

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：34511

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00899

研究課題名(和文)分岐鎖アミノ酸と成長ホルモンによる筋萎縮抑制作用の分子機構の解明

研究課題名(英文)Molecular mechanism of the protective action against muscle atrophy of branched-chain amino acids and growth hormone

研究代表者

置村 康彦 (Yasuhiko, Okimura)

神戸女子大学・家政学部・教授

研究者番号：30204100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：筋萎縮による可動性の低下は、生活の質の低下につながる。筋萎縮を抑制することは、高齢化社会を迎えたわが国にとって重要な課題である。分岐鎖アミノ酸(BCAA)はmTORの活性化を介して筋萎縮を抑制するが、成長ホルモン(GH)を欠くラットではBCAAによるmTORの活性化がみられない。GHやGHによって増加するホルモンであるIGF-1は、BCAAを含むアミノ酸の輸送体であるLAT1を筋で増加させ、mTOR活性化作用を増強した。一方、LAT1を阻害するとIGF-1のmTOR活性化作用は減弱した。GH/IGF-1は細胞内へのアミノ酸輸送を増加させてmTORに作用する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分岐鎖アミノ酸(BCAA)と成長ホルモン(GH)は筋萎縮を抑制する栄養素とホルモンであることがすでに知られていたが、本研究により、GHやGHによって分泌が促進されるホルモンであるIGF-1の効果の少なくとも一部は、細胞内へのアミノ酸輸送の促進による可能性が示唆された。BCAAを摂取し筋萎縮を抑制するために、GH/IGF-1系の調節も考慮すべきことが明らかとなった。将来的には、筋萎縮を抑制する有効な栄養の取り方を示すことにつながるものとする。

研究成果の概要(英文)：Branched-chain amino acid (BCAA) protects against muscle atrophy through the activation of mTOR, but BCAA does not activate mTOR in the rats lacking growth hormone (GH). GH and IGF-1, which is a hormone secreted by GH, increased LAT1, which is a transporter of amino acids including BCAA, in muscles and cultured myocytes, and activated mTOR. On the other hand, the inhibition of LAT1 attenuated the mTOR-activating effect of IGF-1. It was suggested that GH/IGF-1 may act on mTOR via increased amino acid transport.

研究分野：病態栄養学

キーワード：分岐鎖アミノ酸 筋萎縮 成長ホルモン IGF-1 アミノ酸輸送体 mTOR

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

不動、神経切断、炎症、腫瘍、糖尿病など種々の疾患、状況において、筋萎縮が発生する。また、加齢に伴い発症する筋萎縮はサルコペニアとよばれ、高齢者の運動能を低下させ、自立を阻害する大きな因子となっている。私どもはこれらの筋萎縮に対して、有効な介入法の確立を目指し、検討を重ねてきた。サルコペニアへの臨床応用をも考えた場合、長期にわたって安全に、かつ容易に投与できる薬物、食品で筋萎縮を抑制することが望ましいと考え、安全性が確立されている分岐鎖アミノ酸(BCAA)に注目し、研究を開始した。

その結果、実際に、BCAA はグルココルチコイド誘導性の筋萎縮を抑制することを見出した(Yamamoto, Okimura et al. *Muscle Nerve* 41:819-27, 2010)。さらに、加重減少により生じる筋萎縮にも BCAA は有効であることを報告した(Maki, Okimura et al. *Nutr Res.* 32:676-83, 2012)。この BCAA の作用は、筋蛋白合成の亢進のみならず、筋蛋白崩壊を促進するユビキチン/プロテアソーム系を抑制することで生じ、また、mTOR の活性化を介して発揮されることを報告した(Herningtyas, Okimura et al. *Biochim Biophys Acta.* 80:1115-20, 2008)。

一方、成長ホルモン(GH)も筋の発達維持に重要であることが知られている。GH は種々の臓器に作用して、IGF-I 産生を促進する。GH は筋においても IGF-I を産生し(Imanaka, Okimura et al. *Kobe J Med Sci.* 54:E46-54, 2008)、産生された IGF-I は筋細胞に作用して、筋肥大を促進する(Handyaningsih, Okimura et al. *Endocrinology* 152:912-21, 2011)。筋肥大に関わる IGF-I の細胞内情報伝達系と BCAA の情報伝達系、両者はともに mTOR を活性化するので、IGF-I の作用が減弱した状況でも、BCAA が機能すれば、筋は発達維持される可能性があると考えた。

しかし、実際には、グルココルチコイド誘導性筋萎縮に対する BCAA の抑制作用は、GH が欠損している spontaneous dwarf rat (SDR) では観察できず、SDR では BCAA による mTOR 活性化の障害が存在し、それは GH 補充で回復することを報告した(Nishida, Okimura et al. *PLoS One.* 10:e0128805, 2015)。このことから、BCAA が効果を発揮するためには GH によって調節される因子が重要であり、その因子を明らかにすることは、BCAA の作用機序を明確にし、筋萎縮に対する臨床応用を図る上でも重要であると考えた。

