

論文審査の結果の要旨

論文提出者 氏名 廣瀬 立朗

骨格筋は除負荷、不活動などによって廃用性に萎縮する。こうした廃用性萎縮に伴う筋線維の生理学的特性の変化や、筋線維内の収縮関連タンパク質の発現変化などについては、これまで多数の研究がなされてきている。一方、筋組織内で力学的支持構造を形成し、また細胞間の情報伝達においても重要な役割を果たしている細胞外マトリクスがどのように変化するかについては、十分に解明されていない。本論文は、マウスおよびラット後肢筋を対象とし、除負荷による筋萎縮に伴って、細胞外マトリクスの主要構成要素である I 型コラーゲンの遺伝子発現やその発現場所がどのように変化するかを調べ、それらが筋の生理学的機能の維持にどのように関わっているかを考察したものである。

本論文は 6 章からなり、第 1 章は序論、第 2 章は研究の目的、第 3 章は除負荷がマウス筋内における I 型コラーゲン $\alpha 2$ 鎖 (COL1A2) の遺伝子転写活性に及ぼす影響、第 4 章は除負荷がラット筋内における COL1A2mRNA とその制御因子の発現に及ぼす影響、第 5 章は除負荷がラット筋内における神経栄養因子とその受容体の発現に及ぼす影響について論じ、第 6 章は総括論議となっている。

第 3 章では、COL1A2 のレポーター遺伝子 (ルシフェラーゼおよび β ガラクトシダーゼ) を導入したトランスジェニックマウス (pGB-17) を材料として用い、後肢筋を除負荷した場合の COL1A2 遺伝子転写活性の変化について調べている。除負荷によってヒラメ筋に著しい萎縮が起こる一方、この筋での COL1A2 レポーター遺伝子転写活性は一過的に上昇すること、この遺伝子転写活性が筋紡錘周辺に局在することなどが示されている。

第 4 章では、ラット後肢筋を除負荷した場合の、COL1A2mRNA の発現量の変化を Northern hybridization で調べ、さらに COL1A2 遺伝子転写活性に影響を与える制御因子の発現を Western blotting で調べている。その結果、除負荷に伴ってヒラメ筋で顕著な萎縮が起こり、同時に COL1A2mRNA の発現量も一過的に減少した。また、COL1A2 の遺伝子転写活性を抑制すると考えられる TNF- α が除負荷の初期 (3 日目) に増加し、一方除負荷後期 (7 日以降) には COL1A2 遺伝子の転写を活性化すると考えられる TGF- β (TGF- β 1、2、3) の発現が上昇した。これらの結果は、除負荷によって TNF- α や TGF- β などのサイトカインの発現が変化することで、COL1A2 の発現にも、一時的な低下から回復へと向かう変化が生じる可能性を示唆している。除負荷に伴って COL1A2mRNA の発現が一過的に低下するという本章の結果は、第 3 章の結果と矛盾するものであ

るが、その原因はレポーター遺伝子を用いた遺伝子転写活性の定量化に内在する問題点にあるものと考察されている。一方、in situ hybridization で調べた COL1A2mRNA の発現や、免疫組織化学で調べた TNF- α および TGF- β の発現は、筋紡錘や神経繊維の周辺に局在しており、この点は第 3 章の結果と矛盾しないものであった。このことは、除負荷が特に筋紡錘や神経組織におけるコラーゲン代謝に強い影響を及ぼす可能性を示している。

第 5 章では、ラット後肢筋の除負荷が、ヒラメ筋内の神経栄養因子 (neurotrophin-3: NT-3) およびその受容体 (TrkC) の発現に及ぼす効果が調べられている。その結果、これらの発現がいずれも筋紡錘や神経組織周辺に局在し、さらに除負荷後、COL1A2mRNA の変化とほぼ同期して一過的に低下することなどが示された。

第 6 章の総括論議でも述べられている通り、本論文の研究で得られた結果は、除負荷により骨格筋内での I 型コラーゲンの遺伝子転写活性が一過的に低下すること、この変化は筋紡錘や神経組織の周辺で著しく起こり、神経栄養因子やサイトカインによって調節を受けている可能性があることなどを示している。特に、自己受容器や神経組織周辺での I 型コラーゲン代謝が、除負荷などの力学的環境の変化に強い影響を受けることを示した点は新規性が高く、筋の自己受容器からの求心性インパルスが、自己受容器や神経組織そのものの機能維持のみならず、力学的環境に対する筋組織全体としての可塑性にも関わっている可能性を示している点で意義の深いものと評価される。

なお、本論文の第 4 章および第 5 章は、仲里浩一、Song Hongsun (日本体育大学) との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、本審査会は博士 (学術) の学位を授与するにふさわしいものと認定する。