

X線回折による遠心性収縮後の微細構造変化の検出 Fine structural change from eccentric contraction detected by X-ray diffraction

中原直哉^{1,*}, 平野和宏^{1,2}, 山内秀樹³, 平塚理恵⁴, 山口眞紀¹, 渡辺賢⁵, 石田行知⁶, 大野哲生¹,
木下一雄⁷, 木村雅子⁸, 竹森重¹

¹東京慈恵会医科大学・分子生理学講座 〒105-8461 港区西新橋 3-25-8

²東京慈恵会医科大学附属第3病院・リハビリテーション科, 〒201-8601 狛江市和泉本町 4-11-1

³東京慈恵会医科大学・分子生理学講座・体力医学研究室 〒182-0022 調布市国領町 8-3-1

⁴東京慈恵会医科大学・自然科学・生物研 〒182-0022 調布市国領町 8-3-1

⁵首都大学東京・人間健康科学研究科 〒116-8551 荒川区東尾久 7-2-10

⁶文京学院大学・保健医療技術学部 〒356-8533 ふじみ野市亀久保 1196

⁷東京慈恵会医科大学附属柏病院・リハビリテーション科 〒277-8567 柏市柏下 163-1

⁸女子栄養大学・栄養学部・統合生理学 〒350-0288 坂戸市千代田 3-9-21

Naoya Nakahara^{1,*}, Kazuhiro Hirano^{1,2}, Hideki Yamauchi³, Rie Hiratsuka⁴,

Maki Yamaguchi¹, Masaru Watanabe⁵, Yukisato Ishida⁶, Testuo Ohno¹,

Kazuo Kinoshita⁷, Masako Kimura⁸, Shigeru Takemori¹

¹Jikei Univ. Sch. Med. Dept. Molecular Physiol., Minato-ku, 105-8461, Japan

²Jikei Univ. Sch. Med. Daisan Hospital, Komae, 206-8601, Japan

³Jikei Univ. Sch. Med. Dept. Mol. Physiol. Physical Fitness Lab, Choufu, 182-0022, Japan

⁴Jikei Univ. Sch. Med. Division of Biology, Dept. of Natural Science, Choufu, 182-0022, Japan

⁵Tokyo Metropolitan Univ. Fac. Health Sci., Arakawa-ku, 116-8551, Japan

⁶Bunkyo Gakuin Univ. Fac. Health Sci. Tech., Fujimino, 356-8533, Japan

⁷Jikei Univ. Sch. Med. Kashiwa Hospital, Kashiwa, 277-8567, Japan

⁸Kagawa Nutrition Univ. Dept. Integrative Physiol., Sakado, 350-0288, Japan

1 背景

骨格筋の収縮には遠心性収縮、等尺性収縮、求心性収縮がある。重いものをゆっくりと机の上に置くときに使われるのが遠心性収縮で、短縮しようとする筋節が無理に引き伸ばされる為に筋節構造内の力支持装置に大きな力学的負荷を掛け、筋節構造に微細損傷を起こすことになる。この損傷は強く起これば遅発性筋痛や肉離れなどの筋損傷の原因となるが、弱く起これば筋力増強・筋肥大の刺激源となることが報告されてきている。

ここで、遠心性収縮による筋節構造内の力学的微細損傷が強さ依存的にどのように異なることが一方では筋損傷というネガティブな、他方では筋肥大へのポジティブな変化をトリガするのかわかることは、筋損傷の予防や筋肥大の促進機序解明に必須である。

遠心性収縮による筋節構造内の変化を確認するには標本調製の時点で、固定などによる変化がないことは必須要件である。さらにネガティブな効果を抑えてポジティブな効果だけを残す方略を探るには、実験的に観察された微細構造変化を抑制する細胞内外の環境を検索することは、加齢や病床臥床による

筋力低下に対する効果的で安全なトレーニングの開発のために大切である。これらの要請を満たす標本がスキンド骨格筋標本である。これは細胞膜を除去した筋標本であるが、筋節構造を保ちつつ、細胞膜に阻まれることなく細胞内環境を自由にコントロールできる標本であるからである。

今回はまず、遠心性収縮(ECC)の強度を変えて取得したX線回折像を比較検討した。

2 実験

8週齢のF344系雄性ラットの足底筋を麻酔下で血流を保ったまま露出した。足底筋の遠位側の腱を張力測定装置に結紮し、異なる条件の神経刺激により刺激を与えた。

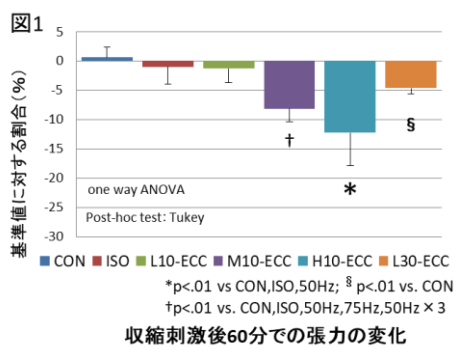
100Hz等尺性収縮(ISO)、50Hzの低強度ECC(L10-ECC)、75Hzの中強度ECC(M10-ECC)、100Hzの高強度ECC(H10-ECC)の各条件で10回連続して収縮させることを基本とし、低強度刺激条件での30回連続刺激(L30-ECC)、また収縮刺激を全く与えないCONを加えて計6条件を設定した。それぞれの条件において収縮させる頻度は3秒に1回とし、1回当