2. 研究の目的

GH が制御する BCAA による mTOR 活性化を調節する因子の同定

次世代シーケンサーを用いて骨格筋細胞内 mRNA 量を網羅的に検討し、GH 及び BCAA 投与により、どのような物質が変動するか明らかにすることを目的とした。GH により、あるいは GH と BCAA の投与下に明確に発現量が増減し、BCAA の効果発現に関連する可能性のある物質が同定できれば、その機能解析を行い、実際に mTOR 活性化に関与するか調べることを、次の目的とした。

3. 研究の方法

雄性 6 週齢の SDR に、浸透圧ポンプで 2 週間 GH (10 µg/h) あるいは生理的食塩水を持続皮下投与した。GH 投与開始後 10 日目より 14 日目まで、BCAA(600 mg/kg/day)、あるいは水(対照)の経口投与を行った。GH の代わりに生理的食塩水を持続投与した SDR にも、同様の処置を行った。持続投与開始後 15 日目にそれぞれのラットから骨格筋を摘出、筋線維断面積を測定するとともに、RNA を抽出し、次世代シーケンサーで各サンプル約 1400 万の mRNA の部分配列を決定し、各 mRNA 量を比較検討した。発現量が増減する mRNA については、その機能を筋細胞株(L6、C2C12 細胞)で調べた。

4. 研究成果

SDR に浸透圧ポンプで 2 週間 GH (10 µg/h) を持続皮下投与した後、骨格筋を摘出し、筋線維断面積を測定した。GH 投与により筋線維断面積は約 40% 増加していた。

骨格筋 mRNA のうち比較的発現頻度が高いものもの(RPKM (mRNA100 万解読あたり検出された mRNA 数を遺伝子配列長で補正した数値) 2 以上)で、GH あるいは BCAA 処置により倍以上の変化がみられたものを抽出した。その結果、BCAA 経口摂取により変動する mRNA が 25 種抽出されたが、そのうち 19 では、GH の補充投与により BCAA によるその mRNA 量に及ばず効果が逆転していた。

BCAA を含む中性アミノ酸の輸送体である LAT1 mRNA は GH により増加していた。この LAT1 の増加が BCAA の作用発現に関わる可能性を考え、筋管細胞に分化させた L6、C2C12 細胞で検討した。GH は LAT1 mRNA を増加させなかったが、GH によって産生分泌が増加する IGF-I は LAT1 mRNA を増加させたことから、SDR でも GH により分泌が亢進した IGF-I によって LAT1 mRNA が増加した可能性が示唆された。

実際に、IGF-I は C2C12 細胞の増殖を促進し、細胞サイズも増大させ、細胞内 mTORC1 も活性化した。しかし、LAT1 の阻害薬である BCH は、IGF-I により生じる細胞増殖、細胞サイズの増大、mTORC1 活性化を抑制した。細胞内アミノ酸は mTOR を含む複合体をリソゾーム上に移行させることにより、IGF-I シグナルの下流に位置しリソゾームに局在する Rheb の mTOR に対する活性化作用を明確にすることが報告されている。IGF-I は LAT1 発現を介して細胞内へのアミノ酸流入

を促進することにより、BCAA の mTOR 活性化作用を増強しているのかもしれない。

しかし、LAT1 mRNA を RNA 干渉法で減少させた時には、IGF-1 による mTORC1 活性化の抑制は確認できなかったことから、BCH は他の物質をも阻害して IGF-1 の作用に影響を及ぼした可能性があり、LAT1 の役割についてはさらに検討する必要がある。

BCAA とホルモンは筋萎縮抑制に関して有用な物質として知られていたが、両者が共同して発揮される効果やその機構については明確ではなかった。本研究はその一端を解明したもので、栄養を摂取し有効な効果を発揮するために必要な条件を明らかにした。将来的には有用な栄養摂取のあり方を示すことにつながるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Ran Sawa, Hikaru Nishida, Yu Yamamoto, Ikumi Wake, Noriko Kai, Ushio Kikkawa, Yasuhiko Okimura	4. 巻 42-43
2. 論文標題 Growth hormone and Insulin-like growth factor-I (IGF-I) modulate the expression of L-type amino acid transporters in the muscles of spontaneous dwarf rats and L6 and C2C12 myocytes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Growth Hormone & IGF Research	6. 最初と最後の頁 66-73
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ghir.2018.09.002	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 澤蘭、西田ひかる、山本優、和気郁実、甲斐法子、吉川潮、置村康彦
2. 発表標題 IGF-Iは、筋細胞においてアミノ酸トランスポーターLAT 1 mRNA量を増加させる
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 澤蘭、大野麻耶、大西彩加、永田麻衣佳、和田千春、国井由佳、中島佳恵、置村康彦
2. 発表標題 C2C12筋管細胞においてアミノ酸はATF4を介してsestrin2 mRNA量および蛋白量を調節する
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

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
---------------------------	-----------------------	----