

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K01839

研究課題名(和文) レナラーゼ多型を指標とした生活習慣病のオーダーメイド診断法・運動治療法の開発

研究課題名(英文) Renalase in the skeletal muscle contributes to cell protective effect

研究代表者

竹越 一博 (TAKEKOSHI, Kazuhiro)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：40261804

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：レナラーゼは、2005年に発見されたフラビンアデニンジヌクレオチド依存性の可溶性モノアミンオキシダーゼである。主に腎臓で発現するが、心臓、肝臓、肺、そして骨格筋などで発現が確認されている。今回、運動を行った場合の血清レナラーゼの上昇の機序と生理的意義に関する研究をメインに進めた。中強度運動直後の血中レナラーゼは、安静群と比較して有意な上昇を示した。また骨格筋レナラーゼ発現も有意な上昇を示した一方で、腎レナラーゼ発現は有意な減少を示した。以上より、運動による血中レナラーゼ上昇は骨格筋由来の可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

運動を行った場合の血清レナラーゼが上昇することを初めて明らかにした。さらにその機序と生理的意義を解明したことで、今後運動療法の分子機序の理解につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Renalase is a recently discovered flavin adenine dinucleotide (FAD) - dependent soluble monoamine oxidase. Its primary functions include catecholamine metabolism and blood pressure regulation. Renalase is predominantly expressed in the proximal tubule in the kidney. It is also expressed in other tissues, including the skeletal muscle, heart, and intestine. However, it remains unknown whether exercise could affect renalase expression. In this study, renalase expression in the skeletal muscle was increased by acute exercise, which was regulated by HIF-1 and NF- κ B. In contrast, mRNA expression of Sp1 was unchanged in both the soleus and plantaris muscle following exercise when examining the contribution of catecholamine metabolic function in the skeletal muscle to renalase expression. In addition, renalase expression in the kidney was decreased by acute exercise.

研究分野：スポーツ医学

キーワード：レナラーゼ 運動 筋肉

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

レナラーゼは、2005年に発見されたフラビンアデニンジヌクレオチド依存性の可溶性モノアミンオキシダーゼである。主に腎臓で発現するが、心臓、肝臓、肺、そして骨格筋などで発現が確認されている。当初、主な機能は循環カテコールアミンを代謝することによって、心機能および全身血圧の制御に関与する機能と報告された。一方、その後の研究の発展に伴い、現在では、細胞を保護するサイトカインのような生理活性物質として注目を集めている。特に、酸化ストレスに対する応答や抗酸化力に関する報告が増えている。一方で海外の先行研究で、レナラーゼ3種類の多型が上記疾患の分子マーカーとなることが報告された。最終目標は、レナラーゼ多型を用いた「生活習慣病における交感神経活性亢進の抑制」を目指したオーダーメイド運動介入法の確立である。

2. 研究の目的

本研究では、1) 日本人生活習慣病におけるレナラーゼ多型と表現型の関連、2) 運動を行った場合の血清レナラーゼの上昇の機序と生理的意義、3) レナラーゼ多型の種類・有無により血清レナラーゼ増加・パラメーターの改善に差異があるか否か、を目的とした。研究期間全体では2)の運動に関する研究がメインとなった。

3. 研究の方法

1) ヒト実験

健康な成人男性10名を対象に90%換気性作業域値で30km走を走らせ、10km毎に採血を実施した。測定項目は血中のレナラーゼ濃度を測定した。同時にシスタチンCからeGFRを算出し、レナラーゼとの関連を検証した。

2) 動物実験

ラットに運動負荷を行い、各臓器や血中のレナラーゼをウエスタンブロットやELISAで確認した。どのような運動でレナラーゼが変化するかを検証した。

3) 培養細胞実験

骨格筋細胞におけるカテコールアミン負荷によるレナラーゼ発現を確認した。アドレナリンの作用について、マウス筋芽細胞C2C12を筋管細胞へ分化させ、アドレナリン負荷後にレナラーゼの細胞内での遺伝子発現を検証した。

4. 研究成果

1) ヒト実験 (図.1)

30kmの走行によって、血中のレナラーゼは有意に上昇した。またシスタチンCによる腎血流量と血中レナラーゼ濃度には負の相関関係を示した。腎機能が低下しているにも関わらず、血中のレナラーゼは運動中に上昇することを示唆する結果を得た。

2) 動物実験 (図.2)

