

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：15501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12681

研究課題名(和文)ヒトの骨格筋線維特性は他の哺乳動物と異なるか？

研究課題名(英文)Fiber type population of anti-gravity muscles in mammals with bipedal and upright posture

研究代表者

宮田 浩文(Miyata, Hirofumi)

山口大学・大学院創成科学研究科・教授

研究者番号：90190793

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：二足歩行・直立姿勢維持に重要な役割を果たす脚筋および体幹筋の筋線維特性を調査した。霊長類6種類を含む哺乳動物24種の腓腹筋、外側広筋、殿筋、最長筋、広背筋および上腕三頭筋から連続凍結切片を作成し、各ミオシン重鎖抗体染色を施し筋線維組成を算出した。

大型動物ほどタイプI線維の本数比と面積が大きくなる傾向が認められた。全体の回帰直線と比較して、外側広筋および殿筋では多くの霊長目のタイプI本数比が高い傾向を示した。その他の筋では、体重に相応したタイプI比率を示し、特に霊長目の特徴は見られなかった。一方、頻繁に直立姿勢をとる動物においては、最長筋で高いタイプI線維を有する傾向が見られた。

研究成果の概要(英文)： We have investigated population of muscle fiber type in several mammals to demonstrate adaptation patterns of animals including human muscle. The muscle samples (Gastrocnemius, Vastus lateralis, Gluteus, Longissimus, Latissimus dorsi and Triceps brachii muscles) were collected from 24 animals including 6 primates.

The significant positive relationships between populations of type-I fibers (%) and body weights (kg) were found in Gastrocnemius Gluteus and Triceps brachii muscles, but not in the other three muscles. Although human being has higher percentage of type-I muscle fiber in these muscles, the other primates do not have higher percentage of type-I muscle fibers than average values. Two animals which frequently take upright position, Prairie dog and Suricata suricatta, had higher percentage of type I fibers in trunk muscles as well as human being. The type-I muscle fiber in trunk muscle seems to have an important role in upright position of animals.

研究分野：運動生理学

キーワード：哺乳動物 筋線維組成 直立姿勢

1. 研究開始当初の背景

我が国を含む多くの先進国においては、快適な生活環境の普及によって身体を動かす機会が減少し、一定温度の環境における座位仕事が増加している。このため、ヒトが「動く生物」として獲得してきた適応能力は徐々に低下し、運動不足による生活習慣病や暑熱環境への不適応などが生じていると考えられる。

本研究では、抗重力筋を含む代表的な骨格筋について、四足歩行する各種の哺乳類、二足歩行も可能な霊長類と常時二足歩行するヒトとの比較研究を行い、その解剖学的相違からヒトの骨格筋に生じた特異的な適応変化を明らかにする。さらに、様々な環境に適応した哺乳動物の筋線維特性を調べ、骨格筋に要求される機能との関連を考察する。これらの成果は、最適な筋肉の状態について独自の視点をもたらす可能性があり、現代社会に生きる我々にとって、身体教育のための重要な基礎的知見を提供する。

2. 研究の目的

様々な哺乳動物の骨格筋を対象にして行った我々の研究において、体重とタイプ I 筋線維割合との間に関連が認められた。しかし、霊長目の一部の筋において他の四足動物とは異なる筋線維タイプ組成を有することも確認された。そこで本研究では、頻りに直立姿勢をとる動物を含む 24 種の哺乳動物およびヒトを対象として、免疫組織化学染色に基づく筋線維組成を調査し、直立姿勢が骨格筋筋線維組成に及ぼす影響について検討した。

3. 研究の方法

これまでに (~H27 年)、獣医学科の共同研究者および各地動物施設の協力を得て、30 種類以上の動物の骨格筋のサンプルを収集してきた。いずれも、骨格筋に特別な異常がなく死亡した動物の解剖に立ち会い、死後冷暗所保管の検体から 48 時間以内に採取し、冷凍保存したものである。ヒトについては、学内の医師の協力を得て、すでに外側広筋からニードルバイオプシーサンプルを蓄積している (科研 23650434)。この他、H28~29 年度中にはモグラなど地中を主な生活の場とする動物種、あるいはスナメリなどの水生哺乳動物の筋採取も行い、平成 29 年までに 40 種類以上の哺乳動物から骨格筋の採取を行った。

