

論文の種類：博士学位論文

表題：廃用性筋萎縮により生じた筋弛緩薬抵抗性への $\alpha 7$ アセチルコリン受容体の関与に関する研究

短縮題名：廃用性筋萎縮と $\alpha 7$ アセチルコリン受容体

著者：岩崎 肇

所属機関：旭川医科大学 麻酔蘇生学講座

所属の主任教授：岩崎 寛

原稿総頁数：15

図, 表の総数：図 3, 表 1

連絡者氏名宛先：

岩崎 肇

〒078-8510 北海道旭川市緑が丘東2条1丁目1-1 旭川医科大学 麻酔蘇生学講座

電話番号：0166-68-2583

FAX 番号：0166-68-2589

電子メールアドレス：[iwasakih@asahikawa-med.ac.jp](mailto:iwasakih@asahikawa-med.ac.jp)

## 緒言

通常  $2\alpha_1\beta\delta\varepsilon$  の 5 つのサブユニットで構成される成熟型ニコチン性アセチルコリン受容体 (AChRs) は骨格筋の終板に最も数多く存在し、神経筋接合部での刺激伝達に関与している。一方で、発生段階の胎児の筋肉や、不動化や除神経によって廃用性に萎縮した筋肉には、 $2\alpha_1\beta\delta\gamma$  のサブユニットで構成される胎児型 AChRs が神経筋接合部だけでなく、筋膜面全体に増加することが知られている [1-5]。さらに近年、除神経された筋肉では中枢型 AChRs である  $\alpha 7$  AChRs が発現することが報告された [6][7]。この中枢型の AChRs、 $\alpha 7$  AChRs は、5 つの  $\alpha 7$  サブユニットで構成される 5 量体であり、通常成人の骨格筋には存在せず、主に大脳皮質や海馬に存在する。

臨床において、廃用性筋萎縮を有する患者に非脱分極性筋弛緩薬を用いる場合、効果発現に抵抗性を示すことが知られている [3]。しかし、胎児型 AChRs、中枢型 AChRs である  $\alpha 7$  AChRs のどちらが神経伝達に影響を与えているかは未だ明らかにはなっていない。近年、除神経をしない廃用性筋萎縮モデルにおいても  $\alpha 7$  AChRs が発現することが報告され [8]、除神経モデルでは不可能であった神経刺激による誘発筋収縮反応を解析することにより  $\alpha 7$  AChRs の神経伝達への影響を調べることが可能となった。Lee らは、マウスの下肢をピンで固定した筋萎縮モデルに、 $\alpha 7$  AChRs を含むすべての AChRs に結合する  $\alpha$ -bungarotoxin、成熟型 AChRs に特異的に結合する waglerin-1 [9-12]、および胎児型 AChRs に特異的に結合する  $\alpha$  A-OIVA [13-15] を用いて神経刺激による誘発筋収縮反応の解析を行い、筋弛緩薬の抵抗性に  $\alpha 7$  AChRs が強く関与している可能性を報告した [16]。しかし、炎症時に放出されるマクロファージ上に  $\alpha 7$  AChRs が存在し、炎症反応の調節をしていることが報告され [17]、頸骨と大腿骨を針で固定する Lee らの不動化モデルでは廃用性筋萎縮以外に、手術手技による炎症反応の影響を受けることが懸念された。そこで本研究では、除神経を行わず、炎症が起こらない、下肢をギプス固定する廃用性筋萎縮モデル [8] を用いた。さらに、一方の下肢のみをギプス固定した廃用性筋萎縮マウスに  $\alpha 7$  AChRs の特異的阻害薬で

ある ArIB[18-20]を先行投与し,その後の成熟型 AChRs に特異的に結合する waglerin-1 投与によるギプス固定側と健常側の下肢の筋収縮反応を解析することにより,  $\alpha 7$ AChRs の筋弛緩薬抵抗性への関与を検証した.また,これまでに報告されていない  $\alpha 7$  ノックアウトマウスを用いて同様の検証を行った.

## 材料と方法

### 1. マウス

本研究は Massachusetts General Hospital の Subcommittee on Research Animal Care の承認を受けて行った. C57Bl/6 マウス及び, ニコチン性アセチルコリン受容体  $\alpha 7$  ノックアウトマウスは The Jackson Laboratory (Bar Harbor, USA)より購入した.

