

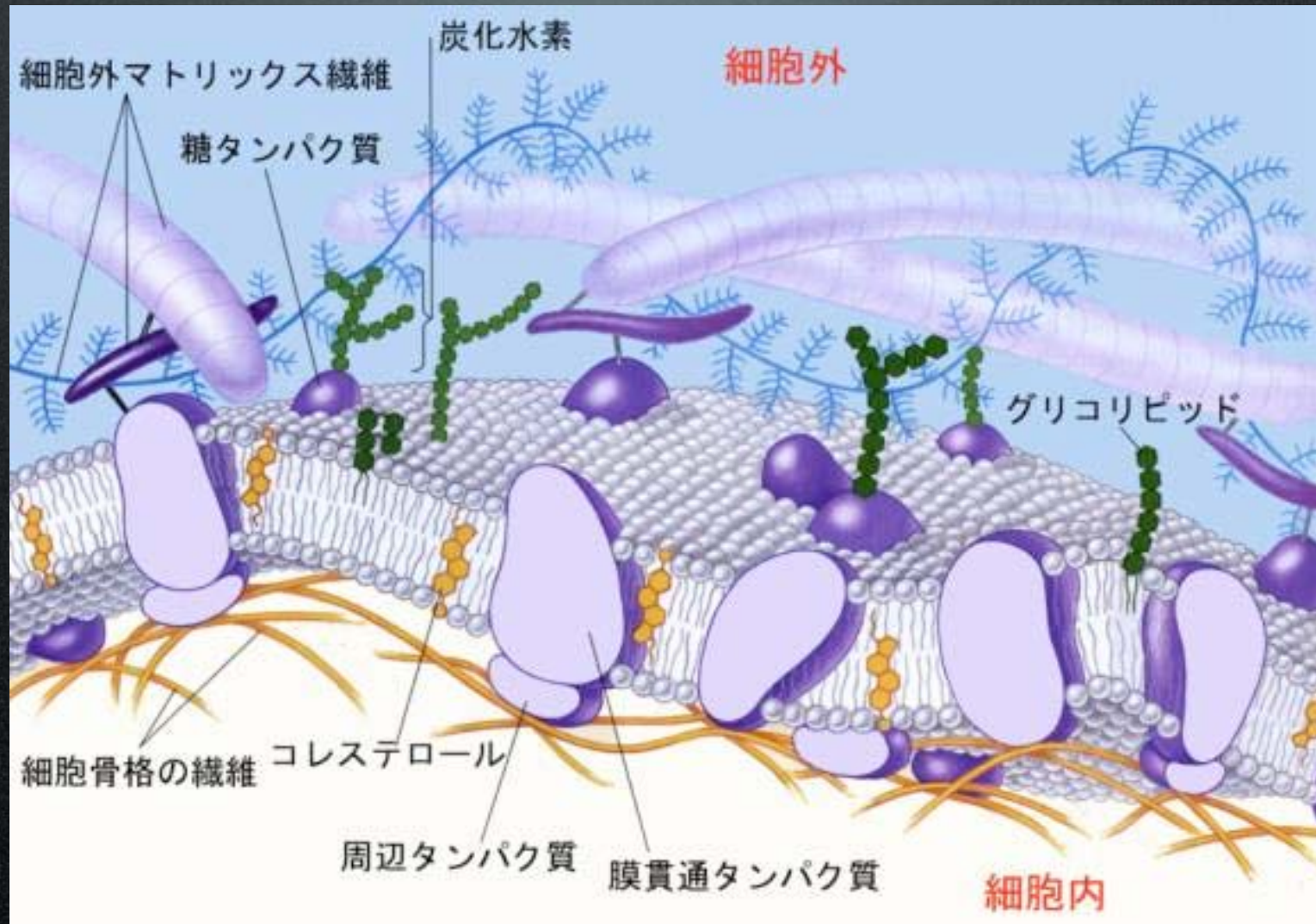
二光子レーザー顕微鏡を用いた細胞膜修復機構の観察：

細胞膜修復におけるMG53とdysferlinの発現について

市川冬輝 濱田萌

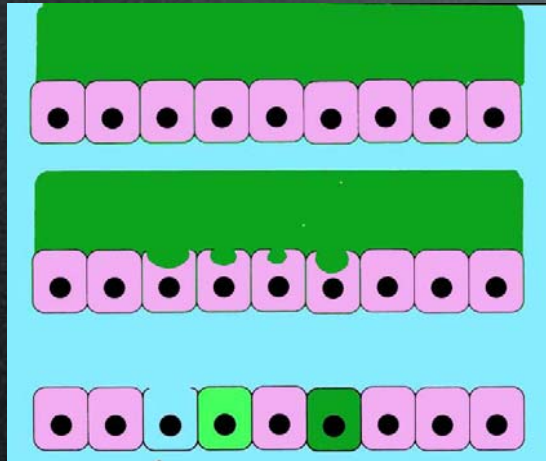
香川大学医学部3年

細胞膜の構造

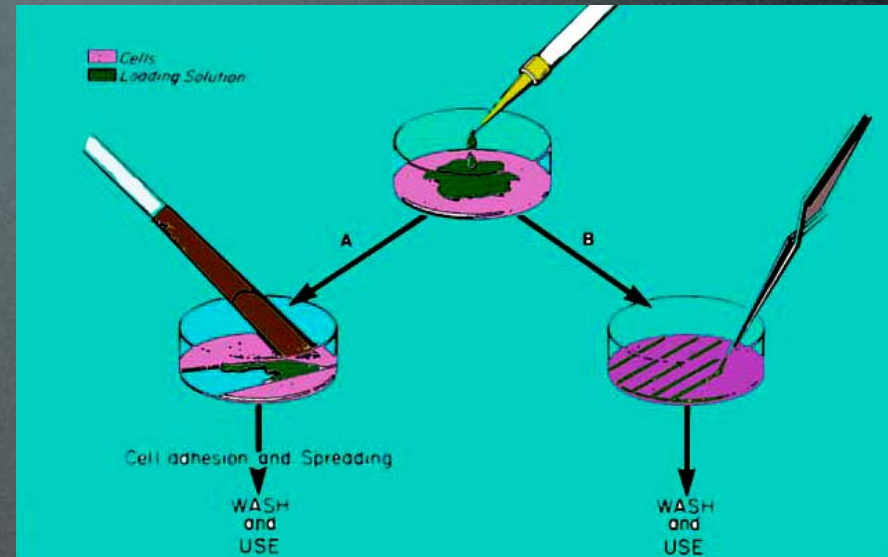


How to detect wounded cells in vitro?

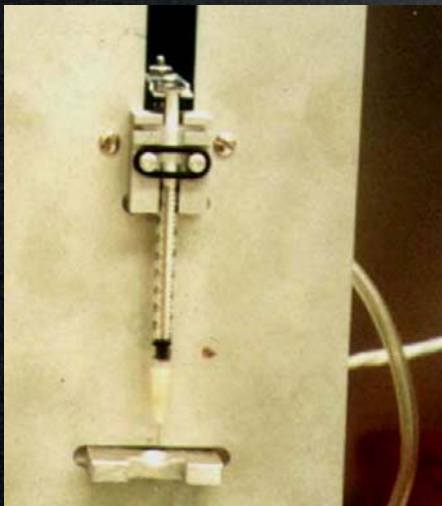
FDx (10kD) or HRP(24kD)



