

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03820

研究課題名(和文) 転写因子RAR の制御下にある筋肥大誘導因子の同定とその分子機序の解明

研究課題名(英文) Identification of RARgamma-activated muscle hypertrophic factor and its regulatory mechanism

研究代表者

山地 亮一 (Yamaji, Ryoichi)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：00244666

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：ビタミンA前駆体の β -カロテンを摂取したマウスではレチノイン酸受容体(RAR)の活性化を介して肥大を伴ってヒラメ筋の重量を増加させた。筋管細胞ではATRAはRAR 依存的にトランスグルタミナーゼ2(TG2)の発現を増加させ、TG2は細胞外に分泌された。 β -カロテンを摂取したマウスにおいてもRAR 依存的にTG2の発現は増加した。細胞外TG2はGPR56を介してmTORシグナルを活性化し、タンパク質合成を促進し、筋管細胞を肥大させた。TG2を腹腔内投与したマウスではヒラメ筋重量が増加した。これらの結果からRAR 依存的に発現するTG2が分泌因子として筋肥大に寄与することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨格筋の量的・質的な維持・増加を食品成分により調節することは生涯自立した健全な生活をおくるための対策となる。 β -カロテンを含むカロテノイドの血中濃度が高い高齢者では歩行速度が速く、筋力も強いが、分子機構は不明であった。本研究で見出したRAR 依存的に発現するTG2が分泌因子として筋肥大に寄与することはビタミンAの新規な機能の解明であり、学術的価値は高い。また β -カロテンを含むビタミンA前駆体を活用して骨格筋の量的・質的な維持・増加を目指す食品成分や薬の開発への発展性も持ち、ロコモティブシンドローム(運動器症候群)やメタボリックシンドローム(代謝性症候群)への対応策にもなり、社会的意義も高い。

研究成果の概要(英文)：We have found that dietary provitamin A β -carotene increased soleus muscle mass with hypertrophy by activating the retinoic acid receptor (RAR) in mice. In myotube cells, ATRA increased transglutaminase 2 (TG2) expression in an RAR -dependent manner and TG2 was secreted into extracellular space. The expression of TG2 was also increased in an RAR -dependent manner in the soleus muscle of β -carotene-fed mice. Extracellular TG2 activated mTOR signaling pathway through GPR56, promoted protein synthesis, and induced hypertrophy of myotubes. TG2 mutant lacking TG activity exerted the same effects as wild-type TG2. Intraperitoneally administration of TG2 increased soleus muscle mass in mice. These results indicated that TG2 expression was upregulated through ATRA-mediated RAR and that extracellular TG2 induced myotube hypertrophy by activating mTOR signaling-mediated protein synthesis through GPR56, independent of transglutaminase activity.

研究分野：分子栄養学

キーワード：ビタミンA レチノイン酸 レチノイン酸受容体 骨格筋 肥大 分泌タンパク質 トランスグルタミナーゼ2 mTORシグナル

様式 C-19、F-19-1、Z-19(共通)

1. 研究開始当初の背景

骨格筋は運動器としての機能以外に糖や脂質を代謝する機能を担い、さらに myokine と呼ばれるタンパク質を分泌する。Myokine の中には骨格筋自身に作用して筋肥大を誘発するものや、肝臓や脂肪組織などの他の臓器に作用して糖や脂質を代謝するものがある。運動に応答して骨格筋から産生される myokine の一つに irisin がある。骨格筋から分泌された irisin は脂肪細胞などにエンドクライン的に作用するだけでなく、骨格筋自身にオートクライン的にも作用する。マウス由来筋芽細胞株 C2C12 細胞を irisin で刺激すると、筋芽細胞の分化に必要な因子である myogenin の発現が増加し、筋萎縮因子である myostatin やユビキチンプロテアソーム系を介したタンパク質分解に寄与するユビキチンリガーゼ (atrogin-1 と MuRF1) の発現が低下する。Irisin による刺激は C2C12 細胞においてミトコンドリア関連遺伝子である mitochondrial transcription factor A (*Tfam*)、NF-E2-related factor 1 (*Nrf1*) および *Ucp3* の発現を増加させることから、irisin がミトコンドリアの生合成の促進に寄与することも推測されている。運動に応答して骨格筋から産生される interleukin-6 (IL-6) も myokine の一つであり、収縮する筋線維から放出され、運動後数時間以内に血中で最大濃度に達し、筋損傷が起こりやすいレジスタンス運動だけでなく、ランニングなどの持久運動でも分泌が促進される。IL-6 は脂肪分解ならびに脂肪酸酸化を促進することが証明され、骨格筋だけでなく脂肪組織にも作用する分泌タンパク質として位置付けられている。一方で、食事摂取によって応答する myokine である myonectin は脂肪細胞や肝細胞での脂肪酸取り込みを促進し、給餌により血清中レベルが増加し、絶食下では減少する。

