

平成 30 年度 リハビリテーション科学研究科博士課程学位論文要旨

骨格筋の量的変化を制御する細胞内情報伝達機構

生体構造機能・病態解析学分野

学籍番号：15Z-002 氏名：森谷伸樹（指導教官名：宮崎充功准教授）

【目的】

理学療法臨床場面においては患者の骨格筋量の増加が重要である。運動負荷によって骨格筋量の増加を促すには、タンパク質合成の促進と、筋衛星細胞の増殖が重要とされている。このタンパク質合成を促進する分子機構として、mechanistic target of rapamycin (mTOR) を介した細胞内シグナル伝達系の関与が報告されている。また、筋衛星細胞は筋線維が損傷したり運動負荷を受けた時などに増殖し、筋細胞と融合して骨格筋の肥大や再生を促すとされる。運動負荷による骨格筋の肥大適応について、mTOR の活性化や筋衛星細胞の増殖効率の制御機構は不明な点が多く、mTOR の上流因子である Akt を介した刺激入力系の関与について疑問視する報告も多い。そこで、骨格筋肥大を調節する Akt 依存性、非依存性の制御機構について検討することを本研究の目的とした。

【方法】

実験には Akt1 Knock Out (KO) マウス (B6.129P2-Akt1^{tm1Mbb}/J, 雌性, 14-16 週齢) を用い、wild type (WT) littermates を対照群として設定した。マウスに対し、骨格筋肥大を誘導するため共働筋切除術による足底筋への代償性過負荷 (overload: OV) を行った。手術後 14 日目に足底筋を採取し、偽手術をした対照群との比較を行った (各群 n=6)。各群について体重、足底筋湿重量を分析すると共に、Western blotting により Akt/mTOR 経路の分子の発現量およびリン酸化を、surface sensing of translation (SUnSET) 法によってタンパク質合成量を分析した。また、足底筋の筋線維横断面積の分布と平均値、中心核を持つ筋線維数、筋線維あたりの筋核数、新たに増殖した筋衛星細胞数を免疫組織化学染色法で分析した。各データは二元配置分散分析で主効果を判定した後、post hoc test として Tukey の多重比較検定を実施した。有意水準は 5% とした。本研究は北海道医療大学動物実験委員会の承認 (承認番号第 095 号; 承認年月日平成 28 年 3 月 1 日および承認番号第 027 号; 承認年月日平成 29 年 3 月 6 日) を得て行われた。

【結果】

WT 群は、運動負荷により足底筋湿重量が 2.2 倍、筋線維断面積が 1.7 倍に増加した ($p < 0.05$)。Akt1 KO 群は、足底筋湿重量が 1.9 倍、筋線維断面積が 1.4 倍となったが、増加の効率は一部抑制されていた。すなわち、Akt1 の機能が欠損しても運動負荷による骨格筋肥大は起こるが、肥大効率が一部抑制されることが明らかとなった。また、mTOR の下流因子は WT 群と Akt1 KO 群いずれも運動負荷によってリン酸化が増加しており、SUnSET 法の結果 WT 群と Akt1 KO 群いずれも運動負荷によってタンパク質合成量が増加していた。つまり、Akt1 の機能が欠損しても運動負荷による mTOR 系の活性化やタンパク質合成の促進が起こることが明らかとなった。中心核を持つ筋線維数は WT 群と Akt1 KO 群のいずれも運動負荷によって増加した。WT 群と Akt1 KO 群の比較では有意差はなかったものの、Akt1 KO 群は WT 群より中心核を持つ筋線維数が少ない傾向にあった。筋線維あたりの筋核数および新たに増殖した筋衛星細胞数は、WT 群と Akt1 KO 群いずれも著明に増加し、Akt1 KO 群では増殖の効率が抑制されていた。

【考察】

Akt1 が欠損しても運動負荷によって mTOR 系は活性化しタンパク質の合成は促進されていたことから、運動負荷による mTOR 系の活性化やタンパク質合成の促進は Akt1 非依存性の経路が重要であることが示唆された。しかし、mTOR 系が活性化しタンパク質合成が促進されていたにもかかわらず Akt1 が欠損すると骨格筋の肥大効率が一部抑制されていた。つまり、Akt1 はタンパク質合成系とは異なる要因で骨格筋肥大を制御することが示唆された。また、Akt1 の欠損によって筋衛星細胞増殖の効率が抑制されていたことから、Akt1 は筋衛星細胞の増殖効率を制御することで骨格筋肥大を促進する可能性が示唆された。