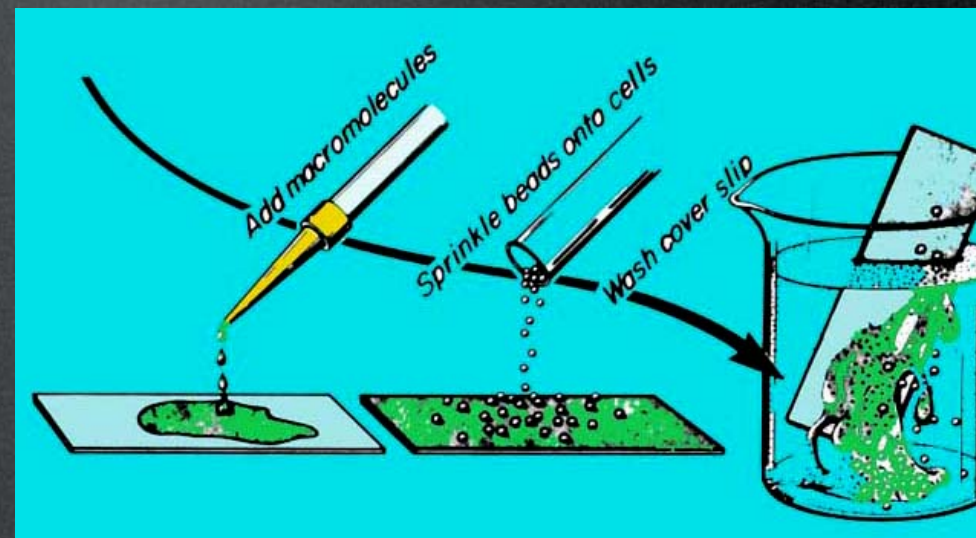
Scrape or Scratch loading



Syringe loading



Bead loading



膜プロープFM色素

- FM4-64
- FM1-43

MG53について



MG53欠損マウス→筋細胞が貧弱
骨格筋の膜修復機構の中核を担う蛋白質

dysferlinについて

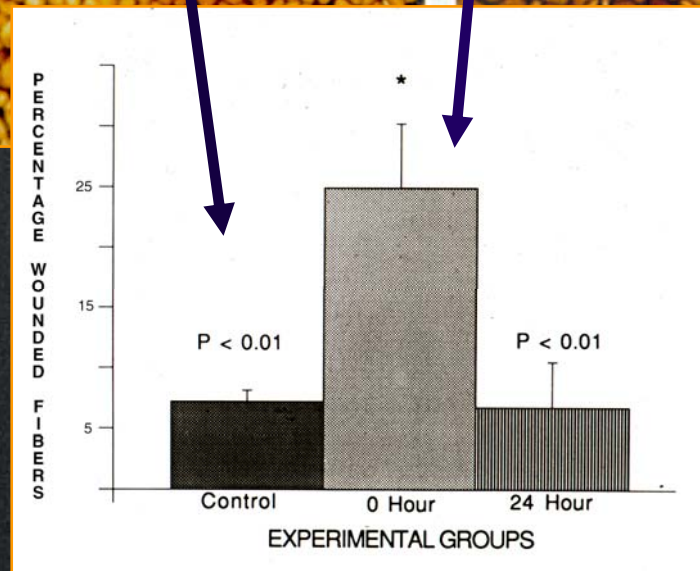
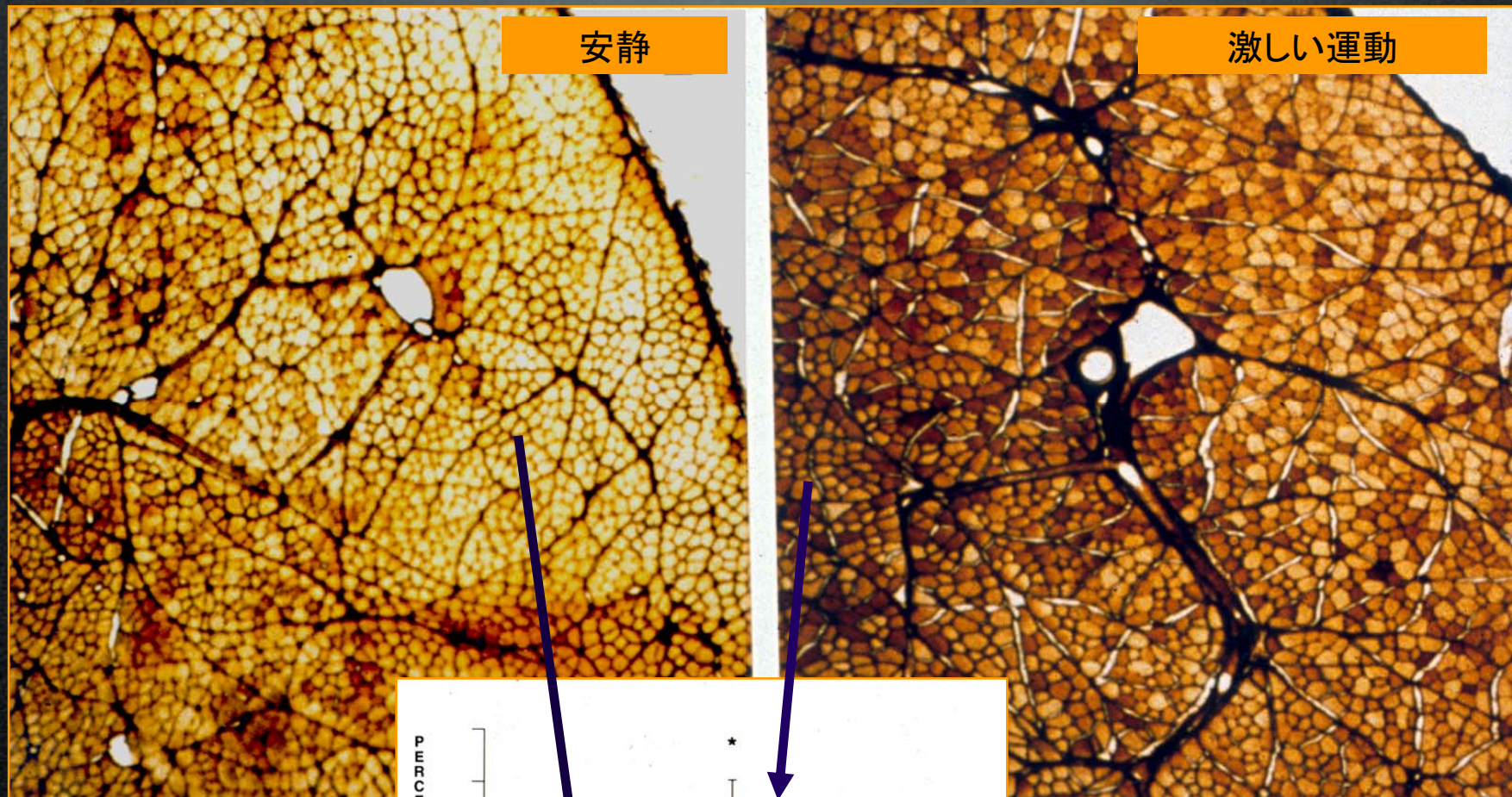


