

氏名(本籍)	和田正信(岐阜県)
学位の種類	博士(体育科学)
学位記番号	博乙第1,118号
学位授与年月日	平成7年7月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
審査研究科	体育科学研究科
学位論文題目	筋細胞内のミオシタンパクの分布および持続的な運動によるその変化
主査	筑波大学教授 医学博士 浅野勝己
副査	筑波大学教授 医学博士 勝田茂
副査	筑波大学助教授 医学博士 宮本信也
副査	筑波大学教授 理学博士 平林民雄

論文の要旨

1. 目的

近年、ミオシン重鎖 (heavy chain ; HC) に加え、ミオシン軽鎖 (light chain ; LC) が今まで考えられてきたより大きく収縮特性に関与していることが指摘されるようになった。したがって、細胞内に分布するミオシンのアイソフォームから、収縮特性の変化を類推しようとする場合、HC はもとより LC についても詳細に検討する必要があると思われる。

そこで本研究では、骨格筋線維における HC および LC のアイソフォームの分布および持続的な運動に伴うそれらの変化について、5つの研究課題(実験Ⅰ～Ⅴ)を設定し、検討した。

2. 研究課題

- 1) 高強度・持久トレーニングによる筋線維組成およびミオシン軽鎖の変化(実験Ⅰ)
- 2) 協同筋切除によるミオシン重鎖および軽鎖の変化(実験Ⅱ)
- 3) ラットおよびラビットの単一筋線維におけるミオシン軽鎖の分布(実験Ⅲ)
- 4) ラビット単一筋線維におけるアイソミオシンの分布(実験Ⅳ)
- 5) ヒト骨格筋におけるミオシン重鎖と軽鎖の親和性(実験Ⅴ)

3. 研究結果

1) 研究課題1;実験Ⅰでは、高強度・持久トレーニングに伴うラット骨格筋における筋線維組成および LC の変化について検討することを目的として、Wistar 系雄ラットに16週間の持久トレーニングを負荷し、筋線維組成、LC のアイソフォームの分布について検討した。その結果①ヒラメ筋において、type I 線維の増加が観察された。②長指伸筋において、LC 3 f の減少が認められた。これらのことから、トレーニングによって特定の筋では速筋線維から遅筋線維へのタイプ移行が起こると、および速筋線維では fast alkali LC に変化が生じることが示された。

2) 研究課題2;実験Ⅱでは、持続的な運動による LC および HC のアイソフォームの変化を経時的に検討することを目的として、Wistar 系雄ラットを用い、一側のヒラメ筋および腓腹筋の抹梢側約半分を切断し、協同筋

の切除による足底筋の代償性肥大を生じさせた。この筋について LC および HC のアイソフォームの分布状態を検討した。その結果①slow type HC (HCI) および LC (LC 1 s および LC 2 s) は、どちらも術後 6 週目以降に増加が認められた。②fast type HC の中では、HCIIB が最も著しく、また早期に変化し、術後 2 週目に約 50% の減少が認められた。また、HCIIA は術後 4 週目以降に増加することが、HCIID は術後 2 週目と 8 週目のみに増加することが観察された。③電気泳動による HC の分画において未知のバンドが検出され、このバンドは術後 8 週目に減少した。④LC 1 f に対する LC 3 f の比は、術後 6 週目以降に減少することが認められた。収縮活動量の増加に対して、fast type 内での変化は LC より HC において早期に生じることが明らかになった。これは、HCIIB の減少が alkali LC の変化を促進しているとする推察を支持するものである。

3) 研究課題 3; 実験 III では、発現している HC によってタイプ分けされるラットおよびラビットの単一筋線維におけるミオシン LC の分布を検討することを目的とした。Wistar 系ラットおよび White New Zealand 系ラビットの長指伸筋を用いて、これらの単一筋線維に含まれる HC および LC の分布について検討した。その結果①ラットでは、fast alkali LC に対する LC 3 f の比は type IIB > type IID > type IIA の順で大きかった。②ラビットでは、fast alkali LC に対する LC 3 f の比は type IIA 線維に比べ type IID 線維において高い傾向にあった。③同一タイプの筋線維内においては、fast alkali LC に対する LC 3 f の比のレンジは大きく、異なるタイプの筋線維間ではかなりの部分にオーバーラップがみられた。これらの結果は、同タイプの単一筋線維において収縮特性が異なるのは、fast alkali LC の分布比率の違いに原因があるとする知見を支持するものである。また、収縮活動量の増加に伴う LC 3 f の減少は HC と LC の親和性と関連があるものと推察される。

