

## 6章． 先天的な筋線維組成の差は発育の過程で生じているのか？（実験Ⅲ）

### 1． 目的

ラットの骨格筋線維の分化は生後3週間程度ではほぼ完了すると考えられている（Rubinstein and Kelly 1981）．この分化終了後も筋線維組成に変化がみられる．例えば，ヒラメ筋では3週齢以降の%type I線維の増加が報告されている（石原ら 1984, Kugelberg 1976, Smith et al. 1988）．また，石原ら（1984）は腓腹筋深層部で4週齢までFG線維が減少してSO線維が増加することを示している．

実験Ⅰにおいて，type II線維方向への選択交配によりラットの9週齢時の腓腹筋外側頭深層部およびヒラメ筋の%type II線維が変化した．腓腹筋外側頭深層部もヒラメ筋も上述の通り発育にともなって筋線維組成が変化することが知られている．選択交配によって遺伝的に生じたtype II線維優位の表現型が生じるメカニズムを考えると、この表現型が筋線維の分化の終了した時点で既に生じているのか、それとも分化終了後の発育にともなう変化の程度の差によって生じていくのかは興味深い問題である．

本実験では，type II線維優位の表現型が生じるメカニズムを探るための手がかりを得るため，FFDR群とcontrol群の筋線維構成比の3週齢以降の変化を追い，両群間の筋線維組成の差が筋線維の分化終了時に既に生じているのか，それともその後の発育にともなう変化により生じるのかについて検討することとした．

## 2. 方法

### (1) 被検動物

被検動物には，実験Iにおいてランダム交配によって得られたcontrol群（雄，n=28）と選択交配によって得られたFFDR（Fast-Twitch Fiber Dominant Rat）群（雄，n=28）を用いた．全てのラットは3週齢時の体重が35-50gであった．飼育は12時間サイクルの照明下，温度 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，湿度 $60\pm 5\%$ に常時維持された飼育室において，オガクズを敷いたプラスチックのケース（夏目製作所製，ポリカーボネイトラットケージKN-602，35cm×30cm×17cmで行った．水と飼料（オリエンタル酵母工業製，実験動物用固形飼料MF）は自由摂取とした．

### (2) 解剖と組織化学的分析

生後3，6，9，12の各週齢時にcontrol群，FFDR群とも7匹ずつ抽出し，解剖を行った．解剖はペントバルビタールオーバードース（80 mg/kg body wt ip）で行った．被検筋は腓腹筋およびヒラメ筋とした．摘出された筋は厚さ数mmに横断し，クリオスタット（ブライト社製 OT-FAS）により厚さ10 $\mu\text{m}$ の連続横断切片を作成した．これらの切片に，Gollnickら（1983）の方法によりMyosin ATPase染色（preincubation pH 10.3, 4.6, 4.3）を施し，得られた標本の顕微鏡写真からBrookeとKaiser（1970）の方法に従ってtype I, type IIC, type IIA, type IIB線維に分類した．なお，腓腹筋は外側頭深層部を分析部位として250本以上を，ヒラメ筋は500本を分析に用いた．

### (3) 統計的検討

体重，腓腹筋およびヒラメ筋の筋線維構成比について，各週齢での control群とFFDR群の間で，さらに筋線維構成比については群ごとの各週齢間についても平均値の差の検定を行った．検定の方法は，2元配置の分散分析（群×週齢）により有意差が認められた場合に Scheffe's post-hoc testを用いた．有意水準は5%とした．

### 3. 結果

#### (1) 体重

図9に体重の変化を示した．どの週齢においても control群とFFDR群の間に有意な差は認められなかった．

#### (2) 筋線維構成比

図10に腓腹筋の筋線維構成比を示した．%type I線維および%type IIA+IIB線維とも，control群では3週齢と12週齢の間に有意な差が認められたがFFDR群では有意な差は認められなかった．また，3，6週齢では control群とFFDR群の間に有意な差なみられなかったが，9，12週齢では有意な差が認められた．%type IIC線維については有意な差は認められなかった．

図11にヒラメ筋の筋線維構成比を示した．%type I線維は両群とも発育にともない9週齢まで増加していき，逆に%type IIA線維は9週齢まで減少していった．また，3，6週齢では control群とFFDR群の間に有意な差なみられなかったが，9，12週齢では有意な差が認められた．%type IIC線維については有意な差が認められなかった．