- 筋ジストロフィーの原因遺伝子として発見
- 膜修復に関係していることを三宅先生が証明

マウスの足底筋



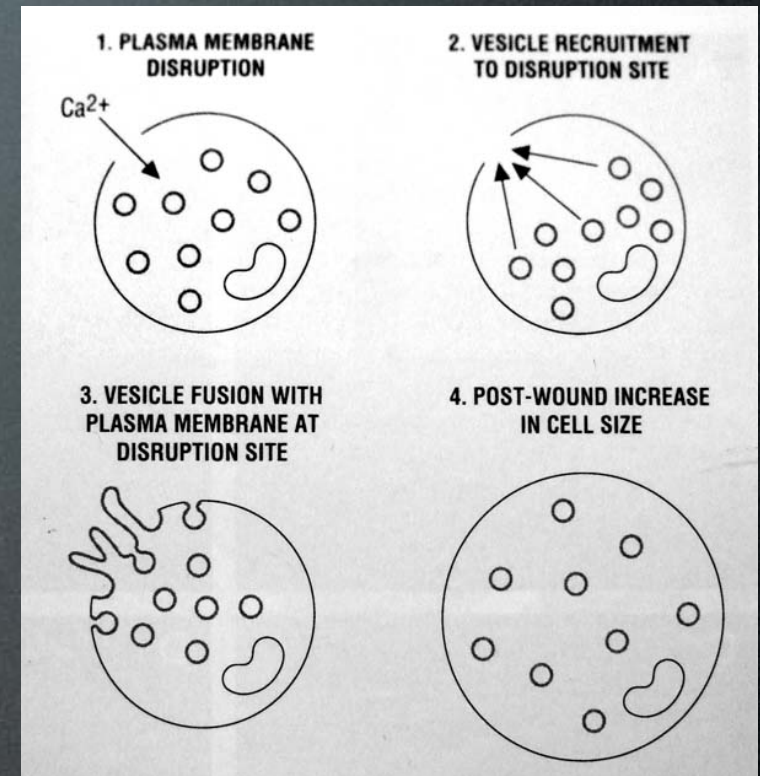
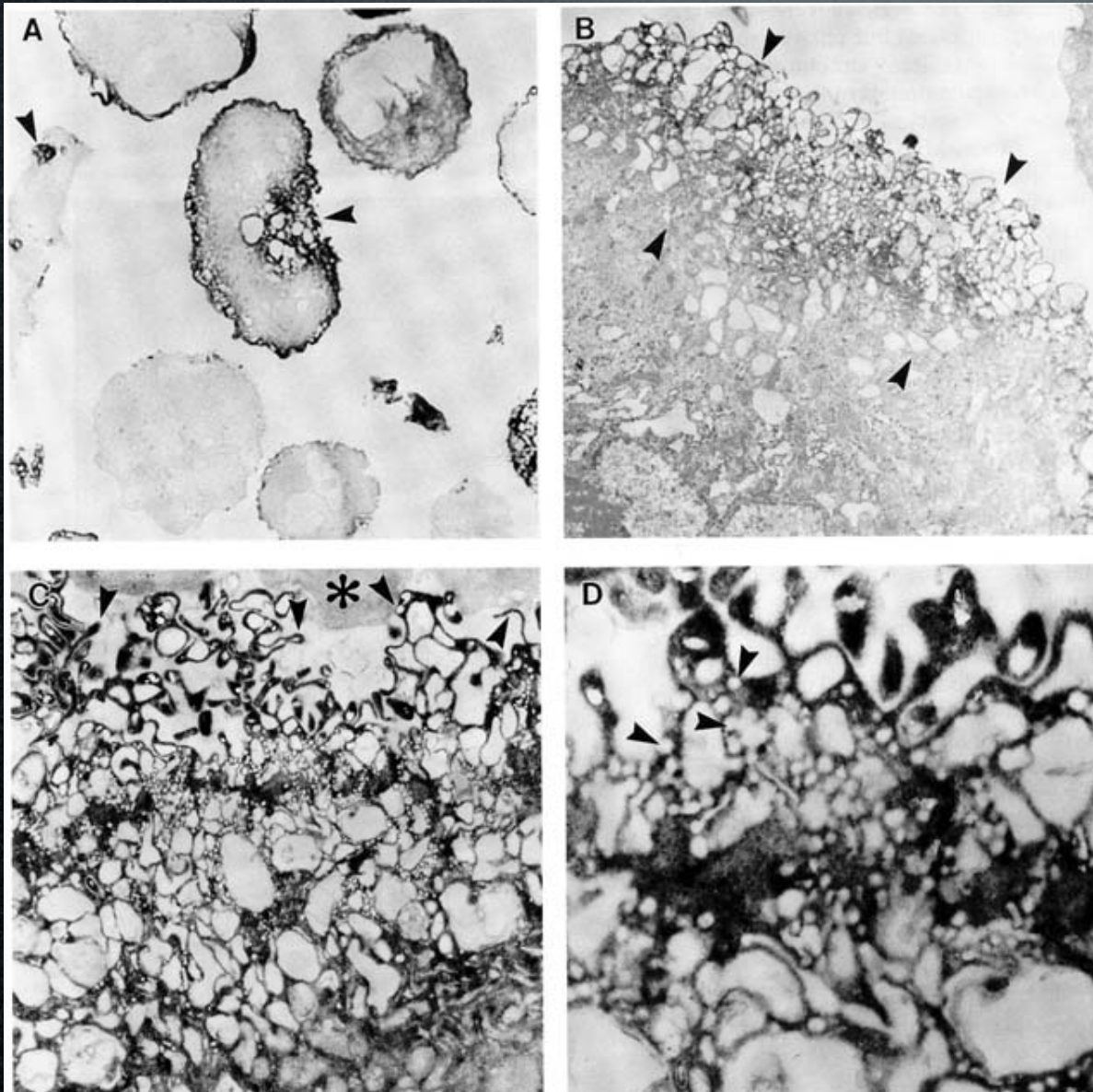
激しい運動は膜損傷修復を繰り返す



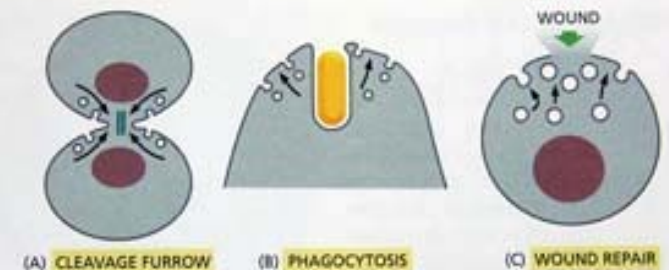
ラット上腕三頭筋

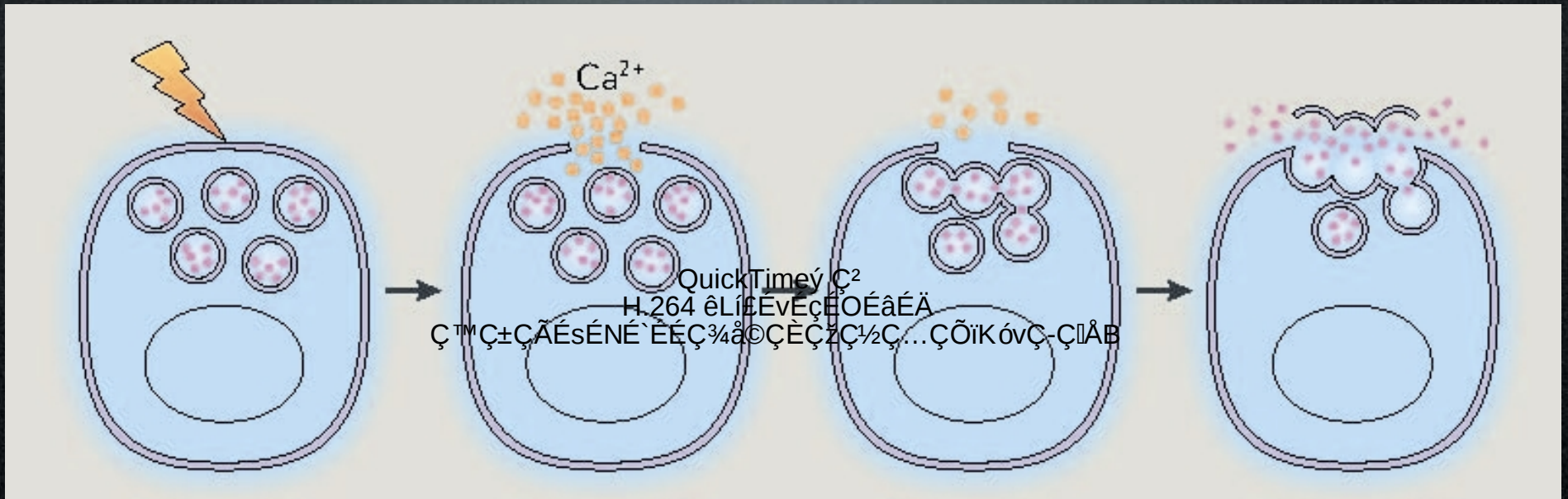
McNeil *et al.* (1992) *Am. J. Pathol.*
140: 1097

