

みーニワトリ胚を臓器工場として一、第8回腎不全病態治療研究会、東京、12月。

- 21) 重谷安代、三叉神経堤細胞を伴う形態形成について—Wnt 経路の三叉神経節形成。第30回日本分子生物学会年会／第80回日本生化学学会大会合同大会、横浜、12月。
- 22) Ichihara YG (Kogakuin Univ), Okabe M, Iga K¹⁾, Tanaka Y¹⁾(¹CUDO), Musha K (Musha design), Ito K (Univ of Tokyo). Color universal design the selection of four easily distinguishable colors. 日本視覚学会 2008年冬季大会、東京、1月。
- 23) Ichihara YG (Kogakuin Univ), Okabe M, Iga K¹⁾, Tanaka Y¹⁾(¹CUDO), Musha K (Musha Design), Ito K (Univ of Tokyo). Color universal design—the selection of four easily distinguishable colors for all color vision types—. IS & T/SPIE Electronic Imaging 2007. San Jose, Jan.
- 24) 那須優則¹⁾, 中原 貴¹⁾, 岩永健裕¹⁾, 井出吉昭¹⁾, 橋本尚詞, 立花利公, 石川 博¹⁾(¹日本歯科大学). ミニブタ胎児の歯胚由来血管内皮細胞の再生医療に向けた血管新生評価。第7回日本再生医療学会。名古屋、3月。[再生医療 2008; 7(2): 206]
- 25) 岡部正隆。脊椎動物上陸の進化発生学。第113回日本解剖学会総会・全国学術集会。大分、3月。[Acta Anat Nippon 2008; 83(Suppl.): 130]
- 26) 立花利公。電顕技術の基礎の基礎「どうしたらうまく固定・脱水・包埋ができるの?」。日本顕微鏡学会・関東支部講演会。東京、3月。

分子生理学講座

教授：馬詰 良樹 筋生理学・体力医学
 准教授：竹森 重 筋生理学・体力医学
 講師：山口 真紀 筋生理学・体力医学

教育・研究概要

I. 細胞内の水の状態を決める要因の検索

MR 画像の素となる細胞内の水の状態の違いが何を反映しているのかを、筋節という小さな構造の単純な繰り返しと看做せる骨格筋の中の水に着目して調べている。名取のスキンドファイバーは細胞膜の拡散障壁がなく、細胞内液環境を人工制御するにはうってつけである。スキンドファイバーを異なるイオン組成を持つ人工細胞内液に浸し、そのときの細胞体積と収縮力を調べた。その結果高いコロイド塩析能力を示す I⁻ が、Cl⁻ やメタンスルホン酸よりもはるかに強いファイバー膨潤効果と収縮抑制効果を示すことを見出した。両効果は、Cl⁻イオンやメタンスルホン酸イオンにおいてイオン強度を上げたときにみられる効果と同じである。イオン強度による静電遮蔽効果から期待されるのとは逆のファイバー膨潤効果を示すことは、筋フィラメントの配列間隔が静電反発力とファンデルワールス引力のバランス点にあるという通説を否定する。強い塩析効果をもつイオンほどイオン強度効果が強いことは、筋フィラメントの配列間隔がその間の水の状態との相互作用で決まるというこれまでの我々の仮説を支持する。

II. MRI 解析からみた細胞内水の分類と組織・細胞機能

Magnetic Resonance Imaging (MRI) は腫瘍と正常組織の水プロトン緩和時間の相違を基に発展しその有用性から医療現場に急速に広がってきた。しかし緩和時間が異なる理由はいまだ解明されていない。

NMR (核磁気共鳴法) を用いた我々の最近の研究では、カエル骨格筋組織水は4成分に分解される。この観点から、ヒト骨格筋、前立腺、脳梁、精巣のMRIを再検討した。

1.5 テスラの MRI システム (Philips, Achieva) を用いて single slice 32 echo pulse sequence で目的とする横断面を撮像し T₂ 緩和経過を得た。各組織の T₂ 緩和経過は、水道水ボトルの T₂ 緩和経過が単一指関数になるような修正を加えた後に Matlab

(Mathworks, USA)を用いて解析した。関心領域の T_2 緩和経過を non-negative multiexponential function でフィットし、その精度は χ^2 値にて評価した。

ヒト前腕骨格筋では、カエル骨格筋の NMR 測定にて得られた水 4 成分のうち、時定数最長と最短成分は検出されず、MRI の時間分解能と撮像時間制限のためと考えられた。得られた 2 成分は NMR 測定の結果とほぼ同様だった。精巣では水 2 成分、前立腺・脳梁で水 3 成分が検出でき、各水成分の時定数と成分量は、精巣と前立腺外腺、脳梁と前立腺癌に相似性を認めた。結果は今回の解析が病理組織像、とくに細胞密度を反映している可能性を示唆した。

