

骨格筋運動適応メカニズムの分子レベルでの解明を目指して

武 政 徹

(筑波大学大学院人間総合科学研究科, 体育科学専攻)

骨格筋は生体内の中で最も可塑性の高い組織のひとつであり, 様々な運動様式により量的・質的变化を起こすことが知られている。すなわち, レジスタンス運動をすれば肥大し, 持久性運動をすると筋の有酸素能力は向上するが, 不使用によって萎縮する。当研究室においては, これらの運動性・廃用性の骨格筋の適応プロセスにおいて, どのようなイベントが関与しているのかを分子レベルで理解するためにその解析を試みている。

筋肥大は代償性過負荷, 筋の有酸素能力の向上にはランニングホイール運動, 筋萎縮には後肢懸垂などのモデル実験をマウスに適用し, それぞれの適応プロセスで筋をサンプリングし, 蛋白質及び mRNA の変動をウエスタンブロッティング法や Realtime PCR 法を用いて分析している。さらに, 既知のシグナルカスケードに関わる分子について, その発現状態を観察してきた。

一方, 未だ機能が解明されていない蛋白質や調節遺伝子が上記の適応過程でどのように関与しているのか, 遺伝子転写産物の網羅的なアプローチも試みた。ゲノムプロジェクトが終結を迎えた今, 筋の中で起こっていることを, マイクロアレイ技術を用いることで網羅的に解析することが可能になった。すなわち, ゲノムプロジェクトで判明した遺伝子をスライドガラスの上に規則正しく配列し(スライド一枚あたり 2~4 万種類の遺伝子を配置できる), それに対して運動前後の筋組織から抽出してきた mRNA を競争的にハイブリダイゼーションさせるのである。2 種類の mRNA は異なる色の蛍光色素でラベルし, それを同時にハイブリダイゼーションにかけるので, 結合した mRNA はその量に従ってそれぞれの色のシグナルを強く出すようになり, 複数遺伝子の増減が一度に解析できるようになる。例えば, 持久性運動により, 顕著に発現量が増えたものが 62 遺伝子, 減少したものが 214 遺伝子見つかったが, そのほとんどは未だ機能が不明な遺伝子であっ

た。現在, 筋肥大時に起こる適応プロセスについてもマイクロアレイ解析を行っている。

マイクロ RNA (miRNA) は, 細胞内に存在する長さ 20 から 25 塩基ほどの 1 本鎖 RNA であり, 他の遺伝子の発現を調節する機能を有すると考えられている ncRNA (タンパク質への翻訳はされない non-coding RNA) の一種である。miRNA の機能は遺伝子発現の抑制と考えられている。miRNA は一部の mRNA に相補的な配列を有する。この mRNA と miRNA との結合により, RNAi (RNA interference: RNA 干渉) 現象のように mRNA の分解が引き起こされ, 翻訳が阻害される場合がある。2006 年, 遺伝的に筋量の多いヒツジの原因が突き止められた。それまで報告された筋倍加動物(ウシ, マウス, ヒト)においては, ミオスタチンという筋量を制限している蛋白質をコードしている遺伝子に変異があることが明らかになっていたが, このヒツジの場合, ミオスタチン遺伝子そのものが壊れているわけではなく, 構造遺伝子の下流にある非翻訳領域に 1 塩基の置換がおこっていることが明らかとなった。それが miRNA のターゲット配列であることが判明し, 筋倍加ヒツジは miR-1 という骨格筋特異的な miRNA によりミオスタチン遺伝子が翻訳レベルで抑制された結果, 発生したものであると結論された。このように, エピジェネティックな立場から miRNA が骨格筋の運動適応にも関わっているのではないかと考え, miRNA のマイクロアレイ解析も行っている。

骨格筋の運動適応に関わる反応カスケードが明らかになれば, 分子レベルで適応のメカニズムを理解する基盤ができるほか, 将来的には, 骨格筋に関する疾患の治療にも貢献できると考えている。これらの知見はアスリートの遺伝子ドーピングなどに悪用される可能性もあり, 現在, アンチドーピングの立場からモデル実験系を作ってそれを検出するための手段も模索している。