### 2. 廃用性筋萎縮モデルの作成

本研究に用いた廃用性筋萎縮モデルは Khan ら[8]によって示された方法に準拠し,ポリエチレン製のスポイトとスポンジによって作成したギプスをマウスの左下肢に 3 週間装着し左下肢を不動化することにより作成した.

### 3. 神経刺激による誘発筋収縮反応の測定

#### 1) 手術

3 週間の下肢のギプス固定の後, ペントバルビタール 60-70 mg/kg をマウスに腹腔内投与し麻酔を導入した. 麻酔は 15-20 分間隔で間欠的にペントバルビタールを 10-20mg/kg 腹腔内投与することにより維持した. 気管切開を施行し, マウス用気管切開チューブを 3-0 絹糸にて固定した. 顕微鏡下に, 内頸静脈に投薬用カニューレを挿入し, 4-0 絹糸で固定し, 薬剤投薬経路とした. その後, 坐骨神経を臀下部で丁寧に剥離, 露出した. なお, 神経の乾燥を防ぐために, 露出した坐骨神経は実験中生理食塩水で常に湿潤な状態に保った. 腓腹筋の収縮反応測定のためにアキレス腱を露出し, ループを作った 3-0 絹糸をアキレス腱の末梢

側に繋いだ。これらの操作終了後、マウスを腹臥位にし、気管切開チューブを人工呼吸器 (MiniVentType 845, Hugo Sachs Elektronik Harvard Apparatus GmbH, March-Hugstetten, Germany) に接続し人工呼吸を開始した (一回換気量 10ml/kg, 呼吸回数 110 回/分)。坐骨神経に刺激電極, アキレス腱に張カトランスデューサー (Grass Instruments, Quincy, USA) を装着し, 膝をコンパスで固定した。なお, 腓腹筋への前負荷として 5g の張力を負荷した。

## 2) 坐骨神経刺激による腓腹筋収縮反応の記録

腓腹筋の収縮反応測定のための坐骨神経刺激には末梢神経刺激装置 (Fisher & Paykel Health Care, Irvine, USA) を用い, 坐骨神経に Train-of-four 刺激 (2Hz, 4 回刺激) を与えた。最大上刺激電流を決定後, 50Hz × 3 秒のテタヌス刺激を施行し, その後 15 分間腓腹筋の収縮反応を安定化するのを確認した。

特異的成熟型 AChRs 阻害薬である waglerin-1 と特異的  $\alpha 7$ AChRs 阻害薬である ArIB は Massachusetts General Hospital の Peptide Core Facility で生成されたものを用いた。収縮反応の安定化を確認後, まず, ArIB を 10ug 投薬用カニューレから静脈内投与した。ArIB 投与 10 分後に waglerin-1 を 4ug 投与し, 腓腹筋の収縮反応を専用ソフトウェアである PolyVIEW®16 (Glass Instruments, Quincy, USA) を用いて経時的に記録した。腓腹筋収縮反応の記録終了後速やかに左右の腓腹筋を採取し, 液体窒素で急速冷凍, 保存した。

## 4. Real-time PCR

筋収縮反応観察後に採取した腓腹筋を RNeasy Plus Universal Mini Kit (QIAGEN, Valencia, USA) と BeadBeater (Biospec, Bartlesville, USA) を用いて RNA を抽出した。High Capacity RNA-to-cDNA Kit (life technologies, Carlsbad, USA) を用いて cDNA を作成した。各アセチルコリン受容体の発現については,  $\alpha 7$  (TaqMan® Gene Expression Assays, life technologies, Mm01312230\_m1),  $\gamma$  (TaqMan® Gene Expression Assays, life technologies, Mm00437419\_m1),  $\alpha 1$  (TaqMan® Gene

Expression Assays, life technologies, Mn00431627\_m1)の特異的プライマーを用いて real-time PCR にて検出した. なお, GAPDH (TaqMan® Gene Expression Assays, life technologies, Mm99999915\_g1)の発現量を内部コントロールとして標準化した.

