〔原 著〕

犬の平滑筋・心筋・横紋筋の蛋白分画による検討

五屋麻友香¹・栗原由利子²・長雄一郎²・新井美枝¹・佐藤健次²・芝紀代子²

SUMMARY

As a basic biochemical study analyzing the sphincter muscle mechanism controlling urination and evacuation, we analyzed protein fractions of 13 muscle extracts from 8 male dogs and calculated the albumin/total protein (A/T) ratio.

The A/T ratio of visceral smooth muscle was higher than that of the striated muscle, except in the external sphincter smooth muscle of the urethra. Moreover, urinary sphincter tissues of urinary organ systems were found to have a higher ratio than that of other tissues.

Approximately 30 clear protein bands were obtained using sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel (SDS-PAGE) and these each showed characteristic protein patterns on comparison of visceral smooth muscle with striated muscle. On 2 dimensional SDS-PAGE using visceral smooth muscles, many protein spots were observed on the acidic side, whereas that using striated muscles showed many protein spots on the alkaline side. As prostate gland and cardiac muscle showed specific characteristics on electrophoretic protein patterns, these muscles could be distinguished from other muscles.

Key words: protein fraction, smooth muscle, cardiac muscle, striated muscle.

はじめに

骨盤隔膜の排泄孔の周囲に位置する筋群を骨盤底筋群と呼び、骨盤隔膜を構成する筋群（肛門挙筋、尾骨筋）と会陰筋に区別される。会陰筋は陰部神経によって支配される横紋筋で、泌尿器、生殖器、消化器を輪状に取り囲む括約筋群（外肛門括約筋、球海綿体筋、外尿道括約筋）と浅・深会陰横筋と坐骨海綿体筋から構成されている。これらの括約筋群は排尿・排便・性機能において重要な役割を担っている。会陰筋は陰部（脊髄）神経支配の随意筋であると考えられていたが、最近、Arai らは犬で腰部交感神経幹からのシグナルが外尿道括約筋、球海綿体筋、坐骨海綿体筋を支配していると報告している¹⁾。一般に自律神経によって反応する横紋筋は心筋のみとされており、横紋筋から構成される会陰筋が直接、自律神経刺激によって収縮を起こすという現象はArai ら以外には報告がみられない。

本研究では、排尿・排便を制御する括約筋機構のメカニズムの解析をする生化学的基礎研究として、犬の各種の内臓平滑筋・心筋・横紋筋について、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いて、筋組織の抽出液による蛋白分画を行い、分子サイズの差異について検討を行った。そして、二次元電気泳動法を行い、分子サイズと等電点による比較検討を行った。

材料と方法

検体

オス犬8頭（ビーグル犬2頭、雑種犬6頭）について各々13種類の筋組織を採取した。内臓平滑筋として結腸壁、直腸壁、膀胱壁、前立腺被膜、内尿道括約筋、また心筋、そして横紋筋として骨格筋である薄筋、腹直筋、横隔膜と会陰筋である外肛門括約筋、球海綿体筋、外尿道括約筋、坐骨海綿体筋を用いた。これらの筋組織を生理食塩水で洗浄

Protein fractions of smooth muscle, cardiac muscle and striated muscle in dogs.

¹ Mayuka Goya, Mie Arai; 佐々木研究所附属杏雲堂病院検査科

² Yuriko Kurihara, Yuichiro Cho, Kenji Sato, Kiyoko Shiba; 東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科生体検査科学専攻

Correspondence address: Mayuka Goya; Department of Clinical Laboratory, Kyoundo Hospital, Sasaki Institute, 1-8 Kanda-surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan.

