

Title	Myofiber Properties of Mouse Mylohyoid Muscle in the Growth Period
Author(s)	角, 祥太郎
Journal	歯科学報, 109(5): 544-545
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/1897">http://hdl.handle.net/10130/1897</a>
Right	

氏名(本籍)	かど しょう た ろう 角 祥 太 郎 (石川県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1830号(甲第1101号)
学位授与の日付	平成21年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Myofiber Properties of Mouse Mylohyoid Muscle in the Growth Period
掲載雑誌名	Zoological Science 第25巻 806~810頁 2008年
論文審査委員	(主査) 井出 吉信教授 (副査) 下野 正基教授 柳澤 孝彰教授 東 俊文教授 井上 孝教授

### 論文内容の要旨

#### 1. 研究目的

ミオシンは骨格筋を構成する重要なタンパクであり、特にミオシン重鎖(MyHC)は筋の機能をもっとも反映することが報告されている。このMyHCには数種類の変異体(isoform)が存在し、収縮速度の違いから速筋タイプ(MyHC-2b, MyHC-2d, MyHC-2a)と遅筋タイプ(MyHC-1)に分類されている。そのMyHC isoformの構成を観察することにより筋の機能的役割を明らかにすることが可能となった。これまで、筋の成長・発育過程におけるMyHC isoformの発現に関する報告は四肢筋を対象とした研究が多かったが、最近では咀嚼関連筋である咬筋、側頭筋、顎二腹筋についての報告がある。しかし同じ咀嚼関連筋である顎舌骨筋の筋線維特性やその変化、咀嚼におけるその役割に関して未だ不明な点が多く残されている。そこで本研究において、顎舌骨筋の筋線維特性についての免疫組織化学的検索、転写レベルについての検索、そしてタンパクレベルでの検索を行った。

#### 2. 研究方法

ICR系雄マウスの顎舌骨筋を研究材料として使用した。観察対象とした時期は、離乳直前の2週齢、離乳直後の4週齢、さらに成獣の9週齢とした。免疫組織化学的検索のために各週齢5匹、mRNA発現の検索のために各週齢5匹、計30匹を研究に供した。東京歯科大学実験動物指針に基づき、ペントバルビタールで深麻酔を行い屠殺した。摘出部位は顎舌骨筋とした。この筋を摘出後、直ちに液体窒素で急速凍結し、実験使用時まで-80℃のイソペンタン中で保存した。摘出した顎舌骨筋はクライオスタットを用いて筋線維の長軸に直交する厚さ10μmの連続凍結横断切片を作製した。通法に従いMyHC-2a, MyHC-2bの免疫染色を行った後、共焦点レーザー顕微鏡(MRC-1024/2P; Nippon Bio-Rad Lab, Tokyo, Japan)を用い免疫染色像の観察を行った。さらにRNA量の測定が可能であるLightCycler™(Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)を用いて各週齢におけるMyHC-2a, MyHC-2bのmRNAの定量計測を行った。全てのprimerについて至適条件を定めた上で、LightCycler™の標準的なプロトコールに従い、実験を行った。以上の方法で算出されたMyHCの各isoformの量を、House Keeping Geneとして用いたGAPDHの量で割り、最終的にmRNAの発現量を求めた。そしてタンパク量の検索を行うために、Western blotting法を用いて各週齢におけるMyHC-2a, MyHC-2bのタンパクの発現について検索を行った。

### 3. 研究成績および結論

免疫染色の結果から、全ての週齢において MyHC-2a 抗体に陽性な筋線維が観察された、しかし MyHC-2b 抗体に陽性な筋線維は全ての週齢においてほぼ観察されなかった。また LightCycler™ による転写レベルの結果では、全ての週齢において MyHC-2a は MyHC-2b よりも多く発現していた。しかし、全ての週齢において MyHC-2b は殆ど発現が認められなかった。さらに Western blotting 法によるタンパクレベルの検索結果においては全ての週齢において MyHC-2a の発現が認められたが、MyHC-2b の発現は認められなかった。全ての実験結果は同様の傾向を示した。マウスの他の咀嚼関連筋は一様に MyHC-2b が多く発現すると報告されている。このことから、顎舌骨筋は下顎を前後に速く運動させるマウス特有の咀嚼運動に直接的に関与しない筋であること、また離乳などの口腔領域特有の機能変化がおこる際も、筋線維特性の変化が起こらないマウス頭部の筋としては特異な筋であることが示唆された。

### 論文審査の要旨

マウスの口腔底を形成する顎舌骨筋は咀嚼に関連する筋であるが、その機能について、いまだ不明な点が多く残されている。本研究では離乳前後における顎舌骨筋の筋線維特性の変化を明らかにする目的で、MyHC isoform について観察を行った。その結果、顎舌骨筋においては全ての週齢において MyHC-2a が多く発現し、全ての週齢において MyHC-2b の発現が認められなかった。このことから、顎舌骨筋は常に一定の筋線維特性を持ち続ける、マウスの頭部の筋としては非常に特異な筋であること、さらに MyHC-2b の発現が認められないことから、顎舌骨筋はマウス特有の咀嚼運動に伴う下顎の速い運動に直接的に関与しない筋であるということが示唆された。

本審査委員会では、1) 食性の違いと筋線維特性の関係、2) 試料の保存方法と実験結果への影響について、3) ミオシン重鎖とミオシン軽鎖との関係などについて質疑がなされ、概ね妥当な回答が得られた。また、Western blotting 法についてアドバイスが得られた。

以上の審査結果から、本研究で得られた結果は今後の歯学(解剖学)の進歩、発展に寄与するところ大であり、学位授与に値するものと判定した。