

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

古屋 智之

専攻分野：整形外科学

コース：

指導教授：別府 諸兄

主論文の題目：

Heat Shock Transcription Factor1-Deficiency Attenuates
Overloading-Associated Hypertrophy of Mouse Soleus Muscle
(HSF1欠損がマウスにおける過負荷誘発性の骨格筋肥大に与える影響)

共著者：

Sono Nishizawa, Yoshitaka Ohno, Ayumi Goto, Akihiro Ikuta, Miho Suzuki, Tomotaka Ohira, Tatsuro Egawa, Akira Nakai, Takao Sugiura, Yoshinobu Ohira, Toshitada Yoshioka, Moroe Beppu, Katsumasa Goto

緒言

機械的過負荷のようなストレスは哺乳類における骨格筋の肥大を誘発し、それは Heat Shock Transcription Factor1 (HSF1) や Heat Shock Proteins (HSPs) の発現が関与している事が分かっている。また HSF1 を介して HSPs だけでなく炎症性サイトカインや筋衛星細胞の関与も示唆されている。故に HSF1 を介したストレス応答は過負荷による骨格筋肥大において重要であると考えられている。今回我々は、マウスでの過負荷誘発性の骨格筋肥大に対する HSF1 欠損の生理学的役割を検討した。

方法・対象

WILD TYPE マウス(以下 ICR)と雄性 HSF1 欠損マウス(以下 KO)、10～15 週齢、12 匹ずつを用い左後肢の足底筋・腓腹筋の共同筋腱切除によりヒラメ筋の代償性肥大を誘発、右後肢は偽手術によりコントロール肢とした。処置施行 2 週及び 4 週後に両後肢よりヒラメ筋を切離した後、3 部に分離させ H&E 染色、PAX7 染色による組織学的評価、RT-PCR での遺伝子検査、WB 法でのタンパク質解析を行った。統計は ANOVA 検定を用いた。なお本研究は豊橋創造大学での生命倫理委員会の承認を得たものである。

結果

体重は ICR は KO よりも有意に重く、筋湿重量・筋蛋白量では多くの場合過負荷肢において有意に上昇を認めた。過負荷肢での比較では、筋湿重量・筋蛋白量ともに 2 週及び 4 週後の KO で有意に低下していた($P < 0.05$)。

H&E 染色では過負荷肢での筋線維肥大傾向を認めた。筋線維断面積は ICR では 2 週後から過負荷肢で有意に上昇し 4 週後まで持続していたが、KO では 4 週経過時点で初めて有意差が出現した($P < 0.05$)。

PAX7 陽性細胞は 2 週後においてのみであるが、ICR の過負荷肢で有意に高く、また過負荷肢間比較では KO で有意に低値だった($P < 0.05$)。

HSF2 と HSF4 は KO の過負荷肢で有意に上昇したが、ICR では左右間での有意差は認めなかった。

HSPs ファミリーの mRNA 発現と蛋白発現を検討したところ、HSP25 や HSC70 を主に過負荷肢で発現が増加し、HSF1 欠損により発現が低下する傾向が認められた。しかし、蛋白発現に関しては HSP72 や HSP90 α では有意差が見られないなど、mRNA 発現と蛋白発現で一致しない点もあった。

炎症性サイトカインの ATF3 は、ICR の 2 週後の過負荷肢で有意に上昇していた。IL-6 は 2 週及び 4 週後においても KO の過負荷肢で有意に上昇していたが、ATF3 は ICR の過負荷肢において 4 週後まで有意差が認められていた。ただし両者ともに 2 週後から 4 週後にかけての発現量は減少傾向だった。IL-1 β と TNF は、KO の過負荷肢において有意な発現上昇が認められた。全体的にはコントロール肢よりも過負荷肢において発現が上昇傾向であった ($P < 0.05$)。

考察

本研究では HSF1 欠損が筋湿重量、筋蛋白量、筋線維断面積の上昇を部分的に抑制することが示され、HSF1 欠損が骨格筋肥大を抑制することを示した最初の報告となった。

PAX7 陽性細胞は、コントロール肢においては HSF1 欠損の影響はなく、過負荷肢において HSF1 欠損により発現が低下した。ICR の過負荷肢では、2 週後で発現が上昇していた事により ICR での筋肥大が誘発された可能性がある。一方、PAX7 陽性細胞は KO では上昇していないものの、KO 4 週後の過負荷肢において筋肥大が認められた事から、筋肥大において PAX7 の部分的な関与が示唆された。

HSF1 欠損による HSPs の mRNA 発現と蛋白発現レベルの変動レベルは一致していなかった。これは翻訳後の調節が骨格筋における HSP 蛋白レベルの調節において何らかの影響を及ぼしていると考えられた。また KO では HSP25 や HSC70 の発現がわずかだった事が観察された。HSP25 や HSC70 の低発現の影響についての報告はないが、HSPs の低発現は骨格筋肥大を阻害する原因の 1 つとなり得ると考えられた。

IL-6 の過負荷による発現上昇は HSF1 欠損によって増強していた。また IL-1 β 、TNF は筋肉分化を阻害しており、両者は HSF1 欠損によって発現が増加していることから、IL-6 と共に過負荷による骨格筋肥大における KO での阻害効果の原因の 1 つであることが予想された。

結論

本研究により、マウスにおける過負荷による骨格筋肥大は HSF1 欠損によって部分的に阻害され、PAX7 陽性細胞も減少する。また HSF1 欠損による筋肥大の阻害は、IL-6、IL-1 β 、TNF のような炎症性サイトカインの発現上昇と関連していると示唆された。加えて、HSF1 欠損によって HSPs 発現が抑制されることから、HSF1 や HSF1 を介したストレス応答は過負荷による骨格筋肥大において重要な因子であると考えられたが、より詳細な生理学的機能や役割を解明する必要がある。