

筋原線維におけるミオシン分子の置換に及ぼす筋線維型の影響

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発講座 細胞組織生物学研究室 城垣誠大

1. 背景と目的

筋線維は遅筋型と速筋型に分類されるが、筋線維型は主にミオシン重鎖アイソフォームによって決定される。筋原線維内のミオシンは常に代謝回転しているが、筋原線維の機能を保持しながらどのように置き換わっているのかは不明である。これまでの研究で、ミオシン分子の置換は 10 時間でおおよそ 50% が置換していること、解離と挿入は同時に行われていることが示唆されている。そこで、本研究では蛍光標識した遅筋型ミオシン (*GFP-Myh7*) あるいは速筋型ミオシン (*KusabiraOrange-Myh1*) を発現するマウスの骨格筋線維を用いて、筋線維型がミオシン分子の置換に及ぼす影響を蛍光ライブイメージング法により検討し、筋原線維におけるミオシン分子の置換メカニズムを解明することを目的とした。

2. 方法

GFP-Myh7 ノックインマウスからはヒラメ筋, *KusabiraOrange-Myh1* ノックインマウスからは長趾伸筋を採取し、コラゲナーゼ処理を用いて筋線維を単離し、光退色後蛍光回復法 (FRAP) によってミオシン分子の置換様相をライブイメージングした。蛍光強度の最大回復値である Mobile fraction (Mf) および Mf の 50% に達するまでの時間である Half-life ($t_{1/2}$) を算出し、それぞれをミオシン分子の置換程度および置換速度の指標とした。

3. 結果と考察

遅筋型および速筋型筋線維におけるミオシン分子置換様相を比較したところ、遅筋型は速筋型に比べて Mf が有意に大きかった ($p < 0.05$)。遅筋型の方が速筋型に比べて短時間で置換が行われており、筋原線維内の太いフィラメントにおけるミオシン分子の置換は筋線維型によって異なることが示唆された。そこで、両筋線維型におけるミオシン分子置換様相が異なる要因を検討するため、タンパク質の合成・分解が筋原線維におけるミオシン分子の置換に及ぼす影響を検討した。タンパク質の翻訳を阻害する Cycloheximide および分子シャペロンである Hsp90 を阻害する Geldanamycin を添加した結果、両筋線維型で Mf が対照区と比較して有意に小さくなった ($p < 0.05$)。また、その抑制割合は遅筋型筋線維の方が大きかった。さらに、骨格筋の主要な分解系であるユビキチン-プロテアソーム系とカルパイン系が太いフィラメントのミオシン分子の置換に及ぼす影響を検討した。プロテアソームを阻害する MG132 を添加し蛍光強度変化を測定した結果、遅筋型筋線維において Mf が対照区と比較して有意に小さかった ($p < 0.05$)。また、カルパインを阻害する Calpeptin を添加した結果、両筋線維型で蛍光強度変化は対照区と同程度であった。ところで、加齢により筋線維は合成・分解のアンバランスにより萎縮が起きるが、筋線維型で影響が異なり、遅筋型に比べて速筋型筋線維で萎縮が大きい。そこで、加齢がミオシン分子の置換に及ぼす影響を検討した。1 年齢および 2 年齢のノックインマウスから筋線維を単離し FRAP した結果、遅筋型筋線維では 2-3 か月齢から単離した遅筋型筋線維に比べて Mf が小さい傾向が見られた。一方、速筋型筋線維では 2-3 か月齢と比較して同程度の蛍光回復だった。

以上の結果より、筋線維型によるミオシン分子の置換様相の違いは合成および分解能の違いによる可能性がある。また、加齢による影響は遅筋型筋線維におけるミオシン分子の置換に及ぼすことが示唆された。