Vesicles are important for resealing



806 Chapter 13: Intracellular Vesicular Traffic





nature REVIEWS Molecular Cell Biology

コレステロールなど細胞膜構成成分との関わり？

Kagawa University, Medicine, Miki, Kagawa

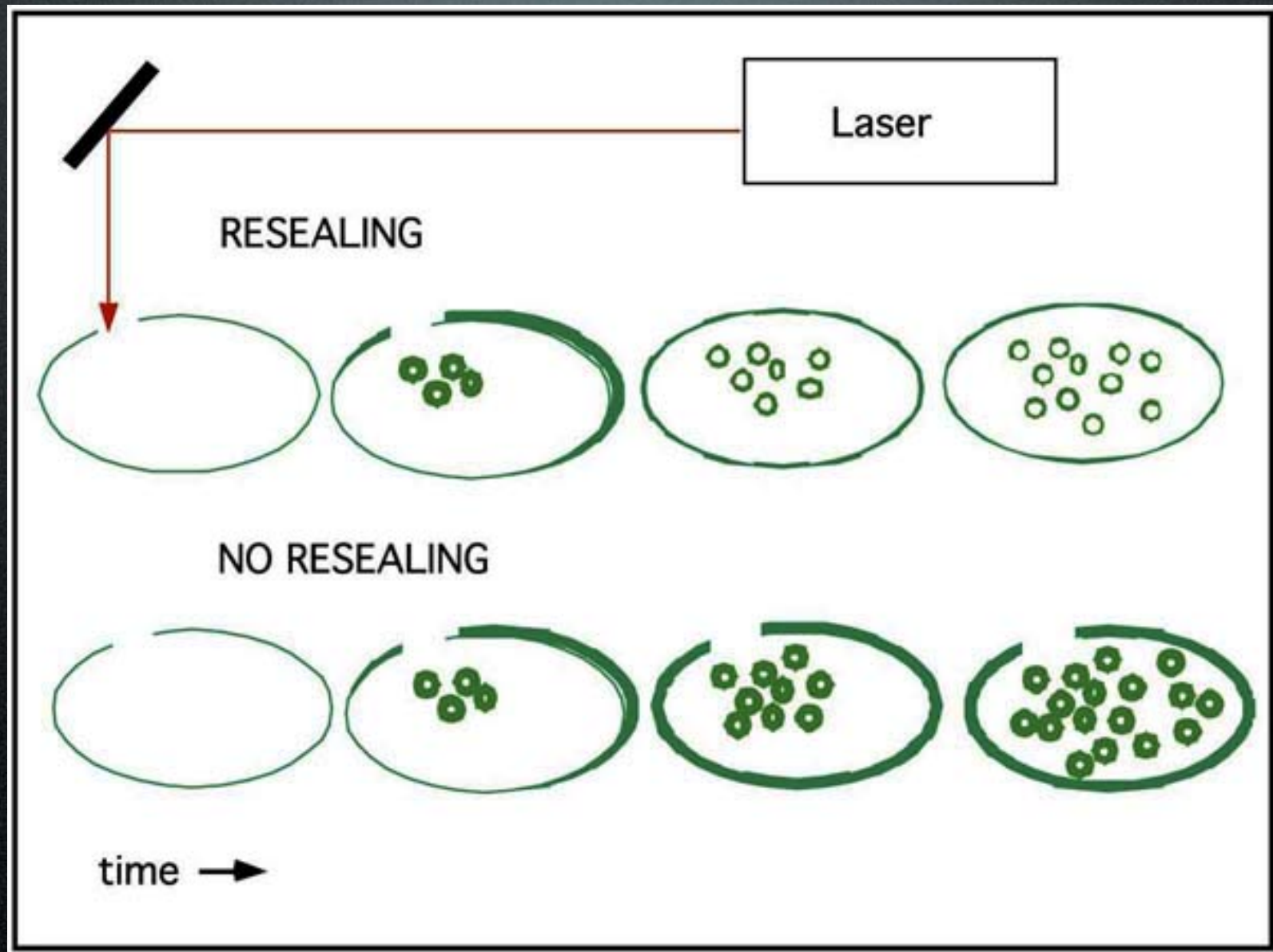


LSM710 NLO, Zeiss



Sapphire(Ti:S) Laser System Chameleon, Coherent

二光子レーザーアッセイ法



FM1-43

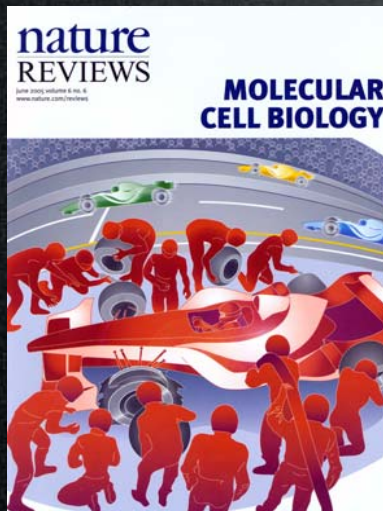
Plus Ca

Plus Ca

QuickTimey C²
H.264 8LIIEVEcEOÉÁÉÁ
C¹MÇ±ÇÄEsENE EEÇ¼ä©ÇEÇ2Ç¼Ç...ÇÖIkónÇ-ÇIAB

Minus Ca

QuickTimey C²
H.264 8LIIEVEcEOÉÁÉÁ
C¹MÇ±ÇÄEsENE EEÇ¼ä©ÇEÇ2Ç¼Ç...ÇÖIkónÇ-ÇIAB



QuickTimey C²
H.264 8LIIEVEcEOÉÁÉÁ
C¹MÇ±ÇÄEsENE EEÇ¼ä©ÇEÇ2Ç¼Ç...ÇÖIkónÇ-ÇIAB

McNeil & Kirchhausen,
nature REVIEWS, Molecular Cell Biology, 2005

QuickTimeý Ç²
H.264 êLí£ÉvÉçÉOÉâÉÄ
Ç™Ç±ÇÃÉsÉNE`ÉÉÇ¾å©ÇÈÇŽÇ½Ç...ÇÕïKónÇ-ÇİÅB

修復成功

QuickTimeý Ç²
H.264 êLí£ÉvÉçÉOÉâÉÄ
Ç™Ç±ÇÃÉsÉNE`ÉÉÇ¾å©ÇÈÇŽÇ½Ç...ÇÕïKónÇ-ÇİÅB

修復失敗

Defective resealing of membrane in DYSF-null



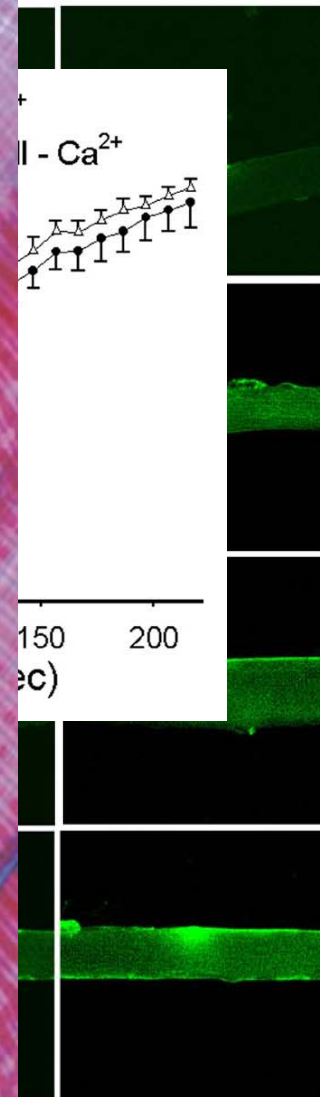
W
+C
Flourescence Intensity

WT
-Ca²⁺

DYSF-nl
+Ca²⁺

DYSF-null
-Ca²⁺

216.4 sec



コレステロール合成阻害剤（スタチン）の副作用

激しい運動後の横紋筋融解症

メカニズム？

コレステロール合成阻害剤の副作用

横紋筋融解症の発症メカニズム

スタチンが骨格筋線維から細胞膜修復に
必要なコレステロールを減少



細胞膜修復阻害



骨格筋線維の死

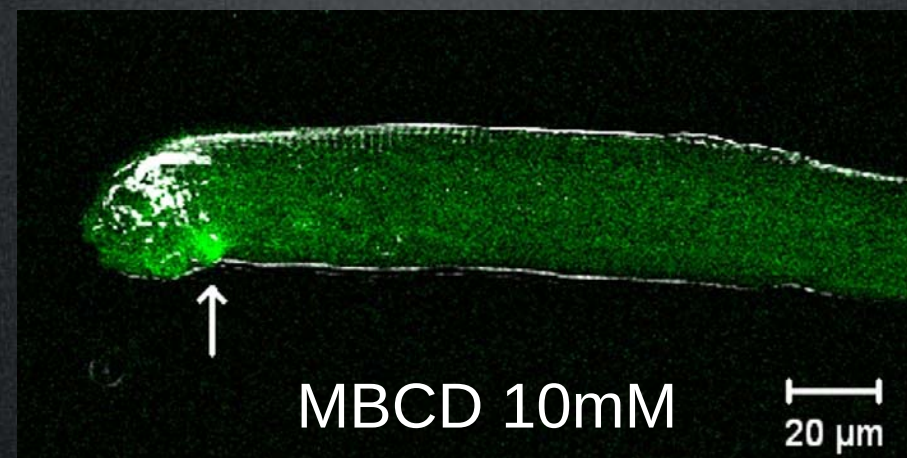
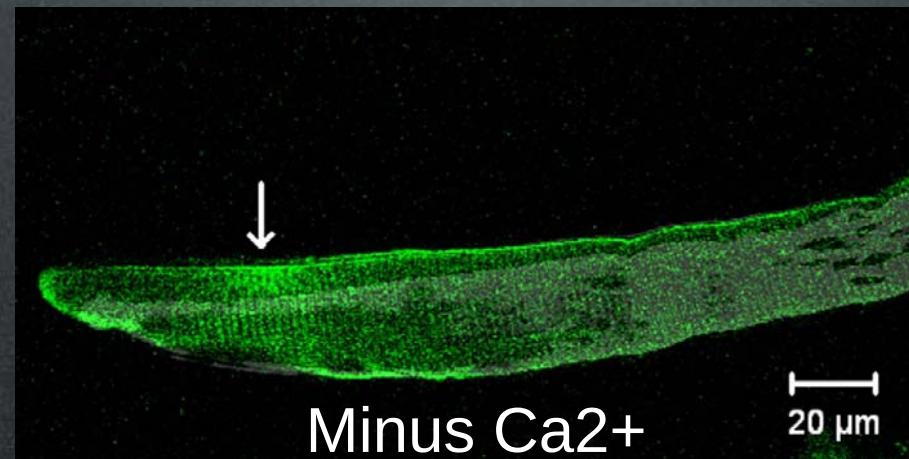
シクロデキストリン(MBCD)

