

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：34315

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19744

研究課題名（和文）サルコメア長の可視化に基づく、反動動作による筋力増強メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidated the mechanism of force potentiation by countermovement based on the visualization of the sarcomere length

研究代表者

福谷 充輝（Fukutani, Atsuki）

立命館大学・スポーツ健康科学部・講師

研究者番号：80722644

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：伸張性収縮後の等尺性収縮筋力は、通常の等尺性収縮筋力と比較して増大する。この筋力増大は、サルコメア長の不均衡のよって生じると考えられている。しかしながら、これは理論に基づく推察であり、実験的に確かめられていない。そこで本研究では、単一の筋細胞を対象に、収縮中のサルコメア長を可視化することで、詳細に検証した。その結果、先行研究と同様に、張性収縮後の等尺性収縮筋力は、通常の等尺性収縮筋力と比較して増大したが、この時のサルコメア長に条件間で差はみられなかった。つまり、この筋力増大は、サルコメア長の分布では説明することが出来ず、これまでの議論を再検討する必要があることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、サルコメア長の変化は均一と考え、「筋線維が10%短縮したということは、各サルコメアが均一に10%短縮した」とみなして、力学現象を説明してきた。しかしながら、本研究によって、サルコメア長の変化は均一ではなく、伸ばされて長くなるサルコメアもあれば、反対に短い状態を維持したままのサルコメアも存在することが明らかになった。サルコメアの長さが均一でないからこそ生じる現象も存在することから、各サルコメア長の実測が必要ということを提唱することは、身体運動の詳細な生成メカニズム解明に向けて当該分野の理解を一步進めるといって、学術的意義がある。

研究成果の概要（英文）：The isometric force is increased after an eccentric contraction compared to the pure isometric force. This phenomenon is called residual force enhancement. Currently, the mechanism of this force potentiation is considered to be sarcomere length non-uniformity. However, this idea is an estimation based on the theory and not yet experimentally verified. Therefore, the purpose of this study was to examine whether this estimation is correct or not by visualizing the sarcomere length during contractions. As a result, although the force potentiation was confirmed as expected, the variation of sarcomere length was not different between conditions. This result indicates that the widely-used sarcomere length non-uniformity theory could not explain the force potentiation after an eccentric contraction and should be reconsidered.

研究分野：バイオメカニクス

キーワード：ミオシン アクチン タイチン サルコメア 骨格筋

1. 研究開始当初の背景

現在、筋収縮メカニズムとしてクロスブリッジセオリーが提唱されている。これは、ミオシンから突き出たクロスブリッジがアクチンを手繰り寄せるように滑らせることで筋が収縮するというものである (Huxley 1957)。このセオリーは広く受け入れられており、【力-長さ関係】や【力-速度関係】という筋の収縮特性はクロスブリッジセオリーによって上手く説明することが出来る (Hill 1938, Huxley 1957, Gordon et al. 1966)。力-長さ関係や力-速度関係は、発揮筋力に影響を与える重要な要因であるため、これらを議論する上で必須の情報である筋の長さ (サルコメアの長さ) を捉えることは、筋収縮メカニズムを考える上で基本となる。そのため、筋の長さは細胞レベルやヒト生体レベルといった全ての実験系において計測されている。例えば、ヒト生体における超音波を用いた筋線維長計測が発展した理由としては、筋収縮メカニズムに直結している筋の長さを、ヒト生体で計測できたことが挙げられる。

このように、筋の長さ、すなわちサルコメアの長さを把握することは、筋収縮メカニズムを検証する上で必須となり、多くの研究で筋の長さが計測されている。しかしながら、これまでの研究は、各サルコメアの長さは均一という大前提を置いて行われていることに注意を要する。力-速度関係や力-長さ関係はサルコメアの長さダイレクトにリンクしているため、本来は筋全体や筋線維の長さ変化ではなくサルコメアの長さ変化を捉えるべきであるが、サルコメア長計測は困難であるため、代替手段として【筋線維の長さを計測し、仮に筋線維が 10% 短縮したならば、筋線維を構成する個々のサルコメアもそれぞれ均一に 10% 短縮した】とみなす方法を採用している。つまり、すべてのサルコメアに均一の長さ変化が生じると考えて分析を行っている。しかしながら、近年の研究において、単一の筋原線維を対象に各サルコメア長を計測すると、各サルコメアの長さは一定になっておらず、長さ変化も一定ではない (伸びないサルコメアもあれば、伸びるサルコメアもある) ことが見出されている (Joumaa et al. 2008)。もし仮に、各サルコメア長が均一でないということが真実であれば、これまでのような【筋線維長変化からサルコメア長変化の推定】が成り立たなくなってしまう。具体的には、筋線維の長さが同じでも、各サルコメアの長さが不均一になってしまうと発揮筋力は異なるため (図 1 の上枠と下枠を参照)、これまでの筋全体の長さ変化から推測された力-長さ関係の議論が崩れてしまう。

