

平成 20 年 3 月 22 日

平成 19 年度「哺乳動物の発育・発達における重力の役割追求WG」 活動報告書

代表者所属 氏名 大阪大学医学系研究科 大平 充宣

1. 構成メンバー

氏名	所属
大平充宣	大阪大学
長岡俊治	藤田保健衛生大学
大石康晴	熊本大学
山崎将生	福島県立医科大学
後藤勝正	豊橋創造大学
石原昭彦	京都大学
中井直也	大阪大学
河野史倫	大阪大学

2. 本年度 WG 会合開催実績

第 1 回：平成 19 年 12 月 22-23 日

3. 活動目的

地球上の生体は 1-G の環境下で誕生・発育し、機能や代謝を維持している。ところが、無重量や加重環境に暴露されることによって骨格筋の形態や性質、神経・筋活動や血液動態などの変化が生じ、生体の機能や代謝は著しい影響を受ける。また、水棲動物が陸上での生息を始めたことに伴い、身体組成や機能に大きな変化が生じた。したがって、生体の身体組成や機能特性は、重力レベルに応じた機構により調節されていることが明らかである。ところが、その詳細なメカニズムは明らかでない。そこで、本研究WGでは、ラットまたはマウスにおける骨格筋、神経系、自律神経などの特性に重力がどのような役割を果たしているのかを検討

することにより、哺乳動物における身体組成および機能の獲得、またはそれらの可塑性のメカニズム解明を目指す。

4. 活動内容

上述のような目的での国内外における先行研究の調査も行いながら、実験も実施する。その結果、新たな問題点の発掘や研究課題の作成にも有意義な示唆が得られるものと期待される。研究 WG のメンバーが担当する分析項目等はそれぞれ独自のものであるが、研究 WG としての研究成果の統括も行って、たとえば「宇宙環境利用シンポジウム」等で発表する。

主たる分析等は次のようなものである。

- ・神経・筋の可塑性における遺伝子発現の分析（大平）
- ・神経活動に対する生理学的応答の解析（長岡）
- ・筋の可塑性に係るストレスタンパク質の役割解明（大石）
- ・神経系、特に自律神経の構造的ならびに機能的解析（山崎）
- ・筋の可塑性に係るシグナル伝達系の追求（後藤）
- ・脊髄と後根神経節に分布するニューロンの解析（石原）
- ・臓器の生化学的特性の分析（中井）
- ・プロテオミクス解析（河野）

会合での議論内容や研究により得られた結果

本年度の研究では、主に高重力環境で誕生したラットの心電図とその心拍変動について解析した。妊娠6日目のウィスター系ラットを遠心式過重力飼育装置内の2-G環境で飼育、出産させ、生後2日目から23日目までの仔ラット(2-G群)の心電図を計測し解析した。遠心負荷開始時は2日間で徐々にGレベルを上げた(1.3-G→1.6-G→2.0-G)。対照群は、同型のケージにて遠心機室内の環境で飼育し、生まれた仔ラット(1-G群)を用いた。2-G群の計測は生後2日目と23日目に行い、対照群(1-G群)の計測は、4、8、11、18日目にも行った。

計測はデジタルポリグラフ MP-35 (BIOPAC 社、California, USA) を用い、サンプリング周波数 1 KHz にて行った。心電図計測はステンレス製小型スパイラル電極 (0.2 mm φ) を皮下に挿入し、接地電極は心電図モニター用銀塩化銀電極 (日本光電、Vitrode V) を背部に接着し行った。2-G 群の計測は遠心機停止後 30 分以内に 1-G 環境下にて行った。安静時心拍数は 3 分間の心拍数の平均値として求めた。心拍変動の解析は、心電図から瞬時心拍トレンドを求め、5 Hz の低周波濾波フィルター処理後、自己相関—FFT 法にてパワースペクトルを得た後、呼吸の周波数帯域 (呼吸応答成分) を積分して呼吸性心拍変動とした。呼吸の周波数応答は、心電図に 0.03~3Hz の帯域通過フィルター処理を行った後、自己相関—FFT 法にてパワースペクトルを得た。

暴露された重力レベルに応じたラット長内転筋活動の反応も追求した。左長内転筋の頭側および尾側に電極を装着後、最低2日間の回復後、覚醒ラットを使ってダイヤモンドエアーサーブス社の小型ジェット機(MU-300)の弾道飛行の筋電図活動を記録・分析した。

結果

高重力環境下においても、ラットは正常に出産し、母ラットは正常な保育を行

った。2-G 環境下での体重増加曲線では、1-G 環境に比べわずかな遅れが見られた。安静時平均心拍は生後約 1 週間から徐々に上昇し、2 日目では 2-G 群 (240±8 bpm) は 1-G 群 (326±21 bpm) に比べ有意に低くかったが、23 日目においては両者に有意差は見られなくなった。