骨格筋は多核な筋線維から構成されている。筋線維の細胞膜と基底膜の間には、単核の筋サテライト細胞と呼ばれる幹細胞が存在する。筋サテライト細胞は通常静止状態にあるが、筋損傷を受けることで刺激され myoD、myogenin などの myogenic regulatory factors (MRFs) の発現を伴って筋芽細胞となる。増殖した筋芽細胞は、筋構成タンパク質である myosin heavy chain (MyHC) や tropomyosin の発現を伴って分化・融合することにより、多核な筋管細胞となる。さらに筋管細胞が成長・肥大することで筋線維を形成する。成熟後の骨格筋量は筋線維におけるタンパク質の合成と分解のバランスによって保たれており、タンパク質の合成が分解を上回ることで骨格筋は肥大する。骨格筋における主要なタンパク質合成経路として mechanistic target of rapamycin (mTOR) シグナルがある。mTOR complex 1 (mTORC1) が活性化されると 70-kDa ribosomal protein S6 kinase (p70S6K) のような翻訳に関わるタンパク質をリン酸化し、また eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E)-binding protein 1 (4E-BP1) もリン酸化することでタンパク質合成を調節する。運動によって血中濃度が増加する insulin-like growth factor-1 (IGF-1) は mTOR 経路を活性化することが知られている。mTOR シグナルは上流に位置する phosphoinositide 3-kinase (PI3K)、protein kinase B (Akt) などによっても活性化される。

プロビタミン A である β -carotene は体内に吸収されると小腸上皮細胞内において β -carotene 15,15'-oxygenase-1 (BCO1) によって 2 分子の all-trans retinal に変換される。All-trans retinal はさらに all-trans retinol へと変換され、肝臓において貯蔵型の retinyl ester へと代謝される。蓄積型の retinyl ester は必要に応じて all-trans retinoic acid (ATRA) に変換される。ATRA は転写因子である retinoic acid receptor (RAR; 3 つのアイソフォーム α 、 β 、 γ が存在) に結合する。RAR は retinoid X receptor (RXR) とヘテロダイマーを形成し、標的遺伝子の retinoic acid response element (RARE) に結合することで様々な遺伝子の発現を調節する。「 β -カロテンを含むカロテノイドの血中濃度の高い高齢者は歩行速度が速く、筋力が強い」という米国とイタリアの疫学調査結果に着目し、 β -カロテンが寝たきりモデルマウスの筋萎縮を抑制し、健全な状態のマウスでは下肢の骨格筋のヒラメ筋において筋力増強を伴った筋肥大を促進させることを明らかにした。しかし β -カロテンが筋肥大を促進する分子機構は不明である。

2. 研究の目的

骨格筋は身体を支え、動かす機能を担う以外に、糖や脂質の代謝を担う組織であるため、骨格筋量の低下は活動低下、最悪は寝たきりを誘発するだけでなく、肥満や糖尿病のような代謝性疾患に罹患するリスクを高める。骨格筋量は加齢とともに低下し、またデスクワークを主とする座りがちな生活でも容易に低下する。したがって骨格筋の量的・質的な維持・増加を食品成分により調節することは高齢者に限らず、中高年者でさえ生涯を自立した健全な生活をおくるための対策となる。申請者はビタミン A 前駆体の β -カロテンを摂取したマウスでは、RAR γ の活性化を介して骨格筋が肥大(筋量が増加)し、筋力も増加することを見出した。一方で骨格筋は運動および食事摂取に応じ、骨格筋自身および他の組織の代謝を調節する様々な myokine を産生するため、myokine の同定は骨格筋のみならず全身の健康を保つ上で重要である。本研究ではビタミン A 前駆体の β -カロテンを摂取することで筋が肥大する分子機構における転写因子 RAR γ の役割を明確するため、特に myokine に着目して RAR γ の制御下にある筋肥大誘導因子を同定し、その分子機構を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

実験方法を以下に記載する。

(1) 動物：C57BL/6J 雄性マウスは株式会社紀和実験動物研究所(和歌山)より購入した。1 週間の予備飼育から実験飼育終了までの期間を通し、飼育の環境状態として室温を $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、明暗

サイクル (light 8:00-20:00, dark 20:00-8:00) の条件で飼育し、日本クレア株式会社(東京) より購入した標準固形飼料 (CE-2) を餌として自由摂食させ、水道水を自由摂水させた。全ての動物実験は、公立大学法人大阪府立大学の動物実験規定を遵守して実施した。

