

論文審査の結果の要旨

論文題目：「ヒト骨格筋における熱ショックタンパク質の加齢変化と熱ストレス応答」

論文提出者氏名 山口鉄生

人のほとんどすべての活動は神経系と連携して働く骨格筋により成されるといっても過言ではない。骨格筋は、心筋と異なり組織の中に将来骨格筋細胞に分化することのできるサテライトセル（幹細胞）を豊富にもつきわめて適応能力の高い組織である。未分化な幹細胞をもつということは、損傷を受けても適切な環境刺激があれば再生治癒することを意味する。従来、骨格筋の可塑性の研究は使用性肥大廃用性萎縮に焦点をあて研究されてきたが、高齢化社会においては、安全でかつ日常生活において実施可能な適切適度な骨格筋適応能を維持増進する研究が求められている。加齢に伴い多くの生体機能が低下することが報告されてきたが、高齢になっても元気に活動している人も多い。仮に加齢による骨格筋の萎縮が、不活動性の萎縮と同様のメカニズムによりもたらされるとすると、適切に骨格筋の活動を上昇させることが高齢化社会における QOL 向上のための方策になるはずである。人間は、科学的な根拠を学び、意欲的、自発的に行動を変えてゆくことができる唯一の動物である。これまで考えられてきた人間の成長、成熟、老化という「自然」現象に対して、今後は人間の努力を引き出すための科学が求められているともいえる。未曾有な少子高齢化を迎える人類社会では、これらの加齢に伴う適応応答の減退を解消する適切な方法を明らかにすることが必須である。

生体は環境の変化へホメオスタシスを維持する方向に適切に応答する能力を有している。しかし、加齢に伴い生体応答機能は低下する。運動量の低下、慢性・炎症性疾患の出現、性ホルモンの変化、酸化ストレスの影響、ストレス応答の低下などは、高齢者の適応応答能力の低下を示すものである。ストレス応答には多くの分子、シグナル伝達系が関与することが明らかにされている。その中でもタンパク質のホメオスタシスを維持するために必須な熱ショックタンパク質（heat shock proteins; HSPs）やストレスのシグナル伝達系である Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) が重要な役割を担っている。本博士論文は、大きな適応能力をもつ骨格筋における HSPs 及びストレスシグナル伝達系に焦点をあて、第 1 部で、高齢者の骨格筋の細胞内の生化学的特性を明らかにし、第 2 部で整形外科治療法としても用いられ、かつ高齢者にも利用可能な温熱効果について検討がなされ、HSPs の発現が高まるだけでは不十分であること、2°C の温度上昇という温熱負荷が適切でかつ有効な適応効果 Hormesis 効果（後述）をもたらすものであることを明らかにした点で高く評価される。

やや詳細に説明を続ける。哺乳類の HSPs の中で、低分子量熱ショックタンパク質（small HSPs; sHSPs）は骨格筋に構成的に発現している。ヒト高齢者の安静時状態におけるヒト外側広筋の可溶性分画及び沈殿分画の sHSPs のリン酸化状態、上流のリン酸化カスケード：p38 MAPK、MAPK-activated protein kinase-2、extracellular-signal regulated kinase-1/2 を測定した結

果、sHSPs のリン酸化状態は高齢群の可溶性、不溶性の両方で、それぞれの上流のリン酸化酵素のリン酸化も増加、かつ不溶性分画のポリユビキチン化タンパク質の集積から、加齢による生体内のメカニズムの変化が MAPKs の活性化や sHSPs のリン酸化や集積に影響していることを示した。これはラットなどの動物を用いた不活動モデルで惹起される現象ときわめて類似していた。Hormesis 効果（ギリシャ語の *horme* は *to excite* を意味する。微量のストレスであれば生体に有益な効果をもたらすという生物の普遍的な適応応答効果を現す）をもたらす温度特性〔熱ショックストレス〕を、上記分子マーカー及び骨格筋の適応能の背景となるサテライトセル（幹細胞）からの分化特性（筋管形成及び筋管特性）に焦点をあて検討し、2℃というわずかな温度上昇が、上記 Hormesis 効果をもたらすことを明らかにした。通常筋細胞の実験に用いられているマウス筋芽細胞 C2C12 株だけではなく、体温が高い鶏初代筋芽細胞及びヒト骨格筋細胞にも共通にこの Hormesis 効果が観られたことは、この効果が恒温動物に普遍的な適応であることを示唆する。山口鉄生さんは、整形外科医であり、現場における治療方法の確立に意欲をもっている。通常ストレス実験では、このような温度依存特性を詳細に検討した研究は少ない。加齢にともない増加する運動器（骨、軟骨、筋、靭帯）の炎症は、人間の運動や活動自体に悪影響を与え、生活の質（QOL）の低下をもたらす。今回検討した温熱負荷方法は、高齢者でも安全に利用可能である。温熱療法の効果は、一般的に加温に伴う組織の血流の改善によってもたらされると考えられているが、本研究は一歩進めて血流の影響に依存しない熱作用が直接細胞に有効に働きかけうることを明らかにした。2℃の温度上昇により筋管の幅の拡張が観察された。古くから骨格筋サルコメアの Z 線（細胞の接着斑と相同）の幅は、遅筋線維で広く、速筋線維で狭いことが明らかにされているが、その機能については未知な部分が多い。しかし Z 線は、細胞の接着斑と相同である。今回熱ショック後の Z 線の幅の計測を行っていないが、観察された筋管径の増加は、一例ではあるものの 2℃の温度の上昇による DNA アレイにより観察された遅筋線維の細胞特性の促進 [Bcl-2、MYH7（骨格筋遅筋型ミオシン）、MYH1（骨格筋速筋型ミオシン）の減少] と同方向性の変化であった。また同様に遅筋線維で多く発現している myogenin の発現量も増加し、免疫染色の結果、核に移行している割合が高かった。この研究で行われた二つの結果を総合すると、温熱負荷も含めて Hormesis 効果を引き出す生活を構築・実践していくことが適応能の高い骨格筋の加齢を予防するという観点から今後きわめて重要となってくるであろう。

以上のように、本研究は座業高齢者の骨格筋の基底状態の特性を明らかにし、さらに 2℃という温度上昇がサテライトセルを豊富にもつ骨格筋の分化を適応性の高い遅筋化へ方向付ける Hormesis 効果- 良いストレス効果を引き出すことを明らかにした。この結果は、今後さらに重要性を増していくと考えられる高齢化社会における QOL の維持に適切な科学的な研究の方向性を示唆するものとなった。したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。