

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 26 日現在

機関番号：17401  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21500633  
 研究課題名（和文）筋線維サイズ変化に対する筋衛星細胞の活性化と神経支配および老化の影響  
 研究課題名（英文）Satellite cell activation to the change of muscle fiber size and the effects of motor nerve innervations and aging  
 研究代表者  
 大石 康晴（OISHI YASUHARU）  
 熊本大学・教育学部・准教授  
 研究者番号：10203704

研究成果の概要（和文）：筋線維再生段階初期の筋線維タイプの決定、筋衛星細胞の活性化、および熱ストレスの影響について検討した。熱ストレスを加えたラットヒラメ筋再生筋線維では slow タイプのミオシン重鎖成分のみを含む遅筋線維の発現と活性化衛星細胞の増加が認められた。本結果は、速筋型から遅筋型へのミオシン重鎖成分の変化が熱ストレスにより促進された可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：Analyses were performed on the fiber phenotype expression, satellite cell activation, and the effects of heat stress at an early stage of rat soleus fiber regeneration. In heat stressed soleus regenerating fibers, slow type fiber containing only the slow myosin heavy chain isoform and enhanced activation of satellite cells were observed. These results suggest the possibility that heat stress accelerates the shift of fiber phenotype from fast to slow at an early stage of soleus fiber regenerating process.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・スポーツ科学

キーワード：熱ストレス・再生筋線維・衛星細胞・ミオシン重鎖・ヒラメ筋・ラット

1. 研究開始当初の背景

これまでの我々の論文 (Oishi et al. Acta Physiol, 2008) において、後肢懸垂によるラットヒラメ筋の萎縮は、アポトーシスによる筋核数の減少とタンパク質分解の亢進によるものであること、懸垂解除後の再負

荷期における筋線維サイズの増加が、中心核を持った再生筋線維の発現・成長と、既存の萎縮筋線維のサイズ増加の両方によるものであり、これが筋核数の増大と熱ストレスタンパク質 72 (Hsp72) およびカルシニューリ

ン (CaN) の作用による可能性を示唆した。  
このような筋核数および筋線維サイズの増大には、衛星細胞の活性化が関与していると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究は、筋線維サイズの増加あるいは再生筋線維の成長段階における筋衛星細胞の活性化と増殖、分化、融合のプロセスと、それに関与する核タンパク質 (MyoD, myogenin, Myf5, MRF4, Pax3/7 など) の発現の解明、さらには神経支配や老化の影響について解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

実験には生後 10 週齢の Wistar 系雄ラット 25 匹を用い、左脚のヒラメ筋に塩酸ブピバカイン (BPVC) を注入し筋線維を破壊する。右脚ヒラメ筋は対照脚筋とする。

BPVC 注入 2、3、4、5、7 日後に左右ヒラメ筋を摘出する。ヒラメ筋重量を測定後、免疫組織化学的分析とウェスタンブロッティングによるタンパク質発現分析を行う。

**免疫組織化学的分析**: Laminin による基底膜、Dystrophin による形質膜の染色を同時に行い、筋核と衛星細胞を同定し、核数の変化や衛星細胞の数や形態の変化を詳細に検討する。また、TUNEL 染色によりアポトーシス核数の変動と神経支配の影響を検討する。

**ウェスタンブロット**: SDS-電気泳動とウェスタンブロッティングにより各種ストレスタンパク質 (Hsp90, Hsp72, Hsp73, Hsp60, Hsp27)、CaN、PGC-1、およびアポトーシス関連タンパク質の発現量の変化を検討する。

## 4. 研究成果

注入2日目では筋線維内部の収縮タンパク質はほとんど分解されており、速筋型・遅筋型タイプのみオシン重鎖成分は認められな

かった。

4日目の再生筋線維では速筋型ミオシン重鎖成分のみが発現していた。さらに6日目の再生筋線維では、速筋型ミオシン重鎖成分のみを発現している線維と、速筋型と遅筋型ミオシン重鎖の両方を発現している線維がみられた。

筋線維再生段階で熱ストレスを加えた場合、6日目の再生筋線維では、速筋型と遅筋型ミオシン重鎖の両方を発現している線維の割合が非常に高く、また遅筋型ミオシン重鎖のみを発現する筋線維がみられた。

本結果は、速筋型から遅筋型へのミオシン重鎖成分の変化が熱ストレスにより促進された可能性を示唆している。

一方、静止型・活性型の筋衛星細胞の発現数では、注入4日目、6日目において、対照群に比べ熱ストレス群で静止型・活性型ともに筋衛星細胞の発現が有意に増加した。

再生筋線維のサイズについては、熱ストレスによる有意なサイズ増加は認められず、筋線維再生初期段階では、熱ストレスの筋線維サイズ増加への影響は小さいものと推察される。

以上の結果から、筋線維再生の初期段階 (~7 日) において、熱ストレスは再生筋線維のタイプ分化を促進する作用を有し、これは筋衛星細胞の活性化に起因する可能性が推察された。

## 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 4 件)

- ① Ogata T., Oishi Y., Higuchi M. and Muraoka I. (2010), Fasting-related autophagic response in slow- and fast-twitch skeletal muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394: 136-140. 査読有
- ② Oishi Y., Hayashida M., Tsukiashi S., Taniguchi K., Kami K., Roy R. R. and Ohira Y. (2009), Heat stress increases myonuclear number and fiber size via satellite cell activation in rat regenerating soleus fibers. *Journal of Applied Physiology*, 107, 1612-1621. 査読有
- ③ Ogata T., Oishi Y., Higashida K., Higuchi M. and Muraoka I. (2009), Prolonged exercise training induces long-term enhancement of HSP70 expression in rat plantaris muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 296, R1557-R1563. 査読有
- ④ Ogata T., Machida S., Oishi Y., Higuchi M. and Muraoka I. (2009), Differential cell death regulation between adult-unloaded and aged rat soleus muscle. *Mechanisms of Ageing and Development*, 130, 328-336. 査読有

[学会発表] (計4件)

- ①緒方知徳、大石康晴. 「絶食に伴う筋萎縮に対する代償性過負荷の影響」第66回日本体力医学会. 9.18.2011 海峡メッセ下関、下関市、山口県

- ② Yasuharu Oishi, Mari Hayashida, Roland R. Roy, Yoshinobu Ohira. Heat stress enhances fiber size increment via satellite cell activation in rat regenerating soleus fibers. Experimental Biology 2010, Anaheim Convention Center, Anaheim, CA, USA, April 24-28, 2010.
- ③緒方知徳、大石康晴、村岡 功. 「絶食に伴うラット骨格筋内オートファジーの誘導と制御」第64回日本体力医学会(新潟) 9. 20. 2009.
- ④ Yasuharu Oishi, Mari Hayashida, Shinsuke Tsukiashi, Kohachi Taniguchi, Katsuya Kami, Roland R. Roy and Yoshinobu Ohira. Heat stress increases myonuclear number and fiber size via satellite cell activation in rat regenerating soleus fibers. International Symposium "Nueromuscular Regeneration" Kyoto University, Kyoto, Japan, 7.30. 2009.

[図書] (計1件)

- ① Yasuharu Oishi. Muscle Cell Physiology. Edt. Yoshinobu Ohira. Section 5: Calcineurin signaling pathways in mammalian skeletal muscles. p65-70 2009, Osaka University Press.

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

大石 康晴 (OISHI YASUHARU)

熊本大学・教育学部・准教授

研究者番号 : 10203704

(2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

(3) 連携研究者

( )

研究者番号 :