(2) 培養細胞: マウス筋芽細胞株 C2C12 細胞は、European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC) (Salisbury, England) より購入した。C2C12 細胞を、37°C、5% CO₂/95% air、100%湿度の条件下で 10%牛胎児血清を含む DMEM (増殖培地) で培養した。筋芽細胞を筋管細胞に分化させる際は、90%コンフルエントにまで筋芽細胞を増殖培地で培養した後、2%馬血清を含む DMEM (分化培地) で培養した。分化培地は 1 日おきに培地交換した。一方、ATRA の効果を評価する時は、デキストランコートした活性炭で処理した馬血清を含む DMEM (DC-分化培地) で培養した。

(3) β -カロテン投与: マウスを 2 つのグループにランダムに割り当てた。14 日間、1 つのグループにミセル化した β -カロテン (0.5 mg、1 日 1 回) を、もう一つのグループに β -カロテンを含まないミセルを経口投与した。

(4) *in vivo* での siRNA によるノックダウン: β -カロテン投与開始日に control siRNA (siControl) と RAR γ siRNA (siRAR γ) はアテロコラーゲンを使用してそれぞれマウスに左ヒラメ筋と右ヒラメ筋に注入した。その後、siRNA 注入は 5 日ごとに繰り返し、合計 3 回実施した。

(5) *in vitro* での siRNA によるノックダウン: C2C12 筋芽細胞または C2C12 筋管細胞に siControl、RAR α siRNA (siRAR α)、siRAR γ 、G タンパク質共役型受容体 56 (GPR56) siRNA (siGPR56)、リポタンパク質受容体関連タンパク質 1 (LRP1) siRNA (siLRP1) をトランスフェクションした。

(6) プラスミド: マウス transglutaminase (TG) 2 cDNA を単離し、GST との融合タンパク質 (GST-TG2) として発現する発現ベクター-pGEX-TG2 を作製した。さらに TG 活性を欠失した pGEX-TG2-C277S も作製した。

(7) レポーターアッセイ: レチノイン酸応答性レポーターベクター (pRARE-Luc) を構築し、コントロールベクター (pGL4.73 [hRluc / SV40]) とともに C2C12 細胞にトランスフェクションした。筋芽細胞から筋管への分化を誘導するために、DC-分化培地に交換し、2 日後に細胞を 1 nM AGN193109 の存在下または非存在下で 10 nM ATRA または 10 μ M β -カロテンとともに 24 時間培養した。TG2 プロモーター領域の解析には、マウス TG2 プロモーター領域を含むレポーターベクター (pGL3-mTG2 promoter) を構築し、RAR α または RAR γ 発現ベクターとともに C2C12 細胞にトランスフェクションし、レポーター活性を測定した。

(8) 組換えタンパク質: pGEX-TG2 または pGEX-TG2-C277S ベクターを *Escherichia coli* BL21 (DE3) にトランスフォーメーションして、組換え GST タグ付き TG2 (GST-TG2) とその変異体 GST-TG2-C277S を発現させた。両方の組換えタンパク質を glutathione Sepharose 樹脂で精製し、GST タグはトロンピンと反応させて除去した。

(9) FLAG を融合した野生型 TG2 (FLAG-TG2) と変異型 TG2 (FLAG-TG2-C277S) を発現するプラスミドを筋芽細胞にトランスフェクションし、分化培地で培養した。筋管細胞をパラホルムアルデヒドで固定し、0.1% Triton X-100 で透過させた。抗ミオシン重鎖 (MyHC) 抗体または抗 FLAG 抗体と反応後、蛍光標識二次抗体と反応させた。筋管のサイズは、筋管の短軸の直径を測定した。

(10) 定量的リアルタイム PCR (q-PCR): RNA を抽出し、逆転写反応に供した。得られた cDNA を使って q-PCR により mRNA レベルを定量した。

(11) ウェスタンブロット解析: 骨格筋または C2C12 細胞を破砕し、タンパク質を SDS-PAGE で分離後、一次抗体と反応させ、さらに二次抗体と反応させた。化学発光試薬と反応後、免疫反応産物を LAS4000 イメージングシステムで検出した。

(12) タンパク質合成: C2C12 筋管細胞を TG2 存在下または非存在下で培養し、さらに puromycin (1 μ g/mL) 存在下で培養した。細胞を破砕し、抗 puromycin 抗体を使ったウェスタンブロットにより解析した。

