

(様式4)

学位論文の内容の要旨

高橋 麻衣子 印

(学位論文のタイトル)

The localization of VAMP5 in skeletal and cardiac muscle
(マウス骨格筋および心筋におけるVAMP5の発現と分布)

(学位論文の要旨) 2,000字程度、A4判

小胞輸送は、細胞内オルガネラ間を相互に連絡すると共に、タンパク質をはじめとする様々な物質のソーティングを行う機構である。これには、輸送小胞とその目的地であるターゲット膜の組み合わせが正しい場合にのみ膜融合が起こる、という選択的機序が基盤となっている。この膜融合の特異的認識を担うタンパク質群が、SNAREである。SNAREタンパク質群の一つであるVAMPは、小胞側に存在する膜タンパク質 (v-SNARE) である。中でもVAMP5はmRNAレベルで主に骨格筋で発現することが報告されている。しかしVAMP5タンパク質の分布に関する形態学的な知見は未だ発表されていない。

この研究では、VAMP5タンパク質の発現と分布について調べた。まず、マウス各臓器のホモジネートにおけるVAMP5の発現を調べるため、ウエスタンブロッティングを行った。その結果、VAMP5は骨格筋、心筋、脾臓、肺、肝臓、腎臓で発現が認められた。一方、脳と小腸では発現はなかった。次に、骨格筋におけるVAMP5の分布を調べるため、蛍光抗体染色を行った。その結果、VAMP5は、筋線維によって発現量に差が見られることがわかった。骨格筋は、均一な線維の束ではなく、myosin heavy chainにより各線維がtype I、type IIa、type IIbに分類されることが知られている。この線維タイプの違いが、VAMP5の発現量の差に関連するかどうかを調べるため、多重染色により筋線維のタイプ分けを行うと共に、各線維のVAMP5発現量を検出した。その結果、VAMP5の発現量の多い線維は、筋線維のtype IIaに分類されることがわかった。

さらに骨格筋でのVAMP5の役割を調べるため、グルコース輸送体であるGLUT4との関連について検討した。以前の研究では、VAMP5や他のVAMPアイソフォームであるVAMP2やVAMP7が、骨格筋でのGLUT4小胞と免疫共沈降することが報告されている。そこでVAMP5とGLUT4の二重染色を行った結果、この二つのタンパク質の発現パターンは類似していることがわかった。さらに強拡大で観察した結果、VAMP5はGLUT4と核周囲や形質膜直下で部分的に共局在することがわかった。したがってVAMP5は、骨格筋でのGLUT4の小胞輸送に部分的に関与している可能性がある。

また心筋におけるVAMP5の分布についても、蛍光抗体染色を用いて調べた。その結果、VAMP5は心筋細胞の末端部付近に強く発現していることがわかった。心筋細胞の末端部には介在板とよばれる細胞同士の連結部分がある。介在板のマーカータンパク質を用いて二重染色を行うと、VAMP5は介在板付近に強く発現することがわかった。以上の結果から、VAMP5は骨格筋と心筋における小胞輸送において、特異的な役割を果たしていることが示唆された。