## 5. 統計処理

データはいずれも平均±標準誤差で示した. 有意差検定には Mann-Whitney U 検定, Wilcoxon 符号順位検定を用い,  $p < 0.05$  を統計学的有意差ありとした.

## 結果

### 1. 3週間のギプス固定前後の体重と腓腹筋重量の変化

実験開始前のマウスの体重は, 野生型 ( $n=5$ )が  $30.2 \pm 1.5$  (g),  $\alpha 7$  ノックアウトマウス ( $n=5$ )が  $32.7 \pm 1.8$  (g)であり有意差を認めなかった. 3週間のギプス固定後のマウスの体重は, 野生型が  $27.3 \pm 1.0$  (g),  $\alpha 7$  ノックアウトマウスが  $26.6 \pm 1.2$  (g)であり有意差を認めなかった. 3週間後のギプス固定後採取した健常側の腓腹筋を対照としたギプス固定側の腓腹筋の筋重量の減少率は, 野生型が  $13.6 \pm 1.0$  (%),  $\alpha 7$  ノックアウトマウスが  $17.5 \pm 1.5$  (%)であり有意差を認めなかった. (表 1)

### 2. ArIB, waglerin-1 投与後の腓腹筋収縮の変化

#### 1) 野生型での筋萎縮側と健常側の比較

ArIB 先行投与後の waglerin-1 投与により, 筋萎縮側の単収縮高は  $26.5 \pm 14.3$  (%), 健常側の単収縮高は  $46.1 \pm 15.7$  (%)減少した. 統計学的有意差は認めなかった ( $p=0.0625$ ). (図 1)

#### 2) $\alpha 7$ ノックアウトマウスでの筋萎縮側と健常側の比較

ArIB 先行投与後の waglerin-1 投与により, 筋萎縮側の単収縮高は  $2.14 \pm 0.79$  (%), 健常側の単収縮高は  $7.4 \pm 2.1$  (%)減少した. 統計学的有意差は認めなかった ( $p=0.125$ ). (図 2)

### 3) 野生型, $\alpha 7$ ノックアウトマウスそれぞれの筋萎縮側の比較

上記に示した野生型,  $\alpha 7$  ノックアウトマウスそれぞれの筋萎縮側を比較した場合, ArIB 先行投与後の waglerin-1 投与により野生型で有意に単収縮高が減少した ( $p < 0.05$ ).

### 3. Real-time PCR

健常側の腓腹筋をコントロールとし, 筋萎縮側の  $\alpha 7$ ,  $\gamma$  それぞれのサブユニットの遺伝子発現量を  $\Delta \Delta CT$  法で相対定量した. 筋萎縮側の  $\alpha 7$  サブユニットの増幅効率は, 野生型では  $2.44 \pm 0.41$  であったが,  $\alpha 7$  ノックアウトマウスでは GAPDH の発現は認めしたが,  $\alpha 7$  遺伝子の増幅を認めなかった. 筋萎縮側の  $\gamma$  サブユニットの発現は, 野生型で  $7.46 \pm 5.31$ ,  $\alpha 7$  ノックアウトマウスで  $10.35 \pm 8.07$  と有意差を認めなかった. 筋萎縮側の  $\alpha 1$  サブユニットの発現は, 野生型で  $1.47 \pm 0.81$ ,  $\alpha 7$  ノックアウトマウスで  $3.14 \pm 1.03$  と有意差を認めなかった. (図 3)

### 考察

本研究では, 非脱分極性筋弛緩薬に抵抗性を有する廃用性筋萎縮モデルに  $\alpha 7$  AChRs 特異的阻害薬である ArIB を先行投与することにより, ArIB が無効な  $\alpha 7$  ノックアウトに比べ野生型において, 続く成熟型 AChRs 特異的阻害薬である waglerin-1 投与による筋弛緩効果を有意差に得ることができた. Real-time PCR の結果において, 筋萎縮側では健常側の約 2.4 倍の  $\alpha 7$  AChRs が発現していることから, この廃用性筋萎縮によって増幅した  $\alpha 7$  AChRs が ArIB によって阻害されたことにより, 続く waglerin-1 の効果を増強されたと考えられる. これまで  $\alpha 7$  AChRs の発現は, 特異的とされる抗体を用いた Western blotting や免疫染色で示されてきた [21-23]. しかし,  $\alpha 7$  ノックアウトマウスにおいても野生型同様のバンドが出現することや, 他の AChRs と交差反応をするなどの報告があり, 結果の解釈には慎重である必要性が指摘されている [24]. 本研究の廃用性筋萎縮モデルマウスの腓腹筋での real-time PCR の結果では,  $\alpha 7$  ノックアウトマウスの筋肉では  $\alpha 7$  の増幅を全く認め

