

研 究 室

体 力 医 学 研 究 室

教 授：竹森 重 筋生理学，体力医学
講 師：山内 秀樹 体力医学

教育・研究概要

I. ギプス固定による骨格筋萎縮

筋萎縮は筋タンパク質代謝のバランスが分解系に傾くことで起きるが、合成系と分解系は多様な関連性を持ちながら変化するため、いうほど単純ではない。そこで、萎縮過程における筋タンパク質代謝に関連する分子群の変化動態を調べた。生後15週齢のF344系雌性ラットの両側の足関節と膝関節を包帯式ギプスで中間位に固定し、1, 3週間後にヒラメ筋の特徴を調べた。固定1週間後では筋重量は低下しなかったが、3週間後では有意に低下した。速筋型ミオシン重鎖を発現する筋線維の割合は固定1週間後から増加傾向を示し、3週間後ではさらに増加した。タンパク質代謝関連分子の変化では、固定1週間後からユビキチンリガーゼNEDD4とMAFbx、オートファジー関連タンパク質LC3-IIの増加がみられた。また、ユビキチン化タンパク質と酸化ストレスマーカー4HNEの増加もみられた。一方、ストレスタンパク質(HSP25, HSP72)、リン酸化p70S6K、PGC-1 α の発現低下がみられた。固定3週間後ではLC3-IIとユビキチン化タンパク質の増加とストレスタンパク質とPGC1 α の低下が維持されていただけであった。結論として、萎縮が生じる前から筋タンパク質代謝関連分子の発現変化が生じることから、萎縮開始前からの早期予防実施の重要性が強く示唆された。

II. 遠心性収縮による骨格筋損傷

遠心性収縮による効果的なトレーニング方法を検証するためや、微細損傷のメカニズムを知るために必要な、再現性の高い微細筋損傷条件を確立するために、ラット骨格筋遠心性収縮負荷後の張力と微細構造の変化を調べた。条件は50Hz, 75Hz, 100Hz刺激での遠心性収縮を300ms, 3秒毎に10回連続負荷した。遠心性収縮は-10%至適長から至適長への10%至適長分の伸張で33%/秒とした。遠心性収縮時の張力は、75Hz, 100Hzにて負荷前最大等尺性張力を超えた。負荷後60分の最大張力の低下

率は100Hzで $-12.6 \pm 6.9\%$, 75Hzで $-8.3 \pm 2.2\%$, 50Hzで $-0.4 \pm 2.6\%$ と頻度依存的に大きかった。負荷後60分の張力立ち上がり速度は100Hzのみ低下していた。横紋構造の形態観察では75Hzで歪みが、100Hzで崩壊が認められた。結論として、100Hzでは筋線維の損傷、75Hzでは筋原線維の損傷、50Hzでは光学顕微鏡レベルでの筋損傷が起こらなかったことから遠心性収縮トレーニングの効果的な条件は至適長を超えない範囲での伸張にて75Hzまでの刺激条件が適していると考えられた。

III. 心筋細胞に対する細胞増殖因子ポリアミンの効果

運動負荷に誘発されたラット肥太心臓の心筋細胞でポリアミン濃度が上昇することが報告されているが、ポリアミン濃度の上昇が心筋細胞の興奮やカルシウム動態にどのように関与するかは解明されていない。そこで、ポリアミン濃度の上昇が心室細胞の興奮現象に与える影響をラット新生仔から調整した培養心室細胞で調べた。興奮現象は心室細胞に蛍光カルシウム指示薬を導入し、顕微鏡で観察することにより評価した。ポリアミンは心筋細胞の自発拍動に随伴するカルシウムトランジェントの頻度を抑制した。抑制効果はポリアミンの陽電荷数が多い程強いことと効果が数秒で発現することから、ポリアミンの細胞膜の負電荷成分との相互作用による興奮安定化作用による可能性が示唆された。また、スベルミンは非拍動性心室細胞の細胞内カルシウム振動を誘発した。振動が起こる直前に一過性の細胞内カルシウム濃度減少が見られたことから、この効果にはポリアミンの細胞膜カルシウムチャネルや筋小胞体カルシウムチャネルの抑制をきっかけとする可能性が考えられた。結論として、ポリアミンは拍動性心筋細胞に興奮性の低下をもたらす一方で、非拍動性心室細胞に細胞内カルシウム濃度振動を惹き起こすことが示唆された。

