

学位論文の要旨

論文題目 速筋における低頻度疲労の発生メカニズムー筋原線維の Ca^{2+} 感受性と筋小胞体の Ca^{2+} 放出機能に着目してー

広島大学大学院総合科学研究科

総合科学専攻

学生番号 D142196

氏名 渡邊 大輝

論文の要旨

第1章 緒言

筋が一定の張力を発揮できなくなる現象は、一般に筋疲労と呼ばれる。激しい運動を行った後、長い場合であれば数日間の疲労感が継続することは多くの人を経験する現象である。低頻度疲労とは、高頻度誘因性張力と比較し低頻度誘因性張力が著しく低下する現象のことであり、この現象は、長期にわたって継続することに特徴がある。ヒトの日常生活における神経の発火頻度は低頻度領域の範疇にあることから、冒頭で述べたような長期にわたる疲労感のほとんどは、低頻度疲労に端を発しているとされている。

低頻度疲労の発生メカニズムは、筋原線維の Ca^{2+} 感受性（以後、筋原線維 Ca^{2+} 感受性と表記）の低下あるいは筋小胞体の Ca^{2+} 放出機能（以後、筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能と表記）の低下にあるとされている。しかしながら、このことを報告した先行研究では、摘出した単一筋線維に収縮を負荷する実験系を用いており、この系には他の細胞との相互作用がなされないこと、活性酸素種の産生量が生体内よりも多いことなどのいくつかの問題点が存在する。このようなことから、これらの実験系で観察された2つの現象（筋原線維 Ca^{2+} 感受性および筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能の低下）が生体内で生じているか否かについては不明である。

以上のことから、本研究では、生体内で収縮を負荷するモデルを用いて、低頻度疲労の発生メカニズムを明らかにすることを目的とした。

第2章 生体内における低頻度疲労の発生要因ー回復早期についてー（実験1）

実験1では、生体内における低頻度疲労の要因が、筋原線維 Ca^{2+} 感受性の低下と筋

小胞体 Ca^{2+} 放出機能の低下の両方にあるかどうかについて検討することを目的とした。坐骨神経を介した電気刺激（刺激頻度 70 Hz, 刺激間隔 0.35 ミリ秒, 3 秒に 1 回）によって, Wistar 系雄性ラットの片脚の腓腹筋を張力が初期値の 50% に低下するまで収縮させた。収縮終了 30 分後に腓腹筋を摘出し, スキンドファイバーおよび全筋のホモジナイズを用いた解析を行った。なお, 反対脚はコントロールとして使用した。本実験によって, 以下の結果を得た。

- 1) コントロール群と比較して刺激群では, 高頻度誘因性張力に対する低頻度誘因性張力の割合に低値が示された。
- 2) コントロール群と比較し刺激群では, 最大の 50% の張力発揮に必要な Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_{50}$) に低値が示された。
- 3) コントロール群と比較して刺激群では, トロポニン I に含まれるグルタチオン量に高値が示された。
- 4) コントロール群と比較し刺激群では, 最大の 10% 以上の張力発揮に必要なカフェイン濃度 ($[\text{Caff-th}]_{10}$) に高値が示された。

以上の結果から, 回復早期段階においては, 低頻度疲労の原因は筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能の低下であること, その素因の一部はリアノジン受容体 (ryanodine receptor: RyR, 筋小胞体 Ca^{2+} 放出チャネル) の開口確率の低減にあることが明らかとなった。また, この時期には, トロポニン I における *S*-glutathionylation (*S*-glut) 量の増加に起因して, 筋原線維 Ca^{2+} 感受性は高まることが認められた。

第 3 章 回復期における低頻度疲労の発生要因の変化 (実験 2)

本実験の目的は, 低頻度疲労の回復期において, 筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能と筋原線維 Ca^{2+} 感受性の 2 つ変化が, 低頻度疲労に対して, どのように影響するのかを経時的に検討することであった。実験 1 と同様の方法で, Wistar 系雄性ラットの腓腹筋に低頻度疲労を発生させた。収縮終了 0 時間, 0.5 時間, 2 時間, 6 時間および 12 時間後に筋を摘出し, スキンドファイバーおよび全筋のホモジナイズを用いた解析を行った。本実験によって, 以下の結果を得た。

