

## 論文の内容の要旨

# 骨格筋肥大におけるリボソーム生合成の役割 (Roles played by ribosome biogenesis in skeletal muscle hypertrophy)

中田智史

【序章】 骨格筋の肥大はアスリートのトレーニングのみならず、一般人の生活習慣病予防や高齢者の寝たきり防止などの観点から注目されている。そのため、効率的に筋肥大を引き起こす方法を確立する必要があり、筋肥大のメカニズムを解明することに期待が集まっている。

これまで数多くの研究から筋肥大と関係する様々な因子が報告されているが、それらの因子が筋肥大率とどのような量的関係を持っているのかについては不明な点が多く残されている。そこで本博士論文では、筋肥大率を規定する可能性のある因子として注目されている筋核数の増加、翻訳効率調節因子、リボソーム生合成が筋肥大率とそのような量的関係にあるのかを明らかにすることを目的に研究を行った。

【第1章 筋肥大率を変えることのできる動物モデルの開発 (研究1)】 筋肥大率とそれを制御するメカニズムを詳細に研究する上で筋肥大率を意図的に変えることのできる動物モデルの使用が望ましい。しかし、これまで筋肥大率を調節できるモデルは存在しなかった。そこで我々はラットを用いた協働筋切除による足底筋代償性肥大モデルを改良し、切除する協働筋の量を調節することで足底筋の筋肥大率を4段階(WK, MO, MI, ST)に変えることのできる手術方法を考案した。研究1では新たに考案した手術方法の妥当性を検討するために、足底筋筋重量/体重、筋線維横断面積の変化について測定を行った。術後14日での手術脚(OL)の足底筋筋重量/体重はそれぞれの群の対象脚(NL)に比べて、WK群7.3%、MO群21.3%、MI群31.8%、ST群44.2%の増加となった(図1a)。また平均筋線維横断面積も同様の傾向を示した(図1b)これらの結果から、筋肥大率を変えることのできる動物モデルを確立できたとと言える。

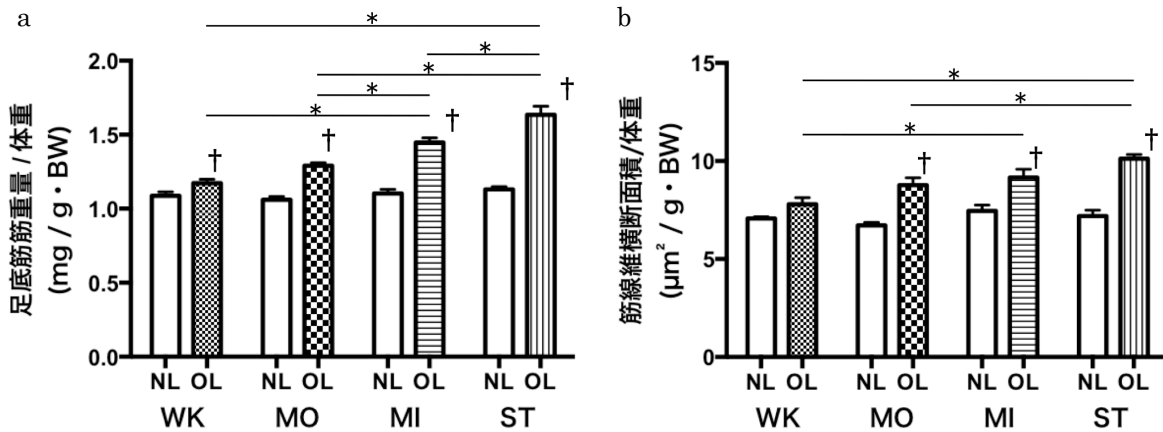


図 1. 改良型協働筋切除手術による，筋重量/体重，筋線維横断面積/体重の変化

平均 ± SE で表示，\*：同群の NL 脚と比較して  $P < 0.05$  で有意差あり

A, B, C: OL 脚間で比較した際に異なる文字間には  $P < 0.05$  で有意差あり

【第 2 章 筋核数と筋肥大率 (研究 2)】 研究 1 で確立した新たな筋肥大モデルを用い，筋肥大の制限因子である可能性が指摘されている筋核数と肥大率の間の量的関係を検討した．サンプルは術後 14 日のものを用い筋線維を単離後，筋線維横断面積の測定と筋核数の測定を行った．その結果，単離筋線維の横断面積の増加率は研究 1 の結果と同様に  $WK < MO < MI < ST$  となっていたが，筋核数は NL 脚に比べて OL 脚の全ての群で増加する傾向にあるものの，群間で有意な差は見られなかった．従って協働筋切除のような急速な筋肥大の際には骨格筋の筋肥大に対して筋核増加の貢献度は低いと考えられる．

