7章．自発的活動量と先天的な筋線維組成の差の関係（実験Ⅳ）

1．目的

骨格筋線維組成は活動量の増加にともない遅筋方向へ，活動量の減少にともない速筋方向へ変化していくと考えられている（Andersen and Schiaffino 1997）．これまで，高強度持久性トレーニング（Howald et al. 1985），スプリントトレーニング（Cadefau et al. 1990, Linossier et al. 1993），レジスタンストレーニング（Sale et al. 1990）によって%type I線維が増加したことが報告されている．一方，長期の不活動や宇宙飛行により抗重力負荷が消失することにより%type I線維が減少する（Edgerton et al. 1995, Häggmark et al. 1986）．自発的活動も筋線維組成を変化させる可能性がある．Wernigら（1990）は，マウスに回転車輪ケージによる自発走を行わせたところヒラメ筋の%type I線維が75%から90%にまで増加したことを報告している．

これまでの実験から，FFDR群の腓腹筋とヒラメ筋の筋線維組成はcontrol群に比べてtype II線維優位であることが確認されているが，この表現型が引き起こされるメカニズムは今のところ不明である．筋線維組成に影響をおよぼす因子はいくつか考えられるが，type II線維優位の表現型を引き起こすメカニズムを明らかにするためには活動量についても検討しておく必要性があると考えられる．

本研究では，control群とFFDR群の自発的活動量に差があるかどうかを検討することを目的とし，回転車輪ケージにより走行距離を測定することとした．

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=7）と選択交配によって得られたFFDR（Fast-Twitch Fiber Dominant Rat）群（雄，n=7）を用いた．全てのラットは4週齢時に体重が70-85 gの範囲とした．飼育は12時間サイクルの照明下，温度22±2℃，湿度60±5%に常時維持された飼育室において，回転車輪付ケージ（シナノ製作所，車輪周囲径1m）に1匹づつ飼育した．走行距離は毎日記録した．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．また，1週間に一度づつ体重を測定した．

（2）解剖と組織化学的分析

回転車輪ケージでの飼育を5週間行った後，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10μm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，typeIIC，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1000本以上を，ヒラメ筋は数えられる全ての筋線維を分析に用いて筋線維構成比を求めた．

(3) 統計処理

体重と走距離については，2元配置の分散分析（群×世代）により有意差が認められた場合にScheffe's post-hoc testを用いて平均値の差の検定を行った．有意水準は5%とした．また，各筋線維タイプの割合について，control群とFFDR群の平均値の差の検定を行った．方法は，F検定により等分散性が確認されたとき，対応のないt検定を用いて差を検定した．有意水準は5%とした．

3．結果

(1) 体重

図12に体重の変化を示した．全ての週齢において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13に腓腹筋およびヒラメ筋の筋線維構成比を示した．腓腹筋ではFFDR群がcontrol群に対して%type I線維が有意に低値を，%type IIB線維が有意に高値を示した．ヒラメ筋ではFFDR群がcontrol群に対して%type I線維が有意に低値を，%type IIA線維が有意に高値を示した．

(3) 走行距離

図14に各週の走行距離の変化を示した．第4週まではFFDR群とcontrol群の間に差は認められなかったが，第5週目ではFFDR群がcontrol群に対して有意に高値を示した．