なかったことから、筋萎縮側での  $\alpha 7$  の増幅は正しく捉えられていたと考えられる。

一方、筋弛緩薬抵抗性に関与すると考えられる  $\alpha 7$  AChRs が存在しない  $\alpha 7$  ノックアウトマウスの神経刺激による誘発筋収縮反応において、野生型と比較し有意に筋萎縮側で筋弛緩薬抵抗性を示した。Real-time PCR の結果では、有意差はないものの野生型に比べ  $\alpha 7$  ノックアウトマウスで僅かに  $\gamma$  サブユニットの発現が多い傾向にあることが示された。このことは、萎縮筋において  $\alpha 7$  AChRs に代わって胎児型 AChRs が増加したために  $\alpha 7$  AChRs が存在しない  $\alpha 7$  ノックアウトマウスにおいても筋弛緩薬抵抗性を生じた可能性が示唆される。また、野生型の神経刺激による誘発筋収縮反応においても筋萎縮側と健常側の筋弛緩薬抵抗性に統計学的有意差はないが、その差が  $p=0.125$  と ArIB の  $\alpha 7$  AChRs 阻害だけで完全に筋弛緩薬抵抗性を改善させたとは言い難い結果となった。この機序の一因として、野生型の筋萎縮側の  $\gamma$  サブユニットの発現は健常側に対し約 7.5 倍と増加しており、胎児型 AChRs の筋弛緩薬抵抗性への関与の可能性を今後検討する必要があることが示唆された。

ArIB はイモガイの一種 (genus Conus) が産生する毒液から抽出され、 $\alpha 7$  AChRs を特異的に阻害することで知られており、これまでに免疫染色に用いられ  $\alpha 7$  AChRs を特定した報告がある [18] [25]。ArIB をに用いての神経刺激による誘発筋収縮反応の検証は本研究が初めてであり、その投与量である 10ug の適切性は、アフリカツメガエルの卵母細胞の IC50 である 1.09nM [19] を参考にし、その 1000 倍とした。本研究では ArIB の効果を確実に得るために ArIB を 10ug 投与したが、拮抗薬の適正な投与量に関しては今後さらに検討する必要がある。また、神経筋接合部の刺激伝達には安全域があることが広く知られており、本研究の神経刺激による誘発筋収縮反応において、ArIB 投与後に腓腹筋張力に変化が見られないのは、骨格筋の神経筋接合部における神経刺激伝達には安全域があることが知られており、この骨格筋における神経伝達の特性が影響していることが推測され、このことは我々の前研究においても同様に認められた現象である [16]。

本研究により, 神経筋接合部における神経伝達において主要な役割を果たしている AChRs が廃用性筋萎縮などの病態により影響を受けることが明確に示され, その機序には  $\alpha 7$ AChRs や胎児性 AChRs の発現が大きく関与することが神経刺激による誘発筋収縮反応にて確認された. このことは, 今後の臨床における各種筋萎縮を伴う病態の手術患者の麻酔において, 筋弛緩薬の選択や適切な使用量の決定などの臨床応用に多大な示唆を含む研究成果であり, さらなる機序解明が期待される.

## 結語

廃用性筋萎縮によって増加した  $\alpha 7$ AChRs を特異的に阻害する  $\alpha 7$ 拮抗薬 Ar1B を先行投与することにより, 続く成熟型 AChRs 特異的阻害薬である  $\alpha 7$ 拮抗薬 waglerin-1 投与による筋弛緩効果を増強することができた. しかし, 胎児型 AChRs も  $\alpha 7$ AChRs と同様に筋弛緩抵抗性に寄与している可能性があり, 今後その両受容体を阻害することにより完全に筋弛緩薬抵抗性を改善できるかを検討する必要がある. また, 長期集中治療後の患者や脊髄損傷患者などの廃用性筋萎縮を伴う病態において神経筋接合部における神経伝達の変化の機序をさらに解明することにより, 筋弛緩薬, 特に脱分極性筋弛緩薬使用の安全性の確保や非脱分極性筋弛緩薬の適切な使用量の決定など, 臨床応用への可能性が期待される.

