

8章．先天的な筋線維組成の差と血中甲状腺ホルモン濃度との関連性（実験V）

1．目的

体液性の因子は筋線維組成に影響を与える可能性がある。その中で、特に甲状腺ホルモンについては数多くの報告がなされており、甲状腺ホルモンが筋線維組成やミオシン重鎖組成に影響をおよぼしていることについては一致した見解が得られている。甲状腺ホルモンのひとつであるトリヨードチロニン（T3）は核受容体と結合してミオシン重鎖遺伝子に直接的に作用するか、もしくはミオシン重鎖の転写因子であるMyoDやMyogeninを介してミオシン重鎖遺伝子に作用し、転写レベルでミオシン重鎖の発現を制御する（Caiozzo and Haddad 1996）。実際、Ianuzzoら（1977）はラットの甲状腺除去によりヒラメ筋のtype II線維の割合の減少やT3投与による増加を観察している。また、Fittsら（1980）はラットにT3およびサイロキシシン（T4）を含んだ食事を与えたところ、ヒラメ筋のtype IIC線維とtype IIA線維の増加を観察している。これらの報告から、実験Iでみられた選択交配による%type II線維の増加が、血中甲状腺ホルモン濃度の増加によって引き起こされている可能性が生じてくる。

NwoyeとMommaerts（1981）は、速筋である長指伸筋がヒラメ筋のような遅筋より甲状腺ホルモンの影響を受けにくいのではないかと述べている。また、Fitzsimonsら（1990）はラットのT3レベルの変化にともないヒラメ筋や腓腹筋内側頭赤色部位のミオシン組成が変化したが腓腹筋内側頭白色部位では変化がないことや、T3投与によりヒラメ筋ではtype

IIA型のミオシン重鎖が増加し腓腹筋内側頭赤色部位では減少していたことを示し、筋の部位や速筋、遅筋によってT3感受性に差があることが示唆された。これらの報告は、速筋ではcontrol群とFFDR群で差がみられなかった実験IIの結果と一致している。

しかし、以上の様な筋線維組成やミオシン重鎖組成と甲状腺ホルモンの関係についての報告は、甲状腺除去や抗甲状腺薬の投与により甲状腺ホルモンをほとんど枯渇させるか、あるいは甲状腺ホルモンを投与して甲状腺ホルモン濃度を異常なほど高めたりするなど、非生理的条件下で行われた実験によりものであり、生理的条件下での甲状腺ホルモン濃度の差と筋線維組成の関係は不明である。

本研究の目的は、選択交配によって得られた、いくつかの筋の%type II線維が高いFFDR群とランダム交配によって得られたcontrol群を比較することにより、先天的な筋線維組成の差と血清T3濃度の関係について検討することである。

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7匹雌7匹）と選択交配によって得られたFFDR群（雄5匹雌5匹）を用いた。全てのラットは9週齢であった。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、 $35\text{cm}\times 30\text{cm}\times 17\text{cm}$ 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

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、ヒラメ筋、長指伸筋、中間広筋、腹直筋、上腕二頭筋とした。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 μ mの連続横断切片を作成した。これらの切片にPadykulaとHerman (1955) の方法によりMyosin ATPase染色 preincubation pH10.3を施し、得られた標本よりtype I線維およびtype II線維に分類し (Gollnick et al. 1972) , %type II線維を算出した。なお、腓腹筋については外側頭深層部を、上腕二頭筋は深層部を、それ以外の筋は中層部を分析部位とし、腓腹筋は250本以上、ヒラメ筋は500本以上、中間広筋と上腕二頭筋と腹直筋は300本以上、長指伸筋は1000本以上を分析部位とした。

(3) 血清甲状腺ホルモン濃度測定

解剖を行う直前に麻酔下で心臓より血液を採取し遠心分離 (3000rpm, 10min) して血清サンプルを得た。得られたサンプルよりラジオイムノアッセイキット (T3 RIA kit III, Dainabot Co. Ltd., Chiba, Japan) を用いて総T3濃度を測定した。なお、採血は明期開始後30分以内に行った。

(4) 統計処理

各筋の%type II線維について、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

表3に2群の体重を示した。雄雌とも両群間に有意な差は認められなかった。

(2) 筋線維組成

図16に各筋の筋線維組成を示した。腓腹筋，ヒラメ筋，中間広筋，上腕二頭筋の%type II線維はcontrol群に比べてFFDR群が有意に高値を示した。一方，腹直筋と長指伸筋では有意な差は認められなかった。