(13) RNA シーケンスとバイオインフォマティクス: C2C12 筋管細胞を 100 nM ATRA または DMSO で 6 時間反応させ、RNA を単離した。RNA を断片化し、TruSeq RNA Sample Preparation Kit v2 を使用して二本鎖 DNA に変換した。CLC Genomic Workbench (Ver.9.5.2) を使用して、マッピングの読み取り、データ処理、統計分析を行った。ATRA 応答性タンパク質 (倍率変化>2) をコードする転写産物を選択するために Magic-BLAST プログラムに基づいた次世代シーケンスデータセットを分析する MagicSuite を使用した。ATRA 応答性分泌タンパク質をコードする転写産物を予測するために MetazSecKB ナレッジベースから分泌タンパク質に関する情報を取得した。

(14) 統計解析: 一元配置分散分析 (ANOVA) は Dunnett の事後検定または Tukey の事後検定を使用して、3 つ以上のグループを使用した実験に由来するデータを分析しました。2 つのグループ間の有意差は Student の *t* 検定を使用した。データは平均値 \pm SD として提示し、 $p < 0.05$ を有意であるとみなした。

4. 研究成果

(1) C2C12 細胞と骨格筋における RAR サブタイプ: 3 つの RAR サブタイプすべてが骨格筋組織 (大腿四頭筋、腓腹筋、ヒラメ筋) と C2C12 骨格筋細胞 (筋芽細胞と筋管) で発現していた。RARE レポーターをトランスフェクトした細胞で RAR 転写活性を測定したところ、リガンドと

して ATRA と β -カロテンの両方が RAR 転写活性を促進した。RAR パンアンタゴニストである AGN193109 は、RAR の転写活性を阻害し、ATRA と β -カロテンによる RAR 応答遺伝子 *Stra6* の発現を抑制した。さらに siRNA によって *RAR γ* をノックダウンした細胞では ATRA と β -カロテンによる RAR 転写活性が阻害されたが、*RAR α* をノックダウンした細胞では ATRA と β -カロテンによる RAR 転写活性は阻害されなかった。以上の結果から、C2C12 細胞における RAR 転写活性は、主に *RAR α* ではなく *RAR γ* によるものであることが判明した。

(2) β -カロテンによるヒラメ筋量増加における *RAR γ* の関与：マウスに siControl と si*RAR γ* をそれぞれ右と左のヒラメ筋に注射後、vehicle または β -カロチンを 14 日間経口投与したところ、siControl 注入ヒラメ筋の重量は増加したが、si*RAR γ* 注入ヒラメ筋の重量は影響を受けなかった。以上の結果から、*RAR γ* が C2C12 細胞と骨格筋の主要な RAR サブタイプであり、マウスの β -カロテン誘発ヒラメ筋の質量増加に関与することが判明した。

(3) *RAR γ* 依存性分泌タンパク質をコードする候補遺伝子：筋管を ATRA 存在下で培養し、抽出した RNA を RNA シークエンス解析した。MagicSuite を使用したグローバル mRNA シークエンスとバイオインフォマティクス手法の組み合わせで ATRA 処理により発現が変動した 224 遺伝子 (倍率変化 > 2) を特定し、さらに MetazSecKB ナレッジベースで分析し、ATRA 誘導性分泌タンパク質をコードする転写産物として 48 種を予測した。次に、発現が 10 倍以上に増加した転写産物に関して文献を検索し、そのうち TG2 が細胞内タンパク質と分泌タンパク質の両方として機能し、また ATRA 応答性分泌タンパク質であると予測した。TG2 を含む上位 10 遺伝子のリストを示す (表 1)。

表1 ATRAに反応して発現の変動する分泌タンパク質の上位10遺伝子

Gene	Fold change
<i>Angptl7</i>	88.0
<i>Tg2</i>	47.5
<i>Crispld2</i>	30.5
<i>Ephx2</i>	15.8
<i>Prss35</i>	10.6
<i>Mmp13</i>	9.9
<i>Sfrp4</i>	9.9
<i>Enpp3</i>	9.7
<i>Fgf18</i>	8.4
<i>Sost</i>	7.6

(4) *RAR γ* 依存性分泌タンパク質としての TG2 の検証：C2C12 筋管細胞を ATRA と β -カロテン存在下で培養すると、*Tg2* mRNA 発現が増加した。ATRA と β -カロテンは TG2 のタンパク質発現を増加させ、si*RAR γ* 処理によって *RAR γ* をノックダウンした筋管細胞ではそれらの増加が阻害された。さらに経口投与した β -カロチンはヒラメ筋での *Tg2* mRNA 発現を増加し、ヒラメ筋で *RAR γ* をノックダウンしたところ、この増加は阻害された。以上の結果から、TG2 が *RAR γ* 依存性分泌タンパク質をコードする候補遺伝子であることが示された。