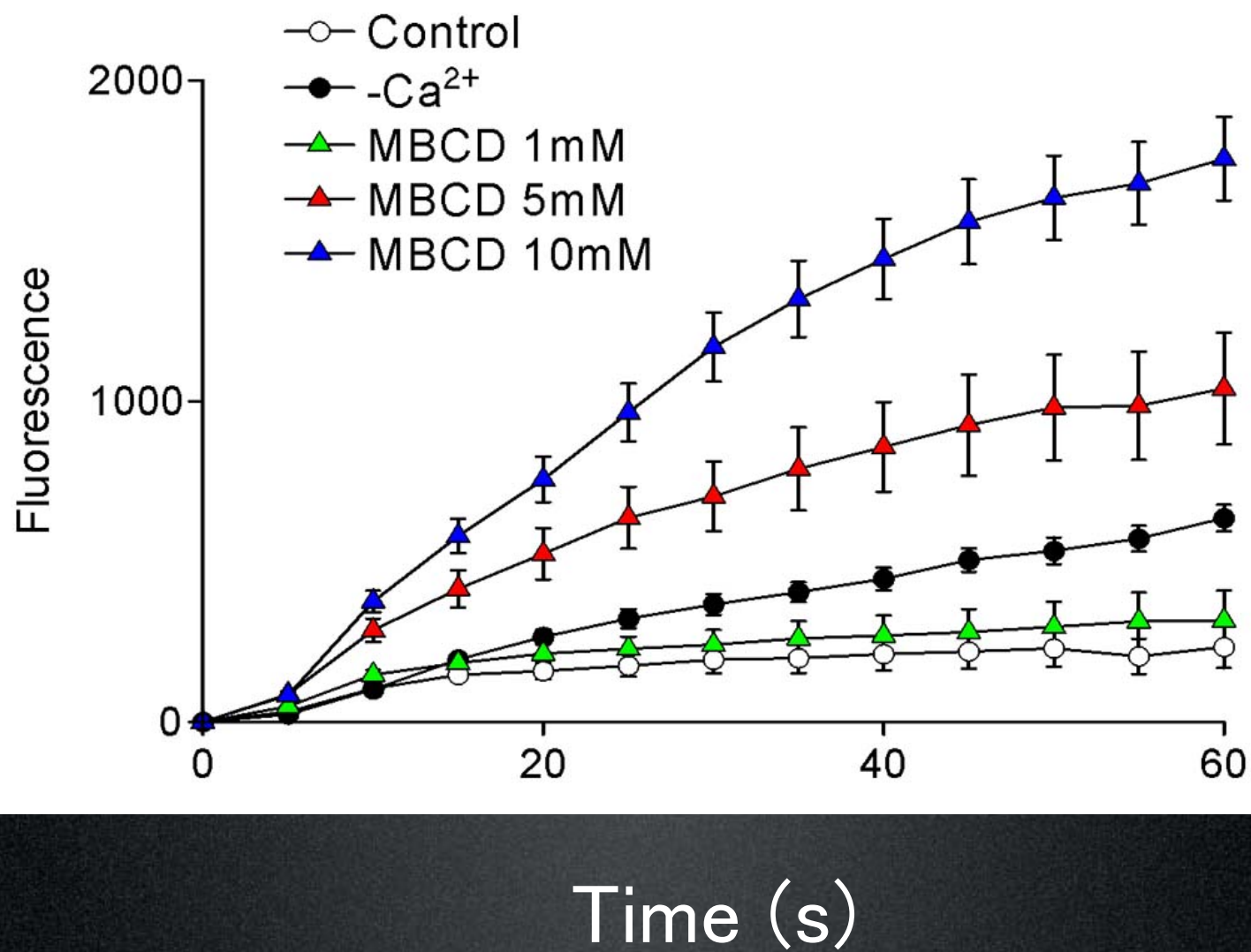


細胞膜のコレステロールを減少



細胞膜修復は阻害





MBCDを洗淨



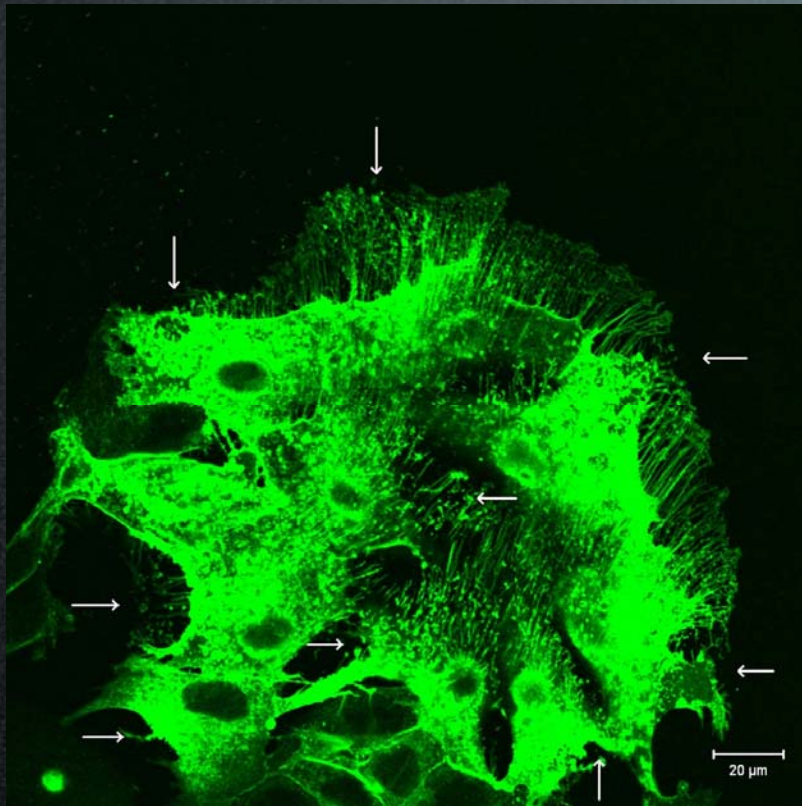
PBSで1時間インキュベート



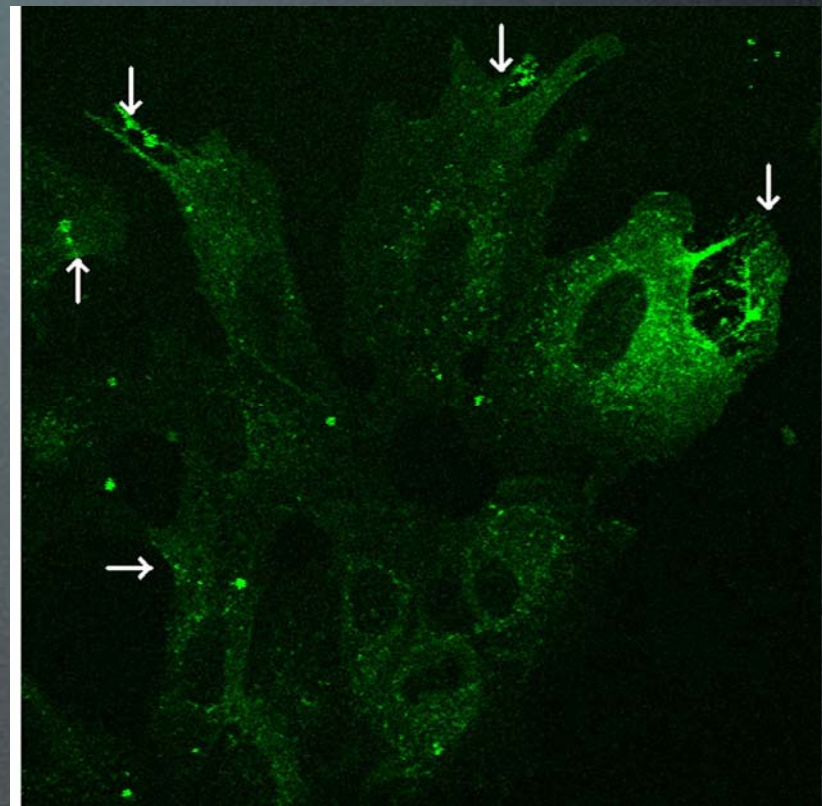
細胞内から細胞膜へコレステロールを回復



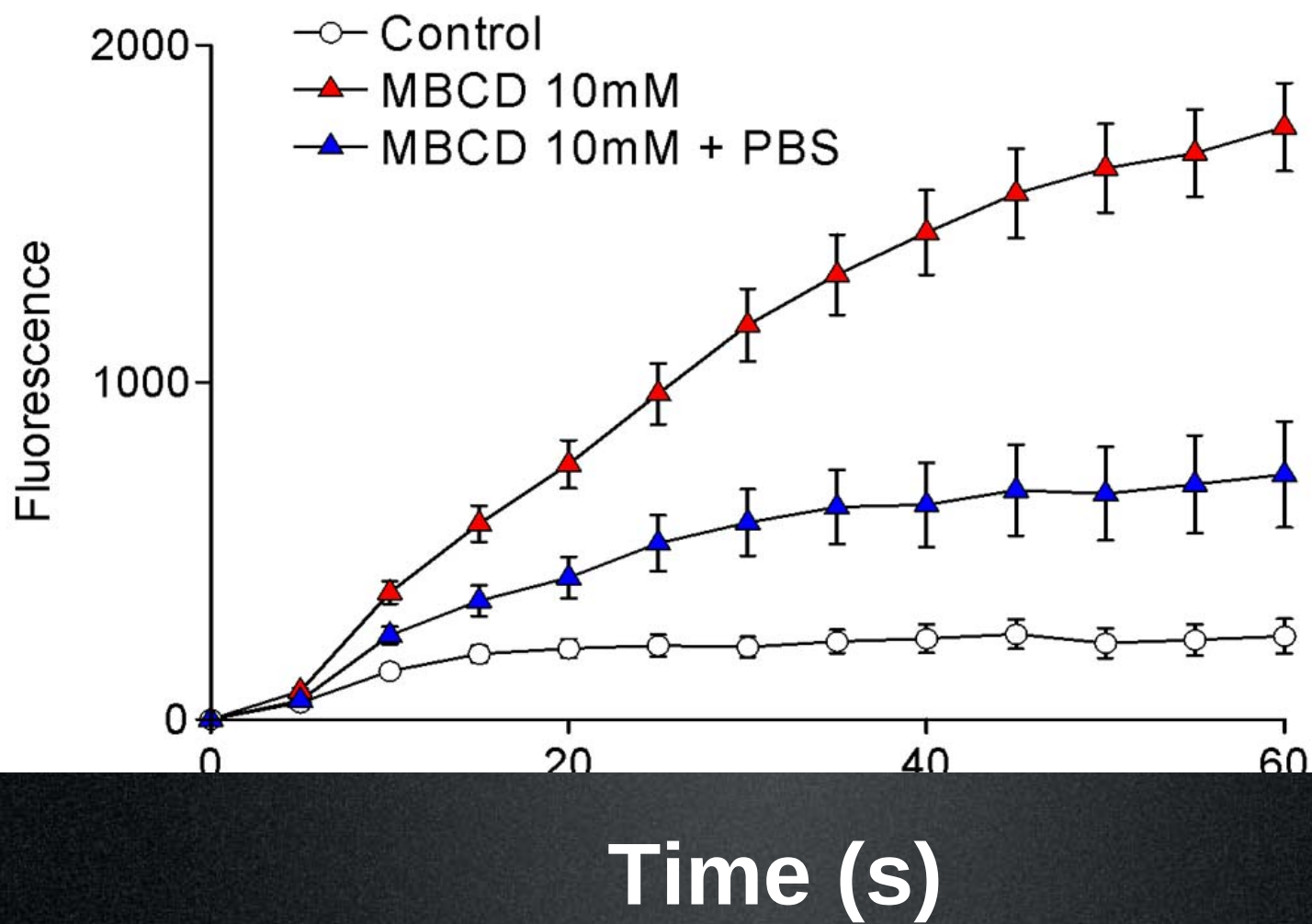
細胞膜修復の回復



MBCD 10mM



