

氏名(本籍)	やす だ とし ひろ 安 田 俊 広 (大分県)
学位の種類	博 士 (体育科学)
学位記番号	博 甲 第 2,188 号
学位授与年月日	平成11年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	一過性あるいは慢性的な筋活動が筋小胞体のCa <sup>2+</sup> 調節能力に与える影響
主 査	筑波大学教授 医学博士 勝 田 茂
副 査	筑波大学教授 医学博士 松 田 光 生
副 査	筑波大学助教授 博士(学術) 齊 藤 慎 一
副 査	筑波大学講師 博士(医学) 竹 田 一 則

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### 1. 目的

骨格筋において細胞内のCa<sup>2+</sup>は筋収縮のトリガーとしてだけでなく、様々な生理反応のセカンドメッセンジャーとして機能していることが知られている。筋小胞体は細胞内のCa<sup>2+</sup>濃度の制御に重要な役割を果たしている。筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力は様々な細胞内環境の変化によって変化することがin vitroの研究で明らかになっているが、筋収縮活動時のその調節能力の変化について、詳細な検討はなされていない。そこで本研究は、様々な筋収縮刺激を行ったときに、筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力に変化が生じるかどうかについて検討することを目的とした。Ca<sup>2+</sup>調節能力は筋小胞体のCa<sup>2+</sup>取り込み能力と筋小胞体膜のCa<sup>2+</sup>保持能力の2つの能力をCa<sup>2+</sup>-ATPase活性の変化を手がかりに評価した。さらに、持久性トレーニングによって筋線維組成が変化したときの筋小胞体Ca<sup>2+</sup>-ATPase活性の変化を観察することを目的とし、以下の実験を行った。

### 2. 研究課題

1. 細胞内Ca<sup>2+</sup>が増加し筋損傷が生じると考えられるエクセントリック収縮により、筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力に変化が生じるかどうかについて検討する(実験1)。
2. 高強度の疲労困憊運動後に、筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力に変化が生じるかどうかについて、さらに、その変化の様相を探るため、Ca<sup>2+</sup>-ATPaseのATPとCa<sup>2+</sup>に対する親和性について検討する(実験2)
3. 低強度の疲労困憊運動後に、筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力に変化が生じるかどうかについて、さらに、その変化の様相を探るため、Ca<sup>2+</sup>-ATPaseのATPとCa<sup>2+</sup>に対する親和性について検討する(実験3)
4. 持久性トレーニングにより筋小胞体Ca<sup>2+</sup>-ATPase活性が変化するかどうかについて、さらにトレーニングが一過性の疲労困憊運動後のCa<sup>2+</sup>-ATPase活性の変化に与える影響について検討する(実験4)

### 3. 方法および結果

研究課題1：エクセントリックな筋収縮活動後の筋小胞体の変化

ラットの前脛骨筋に対して電気刺激によりエクセントリックな収縮を誘発した。エクセントリックな筋収縮刺激後、Ca<sup>2+</sup>-ATPase活性に変化はなかったが、筋収縮刺激の直後、および24, 48時間後において、筋小胞体の膜に変化が観察された。このことから、エクセントリックな筋収縮刺激は、筋小胞体のCa<sup>2+</sup>取り込み能力には影響を与えないが、筋小胞体膜のCa<sup>2+</sup>保持能力を低下させる可能性が示唆された。

研究課題2：一過性の高強度疲労困憊運動が筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力に与える影響

小動物用トレッドミルを用いてラットに一過性の高強度(50ml/min, 傾斜10%)運動を負荷し、運動後にヒ

ラメ筋および外側広筋の表層部位と深層部位を摘出し筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力を測定した。さらに、Ca<sup>2+</sup>-ATPaseのATPとCa<sup>2+</sup>に対する親和性について検討した。その結果、高強度運動後に、外側広筋表層部位のCa<sup>2+</sup>-ATPase活性が低下した。測定した全ての筋において、筋小胞体膜の変化は見られなかった。筋中乳酸濃度は、高強度運動群の外側広筋表層部位においてコントロール群よりも有意に増加し、Ca<sup>2+</sup>-ATPase活性との間に有意な負の相関関係が観察された。運動群のヒラメ筋においてCa<sup>2+</sup>-ATPaseのCa<sup>2+</sup>とATPに対する親和性が増加した。以上の結果から、高強度の運動ではCa<sup>2+</sup>取り込み能力が低下するが、筋小胞体膜に変化は生じないこと、このCa<sup>2+</sup>取り込み能力の低下に乳酸濃度の増加にともなうpHの低下が関与している可能性が示唆された。さらにヒラメ筋において、運動はCa<sup>2+</sup>-ATPaseのATPに対する親和性を高め、運動後のCa<sup>2+</sup>-ATPase活性の低下を阻止している可能性が示唆された。

研究課題3：一過性の低強度疲労困憊運動が筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力に与える影響

