

学位論文題名

血流低下が骨格筋線維の組成と太さに及ぼす影響

—ラット下肢慢性血流低下モデルによる検討—

学位論文内容の要旨

【目的】

顎関節症の一症状である咬筋の疲労を引き起こす原因として、筋組織に対する慢性的な血流低下の影響が考えられている。この理由としては、血流低下による酸素供給量の低下により、酸化的代謝に代わって解糖的代謝が主体となるために乳酸が蓄積する可能性、および、特に Type I 線維のような酸化的代謝を行っている筋線維では、酸素供給量が慢性的に低下すると持続的な収縮が困難となり、遂には筋線維の変性や減少を引き起こし、その結果として骨格筋全体の筋線維比率が変化してしまう可能性などが考えられている。しかしながら、これまで慢性的な血流低下と骨格筋線維の変化について検討した報告は少なく、その詳細については不明な点が多く残されている。そこで本研究では、慢性的な血流低下が骨格筋線維に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、ラット下肢慢性血流低下モデルを作成し、ヒト咬筋と同様に Type I 線維の比率が多く Type II 線維の比率が少ないヒラメ筋と、これとは逆に Type II 線維の比率が多く Type I 線維の比率が少ない長趾伸筋の 2 筋について、筋線維の組成ならびに太さの経時的変化を酵素組織化学的に検索した。

【材料と方法】

本研究の実験動物には、生後 10 週齢、体重約 300g の Wistar 系雄性ラット、45 匹を用いた。全身麻酔下で、左側下肢の外腸骨動脈を剖出して絹糸で結紮後閉創した。また右側下肢については特に処置を行わず対照側とした。筋組織における血流については、

結紮後 1 日, 3 日, 1 週, 2 週, 1 か月, 3 か月, および 6 か月に, 左右両側の大腿部内側で外腸骨動脈の走行部位に一致する領域における総ヘモグロビン量 (以下 Hb 量) と組織内酸素飽和度 (以下 StO₂) を, バイオメディカル・サイエンス社製の SO₂・Hb 量モニターを用いて経皮的に測定した. また, 血流測定直後に全身麻酔を施して左右両側のヒラメ筋と長趾伸筋を採取し, 厚さ約 10 μm の凍結横断連続切片を作成した後, ミオシン ATPase 染色を施した. その後, 筋線維を Type I, Type IIa, Type IIb, および Type IIc の 4 種に分類し, 総筋線維数に対する各線維の比率を求めるとともに, すべてのサンプルについて 50 本の筋線維の短径を計測し, 筋線維 Type 別にその平均値を求めた.

【結果と考察】

1. 血流測定

血流測定の結果, 動脈結紮後の総ヘモグロビン量 (Hb 量) は結紮後 1 日で約 45% 低下し, その後次第に回復したが, 結紮後 3 か月までの間は対照側と比べて有意に低下していた. また, 筋組織内酸素飽和度 (StO₂) も結紮後 1 日で約 17% 低下し, その後次第に回復したが, 結紮後 3 か月までの間は対照側と比べて有意に低下していた. なお, 結紮側における筋線維の組織学的観察において筋組織や細胞の壊死などの変化は全く認められず, 実験期間を通してラットの成育にも問題はなかった. 以上のことから, 外腸骨動脈を結紮することにより, 術後 3 か月まで血流低下が持続することが確認されたので, 本モデルは少なくとも術後 3 か月までは慢性血流低下実験モデルとして使用することが可能であることが明らかになった.

2. ヒラメ筋

ヒラメ筋における各筋線維 Type の比率の経時的変化をみると, 対照側では加齢に伴って Type I 線維の比率が次第に増加し, Type IIa 線維の比率が次第に減少する傾向を示した. これに対して結紮側では, 結紮直後から Type I 線維の比率は次第に減少し, Type IIa 線維の比率は次第に増加する傾向を示し, 結紮後 1 週では対照側との間に有意な差を示すまでになった. しかし, それ以降は Type I 線維の比率は次第に増加, Type IIa 線維の比率は次第に減少し, 対照側との間に有意な差はみられなくなった. このような結紮側における Type I 線維比率の減少と Type IIa 線維比率の増加は, 結紮によ