略号一覧: SDS-PAGE, SDS-ポリアクリルアミドゲル; TP, 総蛋白; Alb, アルブミン; Alb/TP 比, アルブミン/総蛋白比。

(受付 2005 年 8 月 31 日, 受理 2005 年 11 月 22 日, 刊行 2006 年 3 月 15 日)

後, 5 mm 角の小片とし, 直ちに液体窒素で急速凍結して, -80°C に保存した。

筋組織蛋白の抽出法

Bar と Pette の報告している抽出法²⁾によった。それぞれの筋組織を正確に秤量し, 10 倍量の抽出液 (0.3 mM KCl-0.1 mM KH_2PO_4 -50 mM K_2HPO_4 -10 mM EDTA, pH 6.5) を加えて氷冷しながら, 約 1,000G でホモジナイズした後 (ジギタルホモジナイザー: アズワン社), 4°C , 10,000G で 15 分間遠心し (遠心機: トミー精工), 抽出液をとり, 小分けにして -80°C で保存した。

総蛋白 (TP) 濃度測定法

ドットプロット銀染色法³⁾によった。本法はセルロース・アセテート膜 (セパラックス-SP, 富士写真フィルム) を支持体とし, 試料 3 μl を点着した後, 銀染色液キット (常光) で蛋白染色を行った。吸光度は Shimadzu CS-9000 (島津製作所) を用いて測定した。

アルブミン (Alb) 濃度測定法

免疫比濁法 (N-アッセイ TIA Micro Alb, ニットーポー) で日立自動分析装置 7070 (日立製作所) を用いて分析した。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) 法

4 ~ 20% のグラジェントゲルの PAG ミニ 4/20 グラジェントゲル (第一化学) を支持体とし, 40 mA/ゲルの条件で約 60 分間泳動した。筋組織蛋白抽出液は, 蛋白濃度が約 0.2 mg/ml になるように調整後, 各レーンに 10 μl ずつ負荷した。泳動後, 蛋白バンドは銀染色 II キット (和光純薬工業) を用いて, 銀染色を行った。

二次元電気泳動法

筋組織蛋白抽出液は 2-D Clean-Up Kit (アマシャムバイ

オサイエンス) を用いて, 脱塩した。

電気泳動装置は ZOOM IPGRunner システム (インビトロジェン) を用いた。一次元目は pH 3 ~ 10 のストリップゲルに脱塩した筋組織蛋白抽出液を 0.05 mg/ml になるように調整後 155 μl ずつ加え, 16 時間室温で膨潤させた。膨潤後, 200 V 20 分, 450 V 15 分, 750 V 15 分, 2000 V 30 分と段階的に電圧を上げながら電気泳動を行うが, 6 mA を限界とした。泳動終了後, 一次元目のゲルを取り出し, 二次元目のゲルである 4/12 グラジェントゲルにのせ, 200 V の定電圧で約 40 分間泳動した。蛋白染色は SDS-PAGE 法と同様に銀染色を行った。

試薬は全て特級試薬 (和光純薬工業) を用いた。

結 果

筋組織抽出液中の TP・Alb 濃度と Alb/TP 比

犬 8 頭についてそれぞれの 13 種類の筋組織蛋白抽出液について TP 濃度及び Alb 濃度の測定を行った。TP と Alb の濃度を湿重量 1 g 当たりで求め, それらの平均値 $\pm 1\text{SD}$ を Table 1 に示した。

TP では, 前立腺被膜が 13.20 ± 4.19 mg/g で最も高濃度を示し, ついで心筋が 12.24 ± 5.08 mg/g であった。また, 膀胱壁が 4.37 ± 2.54 mg/g で最も低濃度を示した。

Alb は, 内尿道括約筋が 0.87 ± 0.58 mg/g で最も高濃度であり, ついで直腸壁の 0.77 ± 0.43 mg/g と前立腺被膜の 0.77 ± 0.12 mg/g であった。骨格筋 (腹直筋) が 0.33 ± 0.23 mg/g と最も低濃度を示した。

Alb/TP 比を % でみると, 前立腺被膜が $6.13 \pm 1.34\%$ と低いのを除くと内臓平滑筋は, 結腸壁 $13.68 \pm 5.41\%$, 直腸壁 $18.79 \pm 9.98\%$, 膀胱壁 $23.92 \pm 10.11\%$, 内尿道括約筋 $28.99 \pm 11.02\%$ といずれも 10% を超える高値であった。横紋筋では, 外尿道括約筋が $15.60 \pm 11.05\%$ と 10% を超えたことを除くと, 外肛門括約筋 $9.01 \pm 4.26\%$, 球海綿体筋 $9.30 \pm 4.47\%$, 坐骨海綿体筋 $6.89 \pm 4.19\%$, 骨格筋 (腹直筋) $4.82 \pm 2.87\%$, 骨

