

平成 21 年 8 月 17 日

博士論文審査結果報告書

報告番号 医博甲第2062号

学籍番号 0627022016

氏 名 辻 圭一

論文審査員

主 査 (職名) 細 正博 (教授)

副 査 (職名) 浅井 仁 (教授)

副 査 (職名) 中川 敬夫 (教授)

論文題名 Molecular biological changes in reloaded skeletal muscles after rat hindlimb suspension

【背景】安静臥床や過度の運動不足により生ずる下肢の筋力低下は、理学療法をすすめる上で弊害となりやすく、患者は容易に日常生活動作能力の低下を招く。そのため、廃用性筋萎縮の予防・治療は重要な課題である。廃用性筋萎縮に対するラット骨格筋の研究では、再荷重によって筋萎縮が改善することが知られている。筋は刺激を受けると筋衛星細胞が活性化し、筋肥大へのメカニズムが働く。一方、廃用性萎縮した筋が荷重刺激を受けた後、筋衛星細胞の活動が誘導されるまでの期間は不明である。筋衛星細胞の活性化を調査する指標として、MyoD 遺伝子の発現量が用いられている。筋衛星細胞は活動中に MyoD を発現し、静止時には発現しない特徴があるため、筋衛星細胞活性化の程度は MyoD 発現の増減によって示される。【目的】非荷重によるラットの筋萎縮モデルに再荷重刺激を与え、回復過程における筋衛星細胞の活動時期を明らかにすることを目的とした。【方法】Wistar ラットを用いて、対照群と実験群に分けた。実験群は 14 日間の後肢懸垂法後、再荷重 0、2、7、14 日後にヒラメ筋 (SOL) と長趾伸筋 (EDL) を採取した。右後肢筋は、筋質重量を計測後、Hematoxylin-eosin 染色を施した。そして各筋線維の面積を計測し、平均筋線維面積を求めた。左後肢筋から、Total RNA を抽出・精製した。次に cDNA を合成し、MyoD mRNA および GAPDH mRNA の PCR を実施した。MyoD mRNA 発現量は GAPDH mRNA 発現量 で除し、相対定量値として評価した。統計は一元配置分散分析を行った後、ボンフェローニの補正法を用いた。【結果・考察】SOL の筋湿重量は後肢懸垂により有意に減少したが、再荷重 7 日後には後肢懸垂前のレベルまで回復した。筋横断面積は、後肢懸垂により有意に減少し、7 日後には後肢懸垂前のレベルに回復した。筋衛星細胞が再荷重 2 日後に最も活性化したと考えられた。EDL は後肢懸垂による筋萎縮の程度が SOL よりも少なかった。MyoD mRNA 発現量は後肢懸垂前から再荷重 2 日目まで増減の変化は見られなかった。この結果は、筋線維の Type によって MyoD 増減の反応時期に違いがあると考えられた。

審査会においては、リアルタイム PCR に加えて他の遺伝子実験を追加することにより、研究結果の支持が高まると指摘があったが、本研究は再荷重刺激の 2 日目に MyoD が増加する現象を明確にした論文であることが認められた。よって、本論文は博士論文に値するものであると判断した。