1-G 群の呼吸性心拍変動は、2 日目にはごくわずかしか認められなかったが、生後約 2 週間以降に急激に増加し、23 日目にはほぼ成熟ラットに近いレベルまで発達した。2-G 群における生後 2 日目の呼吸性心拍変動値も、1-G 群より有意に低く、23 日目においても同様な傾向が見られたが、有意差は認められなかった。しかしながら、2 日目と 23 日目の呼吸性心拍変動値の比は、1-G 群では 45 倍に、2-G 群では 69 倍に増加し、2-G 群は 1-G 群と比較し有意に増加率が大きいことが分かった。

弾道飛行実験：1-G または hyper-G 下では、長内転筋の尾側において持続的な筋活動が認められたが、わずかな姿勢の変化による活動の消失も見られた。頭側は、重力下における安静状態では活動を示さないことが多かったが、姿勢によっては持続的な活動も見られた。微小重力環境下に暴露された場合、股関節の顕著な外転および伸展に伴い両側で筋活動が消失した。

考察

心拍調節は心筋の自動能に加え、心臓交感神経と迷走神経活動のバランスによって行われるが、在胎期では、羊水内は低酸素環境のため交感神経は迷走神経に比べ未発達であり、出生後一定期間後に発達するとされている。今回の実験では、1-G 群の安静時心拍数は生後約 1 週間以内では殆ど変化が無くその後徐々に増加することから、ラットでの心臓交感神経発達は誕生後 1 週間程度から始まったと推定される。しかしながら、2-G 群では、誕生 2 日目の平均心拍数が 1-G 群と比べ有意に低いことから、心臓迷走神経系の生後発達には交感神経に比べ早く、重力感受性が高いことを推察させた。

一方、呼吸性心拍変動は、肺から中枢への求心性迷走神経支配が、呼吸中枢だけでなく心臓調節中枢にも及ぶ必要である。1-G 対照群の呼吸性心拍変動は、生後2週間以内は極めて小さく、その後急激な増加が認められた。したがって、呼吸性心拍変動に必要な神経支配は誕生後約2週間以降急激に発達したものと考えられる。この発達は心臓調節系の発達より明らかに遅く、肺からの迷走神経求心枝による神経支配が呼吸中枢から心臓調節中枢に至る過程であることを強く示唆した。今回の結果から、重力が心拍調節に必要な自律神経系、特に交感神経よりも迷走神経系の生後発達を促進していることがほぼ明らかとなり、これが重力曝露により呼吸性心拍変動が発現したとする我々の仮説を強く支持している。

弾道飛行実験：微小重力環境曝露により、長内転筋活動が顕著に抑制されたが、このような現象は股関節および膝関節の顕著な外転および伸展に起因していることが示唆された。関節の変化に応じた筋線維長等の反応に関しては、現在分析中である。

5. 成果

原著論文

- 1) Goto, K., Oda, H., Morioka, S., Naito, T., Akema, T., Kato, H., Fujiya, H., Nakajima, Y., Sugiura, T., Ohira, Y., and Yoshioka, T.: Skeletal muscle hypertrophy induced by low-intensity exercise with heat-stress in healthy human subjects. *Jpn. J. Aerospace Environ. Med.*, 44: 13-18, 2007.
- 2) Goto, K., Kojima, A., Morioka, S., Naito, T., Akema, T., Matsuba, Y., Fujiya, H., Sugiura, T., Ohira, Y., and Yoshioka, T.: Geranylgeranylacetone induces heat shock protein 72 in skeletal muscles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 358: 331-335, 2007.
- 3) Kawano, F., Matsuoka, Y., Oke, Y., Higo, Y., Terada, M., Wang, X.D., Nakai, N., Fukuda, H., Imajoh-Ohmi, S., and Ohira, Y.: Role(s) of nucleoli,

phosphorylation of ribosomal protein S6 and/or HSP27 in the regulation of muscle mass. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 293: C35-C44, 2007.

- 4) Matsumoto, A., Okiura, T., Morimatsu, F., Ohira, Y., and Ishihara, A.: Effects of hyperbaric exposure with high oxygen concentration on the physical activity of developing rats. *Dev. Neurosci.*, 29: 452-459, 2007.
- 5) Matsumoto, A., Nagatomo, F., Mori, A., Ohira, Y., and Ishihara, A.: Cell size and oxidative enzyme activity of rat biceps brachii and triceps brachii muscles. *J. Physiol. Sci.*, 157: 311-316, 2007.
- 6) 後藤勝正, 松葉祐介, 森岡成太: 筋・腱・骨のミクロ環境、体育の科学, 57: 332-338, 2007.
- 7) 後藤勝正, 大平充宣: 宇宙環境曝露および老化による骨格筋の萎縮. *宇宙航空環境医学*, 44: 49-58, 2007.
- 8) Ohira, Y., Wang, X.D., Terada, M., Kawano, F., Matsuoka, Y., Higo, Y., Ohira, T., Kojima, A., Goto, K., and Yoshioka, T.: Investigation of the mechanism responsible for muscle atrophy and countermeasures in microgravity environment: Role(s) of mechanical load and/or satellite cells. *Proceedings of the 1st International Space Medicine Symposium 2007 in Sapporo*, 91-93, 2008.

