

氏名(本籍) ^や八 ^ぎ木 ^{なお}直 ^と人

学位の種類 医 学 博 士

学位記番号 医 第 1402 号

学位授与年月日 昭和 57 年 2 月 24 日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

最終学歴 昭和 50 年 3 月
東京大学工学部物理工学科卒業

学位論文題目 Changes of thick filament structure during contraction of frog striated muscle.
(収縮時のカエル横紋筋における太いフィラメントの構造変化)

(主 査)

論文審査委員 教授 遠 藤 實 教授 鈴 木 泰 三

教授 山 本 敏 行

論 文 内 容 要 旨

X線回折法は、筋肉の収縮中に生じる分子変化を研究するのに最も適した方法のひとつである。従来の方法では、X線の検出にはフィルムが用いられ、このため筋収縮に伴う時々刻々の分子変化を観察することは困難であったが、この問題は、強力なX線発生装置と改良されたX線検出器及びデータ処理システムを用いることにより解決され、筋肉からのX線回折パターンの変化を数ミリ秒の時間分解能で観察できるようになった。この方法はまず、筋肉の長軸と直角方向に生じる回折ピーク（赤道反射）の強度変化の測定に用いられ（参考論文1）、筋収縮中には太いフィラメントを構成するミオシン分子の一部（クロスブリッジ）が、細いフィラメントを構成するアクチン分子と結合すること、この構造変化は張力の発生に先行することが明らかになった。

本研究では、筋肉の長軸の方向に現われる回折ピークに注目した。これらの回折ピークは、太いフィラメントのまわりのクロスブリッジの配列に由来し、そのうち最も高い強度を持つのは、筋肉の長軸の方向（子午線方向）に21.4 nmと14.3 nmの周期に相当する位置に現われる回折ピーク（子午線反射）と、42.9 nmに相当する位置に現われる、子午線と直角方向に広がりを持つ反射（層線）である。これらのうち、14.3 nm子午線反射と42.9 nm層線は、太いフィラメントのまわりのクロスブリッジのらせん配列に由来するものとして解釈されてきたが、21.4 nm子午線反射の由来は明らかにされていなかった。本研究では、これらの回折ピークの強度の筋収縮に伴う変化を測定し、21.4 nm子午線反射の由来を明らかにするとともに、筋収縮に伴うクロスブリッジの構造変化を研究した。

実験は食用蛙の縫工筋を用いて行なわれ、試料は酸素化したリンゲル液中におかれ、摂氏4度に保たれた。刺激は電気パルスを用いて行ない、強縮の場合は20Hzで1秒間刺激した。収縮張力はストレイン・ゲージを用いて等尺的に記録し、十分な数のX線フォトンを得るために、収縮を繰り返してそのつどX線強度変化を加算した。X線発生装置は理学電機社製FRで、X線はモノクロメーターを用いた光学系で収束させた。X線検出器はシンチレーションカウンターと、位置判別型プロポーションナル・カウンターを用いた。

42.9 nm層線と21.4 nm子午線反射の強度は強縮中にはほぼ一定で、その値はそれぞれ静止時の58%と20%であった。14.3 nm子午線反射の強度は、新しい筋肉では強縮中の張力が一定な期間は静止時に比べて13%増加し、筋肉が疲労すると低下する傾向を示した。強縮の初期と刺激終了後には、14.3 nm子午線反射の強度は低下した。

単収縮中には測定された三つの反射の強度はいずれも低下し、反射強度の低下の時間経過はいずれの反射でも張力の上昇にやや先行した。42.9 nm層線と21.4 nm子午線反射の強度は、張力が

最大に達する前に最小に達したが、14.3 nm 子午線反射の強度は張力が最大に達した後に最小となった。

21.4 nm 子午線反射の強度が収縮中に大きく変化することは、この反射がクロスブリッジの配列に由来することを示唆する。子午線反射は、クロスブリッジの質量の太いフィラメントの軸への投影に由来するので、この反射の強度変化はクロスブリッジの太いフィラメントの軸に沿った配列が筋収縮中に変化することを示している。Bennett は、クロスブリッジが太いフィラメントの軸に沿って、42.9 nm の周期を 3 : 2 : 3 の比に分けるように並んだモデルを、電子顕微鏡を用いた研究から提案している。筋収縮に伴って太いフィラメントがこのモデルのような構造から、42.9 nm が周期を 1 : 1 : 1 の比に分けるような構造に変化するとすれば、観察された 21.4 nm 子午線反射の強度低下は良く説明される。このモデルはまた、14.3 nm 子午線反射の強度の増加も説明するが、観察された増加は予想される増加よりも小さい。この違いは、収縮中に細長い形をしたクロスブリッジが、太いフィラメントの軸に対して傾いているとすれば説明できる。

筋収縮中の 42.9 nm 層線の強度低下は、クロスブリッジがらせん配列を保っていないことを示している。しかし、収縮中には 14.3 nm 子午線反射は 42.9 nm 層線に比べると強いので、クロスブリッジは太いフィラメントの軸に沿っては規則的に配列していると考えられる。従ってクロスブリッジは、筋収縮時には太いフィラメントのまわりで周囲方向に動いて、細いフィラメントと結合し、張力を発生するものと思われる。

審査結果の要旨

筋収縮時の収縮蛋白の動態については現在未だ不明な点が多い。これを検出する有力な一つの方法はX線回折法である。最近強力なX線源の開発とX線検出法の進歩により、収縮中の筋からのX線回折像が比較的短時間内に得られるようになった。本論文は従来大まかな点しか調べられていなかったX線回折像子午線反射の収縮中の変化を、発生張力の変化と合わせて追求したものである。

カエル縫工筋のX線子午線反射像は、静止時には従来報告されていた通り、42.9 nmの周期に相当する第一次層線と、21.4 nmおよび14.3 nmの周期に相当する2つの子午線反射が主であることが確認された。また、これも従来の報告通り、強縮中には第一次層線の強度は強く減少することが確認された。従来知見がなかった21.4 nmの子午線反射の収縮中の変化については、強縮時に80%もの強度低下を起こすことが見出された。また、従来収縮中に強度が低下するとも増加するとも言われ、一定の結果が得られていなかった14.3 nmの子午線反射は、疲労した筋肉では強度が低下するが、新鮮な筋肉では13%の強度増加を示すことが明らかにされた。

強縮中に14.3 nmの子午線反射の強度が少くとも低下することなしに第一次層線の強度が強く低下する事実は、ミオシンクロスブリッジがフィラメントの軸方向の間隔の規則性を失うことなしに、そのらせん配列の規則性を乱したことを示している。従って収縮時の筋ではクロスブリッジは太いフィラメントのまわりで円周方向または放射方向に動いていると考えられる、という従来からの見解が確認された。一方、今回見出された、収縮中の21.4 nm子午線反射の著るしい強度低下は、クロスブリッジがフィラメントの軸方向にも動いていることを示唆する。Bennet は先に電顕像の解析などから、静止状態の筋ではクロスブリッジは軸に沿った42.9 nmの周期の中で0, 3/8, 5/8の位置にあり、収縮状態ではそれが0, 1/3, 2/3の位置に移るモデルを提案している。本論文ではこのモデルが収縮時に21.4 nmの子午線反射強度が減少し、14.3 nm子午線反射の強度が増加する事実を基本的に説明することを計算で確かめた。定量的にはこのモデルと観測値は一致しないが、それは収縮中にクロスブリッジの形や傾きに変化があるとすれば解決される方向である。

以上、本論文は骨格筋収縮中のクロスブリッジの動態に関して重要な新知見を加えた。従って本論文は十分学位に値するものと考えられる。