

# ジャンプトレーニング後の遠赤外線環境暴露がマウス下肢骨格筋に与える影響

○安納 弘道<sup>1)</sup>・橋本 政和<sup>2)</sup>・尾股 定夫<sup>1)</sup>

1) 日本大学工学部次世代工学技術研究センター・2) 特定非営利活動法人 日本健康事業促進協会

## <結論>

骨格筋は、様々な刺激や外的環境に対し迅速に対応することのできる極めて適応能力の高い組織である。即ち、骨格筋に対し物理的の刺激を課すことにより筋線維の肥大を誘発することが数多くの先行研究により明らかにされており、骨格筋肥大や骨格筋損傷後の再生過程において骨格筋線維と基底膜の間に局在する筋の前駆細胞である筋衛星細胞が関与することが示されている。骨格筋線維の肥大や再生及び筋線維の恒常性維持には、筋衛星細胞が重要な機能を有するとされているが、骨格筋損傷後の再生過程及び骨格筋肥大過程において遠赤外線環境が骨格筋線維及び衛星細胞に与える影響について組織・細胞レベルで検討した研究は極めて少なく、未だ一致した見解は得られていない。そこで本研究では、マウスのジャンプトレーニング後、混合セラミック素材(ブラウシオン)を用いた遠赤外線環境にて飼育することにより、骨格筋再生過程及び肥大過程に関与するMyoDの発現及び抗酸化作用を有するSODのmRNAの発現について組織学的に検討した。

## <材料及び方法>

材料には、C57BL/6Jclマウスを用いた。実験期間中動物は12時間ごとの明暗周期の恒温室にて通常飼育を行った。また、餌・水とも自由接種とした。動物は無作為にトレーニング群・トレーニング+ブラウシオン群・安静群・安静群+ブラウシオン群に群別した。

### ジャンプトレーニング及び遠赤外線環境

トレーニング群・トレーニング+ブラウシオン群の動物は週5日、1日30回のジャンプトレーニングを、本研究室にて作製した電気刺激装置を用い、2週間行った。トレーニング+ブラウシオン群及び安静群+ブラウシオン群は、ブラウシオンを塗布したプレートを飼育ケージに置き、通常飼育を行った。実験期間終了後、動物は頸椎脱臼の後迅速に腓腹筋を摘出し、MyoD及びSOD mRNA発現について検討するため4%paraformaldehyde溶液にて浸漬固定し、その後液体窒素にて急速凍結し、分析まで-85℃のディープフリーザー中で保存した。

### RNA プローブの作製

各Forwardprimer/ReveresprimerにてPCR反応を行い、その後PCR産物抽出後、pGEM-T Easy Vectors (Promega)にligationした後、JM109 high efficiency competent cellへtransfectionした。その後定法に従いクロニングしたDNAを制限酵素にて直鎖化し、T7及びSP6 RNA ポリメラーゼにてDIG標識のMyoD/SOD RNA anit-senseプローブ及びsenseプローブの合成を行い、in situ hybridizationに用いた。



図-1 マウスのジャンプトレーニングに用いた電気刺激装置  
刺激電圧には、24~48Vを用いた。

## In situ hybridization

凍結した損傷筋及び対照筋を-20℃のクリオスタット内にて15µmの凍結切片を作製し、シランコートしたスライドガラスに貼付した。その後4% paraformaldehyde溶液にて15分間後固定した。アセチレーション化した後、2時間、室温にてpre-hybridizationを行った。その後各 RNA プローブにて72℃でovernight反応させた。反応後5×SSC及び0.2×SSCに浸漬後、10%正常ヤギ血清に浸漬し、anti-DIG抗体(Roche)に反応させアルカリフォスファターゼにて視覚化し、顕微鏡下にて観察した。

## 結果



図-2: 合成されたRNAプローブの確認

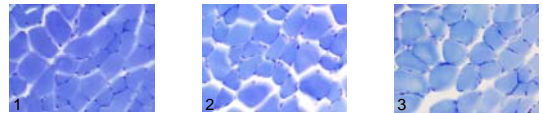


図-3: トレーニング+ブラウシオン群・トレーニング群・安静群+ブラウシオン群の腓腹筋におけるトルイジンブルー染色像

- 1、トレーニング+ブラウシオン群 (Jump training+p)
- 2、トレーニング群 (Jump training)
- 3、安静群+ブラウシオン群 (resting+p)



図-4 ジャンプトレーニング後におけるMyoD mRNA発現における遠赤外線環境の影響  
遠赤外線環境におくことにより、多くの筋衛星細胞においてMyoD mRNAの発現が認められた。



図-5 ジャンプトレーニング及び安静時における遠赤外線が筋衛星細胞のSOD mRNA発現に与える影響

## 考察

ジャンプトレーニング後、多くの筋衛星細胞においてMyoD mRNAの発現が認められた。一方ジャンプトレーニング後遠赤外線環境にて飼育したマウスの骨格筋では、通常環境で飼育を行ったマウスに比し、多くの筋衛星細胞においてMyoD mRNAの発現は増加する傾向を示した。また、通常環境で飼育を行った安静群のマウス骨格筋では、MyoD mRNAの発現は殆ど認められなかったが、遠赤外線環境下で飼育したマウスの骨格筋では、その発現頻度は低いものの筋衛星細胞にMyoD mRNAの発現が認められた。SOD mRNAにおいても同様の傾向が認められた。これらの結果から、遠赤外線環境暴露は、筋衛星細胞の活性化及び抗酸化作用に影響を与える可能性が窺えた。しかしながら、遠赤外線環境がトレーニング後における骨格筋の肥大またはトレーニング後の損傷からの再生のいずれに影響を与えるかは、今後更に検討していく必要がある。