Table 1. Total protein, albumin concentration and albumin/total protein ratio of 13 muscle extracts

Sample n=8	Alb/TP ratio (%)	TP/wet weight (mg/g)	Alb/wet weight (mg/g)
muscular coat of colon	13.68 ± 5.41	5.49 ± 2.43	0.61 ± 0.33
muscular coat of rectum	18.79 ± 9.98	5.65 ± 2.54	0.77 ± 0.43
muscular coat of bladder	23.92 ± 10.11	4.37 ± 2.54	0.75 ± 0.42
prostate gland	6.13 ± 1.34	13.20 ± 4.19	0.77 ± 0.12
inner sphincter muscle of urethra	28.99 ± 11.02	5.80 ± 6.57	0.87 ± 0.58
cardiac muscle	6.06 ± 2.30	12.24 ± 5.08	0.63 ± 0.45
external anal sphincter	9.01 ± 4.26	7.43 ± 4.13	0.47 ± 0.26
bulbospongiosus muscle	9.30 ± 4.47	8.19 ± 3.68	0.54 ± 0.31
external sphincter muscle of urethra	15.60 ± 11.05	6.14 ± 4.61	0.70 ± 0.60
ischiocavernous muscle	6.89 ± 4.19	6.60 ± 3.05	0.36 ± 0.18
skeletal muscle (rectus abdominis)	4.82 ± 2.87	8.94 ± 4.56	0.33 ± 0.23
skeletal muscle (gracilis muscle)	5.96 ± 3.18	9.75 ± 4.39	0.42 ± 0.25
diaphragm	6.37 ± 4.90	7.80 ± 2.98	0.39 ± 0.30

(mean $\pm 1\text{SD}$)

格筋（薄筋） $5.96 \pm 3.18\%$ 、横隔膜 $6.37 \pm 4.90\%$ といずれも 10% 以下であり、外尿道括約筋を除いた平均値は $8.28 \pm 3.61\%$ であった。前立腺被膜と心筋はそれぞれ $6.13 \pm 1.34\%$ 、 $6.06 \pm 2.30\%$ であり、横紋筋の値に類似した。

Alb/TP 比は、前立腺被膜を除く内臓平滑筋（結腸壁、直腸壁、膀胱壁、内尿道括約筋）、横紋筋である外尿道括約筋を除く会陰筋（外肛門括約筋、球海綿体筋、坐骨海綿体筋）、骨格筋（腹直筋、薄筋、横隔膜）の順に低濃度を示した。このことから、横紋筋である会陰筋が内臓平滑筋の性質をも持っていることが考えられた。

13 種類の筋組織の中でも、Alb/TP 比が泌尿・生殖器系の筋組織である膀胱壁の $23.92 \pm 10.11\%$ 、内尿道括約筋の $28.99 \pm 11.02\%$ 、外尿道括約筋の $15.60 \pm 11.05\%$ と他の筋組織に比べ、高値を示す傾向がみられた。

SDS-PAGE 法による筋組織蛋白抽出液の電気泳動パターン

4 ~ 20% のグラジェントゲルを用いた SDS-PAGE 法により、13 種類の筋組織蛋白抽出液の蛋白分画を行った。その 1 例を Fig. 1 に示したが、図のように、どの筋組織蛋白抽出液の蛋白も鮮明に分画され、30 種近いバンドが得られた。筋組織蛋白抽出液ごとに、かなり共通なバンドがあるが、その濃度にはそれぞれ特徴がみられた。便宜的に分子サイズの大きさに従って低分子サイズ側から 15 群に分け、それぞれの群の蛋白濃度比を 13 種類の筋組織ごとに求め、比較検討を行った。