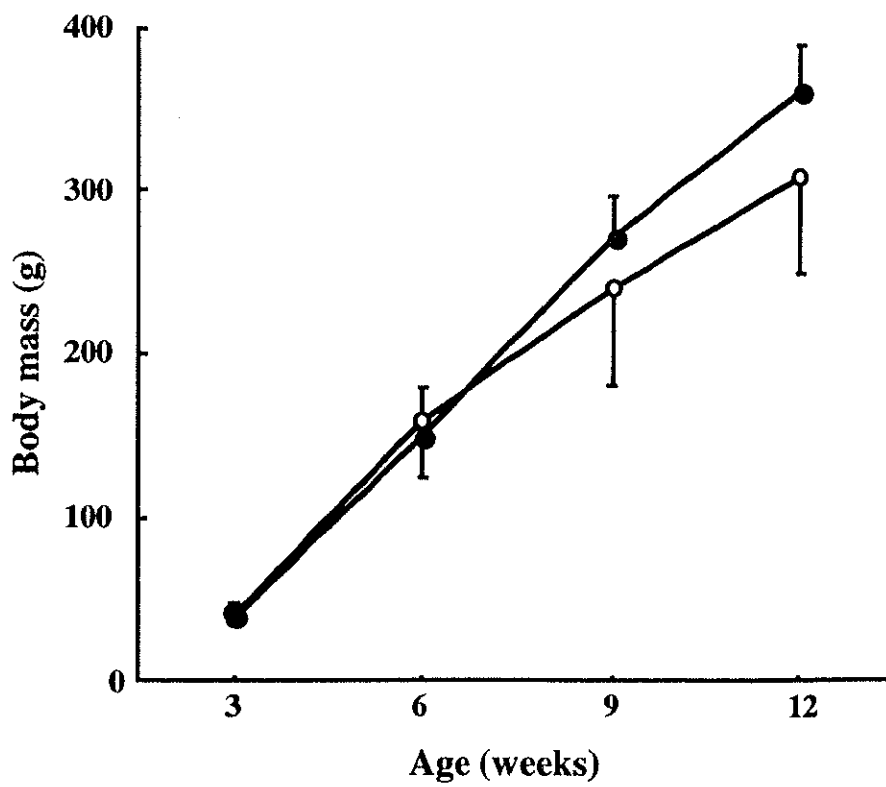


Figure 9. Changes in body mass in the control group (filled circles) and the selected group (open circles) with age. Values are means $\pm$ SD.