III. 運動競技中の身体各部の加速度測定による動作解析

運動競技における動作解析はビデオ画像解析が一般的であるが大掛かりな装置を必要とし、特別の環境でしか実施できないばかりか、画像の陰になる部分の解析は不可能である。これらの欠点を補うものとして、身体各部に装着した加速度センサからのデータを小さな記録装置に記憶させ、普段の自然な状態に近い運動動作をモニタできる装置を開発・検討している。本年度用いた加速度モニタでは長距離走における足の運びのリズムと手の振りとの関係を検討することができた。さらに剣道やバドミントンのような大きな加速度を伴う競技での測定を可能にするために、新たな加速度センサエレメントの導入を行い、高時間分解能での記録装置の改良を行っている。

IV. ポリエチレングリコールを浸透させた筋原線維懸濁液の比重測定

筋節内にポリエチレングリコール (PEG) が浸透するかどうかを知るために、筋原線維懸濁液の比重測定を行っている。

筋原線維懸濁液を遠心後に、上澄の比重を測定すると、筋原線維内部に高比重のポリエチレングリコールが浸透しない場合は浸透する場合より上澄みのポリエチレングリコール濃度が高くなるため比重は大きくなる。逆に沈澱の比重は、筋節内にポリエチレングリコールが浸透しない分小さくなる。

現在、10% PEG, 10% エチレングリコール (EG), 10% グリセリン, 10% トレハロース溶液で測定を行い、グリセリンとトレハロースは筋原線維内部にほぼ同じ濃度で浸透しているのに対して、PEG と EG は筋原線維内部では外部に比べて半分の濃度以下に

なっていることが示唆された。

V. 心筋症を誘発する変異トロポニンの分子動力学解析

家族性心筋症の原因として様々な筋タンパク質の遺伝子異常が明らかにされつつあるが、中でもトロポニンのアミノ酸変異に伴う病態は重篤な症状を引き起こし、その原因解明に臨床・基礎両方面から強い関心が集まっている。機能的先行研究により、肥大型心筋症の原因となるトロポニン変異体を組み込んだ心筋細胞では張力発生のカルシウム感受性が增大しており、一方拡張型心筋症の原因となる変異体を組み込んだ心筋細胞ではカルシウム感受性が減弱していることが示された。しかしアミノ酸変異がカルシウム感受性を変えるメカニズムについては未だ何もわかっていない。

分子動力学解析は、X 線回折により解かれたタンパク結晶構造をもとに、生理的塩溶液中でのタンパク質の動的構造を予測する方法であるが、この方法を用い、アミノ酸変異が心筋細胞のカルシウム感受性を変えるメカニズムを探った結果、1) 解析した全ての変異体について変異アミノ酸近傍の静電相互作用の異常が検出され、2) 肥大型を起こす変異体のあるもの (Lys247Arg) についてトロポニンのコア部分を形成するコイルドコイル構造の硬さに変化が見られた。

家族性心筋症の原因となるアミノ酸変異体のうち、少なくとも一部のものは、局所的な静電結合の異常の結果、コイルドコイル部の硬さに異常をきたし、カルシウム結合によるトロポミオシンの構造変化が増強または減弱することにより、収縮機能を変調していると考えられる。

VI. リン酸アナログ解離速度に対する外来性アクチンの効果

筋収縮の自己増殖的活性化過程に対する筋張力の役割を、リン酸アナログであるフッ化アルミニウムを用いて解析した。

X 線回折・NMR・力学測定により、外来性のアクチンによる筋活性化の大きさは線維を引き伸ばしても増大しないことがわかった。ミオシンのアナログ解離過程の活性化には、細いフィラメントにかかる張力が必須であることが明らかになった。

「点検・評価」

細胞内機能水測定

骨格筋・脳・末梢神経では NMR 信号に複数の水

成分が検出されるという報告が過去にあるが、正常前立腺と前立腺癌に着目して解析をした報告はない。前立腺内外の癌の広がりが治療方針を決定するにもかかわらず従来の MRI ではその正診率は高くはなく、とくに内腺に発生する癌の検出は T₂ 強調画像では困難であり、新しい癌の検出手法が待たれている。今回の手法は医療現場の MRI 装置を用いて数分で得られる画像から、病理組織像を反映した定量的パラメータが得られる可能性を示唆し、前立腺内腺に発生した癌の検出に貢献すると考えられる。今後はフィットの精度を上昇させる撮像パラメータの模索と病理組織像との対応付けを柱に、精度よく正常組織と腫瘍を鑑別できる解析法を進めるつもりである。また前立腺に限らず多臓器の解析から正常組織を比較し、組織像と水成分の対応付けを行いたい。