1 群 14 KD 以下、2 群 14 KD ~ 16.3 KD、3 群 16.3 KD ~

20 KD、4 群 20 KD ~ 28 KD、5 群 28 KD ~ 38.5 KD、6 群 38.5 KD ~ 49.7 KD、7 群 49.7 KD ~ 60.2 KD、8 群 60.2 KD ~ 75.3 KD、9 群 75.3 KD ~ 94.1 KD、10 群 94.1 KD ~ 117.7 KD、11 群 117.7 KD ~ 142.5 KD、12 群 142.5 KD ~ 202.4 KD、13 群 202.4 KD ~ 245.1 KD、14 群 245.1 KD ~ 270 KD、15 群 270 KD ~ 306.4 KD とし、各バンドの蛋白濃度比を Table 2-1、Table 2-2 に示した。

まず泳動パターンを見ると、特に前立腺被膜及び心筋の筋組織蛋白抽出液に特徴がみられた。前立腺被膜では分子サイズ 30 KD 以下の蛋白バンドが濃染され全体の 52.5% を占めた。心筋では 30 種近くの数多い蛋白バンドが出現し、しかも 14 KD から 306 KD と低分子から高分子までの幅広い分子サイズの蛋白が存在した。また、特に他の筋組織には少ない 9、10、11 群すなわち分子サイズ 75.3 KD から 142.5 KD までの蛋白バンドが濃染された。

内臓平滑筋である結腸壁、直腸壁はかなり類似したパターンを示した。10% 以上を占めるバンドは 4、5、6 群であり、また 1 群から 4 群にかけて 10 数本のバンドが出現した。同じ内臓平滑筋であるが、泌尿器系の膀胱壁、内尿道括約筋は、結腸壁、直腸壁とは類似したパターンに加え、少し異なるパターンを示した。これら内臓平滑筋の蛋白バンドは主バンドが 10% を占める 4、5 群にあり、これらはほぼ類似しているが、泌尿器系の膀胱壁と内尿道括約筋のパターンにはその他に 3 群で分子サイズ 17.8 KD と 21.5 KD の 2 本のバンドが濃染されたことが特徴的であった。

横紋筋の泳動パターンの特徴は、4 群に明確な 2 本のバン

Fig. 1. SDS polyacrylamide gel electrophoretic patterns of 13 muscle extracts.

Table 2-1. The percentage of 15 bands of 13 muscle extracts using SDS polyacrylamid gel electrophoresis a: muscular coat of colon vs muscular coat of bladder, b: muscular coat of colon vs inner sphincter muscle of urethra, c: muscular coat of rectum vs muscular coat of bladder, d: muscular coat of rectum vs inner sphincter muscle of urethra

group	muscular coat of colon	muscular coat of rectum	muscular coat of bladder	inner sphincter muscle of urethra	prostate gland	Significant difference
1	7.2±5.3	8.5±4.4	9.2±3.2	9.9±3.2	10.1±3.3	a, c: p<0.05
2	4.8±1.6	4.7±1.6	4.8±1.4	4.6±1.4	8.2±1.3	
3	6.0±1.3	5.7±1.2	8.0±2.1	7.0±2.4	12.7±4.0	
4	11.1±2.0	11.0±1.9	11.5±2.3	13.5±4.2	21.2±3.0	a, b, d: p<0.01 c: p<0.05
5	12.6±1.2	11.9±0.7	10.6±1.4	9.7±2.6	10.7±1.3	
6	10.1±1.4	9.8±1.0	9.7±0.9	8.8±1.4	7.6±1.1	
7	6.3±1.4	6.3±1.3	6.6±2.0	7.3±2.2	6.2±1.2	b: p<0.05
8	7.8±1.9	7.6±1.8	8.3±0.0	8.5±2.3	4.6±1.0	
9	7.7±1.7	7.7±1.5	7.8±1.9	8.3±2.3	5.0±1.0	
10	5.0±1.2	4.9±1.2	4.0±1.1	4.0±1.4	3.0±0.9	b, d: p<0.01 a, c: p<0.05
11	4.5±1.2	4.6±1.1	3.4±1.0	2.8±1.3	2.0±0.9	
12	7.1±2.6	7.4±2.0	6.7±2.2	6.7±3.7	3.5±1.6	
13	4.9±0.9	5.2±0.9	5.4±0.9	5.2±1.5	2.3±1.2	
14	2.6±1.1	2.5±0.8	2.4±0.9	2.3±1.0	1.5±0.8	
15	2.4±1.2	1.9±0.8	1.5±0.7	1.5±0.7	1.3±1.0	