ラットに低強度(25ml/min, 傾斜10%)の運動を疲労困憊まで行わせ、筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力を測定した。さらに、Ca<sup>2+</sup>-ATPaseのATPとCa<sup>2+</sup>に対する親和性について検討した。その結果、長時間の疲労困憊運動後ヒラメ筋と外側広筋の表層部位・深層部位の筋小胞体Ca<sup>2+</sup>-ATPase活性が低下した。測定した全ての筋において筋小胞体膜に変化は生じていなかった。Ca<sup>2+</sup>-ATPaseのATPとCa<sup>2+</sup>に対する親和性に変化はなかった。以上の結果から、低強度・長時間の疲労困憊運動においても筋小胞体の膜に変化は生じないことが示唆された。また疲労困憊運動により、筋小胞体Ca<sup>2+</sup>取り込み能力は低下するが、高強度の運動と異なりATPとCa<sup>2+</sup>に対する親和性は変化しないことが明らかとなった。

研究課題4：持久性トレーニングによる筋小胞体Ca<sup>2+</sup>-ATPase活性の変化

小動物用トレッドミルにより5週齢時から10週間にわたって持久性トレーニングを行わせ、Ca<sup>2+</sup>-ATPase活性を測定した。さらにトレーニング終了後、一過性の疲労困憊運動も行い、トレーニングが疲労困憊運動後のCa<sup>2+</sup>-ATPase活性の変化に与える影響について検討した。その結果、持久性トレーニングによりヒラメ筋のCa<sup>2+</sup>-ATPase活性が低下したが、外側広筋深層部位では、変化は観察されなかった。トレーニング群のヒラメ筋では一過性の運動によるCa<sup>2+</sup>-ATPase活性の低下が抑制された。外側広筋深層部位では、非トレーニング群は運動1時間後からCa<sup>2+</sup>-ATPase活性が低下したが、トレーニング群では疲労困憊時にのみCa<sup>2+</sup>-ATPase活性の低下が観察された。以上の結果から、トレーニングによる筋小胞体Ca<sup>2+</sup>-ATPase活性の変化は筋により異なることが明らかとなった。さらに疲労困憊に至るような運動時、トレーニングした条件での遅筋型の筋線維は、筋小胞体のCa<sup>2+</sup>取り込み能力の低下が筋疲労の要因にならない可能性が示唆された。

#### 4. 結論

以上の実験結果をまとめると、筋収縮のタイプが異なると筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力に与える影響も異なり、筋損傷刺激では、筋小胞体の膜に変化が生じ、疲労困憊運動では、膜に変化は生じないがCa<sup>2+</sup>の取り組み能力を低下させることが明らかとなった。また疲労困憊運動であっても高強度ではCa<sup>2+</sup>-ATPaseのCa<sup>2+</sup>やATPに対する親和性が増加したのに対し、低強度ではこの変化は観察されなかったことから、強度の違いにより異なるCa<sup>2+</sup>調節メカニズムが機能していることが明らかとなった。また、トレーニングは遅筋型の筋にのみ適応が生じ、この適応により疲労困憊運動後のCa<sup>2+</sup>取り組み能力の低下が抑制される可能性が示唆された。

### 審査の結果の要旨

本論文は、様々な筋収縮活動によって細胞内Ca<sup>2+</sup>を制御・調節する筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力がどのように変化するかについて、筋小胞体膜のCa<sup>2+</sup>保持能力とCa<sup>2+</sup>取り込み能力から検討したものである。

著者は、筋小胞体の3つの能力(Ca<sup>2+</sup>放出能力、Ca<sup>2+</sup>保持能力、Ca<sup>2+</sup>取り込み能力)のうち細胞内のCa<sup>2+</sup>恒常性の維持に重要なCa<sup>2+</sup>保持能力と、Ca<sup>2+</sup>取り込み能力について着目し、検討した。実験1では、筋損傷誘発モデル

を用いて筋内Ca<sup>2+</sup>の恒常性の崩壊に筋小胞体が関与していること、またそれは筋小胞体の膜の障害によって引き起こされるということを明らかにした。このことは筋損傷の誘発メカニズムを明らかにする上で新しい知見を提示している。実験2, 3では、運動強度にかかわらず疲労困憊運動後に筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力が低下すること、そしてそれはCa<sup>2+</sup>の取り込み能力の低下によるものであることが明らかとなった。さらに、Ca<sup>2+</sup>-ATPaseのCa<sup>2+</sup>に対する親和性の変化は高強度運動の時にのみ生じることを示し、強度の違いによるCa<sup>2+</sup>調節メカニズムの存在を示唆した。また実験4では、トレーニングによる筋小胞体Ca<sup>2+</sup>-ATPase活性の変化は筋により異なることが明らかとなった。さらに、疲労困憊に至るような運動時、トレーニングした条件での遅筋型の筋線維は、筋小胞体のCa<sup>2+</sup>取り込み能力の低下が抑制されることが示唆された。以上のように、一過性の筋収縮は筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力を変化させるが、その変化は筋に与えられる刺激によって異なることが明らかとなった。またトレーニングを行った遅筋型の筋線維では筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力は筋疲労の要因にはならない可能性が示唆された。

審査の結果、実験1における筋小胞体膜の変化は、膜の損傷なのかあるいは透過性の変化なのかについて議論が行われた。また実験2および3において、筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力の低下を引き起こしたメカニズムを解明するために、より詳細な検討を行っていくようコメントがあった。さらに実験4に関して、10週間のトレーニングにより引き起こされた筋小胞体のCa<sup>2+</sup>調節能力の変化は、もっと短い期間のトレーニングでも生じうるのかどうかについて議論がなされた。

よって、著者は博士（体育科学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。