【第 3 章 翻訳調節因子と筋肥大率 (研究 3)】 研究 2 により，筋核の新たな追加がなくても既存の筋核が働くことでタンパク合成を促し，問題なく筋肥大を引き起こすことが示された．そこで研究 3 ではタンパク翻訳能力に関わる因子に着目し，翻訳効率を活性化する mTOR 系シグナルの下流の因子である p70S6K のリン酸化と翻訳キャパシティを決定するリボソーム生合成が筋肥大率とどのような量的関係を持つかを検討した．その結果，p70S6K リン酸化は MO 群，MI 群，ST 群で NL 脚に比較して OL 脚で大きく増加していたが，OL 脚間で比較すると MO 群，MI 群，ST 群の間に有意な差は見られなかった (図 2a)．そのため，p70S6K リン酸化と 14 日での筋重量/体重の量的関係を調べると肥大率の低い 20% (弱肥大～中肥大) までの範囲では筋への負荷の増加に伴って，リン酸化が増加するが，肥大率が大きい範囲ではリン酸化の変化がプラトーになる様子が観察された (図 2b)．これらのことから，p70S6K リン酸化は筋に負荷がかかった際に増加し翻訳効率を高めるが，そのリン酸化量は筋肥大率を規定する因子にはなっていないと考えられる．

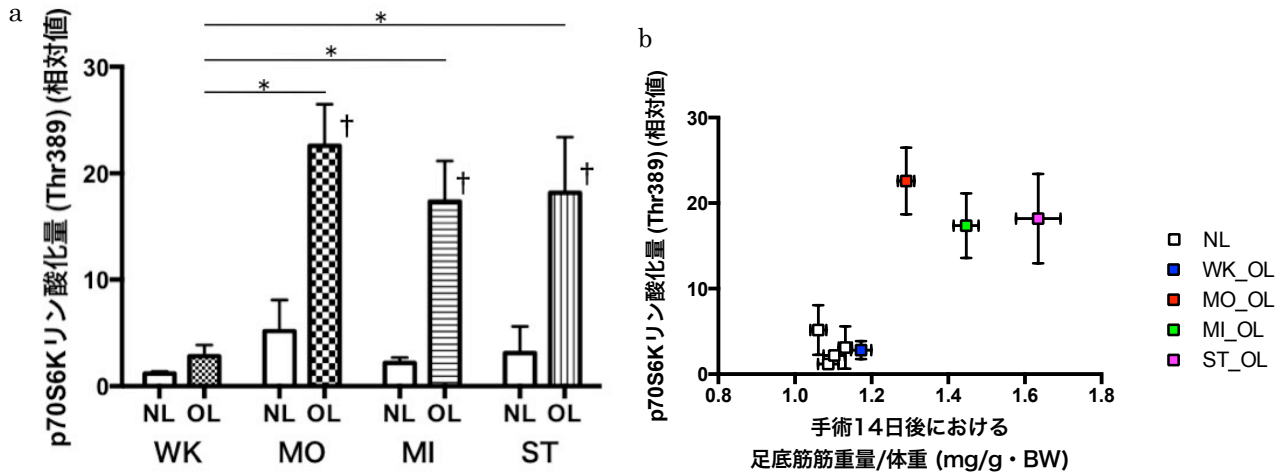


図 2. 改良型協働筋切除手術による p70S6K リン酸化量の変化と p70S6K リン酸化量と筋肥大率の間の量的関係

平均 ± SE で表示, †:同群の NL 脚と比較して  $P < 0.05$  で有意差あり

\*: OL 脚間で比較して  $P < 0.05$  で有意差あり

一方でリボソーム量の指標となる 18+28S rRNA 量は OL 脚間で比較すると  $WK < MO < MI < ST$  と段階的に増加する様子が観察された (図 3a). また, 18+28S rRNA 量は 14 日での筋重量/体重と強い相関が見られた (図 3b). そのため, リボソーム量は筋にかかる負荷の大きさに依存して段階的に増加し, タンパク合成の要求量に見合った翻訳キャパシティを保つことで, 筋肥大率を規定する因子となっている可能性がある.