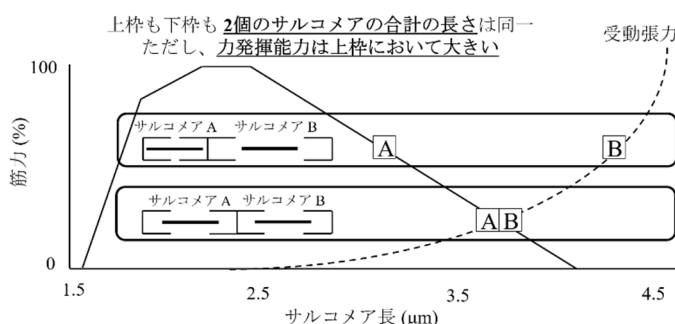


図 1. 下枠の【サルコメア長が均一】な場合と比べて、【サルコメア長が不均一】な場合 (上枠) は、筋線維の長さが同じにも関わらず筋力が大きい (サルコメア A は力-長さ関係的に筋力が増大し、サルコメア B は受動張力で筋力が増大するため)

2. 研究の目的

この【サルコメア長の不均衡】という現象は、【筋収縮の源であるクロスブリッジは確率的に結合するため、隣り合うサルコメア間で必ずしも同数のクロスブリッジが結合しているわけではない】という特性によって、サルコメア間で力の不均衡が生じ、弱いサルコメアは強いサルコメアに強制的に引っ張られてしまうということから理論的に導かれるため、当該分野においては一定の理解が得られている (Hill 1953, Morgan 2000)。しかしながら、これまでのコンセプトは理論的に推定されたものであり、実際の筋収縮中にサルコメア長が不均一になる瞬間が実験的に捉えられている訳ではない。そこで本研究では、単一の筋細胞を対象に、筋収縮中に時々刻々と変化する個々のサルコメア長の可視化に挑戦し、クロスブリッジセオリーだけでは不可能だが、サルコメア長の不均衡という概念を組み込むことで説明可能と考えられている伸張性収縮後の発揮筋力増大 (反動動作による筋力増大) という現象のメカニズムを検証した。

3. 研究の方法

ウサギの大腰筋を摘出し、摘出した筋を、グリセロールを 50% 含んだ水容器に保存することで、筋細胞の細胞膜を壊し、細胞の内外で液体の移動が可能サンプルを作成した。この状態で、実体顕微鏡下で単一の筋細胞を単離し、フォーストランスデューサー、およびモーターに取り付けた。この状態で、筋サンプル、および力学計測装置を位相差顕微鏡下に設置し、単一の筋細胞を位相差顕微鏡下に組み込んだ力学計測装置にセットすることで、単一の筋細胞におけるサル

コメア長を観察出来る状態にした(図2)。この状態から、ウェル内の水溶液を、カルシウムイオンを含んだ水溶液に交換することで筋収縮を誘発した。主要な測定として、サルコメア長が不均衡になると言われている、伸張性収縮後の等尺性収縮時局面と、コントロール条件として、伸張性収縮を行わない、純粋な等尺性収縮局面のサルコメア長の分布を計測した。サルコメア長の測定に関しては、各測定タイミングにおいて、連続した20個のサルコメアの長さを計測し、その20個のサルコメアの長さの分布を算出した。また、各局面での筋力も計測した。

4. 研究成果

筋力計測の結果、伸張性収縮後の等尺性収縮局面は、通常の等尺性収縮局面と比べて、全体の筋細胞の長さは同じにも関わらず、大きな力発揮が認められた。これは、先行研究と同様、伸張性収縮によって、何らかの力発揮能力増強が生じたといえる。先行研究においては、この力発揮能力増強は、図1で示したように、筋細胞全体の長さは同じでも、筋細胞を構成する個々のサルコメアの長さに分布が生じ(長いサルコメアと短いサルコメアの2グループが発生する)、力発揮能力増強につながっていると考察されているが、実際にサルコメア長の分布を計測してみると、いずれの条件においてもサルコメア長の分布はみられたものの、分布の程度は条件間で差はみられなかった(図3)。先行研究の考え方に基づく、伸張性収縮後の等尺性収縮局面においては、短いサルコメアと長いサルコメアが生じるため、図3のヒストグラムが二峰性になるはずであるが、そのような特徴は認められなかった。

この結果は、「伸張性収縮後の等尺性収縮筋力の増大は、サルコメア長の不均衡によって生じる」という議論に疑問を呈すものである。これまでに、本研究と同様にサルコメア長の分布を実測した研究も存在するが(Joumaa et al. 2008)、その研究では単一の筋原線維を測定対象としており、サンプルが極めて小さく、サルコメアが直列に5-10個程度連なったものであるため、複数のサルコメアの協調によって生じるサルコメア長の不均衡が生じにくい可能性がある。この問題をクリアするため、本研究では、サルコメアが直列に500個以上連なったもの(単一の筋細胞)を対象として実験を行った。このような条件にも関わらず、サルコメア長の分布は先行研究で予見されていたような二峰性にならなかったため、従来の理論は再考の必要性がある。本研究では直接的な計測はできていないが、消去法で考えると、最も有力な説としてタイチンの弾性力増大が挙げられる。タイチンは、ミオシンフィラメントとZ線を繋ぐ形状から、サルコメアの骨格をなすような働きをしており、サルコメアが引き伸ばされるとタイチンも引き伸ばされることとなり、タイチンが弾性力を発揮する。また、タイチンは筋収縮時にその構造を変化させ、アクチンと結合するような形になり、実質的なタイチンの弾性係数が増大する。その結果、あるサルコメア長におけるタイチンの弾性力が増大することとなり、これがクロスブリッジの発揮する力と合算され、通常の等尺性収縮時よりも大きな筋力発揮が可能となる、というものである。本研究はタイチンの構造変化に関する情報はデータとして得られていないが、現状の観察される力学現象との矛盾はないため、サルコメア長の不均衡に変わりうる、伸張性収縮後の筋力増大のメカニズムの可能性はある。