*M. Gastrocnemius*

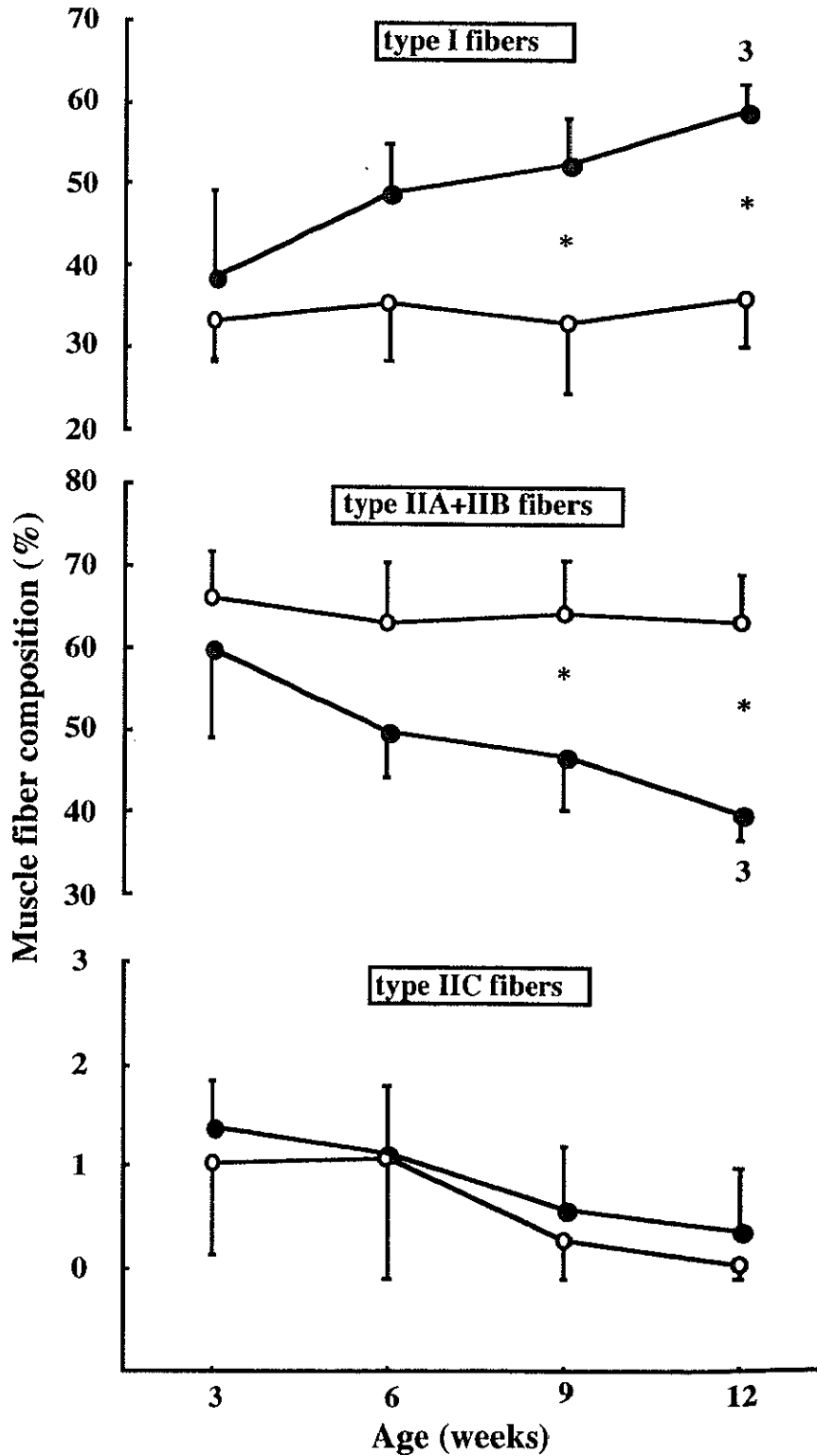


Figure 10. Changes in %type I, %type IIA+IIB, and %type IIC fibers of gastrocnemius muscle in the control group (filled circles) and the selected group (open circles) with age. Values are means±SD. \*: Significantly different from control group (P<0.05). 3: Significantly different from 3 weeks age (P<0.05).