**10mM MBCD
+PBS 60min**



スタチン(Lovastatin)で5時間



コレステロールの合成を阻害



MBCDで細胞膜のコレステロールを減少



1時間の回復時間



膜修復は回復しない

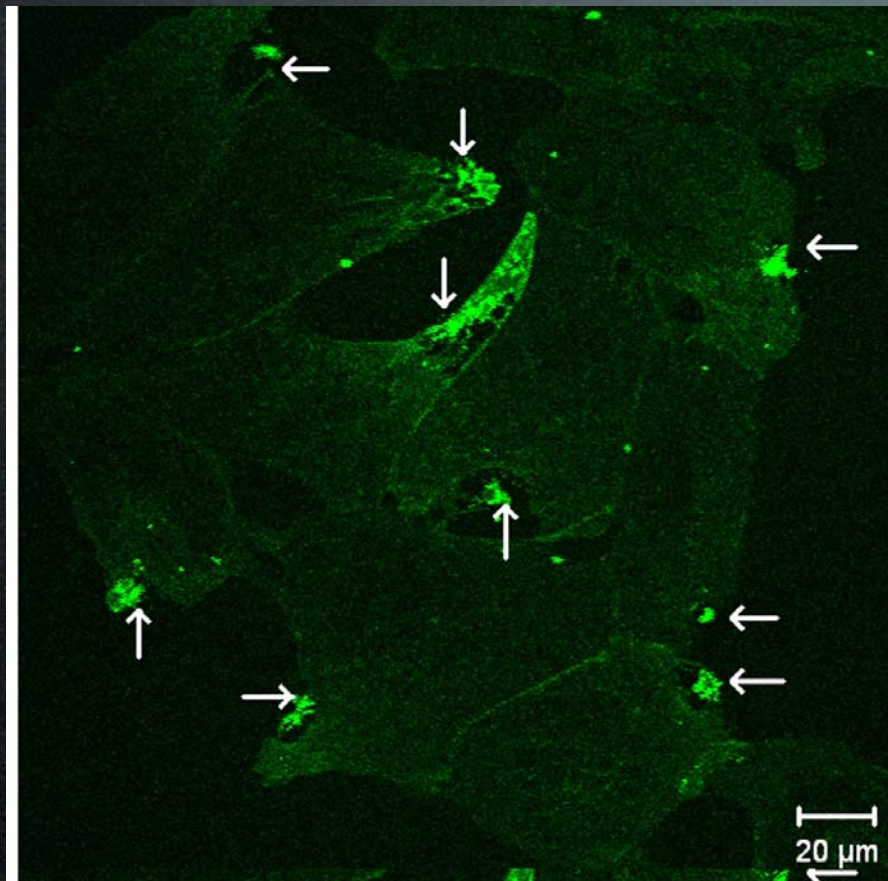
水溶性コレステロール



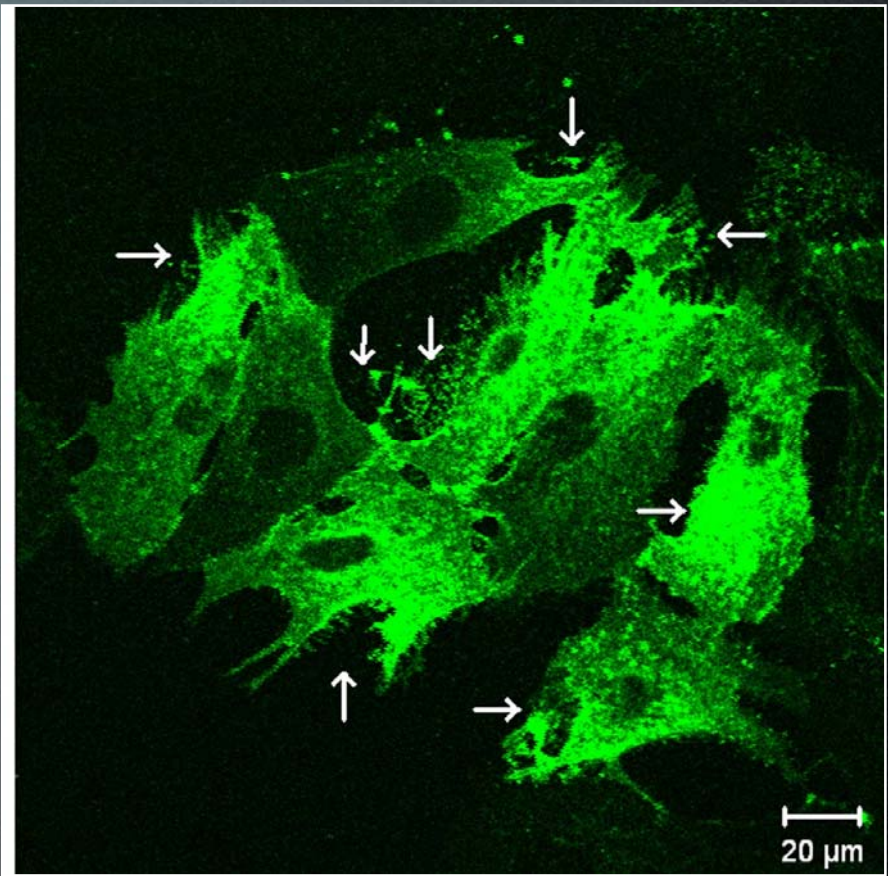
細胞膜のコレステロールを付与



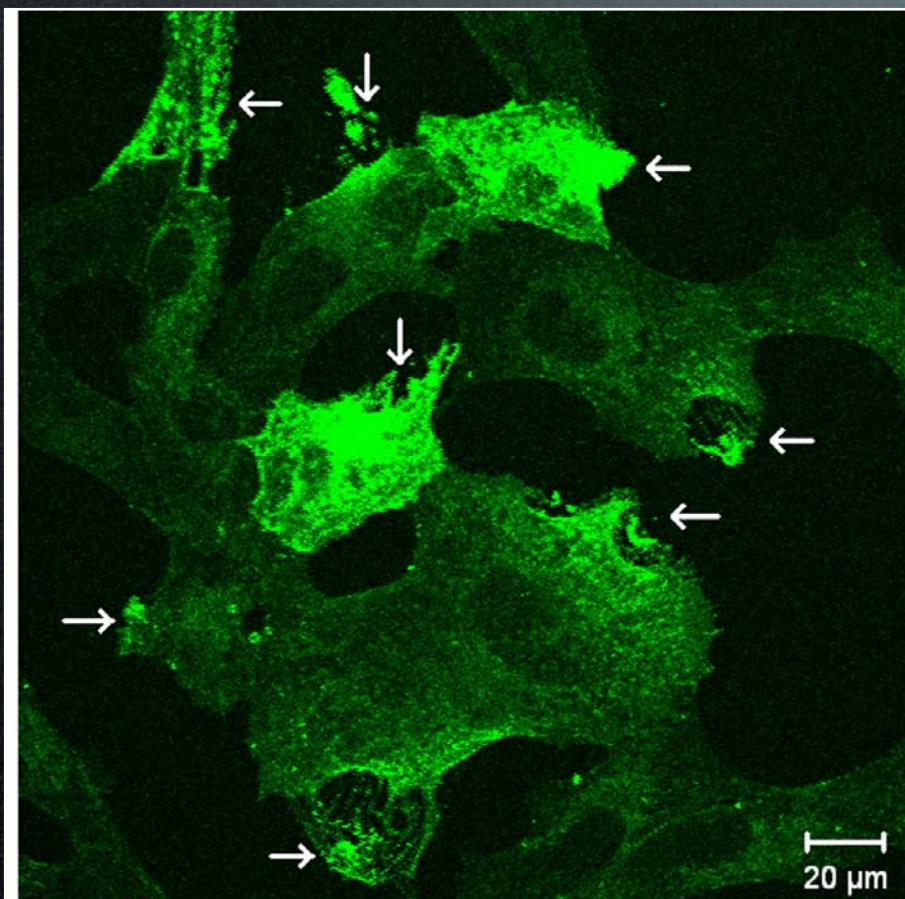
細胞膜修復能力は回復



