

I-B-11

ラット骨格筋における乳酸輸送担体 MCT1 および MCT4 の局在 (第2報)

小林 正利¹⁾、猪口 哲夫¹⁾、太田 啓介¹⁾、
安納 弘道²⁾

¹⁾ 久留米大学 医学部 解剖学第二講座、

²⁾ 日本大学 工学部 次世代工学技術研究センター

従来、乳酸は骨格筋収縮の代謝産物として産生され、拡散により細胞形質膜を通過すると考えられていたが、近年では細胞外に排出されるだけでなく、細胞外の乳酸を再び骨格筋に取り込み、エネルギー源として再利用されるという報告もされている。1994年に乳酸輸送担体であるMCT(monocarboxylate transporter)が発見され、乳酸の形質膜通過はトランスポーターを介してH⁺とともに共輸送されるということも明らかになってきた。また、MCTには幾つかのサブタイプが確認されている。そのうち骨格筋線維には、MCT1とMCT4が発現していることが知られており、MCT1は細胞内への乳酸の取り込みに関係し、MCT4は細胞外への乳酸の汲み出しに関わるという報告がある。しかし、これらの輸送担体の局在について形態学的な研究を行ったものは少ない。そこで我々は、市販の抗MCT1抗体を用いると共に、抗MCT4抗体を自家作製し、ラット骨格筋におけるMCT1、およびMCT4の局在を免疫組織化学的方法を用いて光顕的、電顕的に観察し、更にこれらの輸送担体の局在と筋線維typeとの相関の有無を検討するため、ヒラメ筋および長指伸筋の連続切片を用いて検討した。

その結果、光顕的、電顕的観察によりMCT1、MCT4は共に骨格筋の形質膜および形質膜直下の小胞様構造物に免疫陽性反応が観察された。また、筋線維typeとの相関に関しては、酸化系解糖能力に優れるtype1線維の形質膜上にMCT1免疫陽性反応が必ず確認され、嫌気性解糖能力に優れるtype2b線維のほぼ全ての形質膜上にはMCT4陽性反応が認められた。また、酸化系、嫌気性解糖能力ともにすぐれているtype2a線維の殆どの形質膜上にはMCT1、MCT4両方の免疫陽性反応が確認された。

このことは、従来から述べられてきた筋線維型の違いによる解糖系代謝様式の相違を反映しているものと考えられる。更に、強制運動を行った場合との対比についても現在検討中である。

I-B-12

マウスおよびヒト精細管における膜骨格プロテイン 4.1ファミリーの免疫組織化学的検討

寺田 信生、大野 伸彦、藤井 靖久、李 子竜、
馬場 健、大野 伸一

山梨大学 大学院医学工学総合研究部

解剖学第1教室

【目的】膜骨格とは、赤血球膜直下においてスペクトリン—アクチンからなる網目構造が、プロテイン4.1(4.1)もしくはアンキリンにより膜内蛋白と結合すると考えられている。最近4.1ファミリー蛋白が4つ(4.1R、4.1G、4.1N、4.1B)同定され、我々は4.1Bについて種々臓器における局在を検討して、細胞接着もしくは形態形成に関わる可能性をこれまで報告してきた。今回4.1Bと4.1Gについて、精巣における局在を検討したので報告する。【方法】成獣もしくは生後直後のマウス精巣を灌流固定後、凍結切片を作製して、4.1B、4.1Gに特異的なウサギポリクローナル抗体を用いて、光顕もしくは電顕免疫組織化学的検討を行った。一方ヒト精巣(承諾を得た病理標本)については、ヒト4.1Bに対応するDAL-1に対する抗体を用いた。アクチン細胞線維と細胞間結合のマーカーとしてファロイジンおよびβカテニン抗体を用いた。また精子形成細胞が無い精細管の検討のために成獣W/W^vマウス精巣を用いた。【結果】4.1Bは、マウス精細管の基底区画に免疫染色され、電顕的には精粗細胞と接するセルトリ細胞膜直下に局在していた。しかしファロイジンに強く染色されるセルトリ—セルトリ細胞間結合に4.1Bは局在しなかった。発生分化過程において、この4.1Bの免疫染色性は生後20日で明瞭となった。またβカテニンも4.1Bと同じ部位に局在したが、W/W^vマウスにおいては、4.1Bとβカテニンの免疫染色性はともに著減した。ヒト精細管において、抗ヒトDAL-1抗体は同様の局在を示した。一方、4.1Gは4.1Bと同じ部位に加えて、精母細胞(免疫染色性が比較的弱い)、精子細胞と接するセルトリ細胞膜直下に局在していた。しかしセルトリ細胞が精子細胞から精子形成過程での尖体と接する部位にある接着装置ectoplasmic specializationに4.1Gは局在しなかった。【考察】4.1Bは精粗細胞—セルトリ細胞間接着に、4.1Gはもう少し幅広い精子形成細胞—セルトリ細胞間接着に関わる可能性が示唆された。セルトリ細胞は精子形成細胞の支持と同時に成熟に関わると考えられており、4.1ファミリー蛋白がその一端を担っている可能性がある。これらの4.1ファミリー蛋白が結合する膜内蛋白については検討中である。