

## 学位審査報告書

氏名	(ふりがな) ますだ しんや 増田 慎也
学位(専攻分野)	博士(人間・環境学)
学位記番号	人博 第 453 号
学位授与の日付	平成21年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	人間・環境学研究科 共生人間学専攻
(学位論文題目)	
<p>Adaptation of cytoskeletal and sarcolemmal proteins for functional requirements — new information for the development of fatigue resistance in skeletal muscle —  (機能的要求に対する細胞骨格および筋細胞膜タンパク質の適応 —骨格筋の耐疲労性の発達に関する新たな知見—)</p>	
論文調査委員	主査 准教授 林 達也 副査 教授 森谷 敏夫 副査 教授 小田 伸午 副査 教授 田口 貞善

## (論文内容の要旨)

本学位申請論文は、骨格筋線維の骨格タンパク質複合体であるジストロフィン-糖タンパク質複合体(dystrophin-glycoprotein complex : DGC)および接着斑複合体(focal adhesion complex : FAC)や運動中の乳酸代謝に関わるモノカルボン酸輸送担体(monocarboxylate transporter : MCT)に焦点を当て、筋の耐疲労性という観点から、これらの構成要素の機能的要求に対する適応を検討したものである。高齢化社会、高度に利便化され身体活動の機会が著しく減少した現代社会において、骨格筋の機能を維持・向上させる方策を確立することは生活の質を高めるうえで喫緊の課題である。

第1実験では、DGCの主要タンパク質であるジストロフィンおよびFACの主要タンパク質である $\beta 1$ インテグリンの発現量と、筋の機能特性を反映するミオシン重鎖(MHC)アイソフォーム組成比との関連を、8種類のラット骨格筋と心筋について検討した。これらの複合体は筋原線維と細胞外マトリクスとを結合し、筋原線維で発生した収縮力を腱へと伝達する、力の伝達経路としての役割を持つ。このような結合は筋の正常な収縮機能には欠かせないものであるが、骨格筋タイプの機能特性にどのように関わっているか未解明である。速筋タイプの骨格筋において、ジストロフィンおよび $\beta 1$ インテグリンの発現量はtype I、IIa、IIx MHCの比率と有意な正の相関を示し、type IIb MHCの比率と有意な負の相関を示した。また、遅筋であるヒラメ筋では速筋よりも両タンパク質の発現量が多く、心筋ではヒラメ筋よりもさらに多かった。また、 $\beta 1$ インテグリンは筋線維タイプ特異的な発現が顕著に認められ、type I線維とtype IIa線維に強く発現していることが確認された。これらの結果から、DGCおよびFACは低強度の身体活動で頻繁に動員される筋線維タイプに多く存在することが示唆される。低強度の筋収縮ほど細胞外マトリクスによる力の伝達効率が高いことから、DGC・FACは低強度の身体活動における力の伝達効率を高めることに寄与していると推察される。さらに、低強度の身体活動で頻繁に動員される遅筋タイプの筋線維ほどATPを運動エネルギーに変換する効率が高いことから、DGC・FACとMHCとの相関は、日常の低強度の身体活動でエネルギーのロスをなくし疲労を遅延させるという、生体にとって機能的な合理性を持ったものであると解釈される。

第2実験では、加齢および不活動に伴う骨格筋の乳酸代謝特性の変化を検討した。一般的に老化に伴い筋萎縮や最大酸素摂取量の低下といった運動能力の低下が認められる。しかし、動員される筋量が比較的少ない運動、すなわち呼吸循環器系よりも末梢(骨格筋)が長時間運動の制限因子となるような運動様式において、高齢者が若齢者よりも耐疲労性が高く、乳酸蓄積も抑制されていることが先行研究で報告されている。一方、不活動は老化と同様に筋萎縮を引き起こすものの、運動中の乳酸蓄積はむしろ促進される。これらのことから、老化は、不活動とは反対に、運動中の骨格筋の乳酸蓄積を抑制するように代謝特性を変化させるのではないかという仮説を立てた。これを検討するために、本実験では骨格筋の乳酸輸送に関わるMCT1、MCT4タンパク質発現量と、乳酸生成に関わる解糖系