たりの刺激持続時間は 300msec とした。また、ECC 群では収縮時に至適長の 90%から 100%まで筋長を伸ばしながら収縮させる遠心性収縮を行なわせた。刺激前後で神経刺激による 200Hz の強縮を観察し、収縮張力の変化を評価した。

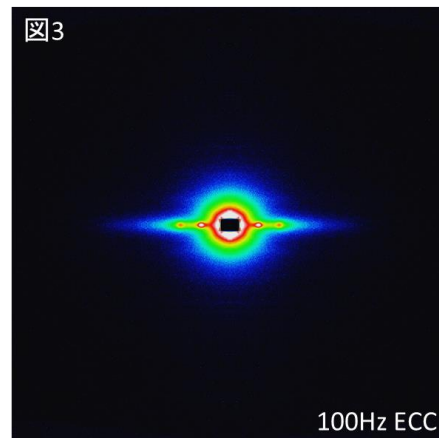
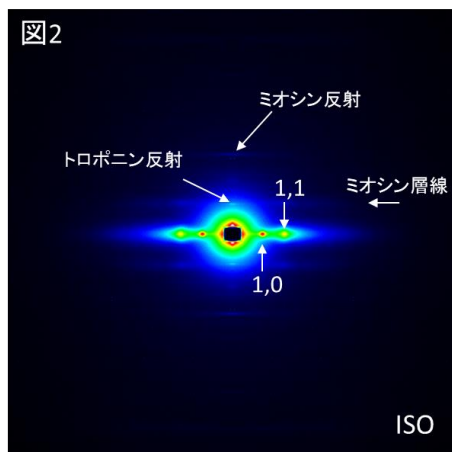
標本は収縮条件終了後に Triton-X で除細胞膜処理をして数本の筋線維束に割り、実験チャンバーに固定してスキンド骨格筋標本とした。スキンド骨格筋標本は ATP のない硬直状態および ATP がありカルシウムがない弛緩条件で X 回折像を取得した (カメラ長 2.5m にした BL-6A でイメージングプレートに回折像を記録し Typhoon FLA 7000 で読み取った)。

3 結果および考察

異なる収縮刺激を与えてから 60 分後の張力は CON に対して M10-ECC、H10-ECC、L30-ECC で低下した(図 1)。



ISO に対して、H10-ECC の回折像では明らかに筋節微細構造の損傷が起きていた(図 2, 3)。



太いフィラメントの格子に由来する 1,0 格子間隔については M10-ECC や L30-ECC においても有意な変化は認めなかった(図 4)。

一方で、ミオシンフィラメントの周期構造を反映する 14.3nm の反射は M10-ECC で有意に強度が低下し、L10-ECC や L30-ECC も ISO に対して低下している傾向がみられた(図 5)。

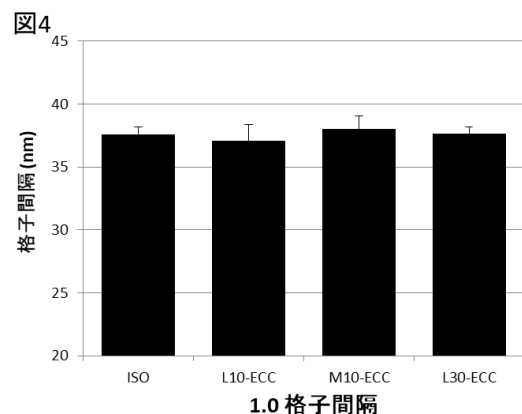
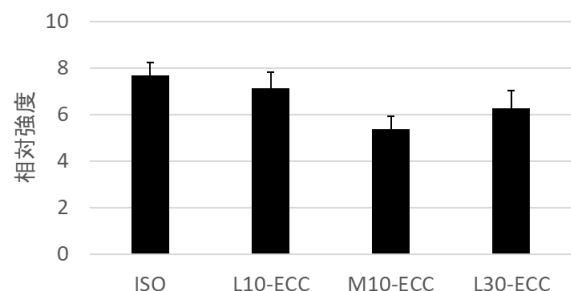


図5 ミオシンフィラメント (14.3nm周期)



収縮後 60 分で張力低下が認められた H10-ECC では明確な回折像の変化が認められ、M10-ECC でも 14.3nm 周期のミオシンフィラメントの反射の低下が認められた。

太いフィラメントの 1,0 格子間隔のような大きな構造の変化がない状態でも 14.3nm のミオシンフィ

ラメントの反射強度が変化していた。より低強度の遠心性収縮が影響する反射を検索することと、その変化を緩和ないし促進する筋に対する処理を検索して行くことにしている。

4 まとめ

適度な強度では筋肥大効果があり、過度では筋損傷を起こす遠心性収縮の影響を調べるために、異なる強度の遠心性収縮負荷を与えた標本の X 線回折像を取得した。14.3nm 周期のミオシン反射の強度は刺激に応じて減弱した。このような筋節内微小損傷を緩和ないし促進する方策を検索し、より良い筋トレーニングのあり方を見出したい。

謝辞

回折像の取得に協力していただきました PF スタッフの方々に深く感謝申し上げます。

* nkhr@jikei.ac.jp