り筋組織への酸素供給量が減少したために、主に酸化的代謝を行っている Type I 線維が活動不能に陥って減少し、代わって Type II a 線維が増加したことによるものと考えられた。またその後の Type I 線維比率の増加と Type II a 線維比率の減少は、側副路の発達による血流の回復によるものと考えられた。

一方、ヒラメ筋線維の太さの経時的変化をみると、対照側では加齢に伴って各 Type の筋線維とも次第に太さを増す傾向がみられたが、結紮側の Type I 線維については、結紮後 2 週以降のすべての期間で、対照側よりも有意に細くなっていた。なお、結紮側の Type II a 線維と Type II b 線維については、対照側とほぼ同様の変化を示した。このことは、慢性血流低下がヒラメ筋の筋線維の太さに与える影響は主として Type I 線維に対するものであり、Type II a 線維や Type II b 線維にはほとんど影響を与えないことを示している。

3. 長趾伸筋

長趾伸筋における各筋線維 Type の比率の経時的変化をみると、対照側、結紮側ともに実験期間のすべてを通して、筋線維の比率はほぼ同じであった。このことは、長趾伸筋の筋線維組成は加齢による変化を示さないこと、ならびに血流低下による影響もほとんど受けないことを示している。

一方、長趾伸筋線維の太さの経時的変化をみると、対照側、結紮側ともに同様の加齢変化を示したことから、長趾伸筋線維の太さは血流低下の影響をほとんど受けないことが明らかとなった。なお、ヒラメ筋で見られた対照側と結紮側における筋線維 Type の変化の違いが、長趾伸筋では全く見られなかった理由としては、長趾伸筋においては酸化的代謝を行う Type I 線維が約 5% と非常に少なく、また筋線維径もヒラメ筋の 50% 程度の太さしかないために、血流低下状態に陥っても必要とする酸素供給量は十分に確保されていたためではないかと推測された。

以上の結果から、以下のことが明らかとなった。

- ① 骨格筋への慢性的な血流低下の影響は、主として Type I 線維における線維比率と太さの減少として現れるが、比率の減少は結紮後ただちに現れるものの期間は非常に短く、太さの減少は比率の減少よりもかなり遅れて現れるものの長期に及ぶこと。
- ② 慢性的な血流低下の影響が組織学的な変化として明瞭に観察できるのは、組成については結紮後 1 週、線維の太さについては結紮後 2 週と、かなりのタイムラグがあること。

- ③ Type I 線維の筋線維組成の変化は血流の回復とともに次第に元の状態に復する傾向を示すが、筋線維の太さの減少は長期間に及ぶなど、血流低下の影響は組成と太さで異なること。
- ④ 慢性的な血流低下により骨格筋に組織学的変化が生じるか否かは、筋に含まれる Type I 線維の割合によって異なる可能性があること。

一般に、ヒト咬筋は Type I 線維が優位であると言われている。そのため咬筋に慢性的な血流低下が生じた場合には、Type I 線維の比率ならびに太さの減少という変化が引き起こされ、その結果として咬筋が易疲労性となる可能性があることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 戸 塚 靖 則
副 査 教 授 吉 田 重 光
副 査 教 授 赤 池 忠
副 査 助 教 授 山 口 泰 彦

学 位 論 文 題 名

血流低下が骨格筋線維の組成と太さに及ぼす影響

—ラット下肢慢性血流低下モデルによる検討—

審査は、審査員全員出席の下に、申請者に対して提出論文とそれに関連した学科目について口頭試問により行われた。審査論文の概要は、以下の通りである。

本研究は、慢性的な血流低下が骨格筋線維に及ぼす影響を明らかにする目的で、ラット下肢慢性血流低下モデルを作成し、Type I 線維の比率が多く Type II 線維の比率が少ないヒラメ筋と、これとは逆に Type II 線維の比率が多く Type I 線維の比率が少ない長趾伸筋の 2 筋について、筋線維の組成ならびに太さの経時的変化を酵素組織化学的に検索したものである。