学会発表

- 1) Goto, K., Morioka, S., Naito, T., Akema, T., Matsuba, Y., Sugiura, T., Ohira, Y., and Yoshioka, T.: Effects of functional overloading on the regenerative potential of injured skeletal muscle in mice. *28th Annual International Gravitational Physiology Meeting*, 2007.
- 2) Goto, K., Morioka, S., Naito, T., Kojima, A., Akema, T., Matsuba, Y., Fujiya, H., Sugiura, T., Ohira, Y., and Yoshioka, T.: Antiulcer drug geranylgeranylacetone

- induces heat shock protein 72 in skeletal muscle cells and its physiological significance in muscle physiology. 2007 FASEB Summer Research Conference “Skeletal Muscle Satellite Cells and Stem Cells”, 2007.
- 3) 王曉東, 河野史倫, 松岡由和, 寺田昌弘, 大平充宣, 山元弘, 伊藤恒賢, 後藤勝正, 大平充宣: 骨格筋線維の萎縮からの回復におけるマクロファージの役割. 第28回日本炎症・再生医学会, 2007.
 - 4) 後藤勝正, 小島敦, 森岡成太, 内藤利仁, 明間立雄, 藤谷博人, 杉浦崇夫, 大平充宣, 別府諸兄, 青木治人, 吉岡利忠: 損傷骨格筋の再生に対する温熱ストレスの影響. 第28回日本炎症・再生医学会, 2007.
 - 5) Goto, K., Naito, T., Morioka, S., Kojima, A., Matsuba, Y., Sugiura, T., Ohira, Y., and Yoshioka, T.: Antiulcer drug geranylgeranylacetone facilitates the differentiation of skeletal muscle cells. World Conference of Stress. 3rd Cell Stress Society International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine, 2007.
 - 6) 大平充宣, 後藤勝正: 骨格筋再生機構における炎症反応の関与. 第62回日本体力医学会大会, シンポジウム「体力科学における骨格筋研究の展開と展望」, 2007.
 - 7) 松葉祐介, 後藤勝正, 内藤利仁, 別府諸兄, 杉浦崇夫, 大平充宣, 吉岡利忠: 安静が骨格筋損傷後の再生過程に及ぼす影響. 第62回日本体力医学会大会, 2007.
 - 8) 内藤利仁, 松葉祐介, 森岡成太, 明間立雄, 別府諸兄, 後藤勝正, 杉浦崇夫, 大平充宣, 吉岡利忠: 損傷骨格筋の再生に及ぼすギプス固定および顆粒球コロニー刺激因子の影響. 第62回日本体力医学会大会, 2007.
 - 9) 後藤勝正, 内藤利仁, 松葉祐介, 杉浦崇夫, 大平充宣, 吉岡利忠: 骨格筋再生過程における小胞体ストレス. 第62回日本体力医学会大会, 2007.
 - 10) Goto, K., Morioka, S., Naito, T., Kojima, A., Akema, T., Fujiya, H., Sugiura, T., Ohira, Y., and Yoshioka, T.: Geranylgeranylacetone increases protein content and heat shock protein 72 expression in skeletal muscle cells. 23rd Annual Meeting of American Society for Gravitational and Space Biology, 2007.
 - 11) 鈴木美穂, 内藤美幸, 大野善隆, 後藤勝正, 大平充宣, 吉岡利忠: 骨格筋の活動量変化に対する組織内脂肪の応答. 第53回日本宇宙航空環境医学会大会, 2007.
 - 12) 大野善隆, 後藤勝正, 杉浦崇夫, 大平充宣, 吉岡利忠: 温熱ストレスによるNF- κ Bの応答と骨格筋の肥大. 第53回日本宇宙航空環境医学会大会, 2007.
 - 13) 後藤勝正, 杉浦崇夫, 大平充宣, 吉岡利忠: ストレスに対する骨格筋の応答. 平成19年度筋生理の集い, 2007.
 - 14) Goto, K., Sugiura, T., Hashimoto, N., Ohira, Y., and Yoshioka, T.: Effects of gravitational loading on protein expression during the regeneration of injured soleus muscle of mice. 第85回日本生理学会大会, 2008.
 - 15) Matsuba, Y., Goto, K., Naito, T., Sugiura, T., Hashimoto, N., Ohira, Y., and Yoshioka, T.: Effects of loading/unloading on the regenerative potential of injured skeletal muscle in mice. 第85回日本生理学会大会, 2008.
 - 16) Naito, T., Goto, K., Morioka, S., Matsuba, Y., Akema, T., Sugiura, T., Ohira, Y., and Yoshioka, T.: Effects of hindlimb immobilization on Akt and GSK-3 β signals in regeneration of injured mouse skeletal muscle. 第85回日本生理学会大会, 2008.