氏名	増田 慎也
----	-------

のピルビン酸キナーゼ(PK)と乳酸脱水素酵素(LDH)活性、および乳酸酸化に関わるクエン酸合成酵素(CS)活性を、老化ラット、不活動ラット、対照ラットのヒラメ筋(SOL)および長指伸筋(EDL)について測定した。まず、SOLの重量は不活動群と老化群において対照群よりも有意に低く、EDLの重量は老化群において他の2群より有意に低かった。MHC組成比はSOLでは3群間で有意差はなかったが、EDLでは老化群で他の2群に比べて有意なtype IIb MHCの比率の減少とtype IIx MHCの比率の増加を認めた。MCT1発現量は老化群のSOLにおいては他の2群より有意に低く、老化群のEDLでは他の2群より顕著に高い傾向が認められた。MCT4発現量は老化群のEDLでは対照群より有意に低かった。また、解糖系代謝能力と酸化系代謝能力との比を表すPK/CS比について、SOLでは不活動群が他の2群より有意に高く、EDLでは老化群が他の2群より有意に低かった。LDH/CS比についてはSOLでは老化群と不活動群が対照群より有意に高く、EDLでは老化群が他の2群より有意に低かった。不活動群ではEDLからの乳酸排出が抑制されるとともに、SOLにおける解糖系代謝能力が対照群よりも強くなることから、不活動によって運動中の乳酸蓄積が促進されるように骨格筋の代謝特性が変化することが示唆される。一方、老化群ではEDLの酸化系代謝能力が向上するとともにSOLへの乳酸排出が抑制される。また、SOLでは乳酸取り込み能力が抑制される。これらの結果は、老化は不活動と異なり、運動中の乳酸蓄積を抑制する方向に骨格筋の代謝特性を変化させることを示唆しており、先行研究で示された加齢に伴う筋持久力の向上と運動中の乳酸蓄積の抑制を裏付けるものである。

骨格筋の耐疲労性には様々な因子が複雑に関連しており、これまでも様々な因子が検討されてきた。第1実験は、日常の身体活動の大部分を占める低強度の筋活動において、収縮力の伝達効率を高めて耐疲労性を向上させる因子としてDGC・FACの持つ重要性を提唱するものである。第2実験は、高齢化や身体活動量の低下に伴う運動能力の低下に対して、骨格筋が乳酸を効率よく利用し耐疲労性を高め、運動能力低下を抑制する可能性を示したものである。これらの研究結果は、身体内外の環境に対して合理的に適応するという骨格筋の可塑性をより深く理解するうえで重要な知見となるものである。

## (論文審査の結果の要旨)

本学位申請論文は、骨格筋の機能特性に関わる構成要素の、身体内外の機能的要求に対する応答を、組織化学的・生化学的手法に基づいて解析・検討したものである。本論文で検討した構成要素は骨格筋線維の骨格タンパク質複合体であるジストロフィン-糖タンパク質複合体(dystrophin-glycoprotein complex : DGC)および接着斑複合体(focal adhesion complex : FAC)と運動中の乳酸代謝に関わるモノカルボン酸輸送担体(monocarboxylate transporter : MCT)である。現在、筋線維タイプの固有の機能特性を表現する指標として最も有用であると考えられているものはミオシン重鎖(MHC)アイソフォームの組成比である。しかし実際には、MHCは他の多くの構成要素と協同して各筋線維タイプ固有の機能特性を形成している。したがって、これらの構成要素とMHCとの関連や身体内外の機能的要求に対する応答を研究することが、骨格筋の機能をより深く理解するために必要である。

第1実験は、DGCの主要タンパク質であるジストロフィンおよびFACの主要タンパク質である $\beta 1$ インテグリンの発現量とMHC組成比との関連を、8種類のラット骨格筋と心筋とについて検討したものである。DGC・FACは筋原線維と細胞外マトリクスとを結合し、細胞外マトリクスを介して筋原線維の収縮力を腱へと伝達する役割を持つ。DGC・FACは筋の正常な収縮機能には欠かせないものであるが、それぞれの筋タイプの機能特性にどのように関わっているか未解明である。速筋タイプの骨格筋において、ジストロフィンおよび $\beta 1$ インテグリンの発現量はtype I、IIa、IIx MHCの比率と有意な正の相関を示し、type IIb MHCの比率と有意な負の相関を示した。また、免疫組織化学染色法で検討した結果、 $\beta 1$ インテグリンはtype I線維とtype IIa線維に強く発現していることが判明した。さらに、遅筋であるヒラメ筋では速筋よりも両タンパク質の発現量が多く、心筋ではヒラメ筋よりもさらに多いことが確認された。以上の結果は、長時間低強度の身体活動で頻りに利用される筋線維タイプにDGC・FACが多く存在することを示唆している。細胞外マトリクスを介した力の伝達効率は低強度の運動において高いという報告があることから、DGC・FACとMHCとの相関が力の伝達効率に関与する可能性を本実験結果は示唆するものである。本研究は、力の伝達効率という観点から筋タイプ固有の機能特性を論じるという新たな可能性を提示したという面で価値の高いものである。なお、本研究結果はActa Physiologicaに受理され、現在印刷中である。

