

平滑筋異常収縮における細いフィラメントリモデリングの意義
**Role of thin filaments remodeling
 in abnormal contraction of smooth muscle**

渡辺 賢^a、石田行知^b、湯本正寿^c、八木直人^d、山口真紀^c、木村雅子^c、竹森 重^c
 M. Watanabe^a, Y. Ishida^b, M. Yumoto^c, N. Yagi^d, M. Yamaguchi^c, M. Kimura^c, S. Takemori^c

^a東京医科大学、^b文京学院大学、^c東京慈恵会医科大学、^dJASRI/SPring-8

^aTokyo Medical University, ^bBunkyo Gakuin University, ^cThe Jikei Univrsity, ^dJASRI/SPring-8

細胞内環境を自在にコントロールできるスキンド平滑筋標本を用いて、血管攣縮時の平滑筋の細いフィラメント配列変化の実際を、X線小角散乱実験により検討した。

アクチンと制御タンパク質から構成される細いフィラメントの格子状配列に由来する 11.4 nm 赤道反射の幅は、弛緩時に比べて持続的な Ca²⁺活性化収縮時に狭小化し、Ca²⁺活性化に伴った細いフィラメントの整列が考えられる。アクチン切断物質 cytochalasin D を添加して Ca²⁺活性化収縮張力が減少した状態でもこの赤道反射幅狭小化は持続することから、ミオシン—アクチン相互反応とは独立した、Ca²⁺が関与する細いフィラメント整列機構が存在する可能性が強い。整列機構の血管攣縮における持続的な平滑筋異常収縮への関与が示唆された。

To explore contribution of thin filament remodeling in pathological changes in smooth muscle function during vasospasm, we studied the effects of Ca²⁺ on the X-ray diffraction profile of “skinned” (cell membrane permeabilised) smooth muscles. 3 μM Ca²⁺ activation induced a continuous tension development of the muscle. Width of the 11.4 nm equatorial peak originated from lattice like arrangement of thin filaments tended to narrow during smooth muscle contraction. Cytochalasin D, an actin severing agent did not change the width of the 11.4 nm equatorial peak, although the agent irreversibly suppressed the Ca²⁺-induced contraction. These results suggested that Ca²⁺ activates actin-myosin interaction independent mechanisms which regulate arrangement of thin filament lattice, and might contribute continuous contraction of smooth muscles during vasospasms.

目的および成果の概要：

【研究目的】平滑筋異常収縮が惹起する血管攣縮は、日本人の死因の第2・3位を占める心疾患・脳血管疾患の予後不良因子であり、発症の細胞内メカニズム解明とそれに基づく治療法の開発が求められてきた。血管攣縮時の異常に強く持続する平滑筋収縮は、平滑筋収縮制御の主要メカニズムと考えられているミオシン調節軽鎖リン酸化のみならず、アクチンとその制御タンパク質で構成される細いフィラメントの構築変化がかかわる可能性が指摘されてきた。そこで、平滑筋細胞レベルで

の細いフィラメントリモデリングの定量的な解析を行うため、本研究では持続的なミオシン軽鎖リン酸化を人為的に平滑筋に惹起したときの、細いフィラメント配列と力学応答に与える影響を同時に測定し、両者の関係を明らかにすることを目的とした。

【実験方法】モルモットより平滑筋を切除し、直ちにβ-escinにより筋の細胞膜を破壊してスキンド標本作製した。その後、標本を回折用チャンバーに取り付け、人工細胞内液灌流下に標本の力学応答を測定しながら放射線

を照射し、イメージングプレート上に X 線回折像を記録した（露出 60 秒）。Radiation damage を最小限にするため、電動ステージにより照射部位を移動させた。記録画像は光磁気ディスクに保存し、細いフィラメント格子様配列に由来する 11.4 nm 赤道反射の経時変化を記録した。

【結果の概略】平滑筋標本が弛緩した状況では、11.4 nm 赤道反射ピーク幅は広がりを見せており、細いフィラメント配向がかなり乱れていることが示唆された。Ca²⁺で持続的に標本を収縮させた時には、11.4 nm 赤道反射ピーク幅は著しく狭小化し、収縮に伴って細いフィラメント配向がより揃うと考えられる。アクチン切断効果のある cytochalasin D を投与すると、Ca²⁺活性化収縮張力は 50%以下まで減少するが、予想とは異なり 11.4 nm 赤道反射ピーク幅の広がりは見られなかった。細いフィラメントを部分的に切断しアクチン・ミオシン相互作用が抑制された状態でも細いフィラメント配向が影響されないことは、Ca²⁺活性化（もしくはミオシン調節軽鎖リン酸化）により細いフィラメントの配向を整える何らかのメカニズムがミオシン結合以外にも存在することを強く示唆する。この細いフィラメント配向を制御するメカニズムは平滑筋特有の持続的収縮に何らかの寄与をする可能性があることから、様々な細いフィラメント制御物質が赤道反射・収縮張力関係に与える影響を検討したいと考えている。

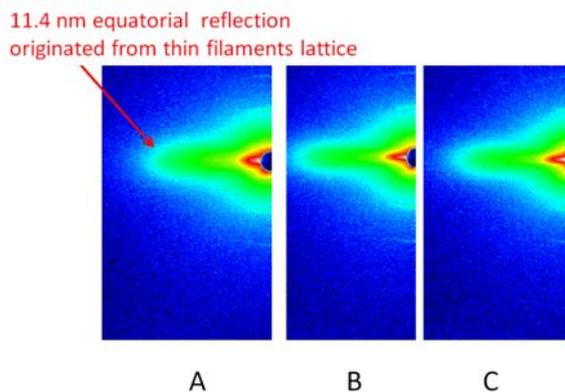


Fig. 1. Typical X-ray diffraction patterns of skinned smooth muscles in the presence and absence of 3 μM Ca²⁺. In the presence of Ca²⁺, width of 11.4 nm equatorial reflection originated from thin filaments lattice tends to narrow (B), even after treatment of cytochalasin D, an actin severing agent (C).

今後の課題：

平滑筋細胞からは、細いフィラメントに由来する反射としてはアクチン線維らせんに由来する 5.9 nm 層線も観察されるので、今後はこの反射プロファイルの解析も行いたい。

発表状況：

本研究成果の一部は、2009 年 7 月に行われる第 36 回国際生理科学連合世界大会において発表予定である (Watanabe M, et al., 線回折法による平滑筋収縮フィラメントのリモデリング観測の試み：渡辺 賢他)。

キーワード：

小角散乱、平滑筋、血管攣縮、細いフィラメント