60分間の中強度運動直後の血中レナラーゼは、安静群と比較して有意な上昇を示した。また骨格筋レナラーゼ発現も有意な上昇を示した一方で、腎レナラーゼ発現は有意な減少を示した。また30分間の低強度あるいは高強度運動は、血中レナラーゼ濃度に変化を示さなかったものの、骨格筋および腎レナラーゼ発現は中強度運動時と同様な結果を示した。加えて、肝臓や心臓のレナラーゼ発現も安静群と比較して、有意な減少を示した。特に骨格筋の足底筋において、酸化ストレスによる核内因子kBによるレナラーゼ発現の上昇を示し、レナラーゼの下流因子であるプロテインキナーゼBのリン酸化を確認した。その結果、さらに下流因子であるタンパク分解遺伝子発現の抑制が示されたことから、レナラーゼは骨格筋のタンパク分解抑制に関与することを示唆した。

3) 培養細胞実験

レナラーゼはカテコールアミンにも関与することを示されているため、骨格筋培養細胞においても同様な結果を得られるか検証した。その結果、アドレナリンの添加によって、レナラーゼの遺伝子発現が有意に上昇する結果を得た。

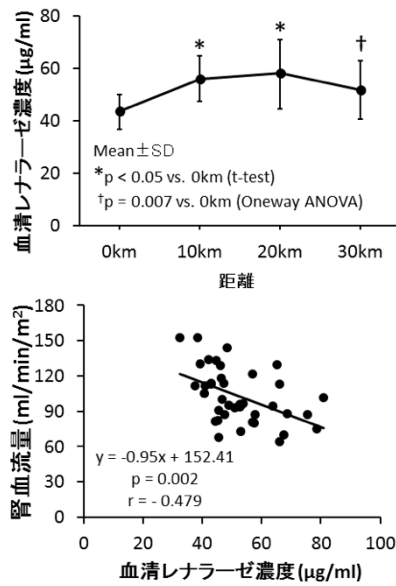


図.1 30km 走中の血清レナラーゼの推移 (上図) およびレナラーゼとシスタチン C から求めた腎血流量における相関 (下図)

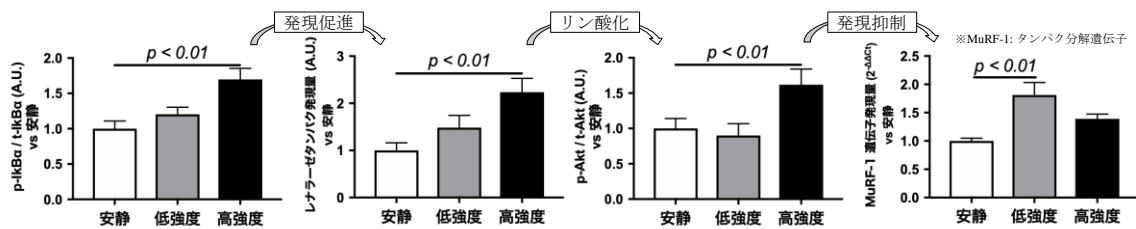


図.2 一過性運動後の骨格筋 (足底筋) 細胞保護作用
30 分間の運動によって高強度の足底筋では、レナラーゼがタンパク分解抑制に作用している可能性を示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Tokinoya K, Shiromoto J, Sugasawa T, Yoshida Y, Aoki K, Nakagawa Y, Ohmori H, Takekoshi K.	4. 巻 210
2. 論文標題 Influence of acute exercise on renalase and its regulatory mechanism.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Life Sci	6. 最初と最後の頁 235-242
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lfs	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 Yasuko Yoshida, Takehito Sugasawa, Katsuyuki Tokinoya, Shunji Namba, KazuhiroTakekoshi.	4. 巻 5
2. 論文標題 Epinephrine regulates renalase expression in cultured C2C12 muscle cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International Journal of Analytical Bio-Science	6. 最初と最後の頁 61-65
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Yasuko Yoshida, Takehito Sugasawa, Masaya Hoshino, Katsuyuki Tokinoya, kazuhiro Takekoshi.	4. 巻 6
2. 論文標題 Transient changes in serum renalase : The case of an amateur runner under	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Physical Fitness and Sports Medicine	6. 最初と最後の頁 159-166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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0件

〔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
研究分担者	中田 由夫 (NAKAYA YOSHIO) (00375461)	筑波大学・体育系・准教授 (12102)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大森 肇 (OMORI HAJIME) (20223969)	筑波大学・体育系・教授 (12102)	
研究分担者	前田 清司 (MAEDA SEIJI) (30282346)	筑波大学・体育系・教授 (12102)	