

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者 氏名 蒔苗 裕平

強度の身体運動は、骨格筋内の有酸素性代謝系、NADPH オキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼなどを活性化し、活性酸素種 (ROS) を生成させる。このため、運動を行う際には、ビタミン C、ビタミン E、フラボノイドなどの抗酸化活性物質を含む食品や、場合によってはそれらのサプリメントを摂取することが推奨されてきた。しかし、運動に伴って発生する ROS は、体内の抗酸化力の増強や、有酸素性持久力の向上などの適応のために重要なシグナル伝達物質としてもはたらいっていることが分かってきている。したがって、過度に ROS を除去することは、運動・トレーニングが目的とする良好な適応反応を減弱してしまう可能性もある。実際、過剰な抗酸化物質の摂取が、持久性トレーニングによる骨格筋ミトコンドリアの増殖や、全身持久力の向上を低減することが報告されている。一方、レジスタンストレーニングによる骨格筋肥大においても、ROS はインスリン様成長因子 (IGF-I) を介したタンパク質合成・分解の調節に関わるシグナル伝達経路において重要な役割を果たすことが判明してきている。このことは、過剰の抗酸化物質摂取が、レジスタンストレーニングによる筋量の増加を減弱する可能性を示唆する。本論文は、ラット骨格筋肥大モデルおよび培養筋細胞を用い、抗酸化物質として広く摂取されているビタミン C の投与が、筋肥大およびそれに関連するシグナル伝達系に及ぼす効果について詳細に検討したものである。

本論文は序章を含み全 5 章からなる。序章は研究の背景、第 1 章は 14 日間の継続的なビタミン C 投与が力学的過負荷による骨格筋肥大に及ぼす効果、第 2 章はビタミン C 投与が代償性筋肥大初期時の応答に及ぼす効果、第 3 章はビタミン C 添加が IGF-I 刺激により引き起こされるシグナル応答に及ぼす効果について論じ、第 4 章は総括論議となっている。

序章では、運動に伴う ROS 生成のメカニズムについて概説するとともに、運動による良好な適応としての有酸素性持久力の向上や骨格筋肥大における ROS の役割についての先行研究をまとめ、過剰な抗酸化物質の摂取が、トレーニングから筋肥大へとつながるシグナル伝達経路の活性化を減弱する可能性について論じている。

第 1 章の実験では、14 日間にわたりラット足底筋に共働筋切除による過負荷を与え、代償性筋肥大を起こさせるモデル系を用いて、継続的なビタミン C の投与 (体重 1kg 当たり 500mg/日) が筋湿重量、筋タンパク質濃度、筋および血中ビタミン C 濃度、酸化ストレスマーカーなどに及ぼす効果について調べている。その結果、ビタミン C の投与は、過負荷による筋湿重量の増大を低減し、さらに筋肥大関連シグナル伝達物質であるリン酸化 Erk1/2、リン酸化 p70s6k

の発現増加も抑制することが示された。さらに、筋タンパク質分解を活性化する atrogen-1 の発現量が過負荷により減少したが、ビタミン C の投与はそれを抑制した。一方、筋中ビタミン C 濃度や、酸化ストレスマーカー濃度などには、ビタミン C 投与による明らかな影響は見られず、ビタミン C 投与による初期的効果を見落としている可能性が示唆された。

そこで、第 2 章の研究において、共働筋切除 2 日後、ビタミン C 投与 1 時間後に筋サンプルを採取し、血中および筋中ビタミン C 濃度、酸化ストレスマーカー濃度、筋線維内シグナル伝達物質に及ぼすビタミン C 投与の初期的効果について調べた。過負荷によって、タンパク質合成関連シグナル伝達物質の反応は見られたが、それに対するビタミン C の効果は見られなかった。さらに、血中ビタミン C 濃度は著しく上昇したが、筋中ビタミン C 濃度、酸化ストレスマーカー濃度には変化がなかった。これらのことから、ビタミン C は細胞外から作用する、他器官を介して間接的に筋に作用する、抗酸化活性とは別のメカニズムで作用する、などの可能性が示唆された。

これらの可能性について検討するためには、in vitro 実験系がまず有用である。そこで、ラット筋芽細胞 (L6) 培養細胞系を用いた実験を行い、その結果を第 3 章で述べている。ここでは、筋管細胞分化後に IGF-I を添加することで筋タンパク質合成関連シグナル伝達系を賦活化し、それに及ぼすビタミン C の効果について調べた。その結果、ビタミン C の添加は、Erk1/2、p70s6k などのリン酸化を抑制したが、より上流に位置する Akt のリン酸化には影響を及ぼさなかった。一方、水溶性抗酸化物質である NAC は、これらのすべての反応を減弱した。これらの結果から、ビタミン C が直接筋細胞に作用すること、他の抗酸化物質とは異なる経路で効果を及ぼすことが示唆された。

以上の結果をふまえ、第 4 章で総括論議を行っている。第 1 章、3 章の結果から、ビタミン C は直接筋線維にはたらき、筋タンパク質代謝関連シグナル伝達系に影響を及ぼすことで、過負荷による筋肥大を減弱することが判明した。同時に、その効果は、他の抗酸化物質の効果とは異なる経路を介する、あるいは抗酸化活性とは異なる、特異的なメカニズムを介する可能性も示唆された。本論文から得られた知見を、運動・トレーニングの現場に活かすためには、より実際の運動に近い条件での筋肥大に及ぼすビタミン C の効果を検証するとともに、そのメカニズムを明らかにするためのさらなる研究が必要であると考察している。

本論文は、骨格筋肥大に及ぼすビタミン C の投与の影響につき、筋形態のみならず、細胞内シグナル伝達系の観点から検討を加えたものであり、独自性が高く、学術的意義も十分に大きなものと評価できる。また、本論文の第 1 章、2 章は *Acta Physiologica* 誌に掲載されるが、社会的なインパクトの強いすぐれた論文として、掲載号の“Topics”で紹介されることになっている。それだけ責任も重く、また関連分野の今後の研究に強い影響を与える論文といえよう。

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。