

学位授与番号：乙3095号

氏名：春日 規克

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成26年10月22日

学位論文名：

長期の持久的トレーニングに加える下り走が骨格筋の筋線維タイプ移行と疲労耐性に及ぼす効果

主論文名：

Effects of downhill running incorporated into long-term endurance training on skeletal muscle fiber-type switching and fatigue resistance.

（長期の持久的トレーニングに加える下り走が骨格筋の線維タイプ移行と疲労耐性に及ぼす効果）

学位審査委員長：教授 安保雅博

学位審査委員：教授 柳澤裕之 教授 松浦知和

論文要旨

(2部提出)

論文提出者名	春日規克	指導教授名 竹森重
<p><主論文題名></p> <p>Effects of downhill running incorporated into long-term endurance training on skeletal muscle fiber-type switching and fatigue resistance.</p> <p>(長期の持久的トレーニングに加える下り走が骨格筋の線維タイプ移行と疲労耐性に及ぼす効果)</p> <p><ジャーナル名></p> <p>The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine</p> <p><要旨></p> <p>骨格筋の発揮張力は筋の微細構造により保証されているが、発育期の急速な成長により構造変化が起こり微細構造の維持が困難な時期には、筋力の低下や激しい筋活動により筋損傷が発生しやすくなる。筋損傷は収縮時の生理的 Ca^{2+}濃度にて活性化される蛋白分解酵素により、また伸張性運動など激しい筋活動によって発育期以外でも容易に惹起される。しかし、通常のスポーツ活動ではより有効な効果を得ることを目的とした高強度運動が行われている。そこで本論文では、長期の持久的トレーニング期間に高強度下り走運動を断続的に加えた際の筋への影響とトレーニング効果を明らかにするため、発育期ラットを用いて足底筋を被験筋として検討した。</p> <p>下り走運動は下肢底屈筋に伸張性収縮を起こさせ、筋損傷を惹起させることが知られており、さらに損傷部が神経筋接合部付近であるなら脱神経が起こり、筋の機能に大きな変化が起こることが考えられる。一方、長期の持久走トレーニング等の運動は筋の機能的・構造的特性を向上させるが、このトレーニング期間中に急性損傷を誘発する下り走を加えた場合に、骨格筋線維へのトレーニング効果にいかに関与を及ぼすかは知られていない。</p> <p>本論文は2つの実験から構成され、最初の実験 Aでは一回の下り走(傾斜16度, 2時間, 20m/mim,)による筋への影響を運動習慣のないラットで調べた。その結果、下り走2-3日後には浮腫や膨潤、壊死と言った組織学的な筋損傷がみられた。また、同時期には足底筋の強縮張力を対照群と比較した結果、直接刺激では88%まで張力が減少し、間接刺激では74%までの減少がみられた。直接刺激での張力減少は筋線維自体の損傷であり、間接刺激での減少は</p>		

神経筋接合部の解離が損傷にともない起きていた結果を示すと考えられた。

さらに副論文で行った実験から考察を進めると、下り走が下肢筋に対して伸張性収縮を強いる運動であるかは、高速ビデオ撮影した回転車輪走行の解析より明らかと成った。また、伸張性収縮が筋損傷を起し神経筋接合部の解離も引き起こすことは、電気刺激による収縮中の足底筋に機械的伸張負荷を与えた実験から調べられた。この時には下り走以上の間接刺激張力の低下やシナプス遅延が観察され、伸張性収縮が神経筋接合部にも損傷を起すことが示された。さらに下り走は、興奮収縮連関の Ca^{2+} 放出機構の主体となる筋細胞内膜系に異常構造を引き起こしていた。また、神経筋接合部の損傷において神経側の再生能を調べる目的で、坐骨神経凍結実験を行い、軸索の伝導性や接合部の軸索終末の構造変化を調べた。神経凍結により末梢側の神経筋接合部は解離し軸索終末の萎縮などの現象が起きるが、筋の回復とほぼ並行して軸索の回復が進行することも示された。

下り走後には組織染織で調べられた筋線維タイプとして、速筋と遅筋型の両ミオシンを有する type IIc 線維比率に顕著な変化が認められた。type IIc 線維比率は下り走 2 - 3 日後には対照群と比べ 7 倍に増加し、筋線維タイプ移行が起こる可能性が示唆された。また、実験群ラットの筋は 21 日以内に再生されていることが中心核線維の存在で示された。

実験 B では、生後 4 週齢より 9 週間の持久的トレーニングを行い、トレーニング期間中に断続的に下り走運動を取り入れた際の影響をみた。実験群として持久トレーニング(Training)群と持久トレーニングに下り走を加味した((Training + Downhill)群)を設けた。トレーニングは、速度 30 m/min, 2 時間/日, 6 日/週のトレッドミル走とした。トレーニング期間の 1, 3, 5, および 7 週目初日に、Training + Downhill 群のラットには、実験 A と同様の下り走運動を行った。持久的トレーニング終了後、二種類のトレーニング群の足底筋では疲労耐性の向上にともなう type IIa 線維比率が増加し、逆に type IIb 線維割合が減少した。また、Training + Downhill 群の type IIa 線維が増加は Training 群より有意であった。筋の活動量の変化にともなう筋線維タイプの変化と筋損傷との関係についてさらに検討するため副論文では、BPVC による筋損傷モデルにより実験を試みた。持久性トレーニングを負荷し type IIa 線維の有意な増加が観察されたラットに BPVC 注入による筋損傷を誘発しトレーニングを中止した結果、損傷させていない筋に比べトレーニング終了時点で筋損傷を与えた筋では有意に type IIa 線維の低下がみられトレーニング前の値まで戻った。これら結果から、筋活動量の増減にともなう筋線維タイプ移行には、筋損傷・再生という過程が強く関与することが示めされた。

