



Title	Role(s) of nucleoli and phosphorylation of ribosomal protein S6 and/or HSP27 in the regulation of muscle mass
Author(s)	河野, 史倫
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54143
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名 河 野 史 優

博士の専攻分野の名称 博士(医学)

学 位 記 番 号 第 24076 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 22 年 3 月 23 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 Role(s) of nucleoli and phosphorylation of ribosomal protein S6 and/or HSP27 in the regulation of muscle mass
(骨格筋サイズ調節における核小体またはリボソームタンパク質S6およびHSP27の役割)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 大平 充宣

(副査)
教 授 吉川 秀樹 教 授 山下 俊英

論文内容の要旨

[目 的]

後肢懸垂によるヒラメ筋萎縮は、重力負荷の除去によるメカニカルストレスおよび神経活動の抑制が原因となって引き起こされるが、詳細なメカニズムに関しては未だ不明な点が多い。そこで、これらの生理的刺激が骨格筋線維サイズ調節に対してどのような役割を果たすのか追究することを目的とし、本研究を実施した。

[方法ならびに成績]

成熟ラットを後肢懸垂群 (n=8) 、過負荷群 (n=11) 、感覚神経切除群 (n=8) 、感覚神経切除+過負荷群 (n=8) 、偽手術群 (n=8) 、正常群 (n=13うち5匹は実験前群) に分け、後肢懸垂群には連続尾部懸垂を施し、過負荷群では左側の足底筋と腓腹筋の末梢部腱を切除した。感覚神経切除群は、脊髄第4および第5腰椎由来の後根神経を左側のみ切除した。感覚神経切除+過負荷群には両処置を左側に施した。偽手術群は、後根神経を露出させたが切除はしなかった。正常群は未処置とした。以上の処置から2週間後、各群 (各n=5) より左側ヒラメ筋を摘出し、液体窒素中で凍結した。凍結筋の半分は、低カルシウム筋弛緩液中で解凍し、単一筋線維を単離した。それぞれの単一筋線維に核染色および核小体染色を施し、筋線維横断面積および筋核数、核小体数を測定した。残りの筋片はホモジナイズし、細胞質分画タンパク質を抽出した。この抽出タンパク質を用いてウェスタンプロットを行い、リボソームタンパク質S6 (S6) 、27kDa熱ショックタンパク質 (HSP27) およびユビキチン化ミオシン重鎖の発現量を定量した。

残りのラット (各n=3) からは筋電図の記録を行った。上述の処置と同時に記録用電極をヒラメ筋に双極で刺入し、1日後および2週間後に床上安静状態 (懸垂群は懸垂中) における筋活動の記録を行った。さらに、過負荷群の残り3匹にはパックル型の張力計をヒラメ筋抹消部腱に装着し、正常時、後肢懸垂中および協働筋腱切除直後における安静または歩行時の発揮張力を測定した。

以上の結果、後肢懸垂中はヒラメ筋活動が顕著に減少し (-86%) 、張力発揮はほぼ0となった。過負荷群では、筋活動レベルに変化は見られなかったものの、安静 (+102%) および歩行時 (+43%) の発揮張力は協働筋腱切除前に比べて有意に増大した。感覚神経切除および感覚神経切除+過負荷群の筋活動レベルは、処置1日後では偽手術群に比べ有意に減少し (-61%および-65%) 、2週間後においても減少したままであった (-46%および-32%) 。過負荷または後肢懸垂により、それぞれ有意な筋線維横断面積の増大 (+24%) または減少 (-52%) が認められた。感覚神経切除群においても有意な筋線維横断面積の減少 (-27%) が認められたが、その程度は懸垂群に比べ少なかった。偽手術群および感覚神経切除+過負荷群では、正常群に比べ変化はなかった。後肢懸垂によって引き起こされる筋線維萎縮には筋核数の減少が伴ったが (-31%) 、その他のモデルは筋核数には影響しなかった。リン酸化S6およびHSP27の発現レベルにおいても、筋線維横断面積と同様の変化パターンが認められた。ユビキチン化ミオシン重鎖発現は、後肢懸垂群および感覚神経切除群において増大する傾向が見られた。また、通常約90%の筋核が1または2個の核小体を含有していたが、過負荷群および感覚神経切除+過負荷群では1個の核小体を含有する筋核が有意に減少し、3または4個の核小体を含有する筋核が有意に増加した。

[総括]

メカニカルストレスレベルが向上した過負荷群では、タンパク質合成レベルおよびシャペロンタンパク質の発現増大により筋線維肥大が認められたが、メカニカルストレスおよび神経活動の両方が抑制された後肢懸垂群では、以上のようなアナボリック機構の減弱が認められただけでなく、筋核のlossが誘発されタンパク質分解も刺激された。感覚神経切除によって神経活動を抑制した場合、後肢懸垂によって引き起こされたものと類似した影響が見られたが、その程度はいずれも懸垂群に比べminorであり、筋核数は変化しなかった。感覚神経切除に過負荷を加え、神経活動は抑制されたまま発揮張力の増大を誘発した場合、感覚神経切除のみで引き起こされた影響はすべて改善された。これら結果は、メカニカルストレスそのものが筋線維サイズ調節機構において重要な生理的刺激であったことを示唆するものである。また本研究において、メカニカルストレスレベルの向上に伴い核小体数の増加が認められた。核小体数は細胞内におけるタンパク質合成レベルと相関があることが知られており、協働筋腱切除による張力発揮の増大が、核の形態的変化を介し、タンパク質合成レベルや筋線維サイズの変化に関与したことでも示唆された。

論文審査の結果の要旨

骨格筋における神経活動やメカニカルストレスが、筋サイズの調節に対してそれぞれどのように関与するのかを追究した研究であった。ラットを用いて諸実験モデルを組み合わせることにより、ヒラメ筋における神経活動やメカニカルストレスのレベルを個々に操作した結果、メカニカルストレスレベルが増大した場合には神経活動が抑制されても筋サイズが維持または肥大することが分かった。タンパク質合成活性の指標であるリン酸化リボソームタンパク質S6や細胞骨格の保護・構築に関与するリン酸化27kDa熱ショックタンパク質の発現にも同様の変化が認められた。また筋肥大時に見られる筋核小体数の増加は、メカニカルストレスレベル依存的に引き起こされた。従って、メカニカルストレスがヒラメ筋サイズを調節するために重要な刺激であったと結論付けた。以上の研究結果は、これまでに報告してきた筋肥大または萎縮に関与する細胞内メカニズムが生体内においてどのような機序で誘導されるのかを解明するために有意義なものであり、学位に値すると考える。