

## 論文の内容の要旨

論文題目 筋運動が骨格筋および関節の機能に及ぼす効果と  
そのメカニズム

(Effects of repeated muscular exercises on muscular and  
joint functions and their mechanisms)

氏 名 越智 英輔

### ・緒言

ヒト骨格筋は可塑性を持ち、筋運動により大きなメカニカルストレスを与えることで骨格筋が肥大し筋力が増強することが知られている。一方、高強度の筋運動は一時的に関節柔軟性の低下を引き起こし、不活動の場合も同様に関節の柔軟性を低下させる。継続した筋運動により長期的適応を引き起こす間には、様々な過程が存在すると考えられるが、ヒト実験では環境的・遺伝的な条件を揃えることが困難である。そのため、実験動物を用いて筋運動の量・強度を定められるモデルを作り、その効果を見る必要がある。

本研究では、ラット足関節底屈筋群を対象にして、肉離れ損傷モデルをもとに筋運動の強度・量を定量化できるモデルを作成し、繰り返しの筋運動に伴う骨格筋及び関節の適応変化を検討した。

### ・実験1 「ラット筋運動モデルの作成」

実験1では、ラット筋運動モデルを作成し、筋肥大・筋力増大の効果を検討した。筋運動モデルには、肉離れモデル等の先行研究を基に強度を設定した筋運動モデルを採用した。

実験動物にはWistar系ラットを用い、無作為に5セッションのエキセントリック筋運動群(n=10)、10セッションのエキセントリック筋運動群(n=7)と5セッションのコントロール群(n=10)、10セッションのコントロール群(n=7)とに分けた。麻酔下のラットを専用の台に固定し(膝関節 180°, 足関節 90°)、腓腹筋内側を皮膚表面から電気刺激した状態で、サーボモーターで強制背屈(エキセントリック収縮)をさせた。筋運動は先行研究をもとに、2日に1回とし、一

回のセッションは、5回 × 4セットの筋収縮であった。各セッションの筋運動後に解剖し、筋湿重量、筋線維の組成、筋線維タイプ別の横断面積の分析を行った。さらに、各筋運動セッション前に等尺性足底屈最大トルクを測定した。コントロール群は筋運動を実施せず、エキセントリック筋運動群と同様に麻酔し、等尺性足底屈最大トルクのみを測定した。

その結果、筋湿重量はコントロール群との比較で5セッションでは有意な差が認められなかったものの、10セッション後の腓腹筋内側に有意な差が認められた ( $P < 0.05$ )。さらに筋線維レベルの検討では、タイプ II b/d 線維数の減少とタイプ II a 線維数の増加から筋線維タイプの移行が示唆された。そして全ての筋線維タイプで横断面積の増加傾向を示し、特にタイプ II a 線維で有意な増加が認められた。等尺性足底屈最大トルクは、筋運動実施から徐々に増加し、コントロール群との比較で筋運動 12, 14, 16, 18, 20 日後において有意差が認められた (12 日後;  $P < 0.05$ , 14, 16, 18, 20 日後;  $P < 0.001$ )。またコントロール群では、10セッションの測定中に有意な増加は認められなかった。以上のことから、本研究で作成した繰り返しの筋運動モデルは、ヒトにおけるトレーニングのメカニズムを検討する上で有用であると考えられた。

#### ・実験 2 「筋運動に対するサイトカイン・成長因子応答」

実験 1 の結果、繰り返しの筋運動によって筋が肥大するとともに筋力が増強し、筋線維レベルでも変化することが明らかになった。それらの変化を仲介する物質的要因として、サイトカイン・成長因子の関与が示唆されている。単発の筋運動後のサイトカイン産生に関しては様々な報告がされているが、繰り返し行った筋運動の効果については報告が少ない。そこで実験 2 では、実験 1 で確立した筋運動モデルを用いて、繰り返しの筋運動に対するサイトカイン・成長因子応答について調べた。

5 セッションまたは 10 セッションのエキセントリック筋運動後に腓腹筋内側を摘出し、Western blotting 法により筋中の IL-1beta, IL-6, IL-10, TNF-alpha を定量した。さらに IL-6 について免疫組織化学染色を行い、その局在についても検討した。また、骨格筋肥大に関与する代表的な成長因子である IGF-1, myostatin, follistatin についても検討した。myostatin, follistatin は Western blotting 法により定量し、IGF-1 はリアルタイム RT-PCR 法によりその発現量を定量した。

その結果、筋中 IL-6 量は、5セッションのエキセントリック筋運動群、10セッションのエキセントリック筋運動群ともに有意な増加を示した(図 1)。IL-1beta は、5セッションのエキセントリック筋運動群のみ増加していた ( $P < 0.01$ )。一方、IL-10, TNF-alpha の発現は変化がなかった。免疫組織化学染色の結果から、IL-6 は、筋運動 5セッション後、10セッション後ともに筋線維間で主な局在が観察され、10セッション後のエキセントリック筋運動群でのみ筋線維内部及びその周囲で確認することができた。また、IGF-1 mRNA, myostatin, follistatin については筋運動 5セッション後では変化がなかった。一方、10セッション後の IGF-1 mRNA の発現量はコントロール群との比較で増加傾向を示した( $P = 0.066$ )。筋中 myostatin 量は、10セッション後に有意な減少を示し ( $P < 0.05$ )、一方筋中 follistatin 量は有意に増加した ( $P < 0.05$ )。

