

論文の内容の要旨

(論文題目) **The role of myostatin in skeletal muscle hypertrophy and atrophy**

(骨格筋肥大と萎縮におけるミオスタチンの役割)

氏名 川田茂雄

骨格筋はヒトが立つ、歩く、走るといった極めてダイナミックな運動から、呼吸、排泄といった生命に直接関わる運動まで、幅広い運動の源となる。この生命の根幹に関わる骨格筋についての研究は生命科学の重要命題であると考えられる。これまで、骨格筋の肥大・萎縮に関する研究は成長ホルモンや IGF-1 などに代表されるような、筋の肥大に対して促進的に働く因子を中心に進められてきた。しかし、生物は成長の促進と抑制との絶妙なバランスによって、その生物固有の形を示すという観点からも、筋肥大に対して抑制的に働く因子の研究も重要である。以上の観点から筋の肥大に対して抑制的に働くと考えられる成長因子の一つである **myostatin** について研究を行った。

1) 加齢との関係

骨格筋は生物が誕生してから自らの力で重力に対抗するために幼齢時には急激な肥大を見せる。また高齢になるに伴い萎縮を示す。このような変化に **myostatin** がどのように関与しているかを調べるために、マウスを用いて幼齢(5 週齢)から高齢(92 週齢)で骨格筋 **myostatin** 量がどのように変化するかを調べた。その結果、加齢と共に筋が萎縮する時には **myostatin** 量に有意な変化は見られないが、幼齢時の筋が急激に肥大する時期には、**myostatin** 量が有意に低く抑えられていることが分かった。

2) 廃用性萎縮と過負荷による筋肥大時の **myostatin** 量の変化

骨格筋は力学的な刺激に対して極めて敏感に反応する組織である。**Myostatin** が成体骨格

筋において重要な役割を担っているのであれば、力学的刺激の変化に敏感に反応するはずである。そこでマウスに尾部懸垂を施し、後肢筋に廃用性萎縮を起こさせたときの **myostatin** 量の変化を見た。また尾部懸垂後再び地面に戻すことにより萎縮した筋に過負荷を課し(リロード)、筋の適応の方向を萎縮から肥大へと変化させた時の **myostatin** 量の変化も調べた。その結果、尾部懸垂により筋が萎縮する時には、**myostatin** 量に有意な変化は認められなかったが、リロードさせることにより筋の適応の方向を萎縮から肥大へと変化させた時に、**myostatin** 量が有意に減少することが分かった。(1)と(2)の結果から、**myostatin** 量の減少が骨格筋肥大を促す可能性が示唆された。

(3) 急激な外部環境変化への適応における **myostatin** の役割

生物が急激な外部環境の変化に晒され、急激にその環境への適応を余儀なくされる時には、生体内の因子の挙動は顕在化されると考えられる。そこで、マウスに大型遠心器を用いて過重力(3G)を3週間負荷し、その時の骨格筋 **myostatin** 量の変化を調べた。過重力を負荷されたマウスは、初期の段階ではその環境に適応するために急激に体のサイズを減少させる。そして、その後徐々に体のサイズを増加させて行く。**Myostatin** 量は、体のサイズを減少させる初期の段階では増加する傾向を示し、その後の体のサイズを増加させる局面では徐々に減少して行った。そして、後肢筋がコントロール群と比べて肥大する3週間後には **myostatin** 量は有意に減少することが分かった。

(4) ホルモンとの関係

骨格筋量の増減には力学的刺激や局所的な成長因子の働きに加え、循環性のホルモンも影響する。これらは、単独、または相互作用をすることによって筋量の増減を調節しているものと考えられるが、そのメカニズムは完全には解明されていない。そこで、代表的な同化ホルモンであるテストステロンと異化ホルモンであるコルチコステロンをマウスに投与し **myostatin** との関係調べた。テストステロンをマウスに投与すると、容量と筋重量の増加は正の相関を示した。逆に **myostatin** 量は容量依存的に有意に減少した。**Myostatin** 遺伝子上流域にはアンドロゲン・レセプターの結合部位の存在が報告されており、同化ホルモンであるテストステロンが抑制因子である **myostatin** の発現を調節していることが示唆された。また、コルチコステロンをマウスに投与すると容量と筋萎縮の程度は正の相関を示した。この時、**myostatin** 量は容量依存的に減少した。コルチコステロンを投与すると、体重の減少より筋萎縮の程度の方が大きく、筋が他の組織に比べて選択的に萎縮していると考えられた。このことが相対的に筋への力学的負荷を増大し、**myostatin** 量を減少させたのかも知れない。(3)と(4)から、骨格筋量の増減といった力学的ストレスへの適応に **myostatin** が関与していることが示唆された。また、力学的刺激だけではなく、循環性のホルモンの制御も受けている可能性も示唆された。