生後 10 週齢、体重約 300g の Wistar 系雄性ラット 45 匹を用い、全身麻酔下で左側下肢の外腸骨動脈を剖出して絹糸で結紮後閉鎖した。右側下肢は特に処置を行わず対照側とした。結紮後 1 日、3 日、1 週、2 週、1 か月、3 か月、および 6 か月に、左右両側の大腿部内側で外腸骨動脈の走行部位に一致する領域における総ヘモグロビン量と組織内酸素飽和度を経皮的に測定した。また、血流測定直後に全身麻酔下に、左右両側のヒラメ筋と長趾伸筋を採取し、厚さ約 10 μm の凍結横断連続切片を作成した後、ミオシン ATPase 染色を施し、筋線維を Type I、Type IIa、Type IIb、および Type IIc の 4 種に分類し、総筋線維数に対する各線維の比率、およびすべてのサンプルについて 50 本の筋線維の短径を計測し、筋線維 Type 別にその平均値を求めた。

動脈結紮後の総ヘモグロビン量は結紮後 1 日で約 45%、筋組織内酸素飽和度も結紮後 1 日で約 17%低下した。両者とも、その後次第に回復したが、結紮後 3 か月までの間は対照側と比べて有意に低下していた。

ヒラメ筋における各筋線維 Type の比率の経時的変化をみると、対照側では加齢に伴って Type I 線維の比率が次第に増加し、Type IIa 線維の比率が減少する傾向を示

した。一方結紮側では、結紮直後から Type I 線維の比率は次第に減少し、Type IIa 線維の比率が次第に増加する傾向を示し、結紮後 1 週では対照側との間に有意な差を示した。しかし、それ以降は Type I 線維の比率は次第に増加し、Type IIa 線維の比率は次第に減少して、対照側との間に有意な差はみられなくなった。結紮側における筋線維組成の変化は、酸素供給量の減少により、Type I 線維が活動不能に陥って減少し、代わって Type IIa 線維が増加したことによるものと考えられた。

ヒラメ筋線維の太さの経時的变化をみると、対照側では加齢に伴って各 Type の筋線維とも次第に太さを増す傾向がみられたが、結紮側の Type I 線維については、結紮後 2 週以降のすべての期間で、対照側よりも有意に細くなっていた。結紮側の Type IIa 線維と Type IIb 線維については、対照側とほぼ同様の变化を示した。このことは、慢性血流低下が筋線維の太さに与える影響は主として Type I 線維に対するものであり、Type IIa 線維や Type IIb 線維にはほとんど影響を与えないことを示している。

長趾伸筋における経時的变化をみると、対照側、結紮側ともに実験期間のすべてを通して、筋線維の比率ならびに筋線維の太さはほぼ同じであった。このことは、長趾伸筋は血流低下による影響もほとんど受けないことを示している。この理由としては、長趾伸筋においては酸化的代謝を行う Type I 線維が約 5% と非常に少なく、また筋線維径もヒラメ筋の 50% 程度の太さしかないために、血流低下状態に陥っても必要とする酸素供給量は十分に確保されていたためではないかと推測された。

以上の結果から、骨格筋への慢性的な血流低下の影響は、主として Type I 線維における線維比率と太さの減少として現れるが、比率の減少は結紮後ただちに現れるものの期間は非常に短く、一方太さの減少は比率の減少よりもかなり遅れて現れるものの長期に及ぶことが明らかとなった。また、Type I 線維の筋線維組成の変化は血流の回復とともに次第に元の状態に復する傾向を示すが、筋線維の太さの減少は長期間に及ぶなど、血流低下の影響は組成と太さで異なることも明らかとなった。

論文の審査にあたって、論文申請者による研究の要旨の説明後、本研究ならびに関連する研究について質問が行われた。主な質問項目は、結紮動脈として外腸骨動脈を選んだのは何故か、筋線維総数に変化はなかったのか、歩行障害の影響について、筋疲労の定義について、筋線維のタイプについて、等であった。いずれの質問についても、論文申請者から明快な回答が得られ、また将来の研究の方向性についても具体的に示された。本研究は、骨格筋に慢性的な血流低下が生じた場合に、Type I 線維の比率ならびに太さの減少という変化が引き起こされことを組織学的に明らかにした点が高く評価された。本研究の業績は、口腔外科の分野はもとより、関連領域にも寄与するところ大であり、博士（歯学）の学位授与に値するものと認められた。