筋硬度と静止張力、筋節内微細構造を評価した。8週齢F344系雄性ラット足底筋に10回連続の収縮(100Hz等尺性(ISO)、低強度(50Hz)・中等度強度(75Hz)・高強度(100Hz)のECC)および低強度で30回連続のECC(50Hz×3)を麻醉下に筋血流維持のまま上述の刺激頻度にて神経刺激で3秒に1回与えた。各収縮負荷後、全筋の筋硬度と摘出筋の筋節内微細構造(X線回折法)を、ISOと100Hz負荷後の摘出筋でコネクチンの電気泳動とスキンドファイバーによる静止張力をそれぞれ評価した。高強度ECCでは筋硬度が亢進した。筋節内微細構造の劣化はISO・50Hz・50Hz×3では僅かだが75Hz・100Hzでは顕著だった。ISOと100Hzのコネクチン α 、 β 分画ならびに静止張力には差を認めなかった。電気泳動と静止張力の結果から、100Hzにおける全筋での筋硬度亢進の誘因は、コネクチンに起因するものではないことが示唆され、損傷による細胞内Ca濃度上昇に伴って収縮傾向になっている可能性があり、この可能性を今後追求していく予定である。

III. X線回折法による除神経処置による骨格筋サルコメア格子間隔の変化

形態評価を電子顕微鏡などで行う場合には固定などの非生理的な処置が必要となるが、我々は固定処置をせずに筋節内の微細構造を保った除膜標本を用いて、骨格筋の筋節内構造の周期性をX線回折法で観測している。この手法を用いて摘出除膜筋線維では除神経後0.5日でサルコメア格子間隔が狭くなることを既に報告した。しかし摘出の影響も考えられることから、血流を保った全筋での除神経後のサルコメア格子間隔変化をX線回折法で調べた。ICR系雌性リタイアマウスの片側坐骨神経を大腿部で一部切除し、他方は坐骨神経の剖出のみ行うSham側とした。高エネルギー加速器研究機構の放射光X線により2次元X線回折像を取得し、除神経処置後のサルコメア格子間隔を評価した。除膜筋線維と同様に除神経後0.5日で除神経側のサルコメア格子間隔が狭くなる傾向がみられた。さらに処置後2日では除神経前と同程度なのに対して、処置後5日では除膜筋線維では認められなかったサルコメア格子間隔の増加が認められた。サルコメア格子間隔の変化は除神経後のミオシンとアクチンの相互作用に短

期的に変調をもたらす可能性が確認されたが、長期効果についてはさらに検討を要することが分かった。

Ⅳ. ポリアミン摂取がラット心筋の機能と構造に与える影響

運動誘発性心肥大に伴い、細胞増殖因子ポリアミンの心筋内濃度が上昇することが報告されている。これまでに、運動負荷を与えた群と与えない群のそれぞれに二価のポリアミンであるプトレシを経口投与し心肥大経過を比較したところ、プトレシの経口投与は運動負荷なしでは心筋中のプトレシ濃度を大きく上昇させるが明らかな心肥大は起こさないこと、運動負荷とともにプトレシを投与すると心筋中のプトレシ濃度の上昇が抑制されることが明らかになった。運動負荷とともにプトレシを投与した際には心筋中のポリアミン濃度上昇が抑えられたのは、ポリアミンが運動負荷でどこかの臓器に蓄積された可能性があると考え、ラットに運動負荷を与えた群と与えない群のそれぞれにプトレシを経口投与した際の、主要臓器中の3種(プトレシ、スベルミジン、スベルミン)のポリアミン濃度をHPCL法により測定した。結果として、骨格筋、肝臓、脾臓、腎臓、肺、脂肪でのポリアミン濃度は概ね心筋や血清と同様の振る舞いを示した。摂取したプトレシは運動負荷により体内の他の臓器に蓄積されたのではなく体外に排泄されたか代謝された可能性が示唆された。運動負荷を与えることにより経口投与したポリアミンの体内への蓄積が抑制されることが示唆された。この機構は過剰な心肥大を防ぐために機能している可能性があると考えている。

〔点検・評価〕

1. 教育活動

看護学科1年生の体育実技と講義、第三看護専門学校体育実技、医学科2年生のコース基礎医科学Ⅰの「自然と生命の理」選択実習(骨格筋の収縮機能評価)、医学科3年生のコース研究室配属を担当した。

2. 研究活動

成果は国内学会発表5演題のみで総説、原著論文は0であった。当研究室の研究テーマである骨格筋の萎縮や運動に対する適応の研究においては、1)高齢期の非荷重性筋萎縮とオートファジーの関連、2)遠心性収縮訓練による筋硬度変化、3) in situ 骨格筋標本のX線回折の試み、4)ポリアミン摂取と運動効果に関する4テーマを検討した。1)では