IV. 神経性筋萎縮にともなう骨強度の変化

安静臥床時には力学的負荷や抗重力負荷がなくなるため骨強度が低下する。安静臥床時にも健側の足などへの運動による力学的負荷は可能であるから、力学的負荷の意義を吟味する上で不活動の影響を検討する価値は高い。そこで、除神経処置による不活動が骨にどのような変化をもたらすのかを検討した。8週齢のWistar系雄性ラットの片側の坐骨神経を

大腿部で部分切除し、他側は坐骨神経の剖出までを行い Sham 側とした。Aloka 社製実験動物用 X 線 CT 装置 LCT-200 を用いて下腿を撮影範囲とし、CT 画像解析ソフト Latheta を用いて筋横断面積、骨密度、曲げ強度（最小断面二次モーメント）とねじれ強度（断面二次極モーメント）を評価した。除神経後 8 週目において、Sham 側に比べて除神経側では筋横断面積が平均 59% まで低下した。骨密度は骨幹端部が最初に、遅れて骨端部、骨幹部と低下した。特に骨幹部の低下は軽度であった。一方で曲げ強度やねじれ強度はどの部位でも同様に低下した。しかし、骨幹部を長軸に沿って 12 等分すると骨密度、骨強度変化の部位差が認められた。骨密度では遠位側に、曲げ強度とねじれ強度ではほぼ中央近くに変化が生じづらい部位が存在した。以上の結果から、不活動は骨密度や骨強度の低下を招くこと、曲げ強度もねじれ強度も同様に低下すること、不活動では打撲による骨折もラセン骨折もどちらのリスクも高まることが示唆された。

V. 高脂肪食誘導型脂肪肝に対する自発走運動の効果

肥満や脂肪肝研究において広く用いられている 60% 脂肪含有餌を用いて、高脂肪食誘導型脂肪肝モデルを作成し、自発走運動による影響を検討した。4 週齢 SD 系雄性ラットを標準食 + 安静群、標準食 + 運動群、高脂肪食 + 安静群、高脂肪食 + 運動群の 4 群に分けた。餌の組成は標準食 P : F : C = 20 : 10 : 70kcal%，高脂肪食 P : F : C = 20 : 60 : 20kcal% で、実験期間は 8 週間とした。実験期間中の摂餌量は標準食よりも高脂肪食で減少し、餌の条件にかかわらず運動の実施により増加した。最終体重は運動実施に関わらず、高脂肪食摂取により増加した。肝トリグリセライド含有量ならびに脂肪滴は高脂肪食によって増加したが、運動の影響はみられなかった。さらに、肝組織の分子機構の検討において、高脂肪食の摂取により内因性脂肪合成経路である FAS、ATP-CL のタンパク質発現の低下が確認された。運動の脂肪肝予防機序の一つとして内因性脂肪酸合成経路の抑制の報告があるが、高脂肪食誘導型脂肪肝ではこの経路が運動に関係なく抑制されていた。以上の結果から脂肪肝の成因によって運動の効果が異なる可能性が示唆された。

VI. 慢性膵炎に対する自発走運動の効果

慢性膵炎では外分泌や内分泌の機能障害が生じる。運動は禁忌とされるが、果たして本当なのか、レプチン受容体欠損 WBN/Kob-Fatty 雄性ラット

を用いて検証した。6 週齢時に肥満群、肥満・食餌制限群、肥満・食餌制限 + 運動群に分けた。対照には非肥満 WBN/Kob ラットを用いた。食餌制限は肥満群の約 30% とし、介入期間は 6 週間とした。食餌制限単独、食餌制限と運動の併用は体重増加を抑制し、血糖値、血中アミラーゼ活性、血中中性脂肪濃度の上昇を抑制した。食餌制限と運動の併用は脾の湿重量とタンパク質含量の低下を抑制し、インスリン抵抗性を改善したが、食餌制限単独ではその効果はみられなかった。肥満群では脾内分泌部の形態異常や炎症が顕微鏡で観察されたが、運動の併用では明らかな抑制が観察された。結論として、食餌制限単独では運動との併用に比べて効果が少なかったことから、適切な運動の実施は慢性膵炎・糖尿病の発症予防に必須であると考えられた。