(5) 骨格筋肥大の新規動物モデルの開発

骨格筋が力学的刺激や同化ホルモンによって肥大することは、これまで多くの先行研究によって示されてきた。また腱切除法による代償性肥大や大型遠心器を用いた過重力負荷、同化ホルモン剤の投与といった筋肥大の動物実験モデルも確立されている。しかし、筋肥大は複雑な因子の相互作用によって起こされると考えられるので未知の筋肥大の機構も存在すると考えられる。これまで、細胞にとって障害性があると考えられていた活性酸素種が細胞増殖作用もあることが近年報告されてきている。骨格筋肥大は既存の筋線維の肥大と未分化な幹細胞に由来する新たな筋線維の増殖によるものと考えられているが、活性酸素種が細胞増殖作用を持ち合わせているならば、骨格筋の肥大にも関与しているものと考えられる。そこで活性酸素種が筋肥大に関与するか、また筋肥大の抑制因子である **myostatin** をどのように制御するかを調べるために、新規の動物実験モデルの開発を行った。活性酸素種は生体内において低酸素刺激により生成されることから、ラットの後肢の血管(浅腹壁静脈・浅腸骨回旋静脈・大伏在静脈・外側伏在静脈・大腿静脈のそれぞれ一部)を外科手術にて閉塞させた。手術後 2 週間で足底屈筋を調べたところ有意な筋重量(湿重量・乾燥重量共に)の増加を示した。そこで、この筋肥大のメカニズムを調べるために一酸化窒素合成酵素である **NOS-1** と筋肥大の促進因子であるインスリン様成長因子-1(**IGF-1**)、筋肥大の抑制因子である **myostatin** について検討した。その結果、**IGF-1**mRNA 発現量には有意な変化は見られなかったが、**NOS-1** mRNA の発現量は有意に増加し、**myostatin** タンパク量は有意に減少した。**IGF-1** はメカニカルな刺激による筋肥大時に増加することが報告されているが、今回の筋肥大モデルは筋への力学的刺激を増大させるものではないと考えられるので有意な変化がなかったものと思われる。一酸化窒素の寿命は *in vitro* の実験で空気中の酸素分圧下では数秒であるが、生体内の生理的酸素分圧下ではその寿命が数分~数十分に伸びることが分かっている。そのことから、**NOS-1** 発現量の増加による一酸化窒素の増加が今回の筋肥大に関与している可能性は大きいものと考えられる。また **myostatin** 量も有意に減少したことから、低酸素刺激がなんらかの経路を介して **myostatin** を制御していると考えられる。当然のことながら **NOS-1** や **myostatin** 以外の既知、未知の因子がこの筋肥大に関与していることが予想され、さらなる研究が必要である。

まとめ・今後の展望

骨格筋は極めて可塑性に富む組織であり、様々な刺激に応じてその量を増減させる。本研究でも力学的刺激やホルモン刺激、局所的な低酸素刺激に反応して筋量の増減を示した。このような反応は、筋肥大に対する促進因子と抑制因子の量的、質的バランスの変化によって引き起こされると考えられる。そこで、本研究では筋肥大に対する抑制因子であると考えられる **myostatin** について調べた。その結果、筋に肥大を促す刺激を与えたときに、抑制因子である **myostatin** が筋内でその量を減少させ、筋肥大を促進することを示唆する結果が得られた。今後は **myostatin** が制御する下流の情報伝達系の解明や、新たな筋肥大のメカ

ニズムの解明が重要であると考えられる。また過負荷や同化ホルモンの投与といった積極的な外部刺激による筋肥大に加え、血流制限による低酸素刺激も内部の様々な因子を活性・非活性化させ筋肥大を促す。今後、ヒトへの応用を見据えたときに筋肥大という一つの結果を得るために様々な刺激の方法を提供できるということは非常に有用である。そのためにも、より一層の筋肥大のメカニズムの解明が必要であると考えられる。