

鍼通電刺激により活性化される細胞内の情報伝達関連タンパク質の探索

加藤一夫

筑波技術大学 保健科学部 保健学科

キーワード：通電刺激, 電気刺激, ストレスファイバー, 接着斑, 細胞骨格

1. はじめに

光を感じる視細胞, 音を感じる内耳の有毛細胞, 血管の管腔面に局在する血管内皮細胞などの細胞は, それぞれ光, 音, 血流刺激による機械刺激に応答し, 細胞の形を変えることが知られている。また, 筋肉線維の元となる筋芽細胞は短時間に機械刺激に対する応答を起こし, 細胞の形態の変化と細胞内のリン酸化タンパク質の変化が起こることが現在までの著者たちの研究で明らかになっている。しかしながら, 鍼灸療法のうち, 皮膚や筋肉に通電刺激による電気的な刺激を与えた際の1つの細胞レベルでの応答・反応や, 細胞の形態変化, 電気刺激特異的なタンパク質合成の制御に関しては現在までほとんど明らかになっていない。

鍼による通電刺激により, チロシンリン酸化タンパク質 (情報伝達系に関わるタンパク質) の活性化が起こり, その結果, 細胞内の骨格構造であるストレスファイバー, 接着斑 (focal adhesion) の増強が起こることを初めて発見した。本研究では昨年度の研究を踏まえ, 鍼療法における細胞の応答を細胞学生物学的に解析することにより, 鍼療法による電気的刺激が, 個々の細胞内部に与える分子生物学的な影響を解析し, 電気刺激が体細胞に与える情報伝達経路を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

細胞には, 簡易型刺激装置 (SEN-2201; 日本光電社製。本学に設置済み) によるシングルパルス通電刺激を与えることにより, 細胞の形態変化, 細胞内の細胞骨格系タンパク質の変化と情報伝達系タンパク質の活性化の状態を明らかにすることを目的とした。

細胞に与える電気刺激はできる限り通常的环境下で行うが, 生体内での細胞とは生育の環境が異なるため, 電気刺激のパターン, 時間等は培養系細胞に適した様に調整を行った。昨年からの研究により, 50ボルトの電気刺激を1分間に60回程度の刺激を細胞に与えると, 線維芽細胞の伸長, 細胞骨格系の変化が顕著に現れることが明らかに

なっている。この結果に基づき, 細胞に電気刺激を与えたものと, コントロールとして刺激を与えなかった細胞の間で情報伝達系タンパク質の活性化, 細胞骨格系の変化, 細胞形態の変化などを詳細に解析した。

3. 結果と考察

現在までの申請者らの研究により, 情報伝達系タンパク質のうち, c-SrcとFAKの活性化が様々な刺激受容に重要な役割を演じていることが明らかになっており, 1つの細胞内での情報伝達系タンパク質の活性化の変化を明らかにしていく事を目的とした。

2時間程度の通電刺激を与えるるとストレスファイバーの増強に伴って, 細胞基質間接着装置 (focal adhesion) が顕著に大きくなるのが確認でき, 20時間 (overnight) の連続的な通電刺激を与えると, ストレスファイバー, 接着斑の両方がより太く, 大きくなるのが確認できた。また, c-SrcとFAKの活性化は細胞内外の情報伝達経路であり細胞の接着, 細胞の形態の変化を引き起こす, 通電刺激によるシグナル伝達系として機能している可能性明らかとなった。通電刺激が細胞に及ぼす活性化のメカニズムが明らかになることが強く期待される。

本研究では, 細胞に電気刺激を与えたものと, コントロールとして刺激を与えなかった細胞の間で情報伝達系タンパク質の活性化, 細胞骨格系の変化, 細胞形態の変化などを比較検討したところ, 通電刺激を行った細胞は細長く進展し, さらに内部の接着斑, ストレスファイバーなどの細胞骨格構造の増強が認められた。特に, チロシンリン酸化タンパク質を特異的に認識する抗体による免疫染色によれば, チロシンリン酸化関連タンパク質の活性化が接着斑構造に集積しているのが顕著に認められた。チロシンリン酸化タンパク質は, 細胞内の情報伝達系に広く関わっていると考えられており, 細胞内の骨格構造であるストレスファイバーと接着斑は細胞の外部と内部とを繋ぐ構造として, 様々な細胞刺激の伝達に関わっていることが予想される。したがって,

接着斑により受け入れられた細胞内への通電刺激が、ストレスファイバー構造へ伝えられ、結果、細胞の形態変化を引き起こしたことが考えられる。また、その際、接着斑にはチロシンリン酸化タンパク質が顕著に集積することから、接着斑を構成するタンパク質がチロシンリン酸化することにより、通電刺激が内部へと伝達されることが予想された。今後は、「鍼による通電刺激が細胞内の情報伝達関連タンパク質を活性化する」いう仮説をもとに、通電刺激により活性化される細胞内情報伝達タンパク質を明らかにするべく研究を進めていく。

本研究は、令和元年度 筑波技術大学 教育研究等高度化推進事業（競争的教育研究プロジェクト A）研究費により行われた。

参考文献

- [1] FAK-Dependent Cell Motility and Cell Elongation
Kazuo Katoh., Cells 2020, 9(1), 192; <https://doi.org/10.3390/cells9010192>