

平成 22 年 4 月 19 日現在

研究種目：基盤研究 (S)

研究期間：2007～2011

課題番号：19100009

研究課題名 (和文) 脳機能低下防止策としての筋活動の促進

研究課題名 (英文) Promotion of muscle activities as the countermeasure for prevention of the deterioration of brain function

研究代表者

大平 充宣 (OHIRA YOSHINOBU)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：50185378

研究代表者の専門分野：神経・筋生理学

科研費の分科・細目：(分科：健康・スポーツ科学)(細目：スポーツ科学)

キーワード：筋活動、脳機能、感覚神経、プロテオミクス、筋再生

1. 研究計画の概要

脚筋活動の程度やパターン等が脳機構に及ぼす影響を、動物およびヒトで追求する。運動が脳の機能等に影響を及ぼす機構を解明するとともに、発育抑制、損傷、老化等で退化した筋の再生助長策を解明することにより、Quality of Life を向上させる処方法の解明に迫るため、脚活動と脳機能・タンパク質発現との関係、および筋再生処方を追求する。

2. 研究の進捗状況

(1) 筋活動と脳の関係：脚筋活動の抑制が記憶学習能に及ぼす影響を追求することを目的とし、生後 3 週齢のラットに 14 日間の後肢懸垂を行い、迷路水槽による記憶学習能テスト実施した。その結果、後肢懸垂は記憶に悪影響を与えている可能性が示唆された。また、実験前、懸垂終了時および 14 日後に脳のサンプリングを行い、海馬における増殖および未成熟ニューロンマーカーの発現パターンを観察して、ニューロン新生に対する影響を検討した。実験前の 3 週齢では海馬において新生ニューロンが多く認められたが、懸垂終了時の 5 週齢ではコントロールラットで 60%に減少し、懸垂ラットでは 35%まで減少した。懸垂終了 14 日後の 7 週齢ではコントロールラットにおいて実験前の 40%まで新生ニューロンが減少したが、懸垂群との大きな差はなかった。これらの結果から、発育に伴い海馬のニューロン新生は急速に減弱するが、後肢懸垂はこれを助長することが示唆された。

さらに、以上の事象の分子機構を解明

するため、海馬におけるタンパク質発現変化を追究した。海馬抽出液の 2 次元電気泳動を行った結果、懸垂終了直後のラットでは、13 の減少スポットと 18 の増加スポットがあった。床上飼育を施すと、減少スポット中 12 スポットと増加スポット中 16 スポットでは、コントロールラットレベルまで発現量が回復した。また、懸垂直後には変化が見られないものの懸垂終了 14 日後にコントロールラットより発現増大したスポットが 8 個、減少したスポットが 7 個見つかった。

(2) 筋再生：我々は、損傷筋の再生は温熱刺激によって促進され、それには筋における heat shock protein(HSP) 72発現を伴っていることを報告している。ところが、横断切片における分析の結果、HSP72発現は筋線維を取り巻く毛細管内の細胞に局在することが分かった。筋採取前に perfusionにより血液を除去すると、HSP72発現細胞は消失した。ところが、bupivacaine注入による損傷で減少または増加した筋細胞質における遺伝子発現は、正常値に近づいていた。血液中のHSP72発現細胞からの何らかの情報が筋線維再生機構を刺激していることが明らかとなった。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

(理由)

当初は主に動物を利用した抗重力活動の抑制(後肢懸垂)や促進(2-G)負荷、感覚神経切断、薬物投与による筋損傷のモデルを駆使して、脚筋活動の程度等が脳機構に及ぼす影響や骨格筋再生機構を追求した。その結果、

予想を超えた示唆が得られ、当初の計画以上に進展している。1) 抗重力活動の長期抑制では、イタリア・ジェノバ大学チームを中心としてイタリア宇宙機構およびアメリカ航空宇宙局 (NASA) がマウスを 3 ヶ月間国際宇宙ステーションで飼育する実験に参加する機会を得た。宇宙飛行および地上コントロールマウスの脳や骨格筋を入手し、現在分析を進めている。