図15に一週間毎の累積走行距離を示した．第5週目までの走行距離，

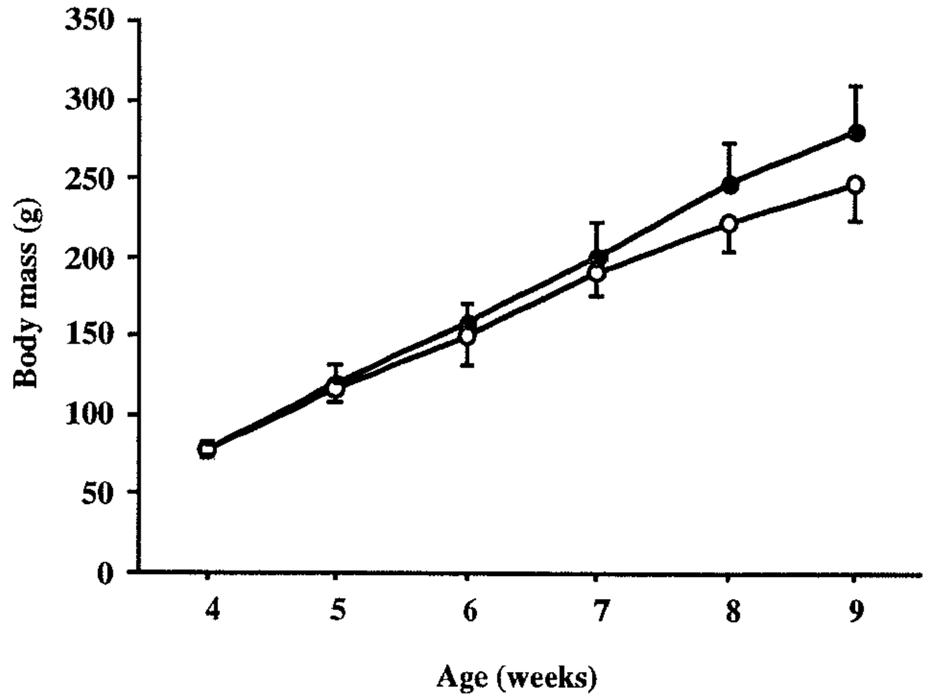

Figure 12. Changes in body mass in the control (filled circles) and the FFDR group (open circles) with age. Values are means±SD.

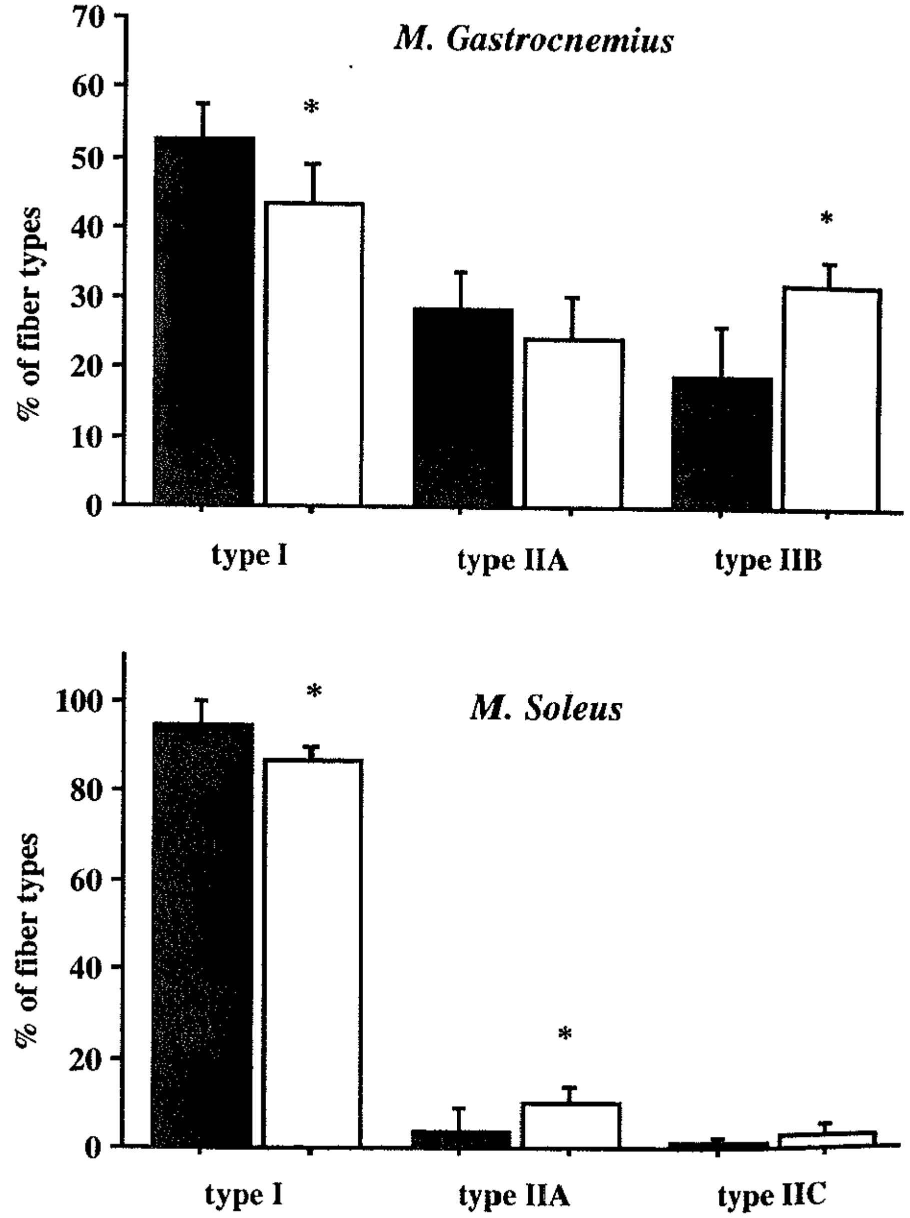

Figure 13. Muscle fiber composition in the control (filled bars) and FFDR (open bars) groups. Values are means±SD. *: Significantly different from control group ($P<0.05$).