NMR で見る水の状態は、その測定領域が広く、時間分解能が低いためにそれだけでメカニズムの特定は困難である。この困難の克服のためには空間分解能か、時間分解能の高い方法が必要である。NMR・MRI 測定に他の測定を同時に組み合わせるのも方法ではある一方、顕微ラマン分光法は、筋節レベルの小さな領域からの測定が原理的には可能であり、空間分解能が高い。ラマン分光装置の改良を急がねばならない。

筋原線維の比重測定から得られた結果は、タンパク溶液中の水とポリエチレングリコール中の水のポテンシャル差を表すものであると考えられる。来年度は、筋原線維懸濁液中の水プロトンの緩和経過との比較検討を行う予定である。

X 線回折

放射光回折実験の結果解析のための解析用のプログラムの改訂が必要であるがプログラム開発にはまとまった時間が必要になることがネックになっている。まとまった時間を作らねばならない。

分子動力学

異なるトロポニン変異体の動的構造の中に共通性が見出され、筋収縮調節におけるトロポニン分子の働きが分子レベルで議論できる可能性がみえてきた。また同時に、心筋症発症の分子メカニズムの解明に向けての一步ともなった。現在も心筋症のアミノ酸異常が次々と見つかってきていることから、それらの変異体に関しても網羅的な解析を進めるとともに、トロポミオシン・アクチンとの相互作用を計算にどう盛り込むかを考えたい。

体力科学

剣道やバドミントンのような素早い運動を伴う競

技では、民生機器用のセンサが想定する加速度をはるかに超えた加速度がかかることが本年度のためし測定の中で明らかになった。時間分解能の改良はセンサの機種変更で対応可能である見通しが立っているが、大きな加速度の検出には複数センサを加速度の小さい部分に装着して、加速度の大きな部分での動きを演繹するなどの工夫が必要である。

またスキンドファイバーを用いた骨格筋活性測定では、外来性アクチンを利用することで物理的な力を取り除いた状態での筋活性を評価できた。今後この解析を進め、張力がタンパク活性を変える仕組みを明らかにすることで、筋疲労の制御に関する新しい方策を探したい。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Takemori S, Yamaguchi M, Kimura M. Skin-ning effects on skeletal muscle myowater probed by T₂ relaxation of ¹H-NMR. *Biophys J* 2007; 92 (10): 3610-4.
- 2) Noguchi H¹⁾, Takemori S, Kajiwara J¹⁾(¹Chiba Univ), Kimura M, Maruyama K, Kimura S. Chicken breast muscle connectin: passive tension and I-band region primary structure. *J Mol Biol* 2007; 370(2): 213-9.
- 3) Morimoto S (Yokohama Univ), Takamori S. Initial mechanomyographical signals from twitching fibres of human skeletal muscle. *Acta Physiol (Oxf)* 2007; 191(4): 319-27.
- 4) 木村雅子, 竹森 重. 骨格筋スキンドファイバーを低分子量溶質が圧縮する: 多価アルコールの効果. *慈恵医大誌* 2007; 122(4): 155-64.
- 5) 渡邊由陽¹⁾, 竹森 重, 田中陽子¹⁾(¹成城大学). 山のぼりでの生体変化: 運動鍛錬による暑熱馴化仮説を日常的な運動で検証する. *紀要 (成城大学経済学部)* 2007; 177・178: 99-119.

II. 総 説

- 1) Yamaguchi M. Structure and function of masticatory (superfast) myosin. *J Oral Biosci* 2007; 49(3): 216-8.

III. 学会発表

- 1) 渡邊由陽 (成城大学), 竹森 重, 巽 申直 (茨城大学). 剣道競技中の動作: 身体各部の動きの時系列解析. 日本武道学会第 40 回大会. 東京, 8 月. [武道学研究 2007; 40]
- 2) 渡邊由陽¹⁾, 田中陽子¹⁾(¹成城大学), 竹森 重. 長

距離走における四肢の動き. 第62回日本体力医学会. 秋田, 9月. [体力科学 2007; 56(6): 810]

