

論文審査の結果の要旨

論文提出者 氏名 川田茂雄

ヒトを含む哺乳類の骨格筋は運動・トレーニングなどの刺激によって労作性肥大を示し、不活動や除負荷によって廃用性萎縮を示す。骨格筋のこうした適応能については古くから知られるが、そのメカニズムに関しては未だ十分には解明されていない。高齢者の筋機能の改善や宇宙飛行士の筋萎縮の防止などが重要な課題となりつつある現在、安全かつ効果的・効率的な運動処方の開発が急務であり、そのためには骨格筋肥大および萎縮のメカニズムについての知見を深める必要があると考えられる。

骨格筋肥大および萎縮のメカニズムについては、これまでの多くの研究が、筋線維におけるタンパク質の合成と分解に焦点を当ててきた。しかし、最近の数年間に、こうしたスキームは劇的な変化を遂げたといえる。すなわち、多核体としての筋線維が肥大・萎縮する際に、核数がそれぞれ増加・減少することが見出されたことにより、1個の核が細胞機能を支配できる体積（核領域：myonuclear domain）には上限があり、ある範囲を超えて筋線維が肥大するためには、核数を増加する必要があると考えられるようになった。このための核の供給源として、筋線維細胞膜と基本底膜の間に少数存在する筋サテライト細胞、筋線維間質に散在する骨髄由来細胞などの多能細胞が新たな注目を浴びつつある。さらに、これらの細胞の増殖や分化を制御すると考えられる様々な成長因子が、骨格筋の肥大や萎縮において中心的役割を果たす可能性が高い。骨格筋肥大を刺激する成長因子としては、インスリン様成長因子-I (IGF-I) がよく知られるが、一方、骨格筋（特に速筋線維優位の筋）の成長をきわめて強く抑制する因子としてミオスタチン (GDF-8) がある。ミオスタチン遺伝子に変異をもつウシは 20~30%の筋量増加を示し、これをノックアウトしたマウスでは筋量が約3倍にまで増大する。ミオスタチン・ノックアウトマウスでは、個々の筋線維の肥大に加え、筋線維数の著しい増加が見られることから、ミオスタチンの主要なはたらきは、発生後期における筋芽細胞の増殖を抑制し、分娩前の胎児の過剰成長を防止することであろうと考えられている。一方、その強力な効果から、個体の成長後においても、筋サテライト細胞などの増殖を制御することにより骨格筋のサイズを調節している可能性があるが、成体におけるミオスタチンの機能については不明の点が多い。本研究は、マウスおよびラット骨格筋を用い、力学的負荷、ホルモン、局所循環など、骨格筋のサイズに適応的变化を及ぼす刺激によってミオスタチンがどのように変化するかを調べ、成体におけるミオスタチンの役割について検討したものである。以下にその概略を記す。

第1章の研究では、加齢、尾部懸垂による除負荷、除負荷後の再荷重などがマウス骨格筋の重量とミオスタチンタンパク量に及ぼす効果について主に調べた。速筋線維優位の腓腹筋・足底筋では、生後5週齢から10週齢にかけて体重当たりの筋重量が著しく増加したが、遅筋線維の多いヒラメ筋（速筋線維：遅筋線維 \equiv 1：1）ではそのような変化は見られなかった。さらに、腓腹筋・足底筋では、11週齢以降、加齢に伴い筋重量は減少した。筋ミオスタチン量は、腓腹筋・足底筋では、成長の著しい5週齢では低く、成長のほぼ止まる11週齢では有意に増大した。以後、92週齢まで、筋重量は継続的に減少したものの、ミオスタチン量には変化がみられなかった。ヒラメ筋でのミオスタチン量は加齢によらず一定であった。一方、成長期を過ぎた（9週齢）のマウスを2週間尾部懸垂すると、腓腹筋・足底筋、ヒラメ筋いずれも筋重量の減少を示したが、このときミオスタチン量には変化は見られなかった。しかし、2週間の除負荷後2日間の再荷重を行った場合には、腓腹筋・足底筋、ヒラメ筋双方でミオスタチン量が有意に低下し、ヒラメ筋では筋重量の回復傾向が見られた。これらの結果から、ミオスタチンは、成長や除負荷後の再荷重によって筋が肥大する際には低下するものの、加齢や除負荷による筋の萎縮時には増加しないことが示された。

第1章は、除負荷から日常レベルの負荷への復帰（0Gから1G）によってミオスタチン量が減少し、筋が肥大方向に向かうことを示したが、第2章ではさらに、日常レベルの負荷から負荷を増大（1Gから3G）した場合の効果について研究した。マウス（9週齢）を大型遠心器上で飼育し、3週間3Gの過重力中に置くと、体重、腓腹筋・足底筋重量、ヒラメ筋重量のいずれも、一過的に減少後経時的に増加するという二層性の変化を示した。このとき、ミオスタチン量は逆に一過的に増加した後に減少した。一方、循環性のホルモンの影響についても調べ、特にテストステロンの投与により、容量依存的に筋重量が増大し、ミオスタチン量が減少することがわかった。これらの結果から、日常レベルから負荷を増大した際にも、最終的にはミオスタチン量が減少することにより筋肥大を促すこと、この反応の一部にはテストステロンが関与することが示された。また、過重力への短期的適応として積極的に体重を低下させるような一過性の反応が生じ、このときミオスタチン量が増加すること、この反応にはコルチコステロンは関与しないことが示唆された。

第3章では、新しい筋肥大モデルの開発を試み、このモデルにおけるミオスタチンおよびその他のいくつかの遺伝子の発現を検討した。モデルの作成に当たっては、近年ヒトを対象とし、著しい筋肥大効果が報告されている、血流制限下での筋力トレーニングを参考とした。ラット後肢筋の筋血流を持続的に制限するため、後肢の主要な静脈を外科的手術により閉塞した。2週間の通常飼育後、速筋線維優位の足底筋では、対照群（Sham群）に比べ、湿重量で12%、乾燥重量で10%の増大が認められた。一方、遅筋優位のヒラメ筋には変化が見られなかった。肥大した足底筋では、ミオスタチン量の減少、およびNOS-1 mRNAの発現増加が見られた。し

かし、IGF-I mRNA の発現には有意な変化は見られなかった。これらの結果から、局所的な循環制限が、ミオスタチン量の減少や、NO 生成の増加を介して速筋の肥大を引き起こす可能性が示された。

以上のように本研究は、力学的負荷の増大、ホルモン、局所循環の制限などの環境要因が、成体においてもミオスタチンの発現に影響を及ぼすことにより筋のサイズ適応を引き起こしていることを示し、さらに詳細なシグナル伝達系の解明に向かう糸口を与えたと評価される。また、応用面においても、本研究で得られた知見をもとに、ミオスタチンの発現を指標として、より効果的な運動・トレーニング処方の開発が行われるという展開も期待される。いくつかの点でまだ検討が不十分との指摘もなされたが、成体におけるミオスタチンの役割について体系的に調べた研究は世界でも初めてであり、本審査会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。