各筋線維に発現している MHC 分子種の識別のため、anti-mouse モノクローナル抗体 (anti-Fast, SC-71 (MHC IIa)) を用い、以下の手順で免疫組織化学染色を施した。-20°C に設定したクリオスタット (Leica CM510) を用いて、各筋の凍結サンプルから厚さ 10µm の連続凍結切片を数枚作成し、室温で乾燥後、10 分間ブロッキングを行った。リン酸バッファで 3 回水洗した後、恒温槽 (37°C) で一次モノクローナル抗体と 3 時間反応させ

(anti-fast—4000 倍希釈, Anti-IIa—1000 倍希釈), リン酸バッファで 5 回水洗した後、二次抗体 (HRP—1000 倍希釈) 中に冷蔵庫中で一晩反応させた。リン酸バッファで 3 回水洗し、DAB 溶液 (30% H₂O₂ 80µl, 3,3'-Diaminobenzidine 10.0mg/20.0ml リン酸バッファ) 中に恒温槽で 30 分程度反応させ、発色させた。筋線維組成および筋線維タイプ別に面積を測定した。(図 1)。

骨格筋線維に対する組織化学的染色の一例

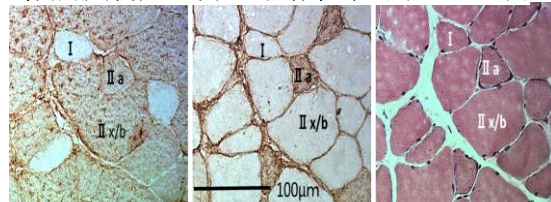


図 1 ラットの腓腹筋に対する anti-Fast (左), SC-71 (中), および HE (右) 染色

SDS-PAGE は、7~10%ポリアクリルアミド、30~40%グリセロール勾配の分離ゲルと、3.5%ポリアクリルアミド濃縮ゲルを用いたスラブゲル上で行った。電気泳動は、指示色素が完全に分離ゲルに達するまで 60 V/plate で行い、その後、12°C のインキュベーター中で 150 V/plate で 22 時間通電した。泳動後、バンドは Bio-Safe CBB G250 の染色によって可視化され、各タイプの相対面積値から組成比率を計算した。予備実験の結果、多くの動物で MHC の I と IIa のバンドは共通して発現していた (図 2)。しかし、MHC IIx または IIb はバンドの出現が不明確で、同タイプのミオシンの存在が確定できないケースが多いようであった。27 年度の結果と合わせて、各筋に発現しているミオシンのタイプを同定し、発現量の相対的定量を行った。

ミオシン重鎖の電気泳動分析

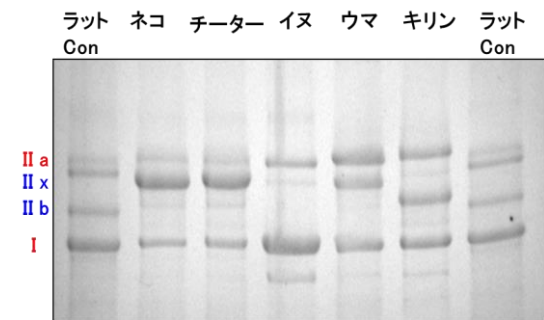


図 2 6 種類の動物から得た筋サンプルの電気泳動結果

本研究では、以下の 24 種類の哺乳動物 (体重) の 6 筋 (腓腹筋, 外側広筋, 殿筋, 最長筋, 広背筋, 上腕三頭筋) を対象とした。なお、ヒトについては、外側広筋以外は文献データ¹⁾ を引用した。

1) 四足動物: マウス (0.03kg), シマテンレック (0.15kg), ラット (0.3kg), ネコ (4kg), イヌ (8kg), チーター (35kg), ブラックバツ