(5) 筋管の肥大を誘発する細胞外 TG2：C2C12 筋管細胞を ATRA 存在下で培養し、培養上清 (CM) を回収した。抗 TG2 IgG を使用して CM を免疫沈降したところ、ATRA 刺激した筋管細胞に由来する CM 中により多くの TG2 が存在した。さらに FLAG-TG2 を過剰発現させた細胞に由来する CM を抗 FLAG IgG で免疫沈降したところ、FLAG-TG2 を CM で検出した。また筋芽細胞から筋管への分化中に FLAG-TG2 を過剰発現させ、ウエスタンブロットで解析したところ、筋管細胞特異的な筋構成タンパク質である MyHC のレベルが上昇することが判明した。FLAG-TG2 の過剰発現は、FLAG-TG2 を発現している筋管細胞だけでなく、FLAG-TG2 を発現していない筋管細胞でも筋管細胞の短径を増加させた。筋管細胞を組換え TG2 存在下で培養したとこ

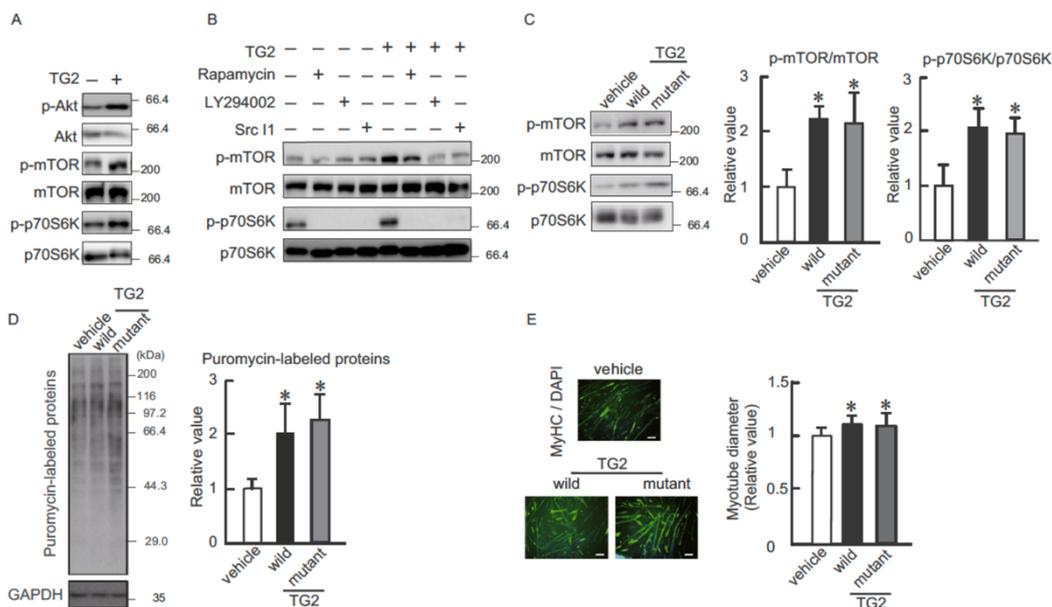


図1 細胞外TG2がmTORシグナルとタンパク質合成におよぼす効果

ろ、筋管細胞の短径が増加した。以上の結果から、細胞外 TG2 が筋管細胞の肥大を誘発することが判明した。

(6) 筋管細胞における mTOR シグナル伝達経路とタンパク質合成におよぼす細胞外 TG2 の効果：細胞外 TG2 は、筋管細胞における Akt、mTOR、および p70S6K のリン酸化を増加させた (図 1A)。mTOR、PI3K、および Src の阻害剤 (それぞれラパマイシン、LY294002、および Src I1) は、mTOR および p70S6K の TG2 増加リン酸化を阻害した (図 1B)。TG 活性を欠失した変異型 TG2 (TG2-C277S) は、mTOR および p70S6K のリン酸化レベルを野生型 TG2 と同程度まで増加させた (図 1C)。野生型 TG2 と変異型 TG2 はタンパク質合成を促進した (図 1D)。筋管細胞を野生型および変異型 TG2 存在下で培養し、抗 MyHC 抗体を使用した免疫蛍光分析を行った (図 1E、左パネル)。野生型 TG2 と変異型 TG2 は筋管細胞の肥大を誘発した (図 1E、右パネル)。以上の結果から、細胞外 TG2 が TG 活性非依存的に mTOR シグナル伝達を活性化し、タンパク質合成を促進し、筋管の肥大を誘発することが判明した。