## 謝辞

稿を終えるにあたり, 本研究の機会を与えてくださり, 研究の立案と論文作成にご指導, ご助言を賜りました旭川医科大学麻酔蘇生学講座岩崎寛教授と Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School の JA Martyn 教授に深謝いたします.



## 文献

- 1 Albuquerque EX, Pereira EF, Alkondon M, Rogers SW. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 2009; **89**: 73-120.
- 2 Martyn JA, Fagerlund MJ, Eriksson LI. Basic principles of neuromuscular transmission. *Anaesthesia* 2009; 64 Suppl 1: 1-9.
- 3 Martyn JA, White DA, Gronert GA, Jaffe RS, Ward JM. Up-and-down regulation of skeletal muscle acetylcholine receptors. Effects on neuromuscular blockers. *Anesthesiology* 1992; **76**: 822-843.
- 4 Kalamida D, Poulas K, Avramopoulou V, Fostieri E, Lagoumintzis G, Lazaridis K, Sideri A, Zouridakis M, Tzartos SJ. Muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors. Structure, function and pathogenicity. *FEBS J* 2007; **274**: 3799-3845.
- 5 Martyn JA, Richtsfeld M. Succinylcholine-induced hyperkalemia in acquired pathologic states: etiologic factors and molecular mechanisms. *Anesthesiology* 2006; **104**: 158-169.
- 6 Tsuneki H, Salas R, Dani JA. Mouse muscle denervation increases expression of an alpha7 nicotinic receptor with unusual pharmacology. *J Physiol* 2003; **547**: 169-179.
- 7 Fischer U, Reinhardt S, Albuquerque EX, Maelicke A. Expression of functional alpha7 nicotinic acetylcholine receptor during mammalian muscle development and denervation. *Eur J Neurosci* 1999; **11**: 2856-2864.
- 8 Khan MA, Sahani N, Neville KA, Nagashima M, Lee S, Sasakawa T, Kaneki M, Martyn JA. Nonsurgically induced disuse muscle atrophy and neuromuscular dysfunction upregulates alpha7 acetylcholine receptors. *Can J Physiol Pharmacol* 2014; **92**: 1-8.
- 9 McArdle JJ, Lentz TL, Witzemann V, Schwarz H, Weinstein SA, Schmidt JJ. Waglerin-1 selectively blocks the epsilon form of the muscle nicotinic acetylcholine receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; **289**: 543-550.
- 10 Molles BE, Tsigelny I, Nguyen PD, Gao SX, Sine SM, Taylor P. Residues

in the epsilon subunit of the nicotinic acetylcholine receptor interact to confer selectivity of waglerin-1 for the alpha-epsilon subunit interface site. *Biochemistry (Mosc)* 2002; **41**: 7895-7906.

11 Teichert RW, Garcia CC, Potian JG, Schmidt JJ, Witzemann V, Olivera BM, McArdle JJ. Peptide-toxin tools for probing the expression and function of fetal and adult subtypes of the nicotinic acetylcholine receptor. *Ann N Y Acad Sci* 2008; **1132**: 61-70.

12 Tsai MC, Hsieh WH, Smith LA, Lee CY. Effects of waglerin-I on neuromuscular transmission of mouse nerve-muscle preparations. *Toxicon* 1995; **33**: 363-371.

13 Teichert RW, Lopez-Vera E, Gulyas J, Watkins M, Rivier J, Olivera BM. Definition and characterization of the short alphaA-conotoxins: a single residue determines dissociation kinetics from the fetal muscle nicotinic acetylcholine receptor. *Biochemistry (Mosc)* 2006; **45**: 1304-1312.

14 Teichert RW, Rivier J, Dykert J, Cervini L, Gulyas J, Bulaj G, Ellison M, Olivera BM. AlphaA-Conotoxin OIVA defines a new alphaA-conotoxin subfamily of nicotinic acetylcholine receptor inhibitors. *Toxicon* 2004; **44**: 207-214.