NADH-TR染色で濃染する線維や空胞化する線維が高頻度にみられたため、今後はミトコンドリアの異常や空胞化領域での蓄積分子を検索し、筋線維の崩壊の原因を探る予定である。2)では除膜筋線維での例数を増やして筋硬度変化をもたらす原因を追求していく予定である。また、脆弱な筋に対する遠心性収縮訓練の至適条件に関しても検討を加える予定である。3)では筋節長の設定、収縮張力の同時測定技術も確立していく予定である。4)では体重に占める割合の多い骨格筋を対象としてメタボローム解析を実施していく予定である。

3. 社会的活動

日本体力医学会理事(竹森)として学会運営に貢献し、日本体力医学会編集委員(竹森、山内)として、和文誌「体力科学」、英文誌「Journal of Physical Fitness and Sports Medicine」の編集に貢献した。また、日本体力医学会関東地方会事務局、日本体力医学会全国地方会実行委員(竹森、山内)、日本体力医学会渉外委員(山内)としても学会に貢献した。日本生理学会編集委員(竹森)として「Journal of Physiological Sciences」の編集に貢献した。

研究業績

Ⅲ. 学会発表

- 1) Yamauchi H, Takemori S. Unloading-induced sarcopenia and dysfunction of autophagy in old rats. 第73回日本体力医学会大会. 福井, 9月. [J Phys Fit Sports Med 2018; 7(6): 358]
- 2) Yamauchi H, Takemori S. Unloading-induced sarcopenia in relation to mitochondrial disorder in skeletal muscle of old rats. 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress in conjunction with the 96th Annual meeting of the Physiological Society of Japan. Kobe, Mar. [J Physiol Sci 2019; 69(Suppl.1): S102]
- 3) Hirano K, Yamauchi H, Nakahara N, Hiratsuka R, Yamaguchi M, Takemori S. Increased muscle stiffness after eccentric contraction. 第73回日本体力医学会大会. 福井, 9月. [J Phys Fit Sports Med 2018; 7(6): 351]
- 4) Nakahara N, Yamauchi H, Yamaguchi M, Takemori S. An x-ray diffraction study on in vivo skeletal muscle with maintained blood supply. 第73回日本体力医学会大会. 福井, 9月. [J Phys Fit Sports Med 2018; 7(6): 353]
- 5) Yamaguchi M, Ohkido M, Yamauchi H, Yamazawa T, Ikeda M, Morimoto S, Takemori S. Effect of exercise on accumulation of ingested polyamine in various

tissues of rats. 第73回日本体力医学会大会. 福井,
9月. [J Phys Fit Sports Med 2018; 7(6): 364]

宇宙航空医学研究室

教授：南沢 享 循環生理・病態学

教育・研究概要

I. 教育概要

2018年度に本研究室は以下の課目を担当した。

医学科：コース基礎医科学Ⅱのユニット「機能系実習（生理学実習）」、コース研究室配属、コース臨床基礎医学のユニット「症候学演習」

看護専門学校（慈恵看護専門学校）：解剖生理学（講義）

II. 研究概要

1. 細胞内 Ca^{2+} 動態が筋ジストロフィー病態に及ぼす影響の検討

Duchenne 型筋ジストロフィー（DMD）やその軽症型である Becker 型筋ジストロフィー（BMD）はジストロフィン遺伝子変異で発症することが知られている。DMD の筋細胞はジストロフィンが欠失していることにより脆弱で細胞外からの Ca^{2+} 流入の影響を受けやすく、この細胞質への Ca^{2+} 流入は慢性炎症や進行性の再生不良、線維化を惹き起こす。そこで我々は細胞内 Ca^{2+} 動態を制御することで DMD 病態を改善することを目指し、研究を行った。

その結果、DMD 病態では筋小胞体に局在する細胞質から筋小胞体に Ca^{2+} を取り込む SERCA 機能が低下していることで、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇していることが明らかとなった。また、この SERCA 機能の低下には骨格筋における SERCA 機能を負に調節する分子であるサルコリピンが発現増加することが原因であることが明らかになった。そこで DMD モデルマウスとサルコリピン KO マウスを交配させサルコリピンが発現しない DMD モデルマウスを作成したところ、DMD 病態の改善が認められた。以上より、サルコリピンの発現抑制が DMD に対する新しい治療法になる可能性を示し、論文化した。

また、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が筋重量ならびに筋線維径の減少を惹起することが明らかになった。このメカニズムの解明に対し、筋萎縮、筋線維タイプの変化、オートファジーを検討した結果、オートファジーの影響はない一方で特に速筋線維で遅筋線維への筋線維タイプの変化、筋萎縮が遺伝子発現レベル、タンパク質レベルで認められた。以上より、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が筋線維タイプの遅筋化・