(7) 筋 TG2 による mTOR シグナリング活性化における GPR56 の関与：筋管細胞で GPR56 をノックダウンすると GPR56 の発現が約 55%減少した (図 2A)。GPR56 のノックダウンは TG2 による mTOR および p70S6K のリン酸化 (図 2B) とタンパク質合成を阻害した (図 2C)。筋管細胞に siGPR56 をトランスフェクトし、TG2 存在下で培養した筋管細胞を免疫蛍光法で染色した (図 2D、左パネル)。GPR56 のノックダウンは TG2 により誘発された筋管細胞の肥大を抑制した (図 2D、右パネル)。一方、LRP1 のノックダウンは TG2 による mTOR シグナルの活性化に影響を与えなかった (図 2E)。以上の結果から、GPR56 が TG2 による筋管肥大に関与することが判明した。

(8) TG2 による *Igf-1* の発現レベルに及ぼす影響：GPR56 の過剰発現は *Igf-1* 発現レベルを増加させること報告されているが、TG2 刺激により筋管細胞での *Igf-1* の発現に影響はなかった。また C2C12 筋管細胞での GPR56 のノック

ダウンは *Igf-1* の発現に影響を与えなかった。以上の結果から、細胞外 TG2 も GPR56 のノックダウンも *Igf-1* 発現に影響をおよぼさないことが示唆された。

(9) ATRA による *Tg2* プロモーター活性におよぼす影響：C2C12 筋芽細胞に pGL3-mTG2 promoter をトランスフェクションし、*Tg2* プロモーターを介した転写活性をルシフェラーゼ活性として求めたところ、RAR γ を高発現させた C2C12 細胞では ATRA 刺激により *Tg2* プロモーター活性が増加した (図 3)。一方、mock または RAR α をトランスフェクションした C2C12 細胞では ATRA 刺激により *Tg2* プロモーター活性は影響を受けなかった。以上より、*Tg2* は RAR α ではなく、RAR γ により発現制御を受けていると言える。

(10) マウスへの TG2 投与による骨格筋量に及ぼす効果：C57BL/6J 雄性マウスの腹腔内に組み換え TG2 を 4 週間連続で投与した。投与 3.5 週目に TG2 投与群でグリップ力が有意に増加した。投与 4 週目に下肢の骨格筋 (大腿四頭筋、前脛骨筋、長趾伸筋、腓腹筋、足底筋、ヒラメ筋) の重量を測定したところ、vehicle 投与群に比べ TG2 投与群でヒラメ筋重量が有意に増加した。以上の結果から、細胞外 TG2 がヒラメ筋重量に影響することが推測された。

