

力積を変えた骨格筋伸張性収縮における微細構造変化と筋肥大シグナル
Structural changes and hypertrophy signals in eccentric contraction
with different tension-time integral

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

³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

⁴東京都立大学・人間健康科学研究科 〒116-8551 荒川区東尾久 7-2-10

⁵帝京平成大学・健康医療スポーツ学部 〒290-0193 市原市うるいど南 4-1

⁶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

⁷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 Hirano², Hideki Yamauchi², Rie Hiratsuka³,
Maki Yamaguchi¹, Masaru Watanabe⁴, Yukisato Ishida⁴, Testuo Ohno⁵,
Kazuo Kinoshita⁶, Masako Kimura⁷, Shigeru Takemori¹

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

²Jikei Univ. Sch. Med. Dept. Mol. Physiol. Physical Fitness Lab, Choufu, 182-0022, Japan

³Jikei Univ. Sch. Med. Division of Biology, Dept. of Natural Science, Choufu, 182-0022, Japan

⁴Tokyo Metropolitan Univ. Fac. Health Sci., Arakawa-ku, 116-8551, Japan

⁵Department of Sports Medicine, Teikyo Heisei University, Chiba, 290-0193

⁶Jikei Univ. Sch. Med. Kashiwa Hospital, Kashiwa, 277-8567, Japan

⁷Kagawa Nutrition Univ. Dept. Integrative Physiol., Sakado, 350-0288, Japan

1 はじめに

骨格筋の収縮は収縮中の長さの変化に応じて、遠心性収縮(ECC)、等尺性収縮、求心性収縮に分けられる。この中で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。

また、骨格筋肥大や筋合成を促すシグナルタンパクの活性化は収縮様式に依存せずに力がかかっている間の時間に対する積分(力積)で決まるという報告がなされてきている (Ato, 2016, Eliasson, 2006)。

筋肥大を起こしやすい ECC の収縮様式は変えないでこの力積を変えることにより、筋肥大を起こすが、筋損傷を抑制できる強度を探る。この成果はリハビリテーション分野やアスリートのトレーニングに応用できるものとなる。

本実験では、①低・中・高強度の ECC での力積と筋肥大につながるシグナルタンパク質の変化を明らかにし、②異なる強度の ECC により筋節内微細構造

の変化を X 線回折法により明らかにすることを目的とする。

2 方法

8 週齢 F344 系雄性ラット足底筋を麻酔下に筋血流維持のまま剖出し、経神経刺激で 3 秒に 1 回、刺激時間 300msec で収縮させた。収縮強度は刺激頻度を変えることで設定した。刺激頻度の条件は 100Hz 等尺性収縮(ISO, n=12)、50Hz の低強度 ECC(L10, n=13)、75Hz の中強度 ECC(M10, n=13)、100Hz の高強度 ECC(H10, n=12)を各 10 回繰り返す 4 条件に、低強度・反復性の 50Hz 30 回刺激 (L30, n=13)と収縮負荷なし CONT(n=13)を加えた計 6 条件とした。各収縮負荷の 1 時間後に収縮機能を評価後に摘出した筋で、シグナルタンパク活性を調べた。X 線回折法で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、実験チャンパ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 もない硬直条件および ATP がありカルシウムがない弛緩条件を使用した。X 線回折像の取得はカメラ長 2.5m として PF BL-6A でイメージングプレートに回折像を記録し、Typhoon FLA 7000 で読み取り、自作のプログラムにより各反射強度を計測した。

3 結果および考察

異なる収縮刺激を与えた際の収縮時の力積の積算値は L10<ISO≒M10<H10<L30 の順に有意に大きかった(図1)。

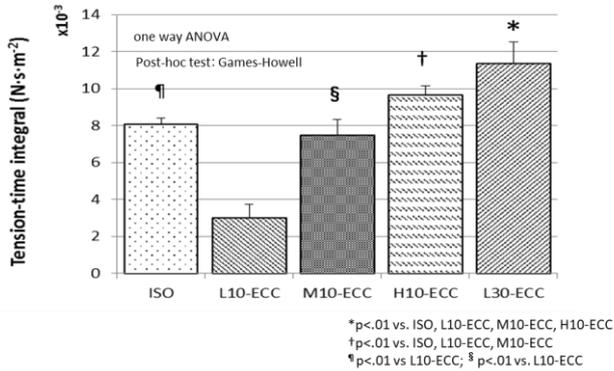


図1：収縮負荷時の力積積算量

また、収縮負荷終了後1時間での収縮機能はCONTに対してL30<M10<H10の順で有意に低下していた。L30-ECCは力積積算量が一番多い一方で、収縮機能の低下は小さかった。