< 引用文献 >

- Huxley, A. Muscle structure and theories of contraction. Prog. Biophys. Biophys. Chem. 1957, 7, 255–318.
 Hill, A.V. The heat of shortening and the dynamic constants of muscle. Proc. R. Soc. Lond. 1938, 126, 136–195.
 Gordon, A.M.; Huxley, A.F.; Julian, F.J. The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres. J. Physiol. 1966, 184, 170–192.
 Joumaa, V.; Leonard, T.R.; Herzog, W. Residual force enhancement in myofibrils and sarcomeres. Proc.

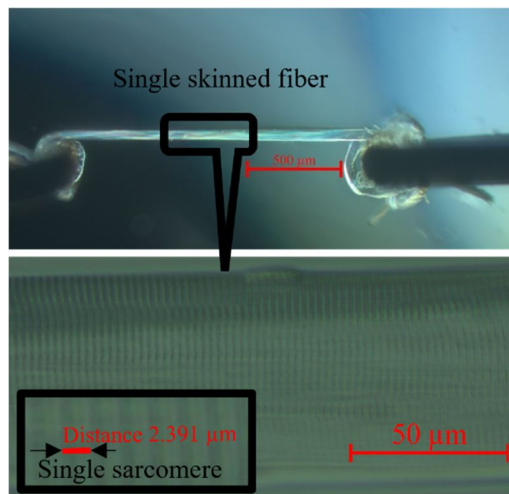


図2. 単一の筋細胞と、サルコメア長の可視化

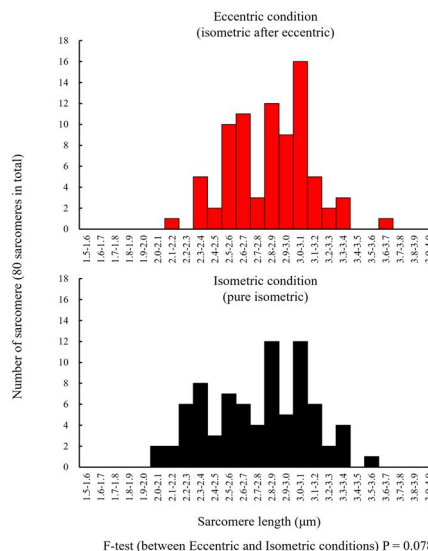


図3. サルコメア長の分布。赤が伸張性収縮後の等尺性収縮局面、黒が、通常の等尺性収縮局面のデータ。80個のサルコメアのデータをまとめたもの

F-test (between Eccentric and Isometric conditions) P = 0.078

Biol. Sci. 2008, 275, 1411–1419.

Hill, A.V. The mechanics of active muscle. Proc. R. Soc. Lond. 1953, 141, 104–117.

Morgan, D.L.; Whitehead, N.P.; Wise, A.K.; Gregory, J.E.; Proske, U. Tension changes in the cat soleus muscle following slow stretch or shortening of the contracting muscle. J. Physiol. 2000, 522, 503–513.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fukutani Atsuki, Hashizume Satoru, Isaka Tadao	4. 巻 13
2. 論文標題 Measurements of tendon length changes during stretch-shortening cycles in rat soleus	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-32370-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fukutani Atsuki, Kunimatsu Shiho, Isaka Tadao	4. 巻 225
2. 論文標題 Force loss induced by inhibiting cross-bridge cycling is mitigated in eccentric contraction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Biology	6. 最初と最後の頁 jeb244962
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jeb.244962	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fukutani Atsuki, Kunimatsu Shiho, Isaka Tadao	4. 巻 12
2. 論文標題 Influence of caffeine on the maximal isometric and concentric force produced by skinned fibers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7980
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-12222-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Atsuki Fukutani, Walter Herzog	4. 巻 136
2. 論文標題 Residual force enhancement is attenuated for quick stretch conditions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biomechanics	6. 最初と最後の頁 111076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiomech.2022.111076	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Fukutani Atsuki、Kunimatsu Shiho、Isaka Tadao
2. 発表標題 Sarcomere length variations in the pure isometric and the enhanced isometric conditions in the skinned single fiber preparations
3. 学会等名 9th World Congress on Biomechanics (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	伊坂 忠夫 (Isaka Tadao) (30247811)	立命館大学・スポーツ健康科学部・教授 (34315)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------