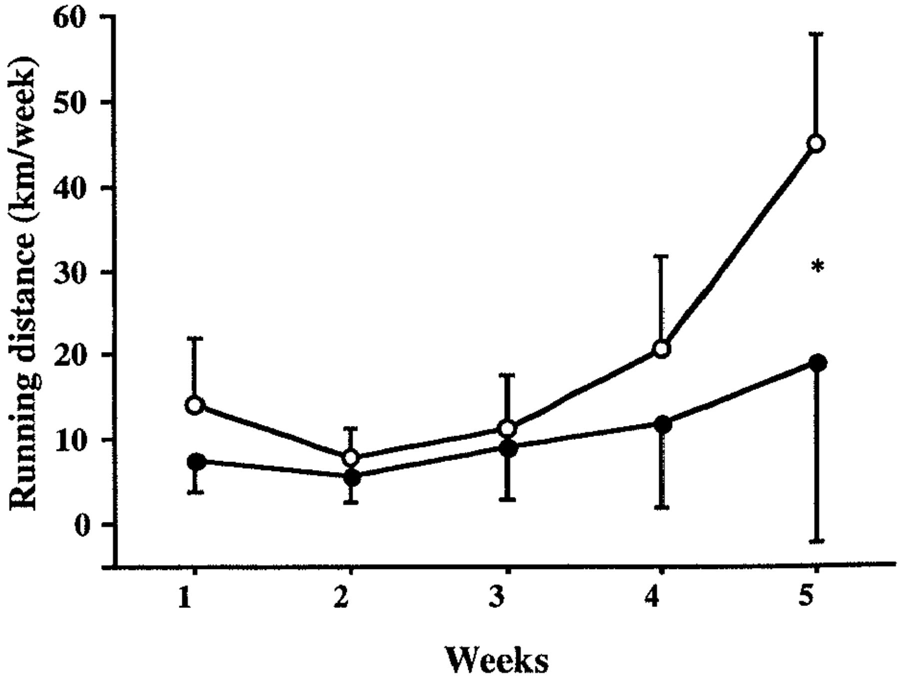

Figure 14. Weekly progression of voluntary running activity for control (filled circles) and FFDR (open circles) groups. Values are means±SD. *: Significantly different between control and FFDR group (P<0.05).

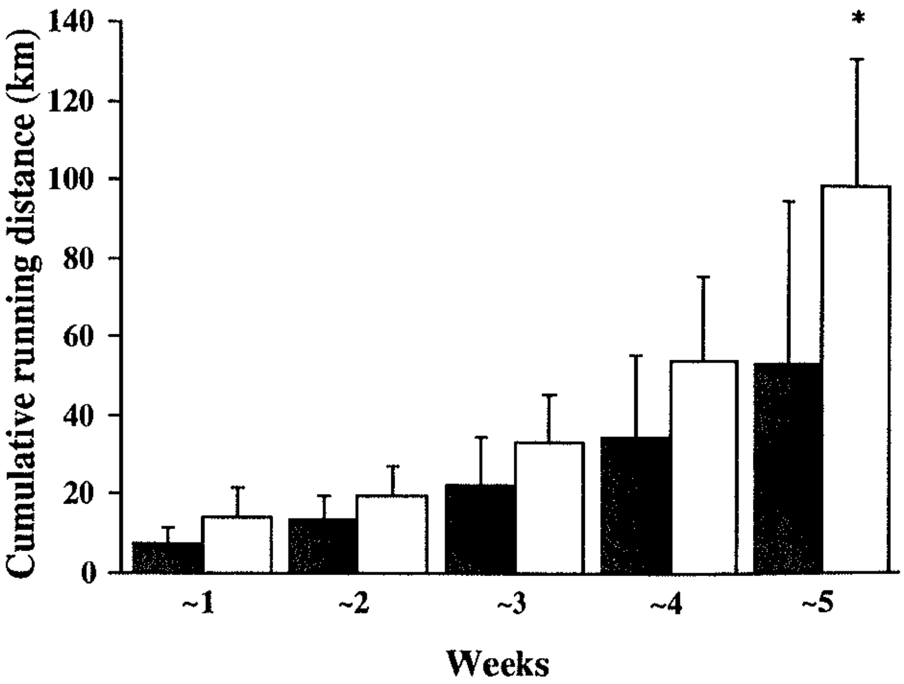

Figure 15. Cumulative running distance of the control (filled bars) and FFDR (open bars) groups. Values are means±SD. *: Significantly different from control group ($P<0.05$).