(3) 血清総T3濃度

図17に血清総T3濃度を示した。両群間に有意な差は認められなかった。

4. 考察

本研究では，総T3濃度のみを測定した。主要な甲状腺ホルモンはT3とT4である。これらは血中では蛋白結合型か遊離型で存在し，生理的活性を持つのは遊離型である。筋核内に取り込まれてミオシン重鎖遺伝子の転写制御を行うのはT3のみであり（Caiozzo and Haddad, 1996），また，総T3濃度と遊離T3濃度は非常に高い相関関係にあることから（Eales and Shostak 1985），本研究では総T3濃度を測定した。

筋線維組成は甲状腺ホルモンの影響を受ける（Fitts et al. 1980, Ianuzzo et al. 1977）。これらの変化は甲状腺ホルモン濃度を非生理的に変化させた結果生じたものである。一方，本研究では生理的な条件下でホルモ

Table 3. Body mass of the control and FFDR groups.

group	body mass (g)	
	males	females
control	273.1 ± 25.0	178.0 ± 17.6
FFDR	259.8 ± 61.6	157.4 ± 32.8

Data are expressed as means ± SD.

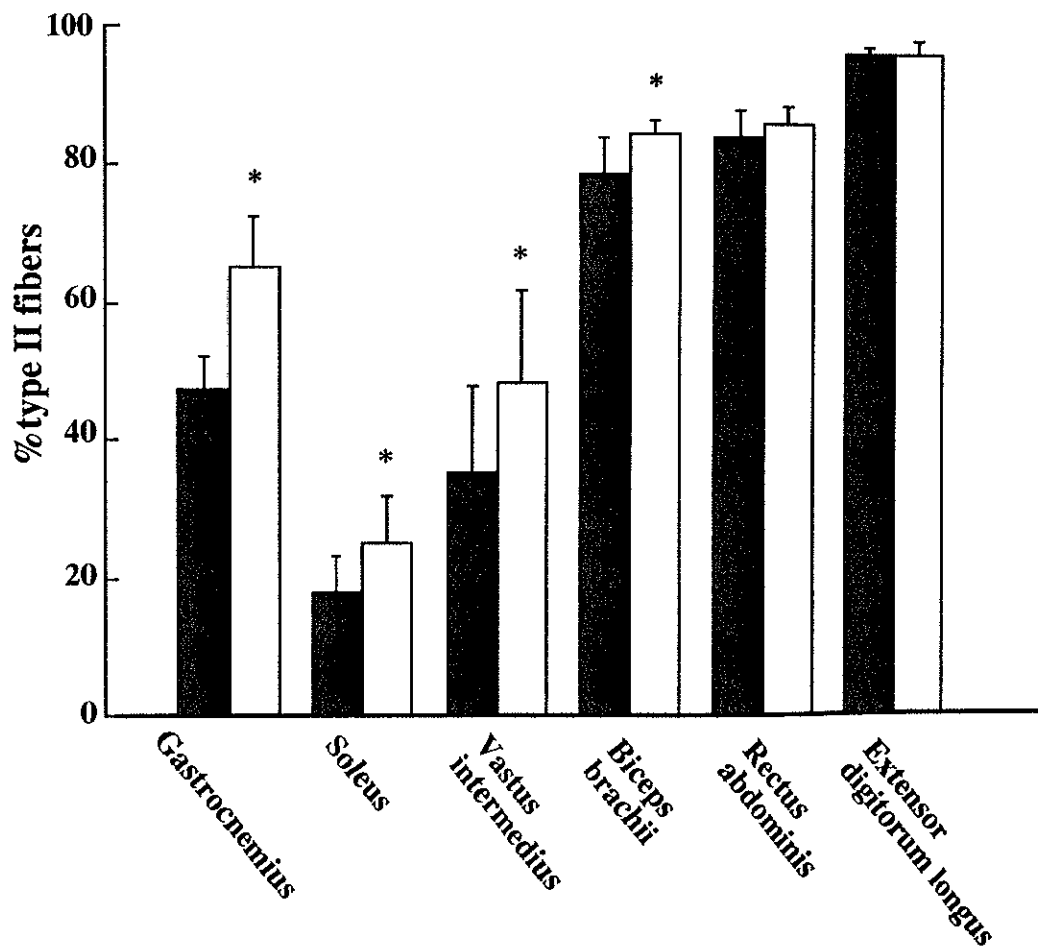


Figure 16. Percentage of type II fibers in the control (filled bars) and FFDR (open bars) groups. Each bar represents mean \pm SD. *: P < 0.05 compared with the control group.