ク(35kg), トラ(120kg), ライオン(120kg), アメリカクロマ(152kg), シマウマ(300kg), サラブレッド(500kg), ウシ(700kg), キリン(800kg), シロサイ(2000kg), ゾウ(3000kg)

2) 直立姿勢を頻繁にとる動物: ミーアキヤット(0.5kg), プレーリードッグ(1kg)

3) 霊長目: キツネザル(2.9kg), ブラッサグエノン(6.5kg), ニホンザル(7.8kg), マントヒヒ(20kg), チンパンジー(45kg), ヒト(70kg)

4. 研究成果

すべての動物のほとんどの筋で一定量のタイプ IIa 線維が存在することは IIa 線維の機能的多様性を示唆している(図 3)。また, すべての骨格筋において体重とタイプ I 線維割合との間に正の相関係数が得られたことは, 基本的に大型動物ほどタイプ I 線維の本数比が大きくなる傾向があることを追認している(図 4)。腓腹筋および外側広筋(図 4A および B)において, 霊長目のマントヒヒとヒトで高いタイプ I 線維割合(40%以上)が認められ, 体重の軽いミーアキヤットでも同等の高い値が確認された。また, 殿筋(図 4C)においてもキツネザル(41.7%)とマントヒヒ(40.2%)で高いタイプ I 線維割合が認められた。一方, 体幹筋である最長筋, 広背筋および前脚の上腕三頭筋(図 4D)において霊長目はおよそ体重に相応したタイプ I 比率を示した。最長筋ではミーアキヤット(50%)とプレーリードッグ(43.6%)に, 広背筋ではヒトにおいて高いタイプ I 線維割合が認められた。

直立姿勢を頻繁に行う哺乳動物においては, 抗重力的な機能的要求が強い外側広筋や最長筋でタイプ I 筋線維比率が高くなる傾向が認められたが, 霊長目共通の特性を見出すことはできなかった。概観すると, 系統的な近似性より生活パターン(樹上あるいは地上生活等)が大きな影響を有することを示す結果かもしれない。