15 Wang X, Engisch KL, Teichert RW, Olivera BM, Pinter MJ, Rich MM. Prolongation of evoked and spontaneous synaptic currents at the neuromuscular junction after activity blockade is caused by the upregulation of fetal acetylcholine receptors. *J Neurosci* 2006; **26**: 8983-8987.

16 Lee S, Yang HS, Sasakawa T, Khan MA, Khatri A, Kaneki M, Martyn JA. Immobilization with atrophy induces de novo expression of neuronal nicotinic alpha7 acetylcholine receptors in muscle contributing to neurotransmission. *Anesthesiology* 2014; **120**: 76-85.

17 Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, Susarla S, Li JH, Wang H, Yang H, Ulloa L, Al-Abed Y, Czura CJ, Tracey KJ. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 2003; **421**: 384-388.

- 18 Whiteaker P, Marks MJ, Christensen S, Dowell C, Collins AC, McIntosh JM. Synthesis and characterization of <sup>125</sup>I-alpha-conotoxin ArIB[V11L;V16A], a selective alpha7 nicotinic acetylcholine receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; **325**: 910-919.
- 19 Whiteaker P, Christensen S, Yoshikami D, Dowell C, Watkins M, Gulyas J, Rivier J, Olivera BM, McIntosh JM. Discovery, synthesis, and structure activity of a highly selective alpha7 nicotinic acetylcholine receptor antagonist. *Biochemistry (Mosc)* 2007; **46**: 6628-6638.
- 20 Hone AJ, Whiteaker P, Christensen S, Xiao Y, Meyer EL, McIntosh JM. A novel fluorescent alpha-conotoxin for the study of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurochem* 2009; **111**: 80-89.
- 21 Orr-Urtreger A, Goldner FM, Saeki M, Lorenzo I, Goldberg L, De Biasi M, Dani JA, Patrick JW, Beaudet AL. Mice deficient in the alpha7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor lack alpha-bungarotoxin binding sites and hippocampal fast nicotinic currents. *J Neurosci* 1997; **17**: 9165-9171.
- 22 Franceschini D, Paylor R, Broide R, Salas R, Bassetto L, Gotti C, De Biasi M. Absence of alpha7-containing neuronal nicotinic acetylcholine receptors does not prevent nicotine-induced seizures. *Brain Res Mol Brain Res* 2002; **98**: 29-40.
- 23 Jones IW, Barik J, O'Neill MJ, Wonnacott S. Alpha bungarotoxin-1.4 nm gold: a novel conjugate for visualising the precise subcellular distribution of alpha 7\* nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurosci Methods* 2004; **134**: 65-74.
- 24 Moser N, Mechawar N, Jones I, Gochberg-Sarver A, Orr-Urtreger A, Plomann M, Salas R, Molles B, Marubio L, Roth U, Maskos U, Winzer-Serhan U, Bourgeois JP, Le Sourd AM, De Biasi M, Schroder H, Lindstrom J, Maelicke A, Changeux JP, Wevers A. Evaluating the suitability of nicotinic acetylcholine receptor antibodies for standard immunodetection procedures. *J Neurochem* 2007; **102**: 479-492.
- 25 Hone AJ, Whiteaker P, Mohn JL, Jacob MH, McIntosh JM. Alexa Fluor