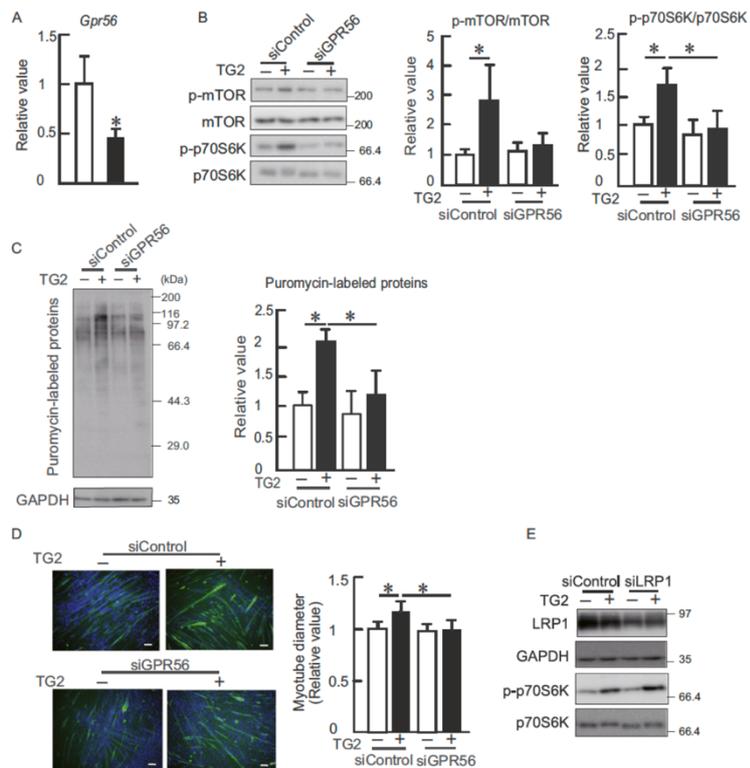


図 2 筋管細胞で細胞外TG2がmTORシグナル、タンパク質合成、筋肥大におよぼす効果におけるGPR56の関与

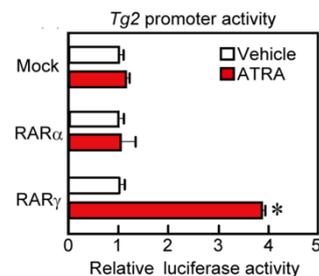


図 3 ATRAによる*Tg2*プロモーター活性

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kitakaze Tomoya, Yoshikawa Miki, Kobayashi Yasuyuki, Kimura Naohiro, Goshima Naoki, Ishikawa Takahiro, Ogata Yoshiyuki, Yamashita Yoko, Ashida Hitoshi, Harada Naoki, Yamaji Ryoichi	4. 巻 1867
2. 論文標題 Extracellular transglutaminase 2 induces myotube hypertrophy through G protein-coupled receptor 56	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research	6. 最初と最後の頁 118563 ~ 118563
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamcr.2019.118563	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ono Shintaro, Yoshida Naoki, Maekawa Daisuke, Kitakaze Tomoya, Kobayashi Yasuyuki, Kitano Takehiro, Fujita Takanori, Okuwa-Hayashi Hiroataka, Harada Naoki, Nakano Yoshihisa, Yamaji Ryoichi	4. 巻 7
2. 論文標題 5-Hydroxy-7-methoxyflavone derivatives from Kaempferia parviflora induce skeletal muscle hypertrophy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Food Science & Nutrition	6. 最初と最後の頁 312 ~ 321
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/fsn3.891	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kitakaze Tomoya, Oshimo Meiku, Kobayashi Yasuyuki, Ryu Mizuyuki, Suzuki Yasushi, Inui Hiroshi, Harada Naoki, Yamaji Ryoichi	4. 巻 4
2. 論文標題 Lactoferrin promotes murine C2C12 myoblast proliferation and differentiation and myotube hypertrophy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Medicine Reports	6. 最初と最後の頁 5912~5920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/mmr.2018.8603	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ogawa Masahiro, Kitano Takehiro, Kawata Natsuha, Sugihira Takashi, Kitakaze Tomoya, Harada Naoki, Yamaji Ryoichi	4. 巻 49
2. 論文標題 Daidzein down-regulates ubiquitin-specific protease 19 expression through estrogen receptor and increases skeletal muscle mass in young female mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Journal of Nutritional Biochemistry	6. 最初と最後の頁 63 ~ 70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jnutbio.2017.07.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計26件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 岸優樹、吉川実樹、北風智也、原田直樹、山地亮一
2. 発表標題 骨格筋におけるレチノイン酸応答遺伝子トランスグルタミナーゼ2の発現調節機構の解析
3. 学会等名 日本ビタミン学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山地亮一
2. 発表標題 カロテノイドを利用した骨格筋の健康維持・増進
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林恭之、渡辺夏美、甲斐建次、杉本圭一郎、原田直樹、山地亮一
2. 発表標題 Oleamideは行動範囲を制限したマウスの前脛骨筋萎縮を改善する
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野口真里、北風智也、向井克之、原田直樹、乾博、山地亮一
2. 発表標題 老化促進モデルマウスSAMP1の骨格筋において -Cryptoxanthinはオートファジーを活性化する
3. 学会等名 日本農芸化学学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山口真由、北風智也、原田直樹、乾博、山地亮一
2. 発表標題 Gタンパク質共役受容体LGR6は筋分化調節に関与する
3. 学会等名 日本農芸化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yasuyuki Kobayashi, Natsumi Watanabe, Tomoya Kitakaze, Keiichiro Sugimoto, Kenji Kai, Naoki Harada, Ryoichi Yamaji
2. 発表標題 Oleamide rescues skeletal muscle atrophy of mice housed in small cages
3. 学会等名 The 7th International conference on Food Factors (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miki Yoshikawa, Tomoya Kitakaze, Naohiro Kimura, Yoshiyuki Ogata, Takahiro Ishikawa, Yoko Yamashita, Hitoshi Ashida, Naoki Harada, Ryoichi Yamaji
2. 発表標題 Extracellular transglutaminase 2 induces myotube
3. 学会等名 The 7th International conference on Food Factors (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木里那、河田夏初、原田直樹、山地亮一
2. 発表標題 ダイゼインによる骨格筋量の増加に関する分子機構の解明