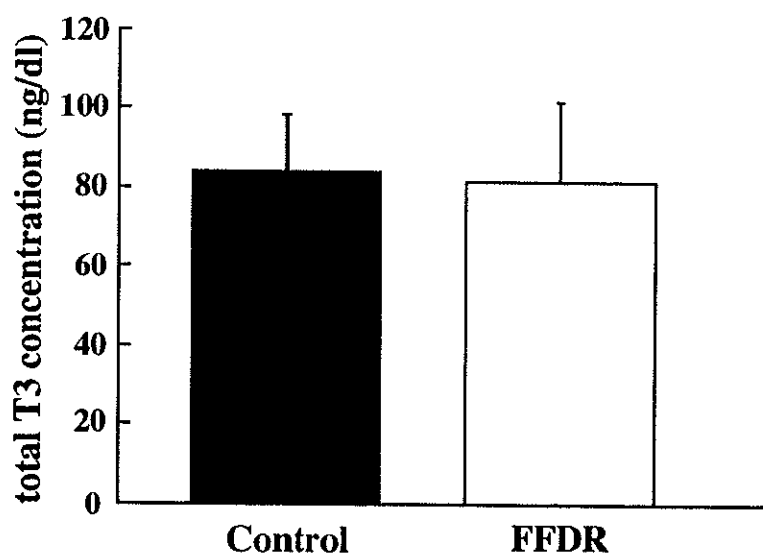


Figure 17. Total T3 levels in the control and FFDR groups. Each bar represents mean \pm SD.

ン濃度測定を行ったが、両群間に有意な差は認められず（図17）、血中甲状腺ホルモン濃度と筋線維組成とは無関係であることが示唆された。つまり、甲状腺ホルモン濃度の差が遺伝的にプログラムされていることによって筋線維組成の差が生じているわけではないということである。しかし、本実験では、筋のT3感受性やT3受容体の数については検討を行っていない。これらの違いが筋線維組成の差を引き起こしていた可能性が考えられる。Swoapら（1994）は、T3受容体タンパクの減少にともなう心筋ミオシン重鎖組成の変化を観察している。

本実験により、先天的な筋線維組成の差と血清甲状腺ホルモン濃度が無関係であることが示された。先に述べたように、この筋線維組成の差を引き起こしている原因として一つに筋のT3感受性やT3受容体の数の可能性が考えられるが、それ以外にはどのようなものがあるだろうか。それには、甲状腺ホルモン以外の他の体液性の因子、例えば成長ホルモン（Ayling et al. 1989）、アドレナリン（Zeman et al. 1988）、グルココルチコイドホルモン（Abouddrar et al. 1993）などがあげられる。また、神経性の因子（Dhoot and Perry 1983, Girnanda et al. 1982）や活動量（Wernig et al. 1990）なども考えられる。今後はこれらの可能性について検討していく必要がある。

結論として、選択交配によって得られた%type II線維が高いFFDR群とランダム交配によって得られたcontrol群を比較することにより、先天的な筋線維組成の差と血清T3濃度は無関係であることが示された。この先天的な筋線維組成の差は甲状腺ホルモン濃度以外の因子によって引き起こされている可能性が示唆された。

5. 要約

先天的な筋線維組成の差が、筋線維組成に強く影響をおよぼすことが知られている血中甲状腺ホルモン濃度の差によって引き起こされているのかについて検討することを目的として、選択交配によって得られた%type II線維が高いFFDR群とランダム交配によって得られたcontrol群の筋線維組成と血清総T3濃度を比較した。得られた結果は以下の通りである。

- (1) FFDR群の腓腹筋，ヒラメ筋，中間広筋，上腕二頭筋の%type II線維はcontrol群に対して有意に高値を示した。
- (2) 腹直筋と長指伸筋の%type II線維については，FFDR群とcontrol群とで有意な差は認められなかった。
- (3) 血清総T3濃度にはFFDR群とcontrol群との間に有意な差は認められなかった。

以上のことから，先天的な筋線維組成の差と血中甲状腺ホルモン濃度には関連性が存在しないことが示唆された。