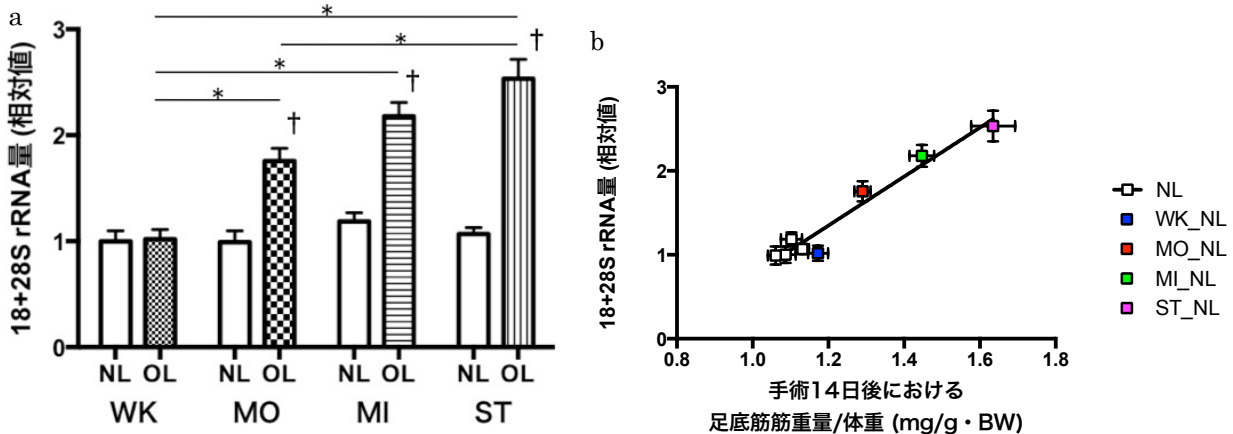


図 3. 改良型協働筋切除手術による 18+28S rRNA 量の変化と 18+28S rRNA 量と筋肥大率の間の量的関係

平均 ± SE で表示, †:同群の NL 脚と比較して  $P < 0.05$  で有意差あり

\*: OL 脚間で比較して  $P < 0.05$  で有意差あり

#### 【第 4 章：リボソーム生合成は筋肥大率を規定するか？-薬理的障害による検討- (研究 4)】

研究 3 によりリボソーム生合成が筋肥大率を規定する因子として有力であることが示された. そのため, 研究 4 では実際にリボソーム生合成が筋肥大率を規定する因子となっているのかどうかを確認するために, リボソーム生合成を rRNA 合成阻害剤であるアクチノマイシン D によって薬理的に阻害し, 筋肥大率にどのような影響が表れるのかを検討した. その結果, 協働筋切除によって引き起こされる足底筋 1mg 中の 18+28S rRNA 量の増加は, アクチノマイシン D 投与によって抑制されることが示された(図 4a). また, それに伴い協

働筋切除によって引き起こされる足底筋筋重量/体重の増加も抑制された(図 4b). 18+28S rRNA 量は筋重量/体重と相関が見られた (図 4c). そのため, リボソーム生合成が筋肥大率を規定する因子となっている可能性がさらに高まった.

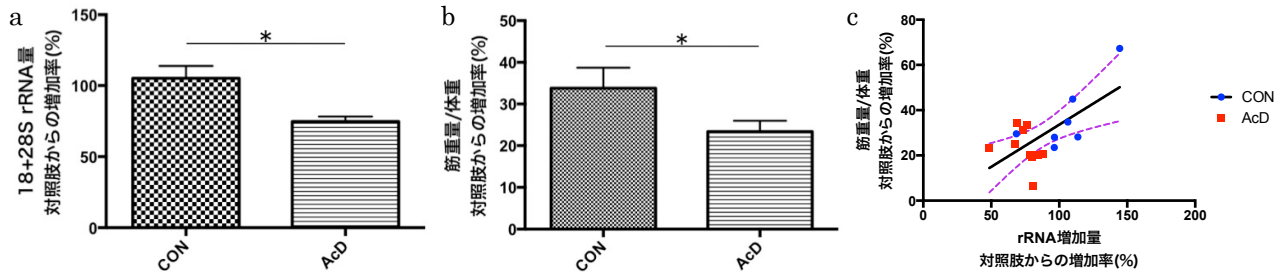


図 4. アクチノマイシン D 投与による 18+28S rRNA 量への影響, 筋重量/体重への影響, 18+28S rRNA 量と筋重量/体重の間の量的関係

平均  $\pm$  SE で表示, \*  $P < 0.05$  で有意差あり

#### 【第 6 章：総合論議】

肥大率を変えることのできる動物モデルを作成し, 筋核数, 翻訳効率関連因子, リボソーム生合成が筋肥大率とどのような量的関係を持っているのかを調べた. その結果, 筋核数は筋肥大の際に増加しなかったことから筋核数の増加は筋肥大率に対する寄与は低いと予想される. また, p70S6K リン酸化は筋に負荷がかかることで大幅に増加するが, プラトーになることから, 筋肥大を引き起こすこと自体には重要である可能性が考えられるが, 筋肥大率を規定する因子にはなっていないと考えられる. 一方, リボソーム生合成の変化量とその後得られる筋肥大率の間には強い相関が見られた. そのため, リボソーム生合成は筋肥大率を規定している可能性が高いと考えられた. また手術 14 日における足底筋筋重量/体重を目的変数, 100 サルコメアあたりの筋核数, p70S6K リン酸化量, 18+28S rRNA 量を説明変数とする重回帰分析を行い, それぞれの説明変数が目的変数の決定に対してどの程度寄与しているかを検討したところ, 18+28S rRNA 量が最も寄与度が高い変数であることが分かった. さらに, リボソーム生合成を薬理的に阻害し, 筋重量/体重にどのような影響が表れるか調べたところ, 18+28S rRNA 量と筋重量/体重の間には相関が見られた. そのため, リボソーム生合成が筋肥大率を規定する因子となっている可能性がさらに高まった. このことから, 骨格筋はかかる負荷の大きさに合わせてリボソーム生合成を介して翻訳キャパシティを調節し, 負荷の大きさに合わせた筋肥大率を達成していると考えられる.