(mean±1SD: ×10⁻²)

Table 2-2. e: external anal sphincter vs external sphincter muscle of urethra, f: bulbospongiosus muscle vs external sphincter muscle of urethra, g: bulbospongiosus muscle vs skeletal muscle (rectus abdominis), h: external sphincter muscle of urethra vs ischiocavernosus muscle, i: external sphincter muscle of urethra vs skeletal muscle (rectus abdominis), k: external sphincter muscle of urethra vs skeletal muscle (gracilis muscle)

group	external anal sphincter	bulbospongiosus muscle	external sphincter muscle of urethra	ischiocavernosus muscle	skeletal muscle (rectus abdominis)	skeletal muscle (gracilis muscle)	diaphragm	cardiac muscle	Significant difference
1	5.0±2.0	5.2±1.3	6.1±2.6	5.7±0.9	5.2±1.6	4.3±1.1	5.8±1.3	9.6±4.0	g, k: p<0.05
2	7.6±2.2	7.8±2.0	7.9±2.0	8.5±1.2	7.8±1.8	8.3±2.5	8.5±2.2	5.5±2.1	
3	3.9±1.5	3.6±1.2	4.0±1.5	4.1±1.5	3.6±1.7	3.7±1.6	4.3±1.5	4.6±1.7	
4	13.6±3.4	13.5±2.5	10.3±3.7	14.7±3.1	14.3±2.8	14.5±3.7	13.3±2.5	12.1±1.7	h, i, k: p<0.01 e, f: p<0.05
5	15.8±4.4	16.3±5.9	12.9±3.3	13.6±4.4	14.6±4.2	15.6±5.2	14.6±3.3	15.9±3.5	
6	16.4±2.7	18.3±4.4	16.6±3.3	16.5±3.0	17.3±3.6	19.5±5.5	18.2±4.1	13.2±2.7	
7	7.2±1.4	8.6±2.2	9.8±3.8	7.8±2.0	7.3±1.3	7.5±2.2	7.6±1.8	6.7±1.5	e, i, k: p<0.05
8	6.8±1.9	6.5±2.5	7.6±2.8	6.1±1.8	6.2±2.0	5.6±2.0	5.5±1.6	6.1±1.5	
9	3.6±1.9	2.5±1.5	3.5±2.2	2.8±1.8	2.9±1.6	2.3±1.6	2.6±1.6	5.9±1.7	
10	3.7±1.5	3.9±1.3	3.8±1.3	4.1±1.5	4.4±1.7	4.0±2.1	3.7±1.4	4.3±1.5	
11	2.7±1.5	2.3±1.3	3.0±1.1	2.7±1.3	2.8±1.0	2.3±1.2	2.6±1.2	3.2±0.9	
12	5.8±2.4	4.7±1.9	5.4±2.5	5.0±1.8	5.4±2.0	5.0±2.5	4.6±2.2	6.0±2.5	
13	3.5±2.1	3.1±2.1	4.7±1.7	4.2±1.5	3.9±1.6	3.8±1.6	3.7±1.0	3.7±1.4	
14	2.9±2.5	2.8±2.2	3.7±2.4	3.2±1.9	3.4±3.0	2.9±2.3	3.8±2.4	1.8±0.6	
15	1.4±0.6	1.0±0.8	1.0±0.8	0.9±0.3	0.9±0.5	1.1±0.6	1.2±0.7	1.3±0.9	

(mean±1SD: ×10⁻²)

ドが現れることでありその分子サイズは 23 KD と 24.5 KD であった。また、6 群がいずれも 16% 以上を占め、ついで 5, 4 群であり、これら 3 群で全体の約 50% を占めた。また、5 群から 6 群にかけて数本のバンドが濃染されているのも特徴である。横紋筋のうち、会陰筋（外肛門括約筋、球海綿体筋、外尿道括約筋、坐骨海綿体筋）と、骨格筋（腹直筋、薄筋、横隔膜）とのパターンの比較をしたが、ほとんど違いは認められなかった。

