

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	小松 雅俊
論文審査担当者	主査 柴 祐司 教授 副査 瀧 伸介 教授 ・ 菅野 祐幸 教授
論文題目 Increase in phospholamban content in mouse skeletal muscle after denervation (除神経モデルマウスの骨格筋におけるホスホランバンの発現量の増加)	
(論文の内容の要旨) <p>【背景と目的】骨格筋の萎縮は、神経障害、加齢、敗血症など様々な疾患で認められる病態である。筋萎縮は筋量（筋断面積）の減少として定義されるが、多くの萎縮病態では単位面積当たりの筋力（特異張力）も同時に減少することが知られている。この特異張力の減少の一因として、カルシウム代謝の異常が考えられる。骨格筋に活動電位が起こると、その膜電位変化を細胞膜上のL型カルシウムチャンネルが感知し、筋小胞体上のリアノジン受容体を開口させる。これにより、リアノジン受容体から大量のCa²⁺が放出され、筋細胞が収縮する。細胞質内のCa²⁺は、筋小胞体上のカルシウムポンプ（sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase, SERCA）の働きにより、再び筋小胞体内に取り込まれる。このカルシウム代謝過程は、リン酸化やタンパク質間相互作用などにより厳密に制御されており、その破綻は筋収縮異常の原因となる。本論文では除神経モデルマウスを作製し、筋萎縮時における収縮力低下の分子基盤を明らかにするための検討を行った。</p> <p>【方法と結果】13-14週齢の雄性C57BL6マウスの片側の坐骨神経を切除し、14日後に解析を行った。除神経処置により、前脛骨筋の重量および断面積が有意に減少したことから、筋萎縮が起こっていることが確認された。前脛骨筋の収縮力を測定したところ、単刺激、強縮刺激の両方で有意な減少が認められた。強縮刺激では、特異張力の有意な減少と、最大弛緩速度の減少も認められた。</p> <p>次に、単離短趾屈筋線維を用いて、蛍光Ca²⁺指示薬Fluo-4によるカルシウムイメージングを行った。その結果、除神経側由来の筋線維では、単刺激、強縮刺激の両方で、Ca²⁺トランジェントが有意に減弱していた。また、筋小胞体のCa²⁺含有量も有意に低下していることが明らかになった。さらに、前脛骨筋のSERCA活性を測定すると、除神経側で有意に減少していることがわかった。</p> <p>次に、除神経によってカルシウム代謝に関わる分子群の発現量がどのように変化しているか、ウェスタンブロッティングにより検討した。その結果、除神経により、ホスホランバン（PLN）の発現量が、前脛骨筋で15倍、ヒラメ筋で10倍程度増加していることが明らかになった。ホスホランバンはSERCA活性を抑制するタンパク質で、通常心筋や、ヒラメ筋のような遅筋主体の筋組織に発現しているが、前脛骨筋のような速筋主体の筋組織にはほとんど発現していない。そこで、免疫染色法による検討を行ったところ、IIA, IIX, IIBと呼ばれる速筋線維群のすべてで、除神経によりPLNの発現量が増加していた。</p> <p>【考察】以上の結果から、除神経による筋の特異張力の低下の一因が、筋小胞体のCa²⁺含有量の低下であること、また、その原因がPLNの発現量増加によるSERCA活性の低下であることが示唆された。</p>	