- 1) コントロール群と比較し刺激群では, 収縮終了 6 時間後まで, 高頻度誘因性張力に対する低頻度誘因性張力の割合に低値が示された。
- 2) コントロール群と比較し刺激群では, 収縮終了 2 時間後まで, Ca^{2+} 誘因性最大張力に対する脱分極誘因性張力の割合に著しい低値が示された。
- 3) コントロール群と比較し刺激群では, 収縮終了 0.5 時間後および 2 時間後において, $[\text{Caff-th}]_{10}$ に低値が示された。

- 4) コントロール群と比較し刺激群では、収縮終了 2 時間後まで、RyR の脱リン酸化量に高値が示された。
- 5) コントロール群と比較し刺激群では、収縮終了 0 時間後および 6 時間後において、 $[Ca^{2+}]_{50}$ に高値が示された。
- 6) コントロール群と比較し刺激群では、トロポニン I に含まれるグルタチオン量に収縮終了 2 時間後まで高値が、6 時間後において低値が示された。

以上の結果から、低頻度疲労の主な原因は、回復早期段階では、筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能の低下であること、これに対して回復後期段階では、筋原線維 Ca^{2+} 感受性の低下であることが明らかとなった。さらに、筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能の低下には、脱リン酸化による RyR の開口確率の低下が、また、筋原線維 Ca^{2+} 感受性の変動には、トロポニン I における S-glut 量の変化が関与することが認められた。

第 4 章 低頻度疲労に伴う筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能低下の要因－筋小胞体からの Ca^{2+} 漏出に着目して－（実験 3）

本実験の目的は、筋小胞体からの Ca^{2+} 漏出に着目して、低頻度疲労に伴う筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能低下の要因について検討することであった。実験 1 および 2 と同様の方法で、Wistar 系雄性ラットの腓腹筋に低頻度疲労を発生させた。収縮終了 30 分後に筋を摘出し、スキンドファイバーおよび全筋のホモジナイズを用いた解析を行った。本実験によって、以下の結果を得た。

- 1) コントロール群と比較し刺激群では、生体内における筋小胞体の Ca^{2+} 含有量および漏出处置後に筋小胞体に残存する Ca^{2+} 量に低値が示された。
- 2) 筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase からの Ca^{2+} 漏出を阻害した場合、コントロール群と比較し刺激群では、漏出处置後に筋小胞体に残存する Ca^{2+} 量に低値が示された。
- 3) ジヒドロピリジン受容体 (dihydropyridine receptor: DHPR) を不活性化した場合、漏出处置後に筋小胞体に残存する Ca^{2+} 量について、両群間に差異は認められなかった。

以上の結果から、低頻度疲労に伴う筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能の低下の原因の一つは、筋小胞体の Ca^{2+} 含有量の低減であること、 Ca^{2+} 含有量の低下の原因は、RyR からの Ca^{2+} 漏出量の増加であること、および RyR からの Ca^{2+} 漏出は DHPR の不活性化によって起ることが明らかとなった。

第 5 章 討論

先行研究によって、低頻度疲労の原因は、筋原線維 Ca^{2+} 感受性の低下か筋小胞体 Ca^{2+}

放出機能の低下のどちらか一方、あるいは両方であることが示されてきた。しかしながら、この知見は試験管内の実験によって得られたものであり、このような現象が生体内においても生じるか否かについては明らかではなかった。そこで、本研究では、生体内で収縮を負荷し、低頻度疲労を誘起するモデルを用いて、生体内で生じる低頻度疲労のメカニズムを明らかにすることを目的とした。その結果、低頻度疲労が発生する主要因は、疲労からの回復早期では、筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能の低下であること、これに対して後期では、筋原線維 Ca^{2+} 感受性の低下であることが認められた。さらに、筋原線維 Ca^{2+} 感受性の低下は、トロポニン I に含まれる S-glut 量の低減に、筋小胞体 Ca^{2+} 放出機能の低下は、RyR の開口確率の低下および筋小胞体 Ca^{2+} 含有量の低下に起因して起こることが明らかとなった。

低頻度疲労からの迅速な回復は、スポーツ活動における練習効率の向上だけでなくクオリティ・オブ・ライフの向上にも寄与すると考えられる。筋内のグルタチオン量を高めることによって、 S-glut の発生量は高まると考えられ、このような処置によって、低頻度疲労からの回復が促進される可能性がある。本研究で得られた知見は、生体内で生じている低頻度疲労のメカニズムの一部を解明したに過ぎない。今後、遅筋における低頻度疲労の発生要因の解明など、残された多くの課題を明らかにする必要がある。