15 群についてそれぞれ 13 種類の筋肉のうち前立腺被膜を除く内臓平滑筋 4 種類と、横紋筋 7 種類について蛋白濃度比を求め、その結果を内臓平滑筋については Table 2-1, 横

紋筋については Table 2-2 に示した。内臓平滑筋では 3 群において泌尿器系である膀胱壁・内尿道括約筋が結腸壁・直腸壁に比べ有意に高値を示し、5, 6, 11 群においては泌尿器系である膀胱壁・内尿道括約筋が結腸壁・直腸壁に比べ有意に低値を示した。横紋筋では、あまり有意差がみられなかったが、泌尿器系である外尿道括約筋とその他の横紋筋との間で 1, 4, 7 群において有意差があった。

二次元電気泳動法による電気泳動像パターン

二次元電気泳動法を行い、そのうち代表的なパターンを Fig. 2 に示したが、鮮明な泳動像が得られた。特徴的なパ

Fig. 2. Two dimensional polyacrylamide gel electrophoretic patterns of 7 muscle extracts.

An arrow shows an albumin spot.

ターンを示したのは前立腺被膜である。28分画した14, 21, 28分画が濃染されていることから、分子サイズ30 KD以下で等電点はpH 4.75～8.25の蛋白が存在することがわかった。心筋では9, 16, 17, 18, 19, 20分画に大部分の蛋白が存在することから、等電点pH 4.75～8.25かつ分子サイズ66 KD以下の蛋白の存在が認められた。直腸壁では酸性側pH 4.75～6.5の蛋白の存在が特徴で、しかも数多くの蛋白スポットが存在した。それに対して内尿道括約筋では、蛋白スポットの存在が少なく、Albのスポットが濃染されていた。外尿道括約筋、坐骨海綿体筋、骨格筋（薄筋）では類似したパターンを示し、18, 19, 20分画に蛋白スポットが多くみられることからpH 6.5～8.25のアルカリ側に等電点をもつ蛋白の存在が認められた。

考 察

13種類の筋組織蛋白抽出液中のTPとAlbを測定し、Alb/TP比を算出したところ興味ある知見が得られた。外尿道括約筋を除いた横紋筋に比べ、内臓平滑筋の方がAlb/TP比がいずれも高値であったことが注目された。さらには、泌尿器系の筋組織である膀胱壁、内尿道括約筋、外尿道括約筋が、他の筋組織蛋白抽出液に比べ高値であり、この3つの筋組織の平均値は22.84%であった。内臓平滑筋である結腸壁と直腸壁の平均値は16.24%であり、外尿道括約筋以外6種の横紋筋の平均値は7.06%であり、これらのAlb/TP比を泌尿器系の筋組織と比べると、それぞれ3.24倍、2.30倍の値を示すことが注目された。

さらに、Alb/TP比において横紋筋である会陰筋が骨格筋、さらには心筋よりも内臓平滑筋に近接した値を示しているのは、会陰筋群が交感神経支配を受けているという報告を裏付けているとも考えられ、括約筋機構のメカニズムを解明する重要な手がかりとして、さらに今後の検討が望まれる。

丸山は筋原線維（骨格筋）の主要構成蛋白としてミオシンとアクチンをはじめ、14種の蛋白を取り上げている⁴⁾。Szymanskiらはミオシン重鎖、アクチン、トロポミオシンなど収縮性蛋白について報告している⁵⁾。いずれの報告でもAlbに関する報告がないため比較は出来ないが、本研究における筋組織によってAlb/TP比が異なることは興味ある知見である。

SDS-PAGE泳動パターンでは、全例とも前立腺被膜は分子サイズ30 KD以下の蛋白が全体の52.5%を占めるという特徴あるパターンを示した。心筋は、低分子から高分子までの蛋白バンドが存在し、しかも12群の分子サイズ194.2 KDの蛋白バンドが濃染されることが特徴的であった。このデータから前立腺被膜と心筋は、SDS-PAGE法を行うだけでも筋組織を判別する要素の一つとなることがわかった。