以上の結果から、エキセントリック筋運動に伴い、5セッションという比較的短期には、IL-1betaを含む一連の炎症反応が起こっていることが示唆され、10セッションの筋運動後のIL-6の増加は、筋線維周辺でその局在が認められたことから、筋線維での産生が含まれる可能性が示唆された。さらに、サテライト細胞の分裂を抑制するmyostatinとmyostatinのアンタゴニストであるfollistatinは筋運動5セッション後では変化がなく、筋の肥大が確認された筋運動10セッション後にそれぞれ減少または増加していた。さらに、IGF-1mRNAの発現量も10セッション後で増加する傾向にあったことから、比較的長期の筋運動における筋の適応は、IL-6、myostatin、follistatin、IGF-1などのサイトカイン・成長因子が相互に関与しながら導かれていることが示唆される。

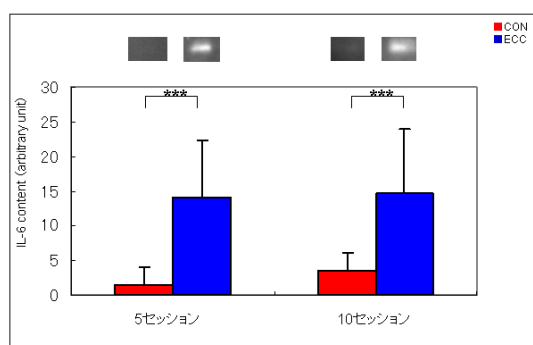


図1 筋中IL-6量の変化

■はエキセントリック筋運動群を、■はコントロール群を示す。

平均±標準偏差を示す。

\*\*\*:群間の有意差 (P<0.001)

### ・実験3 「筋運動が関節スティフネスに及ぼす影響」

実験3では、実験1で確立したモデルを用いて、繰り返しの筋運動後の関節スティフネス (Passive Resistive Torque; PRT)の変化について検討した。同時に筋内細胞骨格タンパク質で骨格筋の受動張力と深く関係するとされているコネクチン(タイチン)のアイソフォーム、結合組織の弾性に関与するI型コラーゲンmRNAの発現量についても検討した。

実験1の場合と同様10セッションのエキセントリック筋運動の結果、エキセントリック筋運動群の筋湿重量、等尺性足底屈最大トルク、筋線維断面積は有意に高値を示した。一方、足関節の背屈(45度)に対するPRTを測定した結果、エキセントリック筋運動群のPRTが有意に低下するという結果を得た(図2)。そして、コネクチン(タイチン)のアイソフォームに関しては群間で差は観察されなかった。一方、I型コラーゲンmRNAの発現量は筋運動後に亢進してい

た。

これらの結果から、繰り返し筋運動を実施することにより関節スティフネスは低下し、その主な要因は筋線維自体の弾性特性の変化によるものではないことが示唆された。今後、結合組織の分解系について検討する必要があるものの、I型コラーゲン mRNA 発現量が増加したことから筋内結合組織の構造変化が関与している可能性が考えられる。

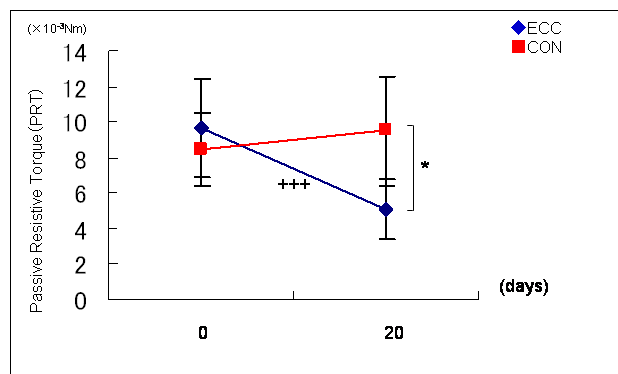


図2 Passive Resistive Torque (PRT) の変化

◆はエキセントリック筋運動群を、■はコントロール群を示す。

平均±標準偏差を示す。

\*:群間の有意差 (P < 0.05)

+++: 筋運動前との有意差 (P < 0.001)

・まとめ

本研究で用いたラット筋運動モデルでは、10セッション(20日間)の筋運動期間で筋肥大・筋力増強が起こることを確認することができた。そして、タイプIIb/d線維数の減少とタイプIIa線維数の増加及びタイプIIa線維の横断面積の増加が認められたことから、ヒトにおけるトレーニングのメカニズムについて検討可能なモデルであるといえる。そして、作成したモデルを使用して、骨格筋の適応変化に影響すると考えられるサイトカイン・成長因子について検討した結果、筋肥大時には、IL-6, IGF-1, myostatin, follistatinなどの様々なサイトカイン・成長因子が相互に関与していることが明らかになった。さらに筋運動により関節スティフネスは低下し、その要因は筋線維の弾性特性の変化によるものではないことが示唆された。