3. 学会等名 日本農芸化学関西・中部支部2019年度合同神戸大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸地麻美、杉平貴史、北風智也、原田直樹、乾博、山地亮一
2. 発表標題 遅筋におけるカロテノイドトランスポーターCD36の発現調節機構の解析
3. 学会等名 日本ビタミン学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺夏実、小林恭之、北風智也、杉本圭一郎、原田直樹、乾博、山地亮一
2. 発表標題 骨格筋におけるoleamideによるタンパク質分解機構の解析
3. 学会等名 日本ビタミン学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 前川大輔、吉田直樹、原田直樹、大桑（林）浩孝、藤田貴則、中野長久、山地亮一
2. 発表標題 5-ヒドロキシ-7-メトキシフラボンはヒラメ筋のタンパク質合成を促進する
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林恭之、北風智也、杉本圭一郎、原田直樹、乾博、山地亮一
2. 発表標題 脂肪酸アミドの骨格筋細胞および行動範囲制限マウスへ及ぼす影響
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 下唐湊 一矢、北野 剛大、原田 直樹、乾 博、山地 亮一
2. 発表標題 グルココルチコイドは脱ユビキチン化酵素USP19の発現上昇を誘導し筋融合を抑制する
3. 学会等名 日本農芸化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川実樹、北風智也、原田直樹、乾博、山下陽子、芦田均、山地亮一
2. 発表標題 レチノイン酸誘発性トランスグルタミナーゼ2は分泌タンパク質として筋肥大を誘導する
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会近畿支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口真由、北風智也、原田直樹、乾博、山地亮一
2. 発表標題 レチノイン酸による筋分化促進作用における Gタンパク質共役受容体LGR6の関与
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会近畿支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北野剛大、原田直樹、乾博、山地亮一
2. 発表標題 Transcription factor EBは筋分化を制御する
3. 学会等名 日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林恭之、北風智也、原田直樹、乾博、山地亮一
2. 発表標題 Oleamidは筋分化および筋肥大を促進する
3. 学会等名 日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomoya Kitakaze, Miki Yoshikawa, Naoki Harada, Ryoichi Yamaji
2. 発表標題 The retinoic acid receptor -responsive gene transglutaminase 2 induces myotube hypertrophy
3. 学会等名 International Conference on Nutritional Biochemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasuyuki Kobayashi, Tomoya Kitakaze, Keiichiro Sugimoto, Naoki Harada, Ryoichi Yamaji
2. 発表標題 Oleamide promotes skeletal muscle hypertrophy and myoblast differentiation
3. 学会等名 International Conference on Nutritional Biochemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉川実樹、北風智也、原田直樹、山下陽子、芦田均、山地亮一
2. 発表標題 トランスグルタミナーゼ2は骨格筋のタンパク質合成を促進する
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山地亮一
2. 発表標題 シンポジウム：生活習慣病予防とビタミン（骨格筋におけるプロビタミンAカロテノイドのヘルスベネフィット）
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北風智也、原田直樹、山下陽子、芦田均、山地亮一
2. 発表標題 -カロテンが誘導する分泌型タンパク質は骨格筋のタンパク質合成を増加させる
3. 学会等名 日本フードファクター学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉平貴史、北風智也、原田直樹、山地亮一
2. 発表標題 ヒラメ筋での -カロテン取り込みにおけるCD36の関与とその発現調節について
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会近畿支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山地亮一
2. 発表標題 食品成分と骨格筋の健康増進
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会中国・四国支部大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北野剛大, 下唐湊一矢, 原田直樹, 山地亮一
2. 発表標題 リソソーム合成転写因子TFEBが筋分化に及ぼす影響
3. 学会等名 日本農芸化学会関西・中四国・西日本合同大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北風智也, 山地亮一, 芦田均
2. 発表標題 -カロテンの筋肥大促進作用における分泌型タンパク質の関与
3. 学会等名 第23回フードサイエンスフォーラム学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 北風智也, 原田直樹, 山地亮一	4. 発行年 2018年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 249
3. 書名 代謝センシングー健康, 食, 美容, 薬, そして脳の代謝を知るー「第11章 カロテンとその代謝物による骨格筋のヘルスベネフィット」	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 オートファジー活性向上剤	発明者 向井克之, 山地亮一, 原田直樹, 野口真里	権利者 公立大学法人大阪, 株式会社ダイセル
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-118259	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.biosci.osakafu-u.ac.jp/NC/>

アウトリーチ活動
 山地亮一、ロコモ・メタボ予防と医食同源：健康寿命を骨格筋から考えよう、健康保険組合連合会大阪連合会、2018年5月（大阪・新梅田研修センター）
 北風智也、山地亮一、芦田均、-カロテンの筋肥大促進作用における分泌型タンパク質の関与、第23回フードサイエンスフォーラム学術集会、2017年9月（宮崎・宮崎市民プラザ）
 吉川実樹、北風智也、原田直樹、山地亮一、筋管細胞の肥大を誘発するTG2 の作用機序の解明、トランスグルタミナーゼ研究会、2019年8月（愛知・名古屋大学）

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	居原 秀 (Ihara Hideshi)		
研究協力者	岩田 晃 (Iwata Akira)		