内臓平滑筋群では、横紋筋群に比べ低分子領域である2,

3, 4群で有意差があり、濃染されているのが特徴的であった。

骨盤臓器の内臓括約筋については、自律神経の副交感神経支配の膀胱、子宮、直腸と、交感神経支配の内尿道括約筋に大別される。しかし、SDS-PAGE法では直腸壁は結腸壁に、膀胱壁は内尿道括約筋に特徴が類似しており、神経支配による違いが認められず、さらなる解析が必要であると考えられる。

二次元電気泳動法を行うことにより、より細かく解析を行うことが出来た。分画中のスポットは、その筋組織に特有なものも存在するが、同位置に存在する蛋白スポットでも濃淡の違いがみられ、蛋白濃度も異なると考えられる。Albについてみると、全ての筋組織においてAlbが認められ、その濃度は各筋組織によって様々であることが注目された。特に内臓平滑筋組織のAlbスポットが濃染された。

二次元電気泳動法によるパターンの解析は、Dunnグループによるビーグル犬の心筋についてのみである^{6,7)}。13種類の筋組織中の蛋白について二次元電気泳動法を行った報告はない。本研究において内臓平滑筋では酸性側の蛋白が多く、横紋筋ではアルカリ側の蛋白が多く存在し、二次元電気泳動図から明確に区別できることを明らかにした。また心筋は、アルカリ性の蛋白バンドが存在することから横紋筋としての要素を持つことが示唆された。前立腺被膜では、特有なパターンを示すため、パターンだけでも判断できる要素を持つことがわかった。

今回はオス犬の検体を用いたため、泌尿・生殖器系をまとめて検討したと考えられるが、今後は泌尿器と生殖器の分かれているメス犬での検討を含めて、考慮することが必要である。

文 献

- 1) Arai G, Kihara K, Hyouchi N, Masuda H, Yonese J, Kobayashi T, Kageyama Y, Sato K. Control of canine membranous urethra bulbocavernosus and sympathetic pathways. *Autonomic Neuro-science: Basic and Clinical* 2003;104: 109-116.
- 2) Bar A, Pette D. Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal muscle. *FEBS Lett* 1988;235(1-2):153-155.
- 3) Matsuda K, Hiratsuka N, Shiba K. Semiquantitative analysis of urinary low protein levels using silver dot blot assay. *J clin Lab Anal* 2001;15(4):171-174.
- 4) 丸山工作. 筋肉はなぜ動く, 岩波書店, 岩波ジュニア新書, 東京, 2001:107-110.
- 5) Szymanski PT, Chacko TK, Rovner AS, Goyal RK. Differences in content and isoforms in phasic and tonic smooth muscles. *Am J Physiol* 1998;275:C684-692.
- 6) Dunn MJ, Corbett JM, Wheeler CH. HSC-2D PAGE and the two-dimensional gel electrophoresis database of heart protein. *Electrophoresis* 1997;18(15):2795-2802.
- 7) Evans G, Weeler CH, Corbett JM, Dunn MJ. Construcion of HSC-2DPAGE: a two-dimensional gel electrophoresis

database of heart proteins. Electrophoresis 1997;18:471-479.

要 旨

排尿・排便を制御する括約筋のメカニズムを解析する生化学的基礎研究として、オス犬 8 頭の内臓平滑筋、心筋、横紋筋として骨格筋と会陰筋の各筋組織 13 種類を採取し、各々の筋組織から蛋白を抽出した。13 種類の筋組織蛋白抽出液中の Alb/TP 比を算出した。

外尿道括約筋を除いた横紋筋に比べ、内臓平滑筋の方が

Alb/TP 比がいずれも高値であり、さらに泌尿器系の筋組織が、他の筋組織蛋白抽出液に比べ、高値であることが注目された。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法ではいずれも鮮明な 30 種近い蛋白バンドが得られ、内臓平滑筋と横紋筋を比べるとそれぞれ特徴のあるパターンを示した。二次元電気泳動法によると、内臓平滑筋では酸性側の蛋白が多く、横紋筋ではアルカリ性側の蛋白が多く存在するという特徴を示した。これらの泳動パターンだけでも前立腺被膜と心筋は他の筋組織と区別ができるほど特徴的であった。