第2実験は、加齢および不活動に伴う骨格筋の乳酸代謝特性の変化を検討したものである。老化に伴い筋萎縮や最大酸素摂取量の低下など、運動能力の低下が認められるのは周知の事実である。しかし先行研究によると、呼吸循環器系よりも末梢(骨格筋)が長時間運動の制限因子となるような、動員される筋量が比較的少ない運動では、高齢者が若齢者よりも耐疲労性が高く、乳酸蓄積が抑制されるケースが多い。反対に、加齢ではなく不活動によって筋萎縮を引き起こした場合は、運動中の乳酸蓄積は通常よりもむしろ促進される。以上のことから、本実験では、不活動とは反対に、老化によって運動中の骨格筋の乳

氏名	増田 慎也
----	-------

酸蓄積を抑制するように代謝特性が変化するのではないかという仮説を立て、これを検証することを目的とした。そのために、骨格筋の乳酸輸送に関わる MCT1、MCT4 タンパク質発現量と、乳酸生成に関わる解糖系のピルビン酸キナーゼ(PK)と乳酸脱水素酵素(LDH)活性、および乳酸酸化に関わるクエン酸合成酵素(CS)活性を、老化ラット、不活動ラット、対照ラットのヒラメ筋(SOL)および長指伸筋(EDL)について測定した。まず、SOL の重量は不活動群と老化群において対照群よりも有意に低く、EDL の重量は老化群において他の 2 群よりも有意に低かった。MHC 組成比は EDL では老化群で他の 2 群に比べて有意な type IIb MHC の比率の減少と type IIx MHC の比率の増加を認めた。MCT1 発現量は老化群の SOL においては他の 2 群より有意に低く、老化群の EDL では他の 2 群より顕著に高い傾向が認められた。MCT4 発現量は老化群の EDL では対照群より有意に低かった。また、PK/CS 比について、SOL では不活動群が他の 2 群より有意に高く、EDL では老化群が他の 2 群より有意に低かった。LDH/CS 比については SOL では老化群と不活動群が対照群より有意に高く、EDL では老化群が他の 2 群より有意に低かった。不活動群では EDL からの乳酸排出が抑制されるとともに、SOL において解糖系代謝能力が対照群よりも向上することから、不活動によって運動中の乳酸蓄積が促進されるように骨格筋の代謝特性が変化することが示唆される。一方、老化群では EDL の酸化系代謝能力が向上するとともに SOL への乳酸排出が抑制される。また、SOL では乳酸取り込み能力が抑制される。これらの結果は、老化は不活動と反対に、運動中の乳酸蓄積を抑制する方向に骨格筋の代謝特性を変化させることを示唆している。本研究結果は、先行研究で示された加齢に伴う筋持久力の向上と運動中の乳酸蓄積の抑制を乳酸代謝特性の変化から裏付けた価値の高いものである。本研究結果は *Experimental Gerontology* に受理され、現在印刷中である。

日常の身体活動に伴う筋収縮において、エネルギーのロスを最小限にすることは生体にとって機能的な合理性を持ったものであると考えられるが、第 1 実験で明らかにした DGC・FAC と MHC との相関は、その機能的合理性に合致したものであると解釈される。また、第 2 実験で明らかにした老化に伴う骨格筋の乳酸代謝特性の変化は、老化による筋萎縮や呼吸循環器系能力の低下に対し、乳酸をエネルギー源として有効に利用することで運動能力を維持しようとする骨格筋の可塑性を示したものであり、高齢化、あるいは身体活動量の著しい低下に伴う現代社会の健康問題を解消する方策を確立するための指針となるものである。

よって、本論文は博士(人間・環境学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 21 年 2 月 2 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認められた。