

修士論文の和文要旨

大学院	電気通信学研究科	博士前期課程	量子・物質工学専攻
氏名	須藤 みず紀		学籍番号 0533031
論文題目	骨格筋の損傷—再生過程におけるアポトーシス応答： ラット運動誘発性筋損傷モデルによる検討		

【背景】 近年の研究では運動がアポトーシス関連タンパク質やアポトーシス核の発現を惹起することが示されている。筋損傷は、負荷される収縮様式やその強度と関係しており、特にエキセントリック収縮(ECC)は、コンセントリックなどの収縮様式と比較して損傷が顕著に生じる。また、著者らの先行研究より、ECC後のラット骨格筋におけるアポトーシスの発生には性差が生じ、雌と比較して雄はより顕著なアポトーシスが誘発されることが明らかになっている。筋組織は筋細胞、衛星細胞、血管内皮細胞、平滑筋細胞などの細胞で構成される。したがって、アポトーシス応答はそれぞれの細胞を同定し、組織学的に評価することが必要となる。しかしながら、運動誘発性筋損傷とアポトーシスの関係を調べた研究では、それぞれの細胞における経時的なアポトーシス応答を明確にしていない。そこで本研究はラット運動誘発性筋損傷モデルを用い、骨格筋の損傷から再生過程におけるアポトーシス応答を細胞の種類別に定量化することを試みた。さらに、アポトーシス促進タンパク質(Bax)と抑制タンパク質(Bcl-2)の発現量を調べ、アポトーシス応答との関係を明らかにした。

【方法】 ラットの前脛骨筋に伸展装置による電気刺激をともなったECCを負荷し、1日後(1D)、3日後(3D)、7日後(7D)に筋を摘出した(各n=4)。凍結固定による連続横断切片を作成し、筋損傷(HE染色:10μm)を組織学的に評価した。また、アポトーシス核の細胞における分類(筋細胞、内皮細胞、間隙細胞)は、TUNEL法によるアポトーシス核同定(5μm)、細胞骨格タンパク質ジストロフィン免疫染色、DAPI染色の蛍光3重染色、および、AP染色により同定された。アポトーシス抑制タンパク質(Bcl-2)および促進タンパク質(Bax)はWestern blot法により定量した。

【結果・考察】 本研究で用いたラット運動誘発性筋損傷モデルは、ECC負荷後に細胞の浮腫(1から3日後)、貪食細胞の活性化(3日後)、筋細胞の再生(7日後)という損傷—再生過程が観察された。このとき、筋組織ではアポトーシス応答がみられ、筋細胞では対照群と比較し7Dにおいて有意な増加がみられた(9.0 ± 3.0 個/mm²)。また、内皮細胞(11.4 ± 4.3 個/mm²)および間隙細胞(42.1 ± 23.0 個/mm²)も有意に増加した(p < 0.05)。各細胞核におけるアポトーシス核発生割合においても、筋細胞、内皮細胞、間隙細胞は有意に増加していた(Fig.1)。損傷程度が激しい3Dは、アポトーシス核は観察されたものの、ジストロフィンの崩壊によりアポトーシスの局在の同定は不可能であった。抑制タンパク質Bcl-2の発現量は、1D(65 ± 7%)、3D(40 ± 3%)、7D(44 ± 6%)において有意な低下(p < 0.01)がみられた。促進タンパク質Baxは、統計的な有意差はなかったものの、3D(187 ± 51%)から7D(151 ± 30%)にかけて増加する傾向がみられた。本研究の結果

は、アポトーシスが筋損傷—再生過程のそれぞれの段階で各細胞核に発生していること、さらに、再生段階でその発生頻度が高くなることを示している。

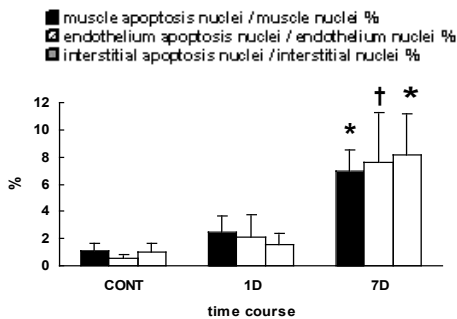


Fig.1 Muscle, endothelium and interstitial cell apoptosis were significantly increased in TA muscle at 7days after ECC. Values are mean ±SE. *Significant difference from CONT (p < 0.05). † Significant difference from CONT (p = 0.06).