「点検・評価」

教育活動として、看護学科 1 年生の体育実技と講義、第三看護専門学校体育実技（教育キャンプを含む）、医学科 3 年生研究室配属を担当した。研究成果は海外欧文誌原著論文 1 編、国内学会発表 8 演題、国際学会発表 2 演題であった。病態モデル動物を用いた食餌制限と運動習慣の組み合わせによる健康・体力に関する研究は、和洋女子大学との共同研究であり、一定の成果を得ている。今後も発展させていきたい。また、当研究室の研究テーマである骨格筋の萎縮や運動に対する適応の研究では、ウェスタンブロッティングを主たる手法として、タンパク質発現量変化からその機序の解明に取り組んでいる。今年度はギプス固定後の萎縮筋での変化や遠心性収縮による筋機能変化の特徴に関する検討を行った。少子高齢化社会において、健全な発育発達と健康長寿の達成をキーワードとして、基礎研究を充実させていきたいと考えている。

その他、日本体力医学会理事（竹森、山内）として学会運営に貢献し、日本体力医学会編集委員（竹森、山内）として、和文誌「体力科学」、英文誌「Journal of Physical Fitness and Sports Medicine」の編集に貢献した。また、日本体力医学会学術委員会スポーツ医学研修会実行委員長（山内）、研修会講師（竹森、山内）、日本体力医学会将来構想検討委員（山内）、日本体力医学会渉外委員（山内）としても学会に貢献した。

研 究 業 績

I. 原著論文

- 1) Kurosaka Y¹⁾, Shiroya Y¹⁾, Yamauchi H, Kaneko

T¹⁾, Okubo Y²⁾, Shibuya K²⁾ (²Toho Univ), Minato K¹⁾ (¹Wayo Women's Univ). Effects of habitual exercise and dietary restriction on intrahepatic and periepididymal fat accumulation in Zucker fatty rats. BMC Res Notes 2015; 8: 121.

10) 黒坂裕香, 北村裕美, 山内秀樹, 代谷陽子, 湊久美子. 高脂肪食誘導型脂肪肝に対する自発走運動の影響. 第23回日本健康体力栄養学会大会, 神戸, 3月.

Ⅲ. 学会発表

- 1) 山内秀樹, 中村 嵩, 末永大希, 鈴木英樹, 竹森 重. 筋タンパク質代謝関連分子の発現変化は筋萎縮開始前から生じる. 第70回日本体力医学会大会, 和歌山, 9月. [体力科学 2015; 64(6): 551]
- 2) 山内秀樹, 中村 嵩, 末永大希, 竹森重. 不動化に伴う骨格筋の代謝特性と細胞内情報伝達タンパク質の変化. 第132回成医学会総会, 東京, 10月. [慈恵医大誌 2015; 130(6): 165]
- 3) 山内秀樹, 代谷陽子 (和洋女子大), 竹森 重. マウス骨格筋における伸張性収縮後の機能低下と微細損傷 (Functional and structural damages after eccentric contraction in mouse skeletal muscle). 第93回日本生理学会大会, 札幌, 3月. [J Physiol Sci 2016; 66(Suppl.1): S185]
- 4) 平野和宏, 中原直哉, 平塚理恵, 山内秀樹, 竹森 重. 遠心性収縮による微細筋損傷モデルの作製. 第70回日本体力医学会大会, 和歌山, 9月. [体力科学 2015; 64(6): 558]
- 5) 山口真紀, 山澤徳志子, 大城戸真喜子, 池田道明, 山内秀樹, 竹森 重. 心筋細胞のカルシウム応答に対する細胞増殖因子ポリアミンの効果. 第70回日本体力医学会大会, 和歌山, 9月. [体力科学 2015; 64(6): 582]
- 6) 中原直哉, 福田倫子, 山内秀樹, 竹森 重. 神経性筋萎縮にともなう骨強度の変化. 第70回日本体力医学会大会, 和歌山, 9月. [体力科学 2015; 64(6): 571]
- 7) 中原直哉, 平野和宏, 山内秀樹, 平塚理恵, 竹森 重. 骨格筋を強くする遠心性収縮負荷の筋節内検知センサ. 2015年度量子ビームサイエンスフェスタ・第7回MLFシンポジウム・第33回PFシンポジウム, つくば, 3月.
- 8) Minato K¹⁾, Shiroya Y¹⁾, Kurosaka Y¹⁾ (¹Wayo Women's Univ), Yamauchi H. Effects of chronic exercise on the exocrine and endocrine pancreas in WBN/Kob-Fatty rats. ACN2015 (12th Asian Congress of Nutrition). Yokohama, May.
- 9) Kurosaka Y, Yamauchi H, Shiroya Y (Wayo Women's Univ), Minato K. Differential effects of diet restriction and exercise on lipolysis capacity in white adipose tissue. ACN2015 (12th Asian Congress of Nutrition). Yokohama, May.