

Title	カルデスモンおよびアクチン結合蛋白質とアクチン繊維との相互作用におけるトロポミオシンの役割
Author(s)	野村, 政夫
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35259">https://hdl.handle.net/11094/35259</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	野村政夫
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7671 号
学位授与の日付	昭和 62 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医学研究科内科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	カルデスモンおよびアクチン結合蛋白質とアクチン繊維との相互作用におけるトロポミオシンの役割
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 邦彦 (副査) 教授 吉田 博 教授 西村 健

### 論文内容の要旨

#### [目的]

平滑筋をはじめ非筋組織の収縮はアクチン・ミオシン間の相互作用により生ずるが、横紋筋の如きアクチン・ミオシン繊維の特有の配列は示さない。横紋筋以外の組織においては、アクチン結合蛋白質(フィラミン)がアクチン繊維間を架橋し、細胞内アクチン繊維の網目構造を形成することによりアクチン・ミオシン相互作用の支点としての役割を果たしているものと考えられる。近年、カルモデュリン結合蛋白質として発見されたカルデスモンが、平滑筋および非筋組織のアクチン側制御因子として注目を集めるようになった。本研究は、カルデスモンがフィラミンのアクチン繊維架橋を制御する機作を解明し、さらにより *in vivo* 近い収縮モデルを用いて解析を行うことを目的としたものである。

#### [方法]

ミオシン、フィラミン、トロポミオシン、カルデスモン、ミオシン軽鎖キナーゼはニワトリ砂の平滑筋、アクチンはウサギ骨格筋、カルモデュリンは牛脳より精製した。

フィラミンのアクチン繊維への結合は、フィラミン、カルデスモン、アクチン、トロポミオシンを混合して 30°C 30 分インキュベートした後、アクチン繊維を遠心分離により沈澱させ、これを SDS 電気泳動してデンストメーターにより定量した。

フィラミンによるアクチン繊維のゲル化は、落下球法により定量した。

各条件におけるアクチン繊維の形態をネガティブ染色法によって電子顕微鏡観察を行った。

さらに、上記の系にミオシンを加えた三次元的収縮モデルを確立し、カルデスモンによる制御機作を肉眼的に観察した。

## [成 績]

フィラミンのアクチン繊維への結合は、カルデスモン、トロポミオシンいずれによっても制御されたが、カルデスモンはフィラミンのアクチン繊維への親和力を抑制し、トロポミオシンはアクチン繊維に対し、フィラミンと競合する事によりフィラミンのアクチン繊維への結合を抑制していた。

アクチンのフィラミンによるゲル化度（粘度）はカルデスモン、トロポミオシン単独でもある程度抑制されたが、トロポミオシン存在下においてカルデスモンのゲル化抑制力は著明に増強された。

すなわちカルデスモンはトロポミオシンの共存下において効率の良い制御をしており、またこのカルデスモンによるゲル化抑制は $\text{Ca}^{2+}$ ・カルモデュリンの添加により解除された。この $\text{Ca}^{2+}$ ・カルモデュリンによる抑制解除の際、フィラミンのアクチン繊維への結合はカルモデュリン濃度依存性に増加し、この制御系はカルモデュリン、カルデスモン、アクチン、トロポミオシン、フィラミン間の“フリップ・フロップ機構”で説明される事が明らかとなった。

電子顕微鏡によるアクチン繊維の観察では、トロポミオシンやカルデスモンによってはほとんど変化が認められないが、フィラミン添加によりアクチン繊維束形成が生ずる。このアクチン繊維束形成はカルデスモン、トロポミオシンにより抑制され、カルデスモンによる抑制は $\text{Ca}^{2+}$ ・カルモデュリン添加により解除された。

これらの系にミオシン、そのリン酸化酵素（ミオシン軽鎖キナーゼ）、およびカルモデュリンを加えることにより、 $\text{Ca}^{2+}$ 存在下において三次元的収縮が再現出来ることを見出した。ミオシン、フィラミン、アクチン、ミオシン軽鎖キナーゼ、カルモデュリン、 $\text{Ca}^{2+}$ のいずれが欠如していても収縮は起こし得ず、これら全てを混合して作ったアクチン繊維のゲルに $\text{Ca}^{2+}$ およびATPを浸潤させると約15分後より収縮を開始し、この収縮はカルデスモン濃度依存性に抑制され、また $\text{Ca}^{2+}$ ・カルモデュリンにより、カルデスモンによる収縮抑制が解除された。

## [総 括]

フィラミンによるアクチン繊維のゲル化が、カルモデュリンーカルデスモン系により調節される機構を詳細に検討した。アクチン繊維のゲル化またはアクチン繊維束形成はトロポミオシン存在下においてカルデスモンにより非常に効率良く抑制を受け、 $\text{Ca}^{2+}$ ・カルモデュリンにより抑制が解除されることを明らかにした。

この事は、平滑筋細胞が刺激を受けて細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度が上昇すると、アクチン繊維がフィラミンにより架橋されて力の作用点が出来ることを意味している。一方、アクチン・ミオシン相互作用もまたカルデスモンによりアクチン側制御を受けている。すなわち、カルデスモンはこれら両系を抑制的に制御しているわけであり、カルモデュリンーカルデスモン系はこれら2つの系に同時に作用して平滑筋収縮を効率良く調節しているものと考えられる。また、今回確立した収縮モデルによる結果は、これを強く支持するものである。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、アクチン結合蛋白質（フィラミン）の機能がカルモデュリン-カルデスモン系によって制御を受けること、またカルデスモンの制御機能がトロポミオシン存在下で著しく増大することを明らかにしたものである。フィラミンは平滑筋または非筋肉組織に存在する蛋白質で、アクチン・ミオシン系によって生ずる収縮において力の支点となる重要な蛋白質である。従って、この機能制御を明らかにすることは、収縮全般の制御を明らかにしていく上で非常に重要な研究で、学位論文に値すると考えられる。