*M. Soleus*

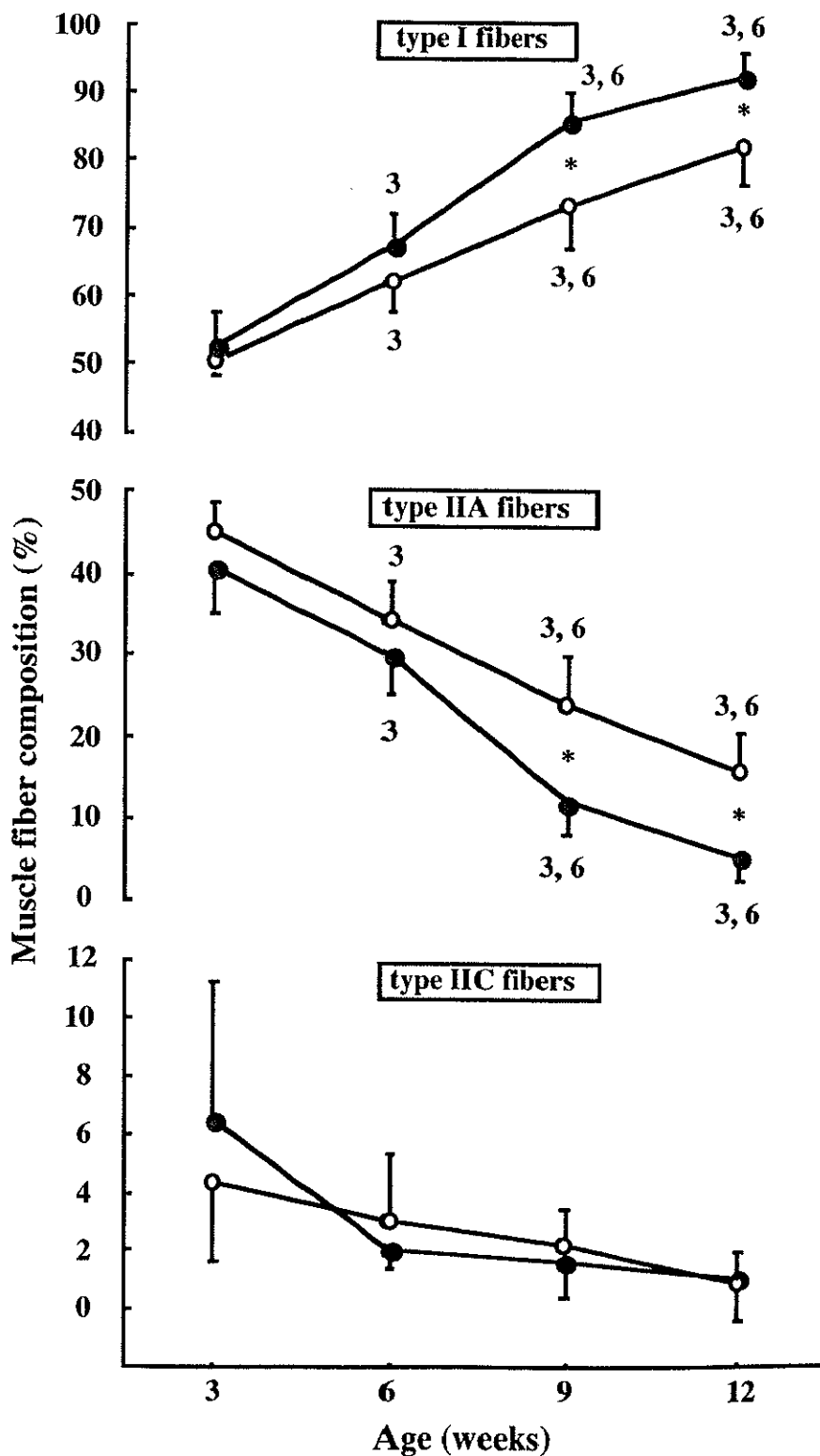


Figure 11. Changes in %type I, %type IIA, and %type IIC fibers of soleus muscle in the control group (filled circles) and the selected group (open circles) with age. Values are means±SD. \*: Significantly different from control group (P<0.05). 3: Significantly different from 3 weeks age (P<0.05). 6: Significantly different from 3 weeks age (P<0.05).

#### 4. 考察

ラットの骨格筋は出生時には筋線維への分化過程の形態である筋管が観察され、未分化なtype IIC線維のみによって構成されている (Okada et al. 1984) . 骨格筋線維は3週齢で分化をほぼ完了すると考えられている (Rubinstein and Kelly 1981) . しかし、筋線維組成は3週齢以降も発育にともなって変化する (石原ら 1984, Kugelberg 1976, Smith et al. 1988) . 本研究では、腓腹筋においてcontrol群は発育にともなう変化がみられたが、FFDR群では3週齢から12週齢にかけての変化は観察されなかった (図10) . さらに、3, 6週齢ではcontrol群とFFDR群の間の%type I線維と%type IIA+IIB線維に差がみられなかったが、9, 12週齢では有意な差が生じていた (図10) . また、ヒラメ筋の%type I線維と%type IIA線維においても、3, 6週齢ではcontrol群とFFDR群の間に差がみられなかったが、9, 12週齢では有意な差が生じていた (図11) . これらの結果は、先天的な筋線維組成の差は筋線維の分化終了後の発育にともなう変化の程度の差によって生じることを示唆する. おそらく、control群とFFDR群の筋線維組成の差が筋線維の分化終了後の発育期に生じていくように遺伝的にプログラムされているのではないかと推測される.

発育にともなう筋線維組成の変化を引き起こす因子は不明である. おそらく、筋線維組成に影響をおよぼすと考えられる体液性の因子 (Ianuzzo et al. 1977, Fitts et al. 1980) , 神経性の因子 (Dhoot and Perry 1983, Girlanda et al. 1982) , あるいは自発的活動 (Wernig et al. 1990) などの変化が発育期に生じ、それにもともなって筋線維組成も変化するであろう. 実際、Ishiharaら (1991) は、ラットの4週齢時の自発走距離が1194m/dayであったのに対し、10週齢時では3168m/dayにまで増加してい

たことを報告している。おそらく，control群とFFDR群では，このような筋線維組成に影響をおよぼすような因子の発育期の変化が異なるように遺伝的にプログラムされているのであろう。

ヒトにおいても，ヒラメ筋の%type I線維が発育にともない増加するが（Elder and Kakulas 1993），本研究でみられた現象がヒトにおいても起きているならば，本研究はヒトにおける筋線維組成の個人差を生じさせるメカニズムを解く手がかりとなるかもしれない。

結論として，control群とFFDR群の腓腹筋およびヒラメ筋の筋線維組成の発育期の変化について検討したところ，ラットの腓腹筋とヒラメ筋の筋線維組成の差は筋線維の分化終了後の発育にともなう変化の程度の差によって生じることが示唆された。おそらく，筋線維組成の個体差は筋線維の分化終了後の発育期に生じていくように遺伝的にプログラムされているのではないかと推測される。

## 5. 要約

type II線維優位の表現型が生じるメカニズムを探るための手がかりを得るため，FFDR群とcontrol群の筋線維構成比の3週齢以降の変化を追い，両群間の筋線維組成の差が筋線維の分化終了時に既に生じているのか，それともその後の発育にともなう変化により生じるのかについて検討した。得られた結果は以下の通りである。

- (1) 腓腹筋，ヒラメ筋とも3週齢および6週齢ではFFDR群とcontrol群の間に筋線維構成比の差は認められなかった。
- (2) 腓腹筋，ヒラメ筋とも9週齢および12週齢ではFFDR群とcontrol群の筋線維構成比に有意な差が認められた。



(3) 腓腹筋では，control群においては発育にともなって%type I線維の増加と%type IIA+IIB線維の減少が観察されたが，FFDR群では発育にともなう筋線維構成比の変化は認められなかった。

以上の結果から，FFDR群とcontrol群の腓腹筋とヒラメ筋の筋線維組成の差は筋線維の分化終了後の発育にともなう変化の程度の差によって生じることが明らかとなった。