筋再生に関しては、3) 温熱刺激効果のメカニズムがかなり明らかになってきたり、4) 損傷筋を有する op/op マウスへのマクロファージ移植や 5) 損傷筋を有するマウスへの interleukin-6 受容体阻害剤 (MR16-1) の投与でも好ましい結果が得られ始めた。また、当初全く予定してなかった 6) プラズマ照射による損傷筋の再生を追求する研究にも着手できた。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 筋再生に関する研究：グリーンマウスを使った筋衛星細胞・骨髄細胞移植実験、老化ラットおよび幼弱ラットを使った各年齢層における筋再生能の解明、および 3 ヶ月間の宇宙飛行、後肢懸垂、2-G 負荷マウス骨格筋の分析に加えて、現在進行中の温熱刺激、interleukin-6 受容体阻害剤 (MR16-1) の投与、プラズマ照射効果の機構解明に迫る。

(2) 筋運動と脳の関係に関する研究：老化または運動が脳機能やタンパク質発現に及ぼす影響、3 ヶ月間の宇宙飛行、後肢懸垂、2-G 負荷マウス脳の分析、およびヒトにおける脚運動が脳機能に及ぼす影響を追求する。

5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. Terada, M., Y.B. Lan, F. Kawano, T. Ohira, Y. Higo, N. Nakai, K. Imaizumi, A. Ogura, N. Nishimoto, Y. Adachi, and Y. Ohira. Myonucleus-related properties in soleus muscle fibers of *mdx* mice. *Cells Tissues Organs* 191: 248-259, 2010. 査読有
2. Kawano F, K. Goto, X.D. Wang, M. Terada, T. Ohira, N. Nakai, T. Yoshioka, and Y. Ohira. Role(s) of gravitational loading during developing period on the growth of rat soleus muscle fibers. *J Appl Physiol* 108: 676-685, 2010. 査読有
3. Oishi, Y., M. Hayashida, S. Tsukiashi, K. Taniguchi, K. Kami, R.R. Roy, and Y. Ohira. Heat stress increases myonuclear number and fiber size via satellite cell activation in rat regenerating soleus fibers. *J. Appl. Physiol.* 107: 1612-1621, 2009. 査読有

4. Nakai, N., F. Kawano, M. Terada, Y. Oke, T. Ohira, and Y. Ohira. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) agonists on leucine-induced phosphorylation of translational targets in C2C12 cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1780: 1101-1105, 2008. 査読有
5. Kawano, F., Y. Takeno, N. Nakai, Y. Higo, M. Terada, T. Ohira, I. Nonaka, and Y. Ohira. Essential role of satellite cells in the growth of rat soleus muscle fibers. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 295: C458-C467, 2008. 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Ohira, Y. Neuromuscular adaptation to use and/or disuse: Role of satellite cells. 6th International Conference of Sport Science (Special lecture, p. 67), Hochiminh City, Vietnam, August 29, 2008.
2. Ohira, Y., K. Goto, T. Ohira, and H. Okabe. How can we promote the regeneration of skeletal muscles? Systemic and cellular mechanisms in physiology of motor system. 5th Russian National School with Int'l. Participation on Muscle and Exercise Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, February 3, 2009.
3. Ohira, T., X.D. Wang, F. Kawano, M. Terada, H. Yamamoto, T. Ito, N. Nakai, K. Goto, and Y. Ohira. Effects of macrophage on unloading/reloading-related regulation of muscle fiber size in op/op mice. (D144, 601.9) *Experimental Biology* 2009, April 18-22, New Orleans, Louisiana, U.S.A.
4. 大平充宣、後藤勝正. Mechanical stress に応じた衛星細胞の特性が関与した骨格筋の可塑性. シンポジウム“メカニカルストレスに対する筋・骨格系の応答の分子機構”, 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会・合同大会、神戸ポートアイランド、2008 年 12 月 12 日。
5. 大平充宣. 神経・筋の特性は筋が決める?! (特別講演). 日本体力医学会・第 13 回東海地方会、名古屋大学、2009 年 3 月 15 日。

〔図書〕(計 2 件)

1. Ohira, Y. (Ed.) *Neuromuscular Regeneration*, Graduate School of Medicine and Frontier Biosciences, Osaka University, 2009.
2. Ohira, Y. (Ed.) *Muscle Cell Physiology*, Osaka University Press, 2009.

ホームページ:

<http://hw001.gate01.com/kawaco/>