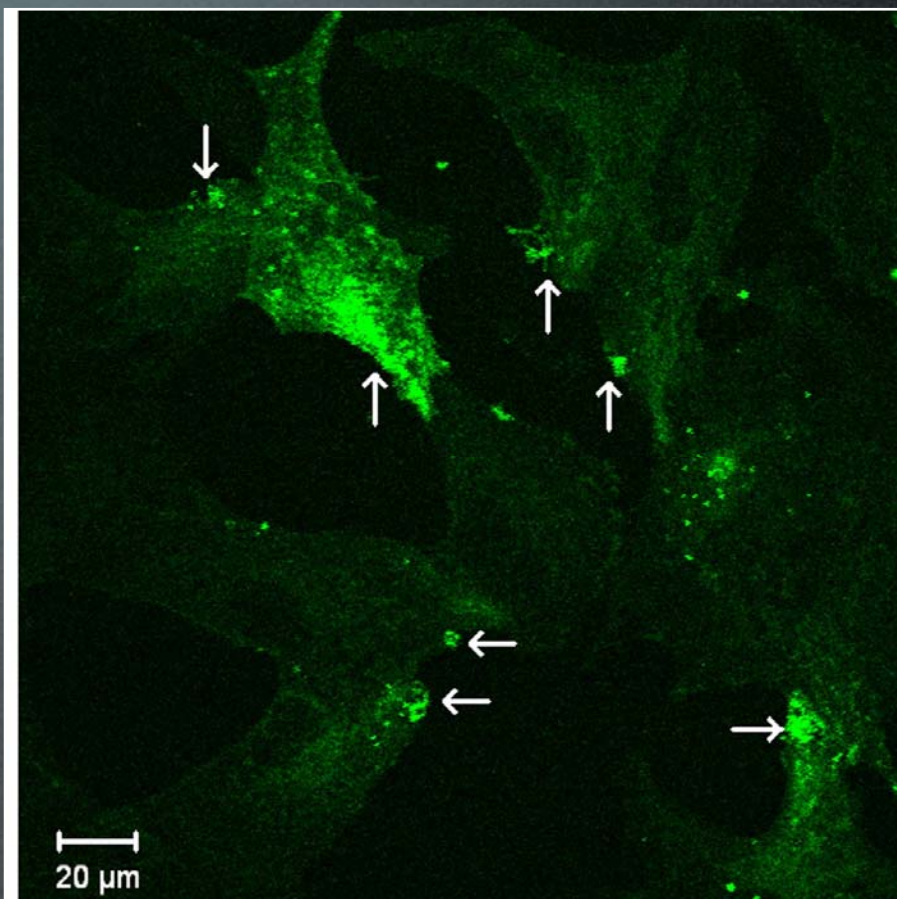
Statin



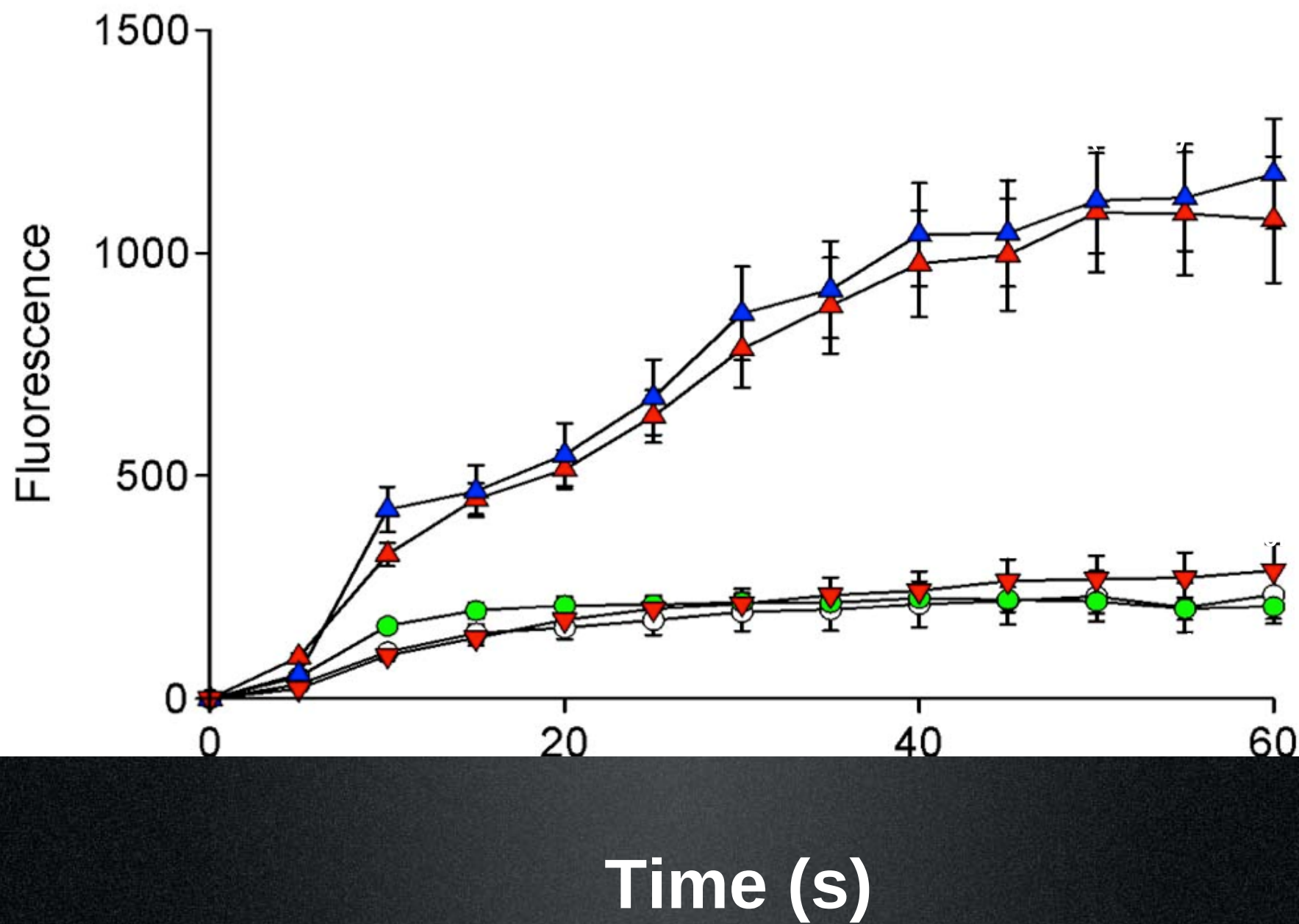
Statin
+ MBCD 10mM



Statin
+ MBCD 10mM
+ PBS 60min



Statin
+ MBCD 10mM
+ w-Cholesterol 30min



コレステロール合成阻害剤の副作用

横紋筋融解症の発症メカニズム

スタチンが骨格筋線維から細胞膜修復に
必要なコレステロールを減少



細胞膜修復阻害



骨格筋線維の死

Acknowledgment

Dr. Jennifer Lippincott Schwartz (NIH)

Dr. Tom Kirchhausen (Harvard Medical School)

Dr. Kevin Campbell (University of Iowa, Antibodies for Dysferlin etc.)

Dr. Mark Terasaki (University of Connecticut Health Center)

Dr. Susumu Ito (Harvard Medical School)

THANK YOU