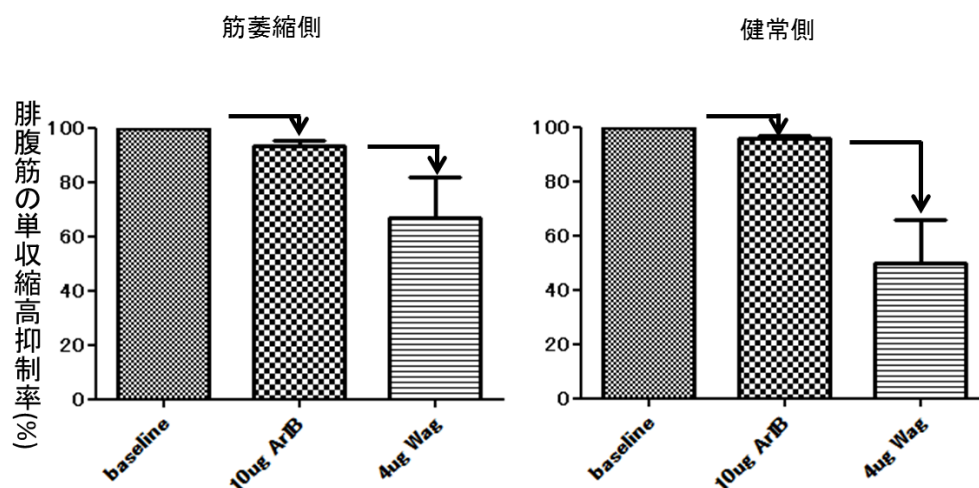
546-ArIB[V11L;V16A] is a potent ligand for selectively labeling alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurochem* 2010; **114**: 994-1006.

表 1 3週間のギプス固定前後のマウスの体重と腓腹筋重量の変化

	野生型 (n=5)	$\alpha 7$ ノックアウト (n=5)
実験前体重 (g)	30.2 ± 1.5	32.7 ± 1.8
ギプス固定 3 週後体重 (g)	27.3 ± 1.0	26.6 ± 1.2
腓腹筋の筋重量減少率 (%)	13.6 ± 1.0	17.5 ± 1.5

野生型と  $\alpha 7$  ノックアウトマウス間で、実験前体重、ギプス固定 3 週後体重、腓腹筋の筋重量減少率に有意差を認めなかった。

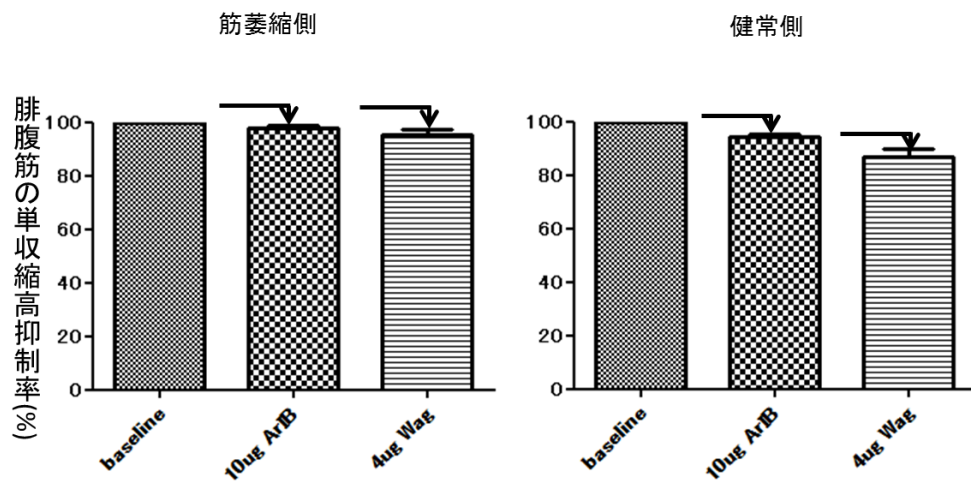
図 1 野生型での筋萎縮側と健常側の比較



筋萎縮側と健常側で ArIB 先行投与後の Waglerin-1 投与による単収縮高の最大抑制に有意差を認めなかった。

Baseline: 基準となる単収縮高, 10ug ArIB: ArIB を 10ug 投与後の最大抑制, 4ug Wag: Waglerin-1 4ug 投与後の最大抑制

図 2  $\alpha 7$  ノックアウトマウスでの筋萎縮側と健常側の比較



筋萎縮側と健常側で ArIB 先行投与後の Waglerin-1 投与による単収縮高の最大抑制に有意差を認めなかった。

Baseline: 基準となる単収縮高, 10ug ArIB: ArIB を 10ug 投与後の最大抑制, 4ug Wag: Waglerin-1 4ug 投与後の最大抑制

図3 健常側をコントロールとした場合の野生型,  $\alpha 7$  ノックアウトマウスにおける  $\alpha 7$ ,  $\gamma$ ,  $\alpha 1$  各サブユニットの Real-time PCR による増幅効率

