

筋線維型の異なる骨格筋筋線維による糖代謝制御因子 SIRT1 の発現に関する組織学的研究

新潟医療福祉大学 健康栄養学科 大島 一郎

1 緒言

骨格筋は主に筋線維と細胞外基質によって構成されるが、そのうち、筋線維は収縮特性およびエネルギー代謝特性によって I 型、IIA 型および IIB 型に区分される。これまでの研究から、同一骨格筋内でも、運動強度によって動員される筋線維の型は異なり、また収縮時のエネルギー源（糖および脂質）に関しても筋線維型により異なることが明らかとなっている。

一方、近年、NAD 依存性脱アセチル化酵素である Sir2 ファミリー（哺乳類では SIRT1）が栄養条件の変化への代謝応答制御を様々な器官で行っていることが明らかになっており、骨格筋内においても糖取込やその他の生理学的な応答を制御している可能性が指摘されている。また、SIRT1 は PPAR γ と関連して白色脂肪細胞の代謝回転にも関与しており、骨格筋がエネルギー源とする糖および脂質の双方の代謝に関与することが示唆されている。

本研究では、哺乳類の骨格筋に関して、筋線維型の異なる筋線維間で糖代謝制御因子 SIRT1 の発現が如何に異なるかを組織化学的に検討することを目的とする。

2 方法

本研究には Wistar 系ラット雄 6 頭を用いた。供試ラットは個別ケージに収容し、自由採食、自由飲水下により 12 週齢より 1 週間の馴致期間を設けて実験に供試した。馴致期間終了後、直ちにラットを深麻酔下で屠殺し、ヒラメ筋、足底筋および大腿直筋を摘出後、ドライアイスアセトン中で凍結した。全ての筋から連続凍結切片を作成し、酸処理およびアルカリ処理後の ATPase 活性の検出、NADH 脱水素酵素活性の検出、ヘマトキシリンエオジン染色 (HE 染色) ならびに SIRT1 に対する免疫組織化学染色を行った。

全サンプルにおいて同一視野の顕微鏡写真を撮影し、100 本以上の筋線維について筋線維型を分類した後、全核数、全筋線維核数および SIRT1 発現筋線維核数の計測を行った。各筋および各筋線維間での SIRT1 発現核数の比較には分散分析を用いた。

3 結果および考察

ATPase 活性および NADH 脱水素酵素活性から筋線維を I 型、Itr 型、IIA 型、IIB 型に分類した結果、ヒラメ筋ならびに大腿直筋は各々典型的な赤色筋、白色筋であり、足底筋は中間的な筋であった。HE 染色の結果、一定面積内の核数はヒラメ筋で有意に多く、大腿直筋で有意に少ないことが明らかとなった。

しかし、免疫組織化学染色の結果、SIRT1 を発現している

核は、3 筋とも筋内全核の 60% 前後と一定であった。また、全ての筋において筋線維以外の核でも SIRT1 の発現が確認された。さらに、筋線維核のみを選別し、赤色 (I、Itr および IIA 型) および白色筋線維 (IIB 型) 別で計測した場合、それぞれ約 40% と同様の SIRT1 発現割合を示した。また、これらを筋線維型別に計測した場合では、ヒラメ筋および大腿直筋では、同一筋内の酸化的代謝能力の高い細胞で SIRT1 発現割合が高い傾向にあった。一方、足底筋では、IIA 型筋線維で SIRT1 を発現する割合が有意に低く、その他の型では同様であった。同一型の筋線維を筋間で比較した場合、足底筋の I 型筋線維に比べてヒラメ筋のそれで有意に発現率が高く、足底筋およびヒラメ筋の IIA 型筋線維に比べて大腿直筋のそれで有意に発現率が高いことが明らかとなった。

以上の結果より、①赤色筋および白色筋では、保有核数に差が認められるものの、どちらも全核の約 60% の核で SIRT1 発現が認められた。②赤色筋線維と白色筋線維の間で SIRT1 発現割合に差異は認められなかった。③I 型および Itr 型筋線維のような酸化的代謝特性の強い赤色筋線維を含む筋においては同じ赤色筋線維でも解糖的代謝特性を併せ持つ IIA 型筋線維で SIRT1 発現が有意に低くなり、また白色筋では IIA 型筋線維でも SIRT1 発現が上昇することが明らかとなった。