

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26560394

研究課題名(和文) 生体骨格筋の動的in vivoイメージングのためのプラットフォームの開発

研究課題名(英文) development of in vivo imaging system for skeletal muscle biology

## 研究代表者

秋本 崇之 (AKIMOTO, Takayuki)

東京大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：00323460

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：正立顕微鏡に既存のスピンニングディスク共焦点装置および、高感度背面照射型CCDを組み合わせ、in vivoイメージングが可能な光学系を構築した。本研究の成果として、筋収縮によって骨格筋内転写因子のNuclear factor of activated T-cells (NFAT) を脱リン酸化による核移行を生体骨格筋において観察することができた。今後は本研究助成によって構築した光学系を用いて、動的な環境における筋内の様々な現象を捕らえるための実験系として応用可能となったと考える。

研究成果の概要(英文)：We developed an in vivo imaging system to combine spinning-disc confocal system with sensitive CCD camera. As a result of this project, we observed that the Nuclear factor of activated T-cells (NFAT) were translocated into nucleus in response to muscle contraction in adult skeletal muscle. We will apply this technique to see various phenomena in skeletal muscle in near the future

研究分野：筋生物学

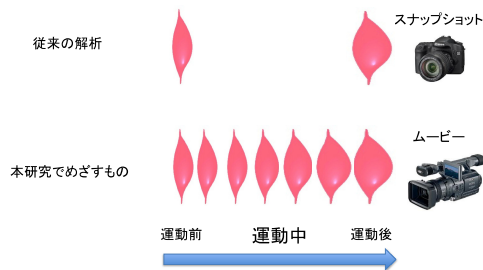
キーワード：in vivoイメージング 筋 シグナル伝達 動的環境 メカニカルストレス

### 1. 研究開始当初の背景

適度な身体運動が健康に有益であることは一般に認知されている。一方、運動がどのようなメカニズムで、この「健康に対する運動の効用」を生み出すかについてはあまり理解が進んでいない。すなわち、これまでの研究は、運動と「健康に対する運動の効用」との関連性を記述した報告が大部分で、運動による「健康に対する運動の効用」の基盤となる分子メカニズムを直接的に証明した報告はほとんどなかった。

近年、健康の維持・増進に対する運動の重要性が予防医学や分子生物学分野からも注目され始め、また遺伝子改変動物の作製技術や分子生物学的実験手法の飛躍的な進歩、新たなイメージング手法の導入により、これまで困難であった「健康に対する運動の効用」の分子メカニズムを解明することが可能になってきている。しかしこれらの研究のほとんどは身体運動による生体の表現型の変化のエンドポイントを捉えており、表現型の変化の実体を捉える事はできていない。

近年盛んになった生体ビデオイメージング技術は、生体の内部で起こっている事象を生きのまま、時間軸をもって「ビデオ撮影」することを可能とし、これによって生命活動の本質である、分子や細胞の動きや変化をはっきりと理解する事が可能となった。



### 2. 研究の目的

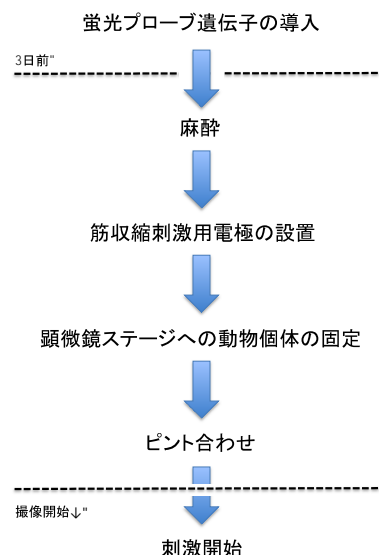
身体運動の本質は骨格筋の収縮にあるため、骨格筋が「健康に対する運動の効用」を発現させる中心的器官の1つであると考えら

れる。そこで本研究では、マウス生体骨格筋を対象に、筋収縮中に骨格筋で起こっている様々な変化のリアルタイムイメージングを可能とする、動的 in vivo イメージングのプラットフォームを構築することを目的とする。

### 3. 研究の方法

近年の生体 in vivo イメージングには多光子励起顕微鏡がよく用いられている。多光子励起顕微鏡法にはいくつかのメリットがある一方、時間分解能は高くない。本研究では、筋収縮中の骨格筋内を高い時間分解能で観察する必要があるため、高速に共焦点画像を取得できるスピニングディスク共焦点ユニットを用いた観察系を用いる。このスピニングディスク共焦点ユニットは蛍光のシグナルが十分であれば、およそ 20 msec で共焦点画像の取得が可能である。

本研究の目的は、研究プラットフォームの確立であり、将来的には、様々なシグナルを可視化するため、ad hoc に研究目的に適したプローブを動物個体に導入する必要がある。これには、すでに確立されている、生体骨格筋への遺伝子導入技術 (Akimoto et al., Am J Physiol Cell Physiol, 2008) を用いる。



ガス  
麻酔  
下の  
動物  
個体  
を電  
気刺  
激に  
より  
筋収  
縮さ  
せる  
実験  
系に  
つい  
ては  
すで

に実績がある (Akimoto et al., Am J Physiol Cell Physiol, 2004). また, 高速に共焦点画像が取得可能なスピニングディスク共焦点顕微鏡は, すでに我々の研究室に配備されている.

#### 4. 研究成果

研究開始当初は, 申請していた研究費の大幅な減額のため, 計画時に予定していた顕微鏡筐体の購入ができずに, 初年度は予算内で購入可能な中古の顕微鏡の筐体探しに奔走したが, 結局予算内で購入できる顕微鏡の筐体は見つからなかった. 次年度に運良く中古の顕微鏡筐体を格安で入手する事ができたため, 急速に研究が進展した.

本研究の結果, マウスを生きたままの状態での麻酔下に静置し, その生体骨格筋内での分子の振舞いを in vivo イメージングによって顕微鏡下で観察する事が可能になった.

具体的には生体骨格筋中で, 筋収縮にตอบสนองして核内に移行する Nuclear Factor of Activated T cells (NFAT) 分子の振舞いを観察する事ができた. 今後, この研究プラットフォームを用いて骨格筋内で起こる様々なイベントを観察する事が可能であると考えられる.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 秋本崇之, 狩野豊, 中村一隆, 味八木茂, 浅原弘嗣, 牛田多加志. ホメオボックス遺伝子 Mxk 欠損マウスの骨格筋表現型. 第 70 回日本体力医学会学術総会, 和歌山, 2015.9
2. 高木空, 秋本崇之, 藤里俊哉, 中村友浩. 温熱刺激が三次元培養筋の収縮機能に及ぼす影響. 第 70 回日本体力医学会学

術総会, 和歌山, 2015.9

3. 中村友浩, 高木空, 掃部貴文, 秋本崇之, 藤里俊哉. 三次元培養筋の構築と生理学的应用. 第 3 回 骨格筋生物学研究会, 仙台, 2015.3

4. T. Akimoto. Young researchers lead the way in Sports Science. Brain Korea 21 plus conference in Dankook University. Cheonan, 2014.11 (invited)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.cdbim.m.u-tokyo.ac.jp/research/03.php>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

秋本崇之 ( AKIMOTO, Takayuki )

東京大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：00323460

(2)研究分担者

(       )

研究者番号：

(3)連携研究者

(       )

研究者番号：