

779

機械刺激による接着斑崩壊の分子機構

河上敬介^{1,2)}・宮津真寿美 (PT)¹⁾・辰巳仁史²⁾・早川公英³⁾
宮津 基³⁾・曾我部正博²⁾

- 1) 名古屋大学医学部保健学科学療法学専攻
- 2) 名古屋大学大学院医学系研究科細胞情報医学専攻
- 3) 科学技術振興事業団 国際共同研究事業

key words

機械刺激・接着斑・インテグリン

目的：筋力増強訓練は、筋の肥大とともに血管の新生を引き起こす。一般に血管新生は、血管内皮前駆細胞からの血管系の発生と、それに続く既存の血管からの新しい血管枝の形成によって起こる。この一連の過程で、血管内皮細胞は増殖と移動、そして接着を繰り返しながら血管内腔壁に広がる。このとき、細胞と細胞外マトリックスをつなぐ接着斑は、細胞の底面で形成されたり崩壊されたりして、細胞の位置や形、移動を制御する重要な働きを持つ。一方、培養血管内皮細胞に機械刺激を加えると、前述した接着斑の形成や崩壊が観察されるので細胞の形態変化や移動の良いモデルとなる。血管新生における血管内皮細胞の移動や接着には機械刺激の関与が考えられるが、その分子機構は明らかでない。本研究の目的は、機械刺激による接着斑崩壊の分子機構を明らかにすることである。

方法：培養血管内皮細胞上面に、ファイブロネクチンでコートしたガラスビーズを接着させたあと染色し、共焦点レーザー顕微鏡により細胞骨格と接着斑の構造を三次元的に観察した。接着斑の主要な分子であるインテグリンを免疫染色法で染色したあとビーズを接着させ、30分後にビーズを水平方向へ約3m牽引し、その直後からインテグリンの動態をマルチモード顕微鏡でライブ観察した。ここで言うマルチモード顕微鏡は、落射蛍光顕微鏡、反射干渉顕微鏡、位相差顕微鏡に加え、基底面から約100 nm幅にある細胞の底面のみを観察できる近接場光照明を組み込んだ顕微鏡である。また、免疫レプリカ電子顕微鏡法により細胞内の基底膜付近のインテグリンの局在を調べた。

結果：培養血管内皮細胞上面にガラスビーズを接着させると、接着後20分程度でビーズ周辺にインテグリンの集積が起こり、そこから細胞底面の接着斑に連結するストレスファイバーが形成された。このビーズを牽引するとその直後から、牽引力が負荷された細胞底面のインテグリンの消失が始まり、その領域は徐々に広がった。FM4-64染色後のライブ観察では、牽引力が負荷された近傍でのエンドサイトーシスの活性化が観察された。また電子顕微鏡によりインテグリンのクラスリン被覆小胞への局在が観察された。

考察：血管内皮細胞の接着形成と崩壊及び再形成のメカニズムが明らかになると、組織レベルの運動療法等による機械刺激効果を生物学的に検討できるようになると期待される。例えば、動物組織に機械刺激を与えて、その時点での組織や細胞を分析することで、分子レベルでの機械刺激効果を評価できるようになるであろう。接着斑崩壊の分子機構については、接着斑に集積していたインテグリンが1) 細胞膜上を横方向に移動して分散する、2) エンドサイトーシスの様に細胞内に取り込まれ接着斑が消失するという二通りの仮説がある。血管内皮細胞の機械刺激による接着斑崩壊の分子機構には、後者のエンドサイトーシスの関与が考えられた。

780

他動運動による筋粘弾性の変化

仁木恵子¹⁾・大西智也¹⁾・藤野英己²⁾・武田 功²⁾
弥屋俊昭²⁾・江口寿榮夫 (MD)²⁾

- 1) 吉備国際大学大学院 保健科学研究科
- 2) 吉備国際大学 保健科学部 理学療法学科

key words

筋粘弾性・他動運動・筋伸張張力

【目的】ギプス固定は筋萎縮や関節運動の制限を引き起こす。このような病態に対し、筋力増強運動や他動運動が行われている。他動運動の効果として、線維性組織の潤滑性と組織間距離の改善、コラーゲン線維の規則的な配列維持、基質内架橋結合の改善及び筋粘弾性の改善などが言われているが、筋粘弾性の改善については明確な報告がされていない。本研究では、他動運動を行うことにより筋粘弾性がどのように変化するかを検証するために、動物による *in vitro* の実験を行った。

【対象と方法】Wistar系雄ラット21匹（体重310±16g, 10～12週齢）を対象とした。無作為にギプス群（n=10, 体重288±14g, 以下, CAST群）と対照群（n=11, 体重334±37g, 以下, CONT群）に分けた。CAST群は足関節を最大底屈位で2週間のギプス固定をした。CONT群, CAST群ともに摂食, 飲水は自由とした。ラットをpentobarbital sodium (50mg/kg.i.p.) で麻酔し、ヒラメ筋を摘出した。ヒラメ筋の一端を張力トランスジューサ, 他端をサーボモータに固定した。摘出筋はクレブス液（95% O₂, 5% CO₂の混合ガスを注入）で保生した。本研究で用いた他動運動は、筋長の7%変位で0.1Hz周期の伸張運動を30分間行った。その時に得られた伸張張力を4kHzでA/D変換し、パーソナルコンピュータに記録した。他動運動開始時をT0, 10分後をT10, 20分後をT20, 30分後をT30とした。時間変位における張力の変化をWilcoxonの符号府順位検定を行い、判定した。

【結果】CAST群における伸張張力の最大値は、CONT群と比較して27.2%の増加を示した。CONT群における伸張張力の最大値はT0, T10, T20及びT30それぞれ2.04±1.31g, 2.00±1.37g, 2.05±1.42g及び2.09±1.38gであり、伸張張力の時間的変化はあまり見られなかった。CAST群において、T0では2.59±1.05gであったが、T10では2.41±0.93gとなり有意な低下を示した。またT20, 2.37±0.88g及びT30, 2.34±0.85gとなり、それぞれ有意に低下した。

【考察】本研究では、他動運動の筋粘弾性に対する効果の検証を行った。CONT群では30分間の他動運動により殆ど変化を示さなかったが、CAST群では他動運動により張力が低下するという結果が得られた。これらの結果から、筋萎縮によって引き起こされていた筋粘弾性の病的変化が他動運動により改善されたものと推察される。また、T0と比較しT10での伸張張力が有意に低下していることから、10分間の他動運動により筋粘弾性の改善効果があると考えられる。