全身の骨格筋のタイプ I 線維割合の平均値比較

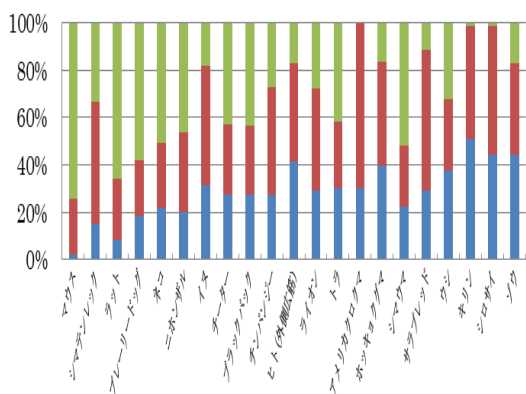


図 3 体重の異なるマウス(30g)からゾウ(3t)までの平均筋線維組成比較
青; type I, 赤; type IIa, 緑; type IIx/b

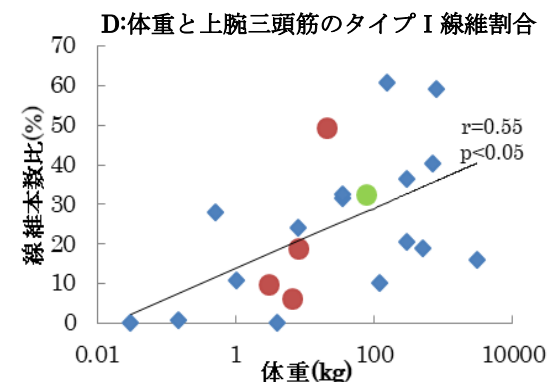
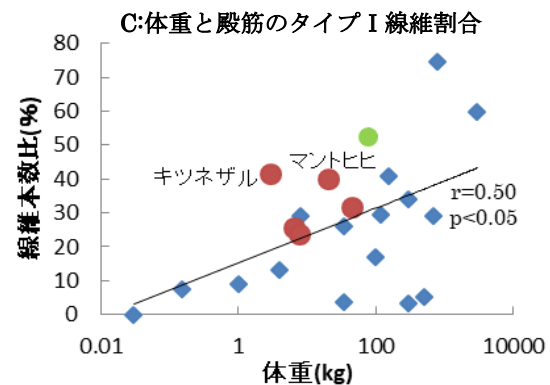
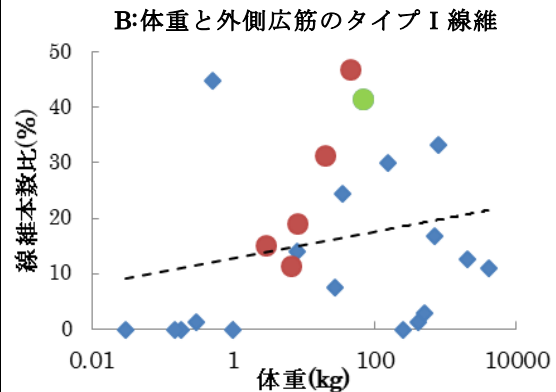
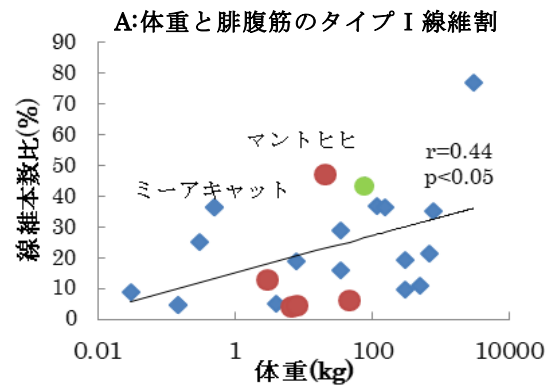


図 4 腓腹筋(A), 外側広筋(B), 殿筋(C)および上腕三頭筋(D)の Type I 線維割合(%)との相関関係
緑丸; ヒト, 赤丸; ヒト以外の霊長目, 青菱形; その他の哺乳動物

参考文献：

1) JNeurological Sci. 18 : 111-129 (1973)

5. 主な発表論文等

(研究代表者，研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

①池崎 和海, 芝口 翼, 杉浦 崇夫, 宮田 浩文, アイシング処置がラット損傷筋の回復過程に及ぼす影響

体力科学 第 66 巻 第 5 号 345-354 (2017)

DOI : 10.7600/jspfsm.66.345

査読有

②Nagahisa H, Mukai K, Ohmura H, Takahashi T, Miyata H, Effect of High-Intensity Training in Normobaric Hypoxia on Thoroughbred Skeletal Muscle.

Oxidative Medicine and Cellular Longevity. Volume2016, Article ID

1535367, doi:10.1155/2016/1535367. (2016)

査読有

[学会発表] (計 5 件)

①川久保 亮, 加藤 由佳, 河合 美菜子, 松尾 大輝, 和田 直己, 宮田 浩文, 哺乳類の直立姿勢が全身の筋線維組成に及ぼす影響, 第 80 回日本体力医学会中四国地方会, 広島市, 2017 年 12 月 9 日

②宮田 浩文, 和田 直己, 哺乳動物の姿勢と抗重力筋の筋線維特性, 第 25 回日本運動生理学会, 横浜市, 2017 年 7 月 29 日

③川久保 亮, 長久 広, 松尾 大輝, 和田 直己, 宮田 浩文, 霊長類における抗重力筋の筋線維特性, 第 78 回日本体力医学会中四国地方会, 山口市, 2016 年 11 月 19 日

④宮田 浩文, 西原 遼子, 今岡 洋子, 河合 美菜子, 森 大志, 和田 直己, ヒトの骨格筋細胞の核ドメインサイズは特徴的か? 第 71 回日本体力医学会, 盛岡市, 2016 年 9 月 23 日

⑤川久保 亮, 松浦 奈見, 宮田 浩文, ヒトを含む霊長目の抗重力筋における筋線維タイプ組成は特徴的か? 第 24 回日本運動生理学会, 熊本, 2016 年 7 月 23 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮田 浩文 (MIYATA Hirofumi)

山口大学・大学院創成科学研究科・教授

研究者番号 : 90190793