すなわち総走行距離において，FFDR群がcontrol群に対して有意に高値を示した．

4．考察

筋線維組成に影響をおよぼす因子の一つとして，活動量があげられる．トレーニングやマウスの自発的活動の増加により%type I線維が増加するというという報告（Andersen and Schiaffino 1997, Wernig et al. 1990）や，長期の不活動や宇宙飛行による抗重力負荷の消失により%type I線維が減少するという報告（Edgerton et al. 1995）がなされている．これらの報告から，一般に活動量の増加は遅筋線維方向への，活動量の増加は速筋線維方向への移行を生じさせると考えられている．これまでの実験からFFDR群の腓腹筋およびヒラメ筋の%type I線維はcontrol群と比較して低いことが明らかとなっているが，このことはFFDR群が遺伝的に活動量が低くなるようプログラムされており，それにともなって%type I線維が低いのではないかという仮説を生じさせる．

本研究では，4週齢時から9週齢時までの5週間にかけてcontrol群とFFDR群のラットを回転車輪付ケージで飼育し，その走行距離を記録した．筋線維構成比については，これまでの実験と同様に腓腹筋ではFFDR群の方が%type I線維が低値を，%type IIB線維が高値を示し，ヒラメ筋ではFFDR群の方が%type I線維が低値を，%type IIA線維が高値を示した（図13）．一方，走行距離は8-9週齢にかけて，および総走行距離においてFFDR群の方が意外にも有意に高値を示した（図14，15）．

本研究の結果は，走行距離が少ないほど%type II線維が多いのではないかという仮説に反するものである．これまでの先行研究では，活動量

の増加はtype I線維方向への変化を引き起こすことが示されていることから，FFDR群の速筋線維優位の表現型が走行距離の多さによって引き起こされているとは考えがたい．それでは，このような現象はなぜ生じたのであろうか．Aboudrarら（1993）は，後肢懸垂ラットの副腎を摘出するかグルココルチコイドホルモンの遮断剤を投与したところ，後肢懸垂による速筋化が抑制されたことを報告しており，グルココルチコイドホルモンが筋線維組成に影響をおよぼす可能性がある．一方，Leshner（1971）はラットの副腎摘除により自発走距離が減少したが，副腎摘除ラットにグルココルチコイドホルモンを投与することによって走行距離が回復したと報告している．これらの報告から，グルココルチコイドホルモンの血中濃度や感受性の差がFFDR群とcontrol群の間に存在し，これにより筋線維組成や自発的走行距離の差が生じている可能性がある．この問題については，FFDR群とcontrol群のグルココルチコイドホルモンの差について検討することにより明らかになると思われる。

結論として，活動量の差が先天的な筋線維組成の差を引き起こしているかどうかについて検討するため，FFDR群とcontrol群のラットの自発走距離を測定した．その結果，仮説に反し，FFDR群が走行距離が多かった．おそらく，先天的な筋線維組成の差と自発的活動量には直接的関係はないと思われる．本実験で得られた結果を生じさせているメカニズムは不明だが，グルココルチコイドホルモンの影響によるものである可能性が考えられる．

5．要約

活動量の違いがFFDR群のtype II線維優位の表現型を引き起こしていの

るかについて検討するため，FFDR群とcontrol群のラットの筋線維構成比と自発走距離を測定した．得られた結果は以下の通りである．

(1) 腓腹筋ではFFDR群の%type I線維がcontrol群と比較して低値を，%type IIB線維が高値を示した．ヒラメ筋ではFFDR群の%type I線維がcontrol群と比較して低値を，%type IIA線維が高値を示した．

(2) 8-9週齢にかけての1週間の走行距離および総走行距離はFFDR群が有意に高値を示した．

以上の結果から，先天的な筋線維組成の差と自発的活動量の間には直接的な関係が存在しないことが示唆された．