- 3) Yamaguchi M, Otsuka Y. Structural change of mutant troponin related to cardiomyopathy. 日本生物物理学会第45回年会. 横浜, 12月. [生物物理 2007; 47(Suppl): S61]
- 4) Aoki H, Kimura M, Takemori S. Water retaining ability of skinned skeletal muscle as a gel: effects of ionic strength and ion species. 日本生物物理学会第45回年会. 横浜, 12月. [生物物理 2007; 47(Suppl): S60]
- 5) Kimura M, Aoki H, Takemori S. The effects of trehalose on the contractility of mechanically skinned fibers of frog skeletal muscle. 日本生物物理学会第45回年会. 横浜, 12月. [生物物理 2007; 47(Suppl): S61]
- 6) Ohno T. Measurement of the myofibril suspension. 第85回日本生理学会大会. 東京, 3月. [J Physiol Sci 2008; 58(Suppl): S65]
- 7) Yamaguchi M, Otsuka Y. Molecular dynamics of troponin mutant related to cardiomyopathy. 第85回日本生理学会大会. 東京, 3月. [J Physiol Sci 2008; 58(Suppl): S66]
- 8) Watanabe M (Tokyo Med Univ), Yagi N (2 SPring-8/JASRI), Takemori S, Yamaguchi M, Kimura M, Ishida Y (Bunkyo Gakuin Univ). An X-ray diffraction study on skinned smooth muscles from guinea pig teania caeci. 第85回日本生理学会大会. 東京, 3月. [J Physiol Sci 2008; 58(Suppl): S65]
- 9) Takemori S, Kimura M, Tanaka H (Shin-Shibamata Clinic), Asai R¹⁾, Yoneyama M¹⁾, Inoue Y¹⁾(¹Ochanomizu Surugadai Clinic). Activity of water in skeletal muscle. 第85回日本生理学会大会. 東京, 3月. [J Physiol Sci 2008; 58(Suppl): S65]
- 10) Kimura M, Takemori S, Tanaka H (Shin-Shibamata Clinic), Asai R¹⁾, Yoneyama M¹⁾, Inoue Y¹⁾(¹Ochanomizu Surugadai Clinic). Water classification by MRI analysis and histological and cellular physiological feature. 第85回日本生理学会大会. 東京, 3月. [J Physiol Sci 2008; 58(Suppl): S213]

細胞生理学講座

教授:	栗原 敏	心筋の興奮収縮連関 体力医学
客員教授:	大槻 磐男	トロポニンによる心筋の 収縮制御
客員教授:	小西 真人	Mg ²⁺ の輸送
講師:	須田 憲男	骨格筋・心筋の興奮収縮 連関
講師:	草刈洋一郎 <small>(米国、ハーバード大学に留学中)</small>	心筋の興奮収縮連関
講師:	福田 紀男	心筋・骨格筋の収縮制御 の分子メカニズム

教育・研究概要

I. 心筋の興奮収縮連関に関する研究

1) α_1 アドレナリン受容体のサブタイプによる L型Ca²⁺電流の調節に関する研究

α_1 アドレナリン受容体は、 β アドレナリン受容体と共に、生理学的条件下および病態時にアゴニストによって刺激され、心筋細胞機能を調節している。我々は、 α_1 アドレナリン受容体刺激によって惹起される細胞内情報伝達系は、受容体サブタイプと受容体に結合しているGタンパク質のレベルで大きく2つの経路に分かれることを初めて示した。生理学的、薬理的、および生化学的方法によって検討した結果、 α_{1A} と α_{1B} 受容体サブタイプはそれぞれ異なるGタンパク質、 $G_{q/11}$ と G_0 に結合していることが明らかになった。 α_{1A} 受容体刺激は、 $G_{q/11}$ を介してCa²⁺電流を増加させ、 α_{1B} 受容体刺激は、百日咳毒素感受性Gタンパク質である G_0 を介して直接、L型Ca²⁺チャンネル活性を抑制する作用を示すことが明らかになった。我々が報告した α_1 アドレナリン受容体刺激における、新規の百日咳毒素感受性シグナルは、 β_2 アドレナリン受容体シグナルと同様に、細胞のCa²⁺オーバーロードに対して心筋保護的に作用することが示唆された。

2) マウス心室筋の筋小胞体(SR)によるCa²⁺ハンドリングのメカニズムに関する研究

筋小胞体は細胞内Ca²⁺調節の主役である。筋小胞体はCa²⁺取り込みとともにCa²⁺放出チャネルからCa²⁺を放出する。昨年までは、Ca²⁺ポンプ蛋白の機能とCa²⁺放出チャネルからのCa²⁺リークの関係調べ、筋小胞体のCa²⁺取り込み量、Ca²⁺取り込み速度は、Ca²⁺リークに大きな影響を与えないことが明らかになった。本年はCa²⁺放出チャネルを