

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者 氏名 越智 英輔

筋・骨格系は力学的環境に対する高度な適応能をもつ。適切な運動・トレーニングを繰り返すことにより、筋では代謝特性の変化、タンパク質の発現変化、肥大、筋力増強などの長期的適応が起こるが、最近の研究から、こうした筋の適応には、さまざまな成長因子やサイトカインが関連することが示唆されている。しかし、これらの知見は主に培養細胞系や遺伝子組み換え動物などを用いた研究に基づくものであり、実際のヒトの運動・トレーニングにおいてどのようなメカニズムが中心的役割を果たしているかについては不明の点が多い。一方、運動・トレーニングが筋や関節の柔軟性に及ぼす長期的効果については、十分な研究がなされておらず、一貫性のある見解が得られていない。これらの課題を解決するためには、実験動物を用いた適切なトレーニングモデルが有用である。動物トレーニングモデルが満たすべき要件として、1) 生理的な運動刺激を用いていること、2) 運動の強度と量を定量化できること、3) ヒト骨格筋と定性的に共通した適応を示すこと、4) トレーニング効果を経時的に評価できること、5) 短期間で効果が発現すること、6) 再現性がよいこと、などがあげられる。これまでいくつかのトレーニングモデルが開発されてきたが、これらの要件を十分に満たすものは得られていない。本研究は、メカニカルストレスの大きな伸張性収縮 (eccentric contraction) を利用した新たな動物トレーニングモデルを開発し、繰り返し運動刺激が、筋の構造と機能、および関節の柔軟性に及ぼす効果を調べ、さらにそれらの効果のメカニズムを探るための初歩的実験を行ったものである。

本研究で開発したモデルでは、ラット足関節底屈筋 (腓腹筋) を対象とし、専用に製作したダイナモメータを用いて、麻酔下で運動刺激を負荷した。最大強度以下での電気刺激と強制伸張 (最大下の伸張性収縮) 5回×4セットを1セッションとし、1セッション/2日、合計10セッション (20日間) のトレーニングを行った。トレーニングと同時に、最大刺激による等尺性最大足関節底屈トルクを測定した結果、トレーニング群では経時的な筋力増加が認められ、10セッション後には sham 群と比較して約40%もの差が見られた。筋湿重量では、電気刺激の主なターゲットとなった腓腹筋内側頭で、10セッション後に sham 群と比べ約14%の増加が見られた。筋線維レベルでは、タイプ IIb/d 線維数の減少とタイプ IIa 線維数の増加が見られ、タイプ IIb/d からタイプ IIa への移行が示唆された。また、タイプ IIa 線維にのみ有意な横断面積の増加が認められた。これらの変化はいずれも、長期的なトレーニング後のヒト骨格筋に見られる変化に類似しており、このモデルの有用性を強く示唆している。また、トレーニング効果には個体差

があり、筋湿重量の増加の程度と、1セッション当りに発揮されたトルクの時間積分（力積）の間に有意な正の相関が認められた。このことは、トレーニング効果を決定する上で、力積が重要な初期要因となっていることを示唆する。

次に、トレーニングによる筋肥大のメカニズムについての知見を得るため、5セッションおよび10セッションのトレーニングの12時間後に筋を摘出し、筋内の成長因子／サイトカインの変化を Western blot または RT-PCR によって調べ、sham 群と比較した。その結果、10セッション後には、従来から筋肥大刺激因子とされている IGF-I (mRNA) の増加と、筋肥大抑制因子とされている myostatin の著しい減少が見られた。さらに、myostatin の antagonist である follistatin が増加しており、筋肥大には myostatin による肥大抑制の低減が重要な役割を果たすことが示唆された。一方、伸張性収縮においては、筋線維の微小損傷が起りやすいとされることから、代表的な炎症性サイトカインの変化についても Western blot により調べた。その結果、5セッション後には IL-1 $\beta$ 、IL-6 などの増加が見られ、炎症反応の進行が示唆された。顕微鏡観察によっても、筋線維の損傷像が確認された。一方、10セッション後では、IL-6 のみが有意に高値を示した。また、免疫染色像から、10セッション後の IL-6 の一部は、筋線維自身から分泌される可能性が示された。IL-6 は筋サテライト細胞の増殖を促すという報告があることから、トレーニングに伴うその変化については、今後より詳細に調べる必要がある。

本研究では最後に、トレーニングが関節柔軟性に及ぼす効果について調べている。一般にメカニカルストレスの大きな伸張性筋運動を行うと、一過的な関節柔軟性の低下が起り、長期的にも筋内結合組織量の増大によるスティフネスの増加が起るとされているが、動物モデルを用いたトレーニングの長期的効果についての研究は行われていない。本研究では、関節柔軟性の指標として足関節背屈に対する受動的トルク（passive resistive torque; PRT）を経時的に測定し、10セッションのトレーニング後に有意な低下（約 50%）が起ることを示した。このときには、等尺性最大筋力、筋湿重量ともに上記と同様に増加しており、繰り返しのトレーニングは筋肥大と筋力増強をもたらす反面、関節の柔軟性を向上させることが判明した。また、筋線維内の弾性タンパク質であるコネクチンのアイソフォーム含有比には有意な変化が見られなかったことから、筋線維自体の固さは変化していないことが示唆された。一方、RT-PCR により、I 型コラーゲン mRNA の有意な増加が見られたことから、筋内外の結合組織の構造変化が関節柔軟性の変化に関与しているものと考えられた。

以上のように本研究は、繰り返しの筋運動が筋と関節に及ぼす長期的効果について、新たな動物モデルを用いて調べたものである。メカニズムについての踏み込みは十分とは言い難いが、IL-6 の特徴的な変化や、関節柔軟性の向上など、興味深い新規知見を得ており、今後の展開が期待される。また、有用性の高い動物モデルを開発した点で、その独自性は高く評価される。

したがって、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。