一方、Training + Downhill 群の type IIa 線維の増加には 70-100 本の type IIa 線維の集合体(cluster)が認められた。この type IIa 線維の cluster

が形成された理由は、持久性トレーニングにともなうタイプ移行の進行過程において筋損傷-再生が関与し、再生筋線維における軸索発芽と新たなシナプス形成されていた可能性、神経の再支配をともなう筋損傷-再生という過程が分子機構としてのシグナル伝達系の関与によりタイプ移行をより大きく引き起こした事が考えられた。正常な骨格筋での横断面には各筋線維タイプがモザイク状に分布しており、筋が最適な機能を発揮するために同じ筋線維タイプが cluster を形成することは無い。cluster の形成は除神経筋や、慢性末梢神経疾患、運動神経疾患の進行過程で見られるものであり、同タイプの筋線維の集合化は、その筋が活動状態にあるときに一部が他部位と極端に異なる収縮や短縮を起こすなど、筋や腱に部分的メカニカルストレスを与える恐れあると考えられた。cluster 以外の損傷の痕跡として、中心核線維が長期に存続すること、正常筋では見られない非常に細い線維が再生筋横断面像に観察されることを副論文に示した。中心核の存在も枝分かとして存在する極細い線維も収縮機能の発達を妨げる要因となると考えられ、筋損傷を起こすような高強度筋活動が運動トレーニングに加わる場合のマイナス要因が示された。

以上の結果から、本論文における持久的トレーニングに加えられる下り走運動は、筋損傷・支配神経解離と回復をくり返すことで、筋線維タイプの移行を促進することが示めされた。しかし、同タイプ線維の集合形成といったトレーニング効果としてはマイナス要因になる結果も認められた。このことから、強い運動を実施することによって持久性運動の有効な結果を高めるには至適な運動強度と頻度に対するより十分な考慮が必要と考えられた。

論文審査の結果の要旨

春日規克氏提出の学位申請論文は、主論文 1 編 1 冊と副論文 2 編 2 冊の英文論文より成る。主論文は、『Effects of downhill running incorporated into long-term endurance training on skeletal muscle fiber-type switching and fatigue resistance . (長期の持久的トレーニングに加える下り走が骨格筋の筋線維タイプ移行と疲労性耐性に及ぼす効果)』と題する *J Phys Fitness Sports Med*, 3(3): 353-362 (2014)に掲載された英文論文で、東京慈恵会医科大学分子生理学講座の竹森重教授の研究指導により作成されたものである。以下に、論文要旨と論文審査委員会の結果を報告する。

スポーツ競技のためのトレーニング過程では、より高いトレーニング効果を得るために高強度負荷となる運動を取り入れる場合が多いが、強い伸張性筋収縮により筋損傷を誘発する可能性も高い。よって、ラットを用いた伸張性収縮となる下り坂運動により筋損傷がいかにか起こるかを調べるとともに、長期の持久性トレーニング期間に下り坂運動を間欠的に複数回実施し、筋の損傷と回復としての骨格筋線維へのトレーニング効果にいかにか影響を及ぼすか評価をしている。

本論文は 2 つの実験 A,B から構成されている。運動習慣のないラットに高負荷の下り走をさせた実験 A では、Type II c 線維比率が対象群と比べ 7 倍に増加し、足底筋の強縮張力も対象群と比べて直接刺激と関節刺激とも低下しており筋損傷だけでなく神経筋接合部の解離も生じているとしている。しかしながら筋は中心核線維の存在で 21 日以内に再生していたとしている。実験 B の長期の持久力トレーニングに下り走運動を間欠的に加えた結果、疲労耐性に優れる Type II a 線維の割合が増加するといったトレーニング効果が認められたが、Type II a 線維の集合化といった病的変化も認められたとしている。よって、持久力トレーニングに加える下り走運動は、筋損傷・支配神経解離と回復を繰り返すことで、筋線維タイプの移行を促進することが示唆されたが、集簇形成の問題から、高強度負荷となる運動をすることによって持久性運動の有効な結果を高めるには、至適な運動強度と頻度に対する考慮が必要であるとしている。

以上の論文に対して、去る平成 26 年 10 月 8 日に、柳澤裕之教授、松浦知和教授のご出席を得て、公開で学位論文審査会を開催した。春日氏の研究概要の発表に引き続いて口頭試験を行った。席上、1) Fischer344 系メスラットを用いた理由 2) 足底筋を選んだ理由と腓腹筋でも同様の結果なのか 3) 筋損傷回復過程での Ca の役割は 4) 生理的な回復過程をどのようにとらえるのか 5) 血尿などなかったのか 6) 高齢ラットではどのよ

うな結果になるのか 7) Type II b の割合が減る理由 8) Type II c が増える理由 9) 適切な運動とは AT ポイントを重視するのか Type II a が増加する負荷量を重視するのか 10) このモデルの HGF 発現と筋再生について 11) クラスタ化と代謝面のかかわり 12) 損傷による筋枝分かれの理由 など多くの質問がなされた。これに対して、春日氏は適切に回答した。その後、両教授と慎重に審議した結果、春日規克氏の提出論文は、これまでに数多く報告されてきた春日氏の原著論文を基盤とするもので、論文に示した様な運動による筋損傷の再生回復過程の機序を明確にすることは、スポーツ医学界におけるトレーニングによる筋損傷の予防や回復促進などの有効な知見となるだけでなく、筋疾患の治療などの貢献にも繋がる可能性を示した点で、有意義な論文であり、学位申請論文として十分価値のあるものと判断した。