筋肥大等に関するシグナルタンパクはmTOR系はCONTに対する有意な活性化がL30<H10の順で認められ、MAPK系はCONTに対する有意な活性化がL30<M10<H10の順で認められた。FoxOはCONTに対する有意な不活性化がM10、H10、L30ともに認められた。これらの結果から力積積算量が一番大きいL30-ECCは、筋タンパク分解シグナル変化はH10-ECCと同等である一方で、筋タンパク合成シグナル変化はH10-ECCより弱く、筋合成シグナルタンパクは力積のみに依存しないことが示唆された。

X線回折像をISO(図2)とL30(図3)と比較すると画像上有意な損傷等は認められなかった。

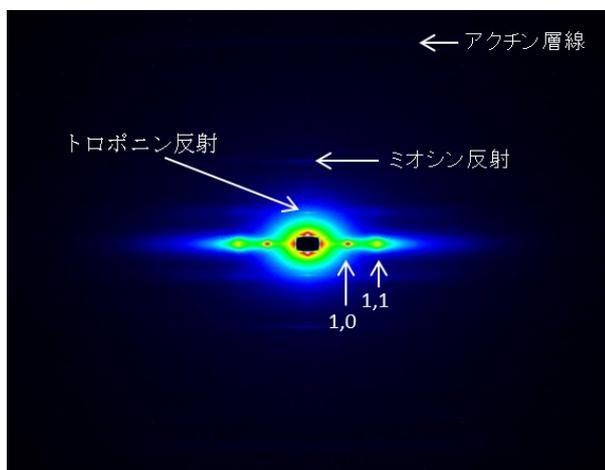


図2：ISOのX線回折像

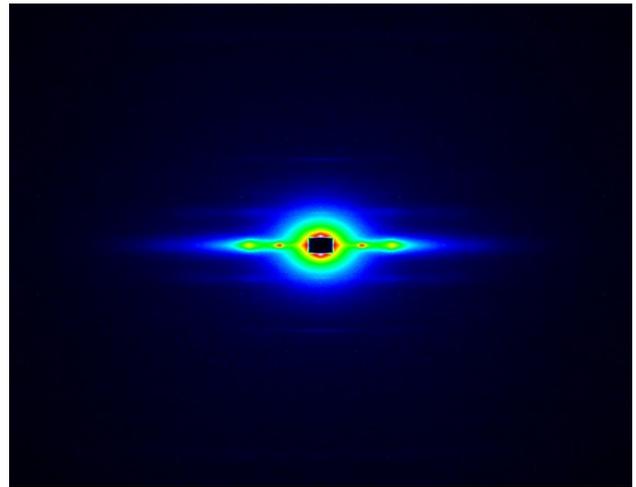


図3：L30-ECCのX線回折像

1,0格子間隔はM10-ECCも含めて変化がない一方で、トロポニン反射強度(図4)やミオシン反射強度(図5)はM10-ECCで有意に低下し、有意ではないがL10-ECCやL30-ECCでも低下している傾向を示した。

X線回折で評価すると、力積が大きいL30-ECCはM10-ECCと比べ損傷が軽度であったと考えられる。

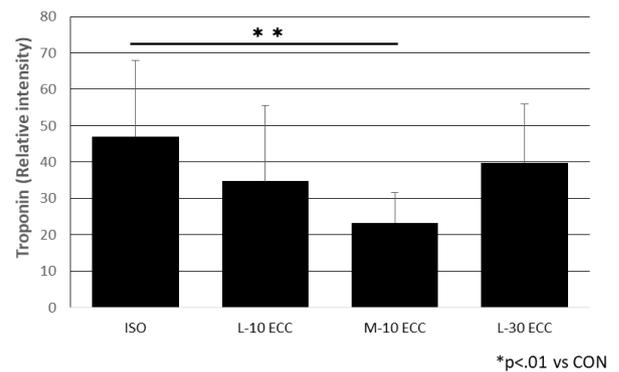


図4：トロポニン反射強度

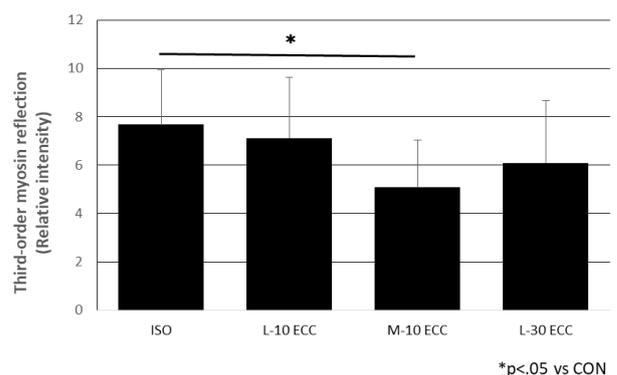


図5：ミオシン反射強度

4 まとめ

実験結果からL30-ECCは収縮機能を低下させにくく、X線回折像からみても損傷は軽度であるが、筋タンパク質合成のシグナルタンパク変化を起こした。過度な筋損傷を引き起こさず、筋肥大を促す強度と

して、低強度の反復刺激である L30-ECC は今後の応用が期待できる刺激強度である可能性が示唆される。

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