4) 研究課題 4; 実験 IV では、PPi-PAGE によって分画されるアイソミオシンを正確に同定するとともに、SDS-PAGE によって得られた LC についてのデータが、生体内で機能しているものを反映しているかどうかを検討することを目的とした。White New Zealand 系ラビットの腰筋、長指伸筋、大内転筋について、単一筋線維に含まれる HC およびアイソミオシンの分布状態を検討した。その結果①PPi-PAGE における移動速度は、FMb > FMd > FMa の順で高いことが認められた。②長指伸筋の FMd と比べ腰筋の FMd の方が、ゲル上における移動速度が速いことが示された。③FM 1/FM 3 の比は、type IIB > type IID > type IIA の順で高いことが認められた。④同一筋線維タイプ内における FM 1 および FM 3 の分布には、比較的大きな偏差があることが認められた。以上のことから、PPi-PAGE により分画される 9 種類の fast type アイソミオシンが正確に同定されるとともに、SDS-PAGE から得られる LC についての定量的な結果は、少なくとも正常な速筋では細胞内で機能しているものを反映していることが示唆された。

5) 研究課題 5; 実験 V では、ヒト骨格筋における筋線維組成と LC の分布から、HC と LC の親和性について検討することを目的とした。22才~27才の健康な男子 6 名の外側広筋について、筋線維組成および LC の分布を検討した。その結果、①筋に占める type I 線維の面積比 (%type I area; X) と slow type LC (LC 1 s および LC 2 s) の比率 (Y) の間に正の相関関係が認められた。この直線は Y=X より下方に位置した。②%type II fiber area に対する %type IIA fiber area の比と fast alkali LC (LC 1 f および LC 3 f) に対する LC 1 f の比の間に正の相関が認められた。

4. 結論

本研究の結果から得られた結論は、以下に示す通りである。

1) 収縮活動量の増大によって type II 線維のサブグループのみならず、type II 線維から type I 線維への移行も起こるが、それは特定の筋では持久トレーニングによっても生じる。また、トレーニングは LC 3 f の減少も起こし、これが type II 線維内での収縮速度低減の原因の 1 つであると思われる。

2) ラット骨格筋では収縮活動量の増大に伴って、筋線維内の HC の分布は、HCIIB→HCIID→HCIIA の順で変化する。この変化において HCIIB→HCIID の移行は、HCIID→HCIIA の移行あるいは LC 3 f の減少より早期に

起こる。

3) ラットおよびラビット骨格筋では fast alkali LC に占める LC 3 f の分布は, type IIB>type IID>type IIA の順で, ヒトでは type IIB/D>type IIA の順で高く, fast alkali LC と fast type HC との間に特異的な親和性が存在するものと考えられる。

4) これまで知られているもの以外の未知の HC あるいは LC のアイソフォームが存在すると考えられる。

審 査 の 要 旨

本論文では骨格筋細胞内におけるミオシンタンパク, 特に HC および LC のアイソフォームの分布と, 持続的な運動に伴うそれらの変化について明らかにしようとするものである。著者はまず①高強度・持久トレーニングを行うと速筋線維から遅筋線維への移行がおり, fast alkali LC の減少を生じ, これが速筋線維内での収縮速度が低減する原因の1つであることを明らかにした。次に②協同筋の切除によって, 残された筋に収縮活動量の増加が起こると, 筋線維内の HC の分布は HCIIB→HCIID→HCIHA の順で変化し, fast type 内での変化は LC より HC において早期に生じることを明らかにした。また③ではラットおよびラビットを用いた実験から, 同タイプの単一筋線維でも収縮特性に差異があるのは, fast alkali LC の分布比率に違いがあるためであることを明らかにし, 収縮活動量の増加に伴う LC の減少は HC と LC の親和性と関連があること, さらに④前項のラットおよびラビットで認められた HC と LC の特異的な親和関係はヒトの骨格筋でも同様に存在するであろうことを示唆した。

未知のアイソフォームの可能性 (HCIIB'), LC の相対的分布比率の算出等について, やや説明が不足している点, またヒトにおいて部位の異なる筋の検討の必要性等若干の問題点も指摘されたが, 本研究の結果は骨格筋線維の特性を生化学的手法を用いてミクロ的な視点からとらえ, 持続的な運動によって筋線維はどのように変化していくのかの機構を明らかにした点が独創的であり高く評価できる。今後, 体育・スポーツの現場においても, トレーニング法, 運動パフォーマンスの改善のために生理学的根拠を与えるものとして, 体育科学に貢献できる意義を持つものと考えられる。

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。