

平成 21 年 4 月 2 日現在

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2006～2008

課題番号：18680047

研究課題名（和文） メカニカルストレスによる PGC-1 を介した間葉系細胞の制御

研究課題名（英文） Regulation of mesenchymal cell differentiation by mechanical stress via PGC-1a

研究代表者

秋本 崇之（AKIMOTO TAKAYUKI）

東京大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：00323460

## 研究成果の概要：

本研究では筋、骨、軟骨、脂肪などの間葉系組織の分化について PGC-1 を中心にメカニカルストレス（物理的刺激）によるその制御を検討した。

結果、メカニカルストレス誘導性の細胞内シグナル伝達経路を複数同定した。この研究を通じて、ある程度メカニカルストレス誘導性のシグナル伝達経路を特定できたことは、メカニカルストレスによって間葉系細胞の分化・成熟を制御するうえで有意義であると考えられる。

研究最終年度の総括としては、研究機関3年間で、原著論文5編（加えて投稿中準備中3編）、総説4編、学会発表16件、特許出願1件は十分な成果だったと考える。

## 交付額

（金額単位：円）

|        | 直接経費       | 間接経費      | 合計         |
|--------|------------|-----------|------------|
| 2006年度 | 9,400,000  | 2,820,000 | 12,220,000 |
| 2007年度 | 6,300,000  | 1,890,000 | 8,190,000  |
| 2008年度 | 6,300,000  | 1,890,000 | 8,190,000  |
| 年度     |            |           |            |
| 年度     |            |           |            |
| 総計     | 22,000,000 | 6,600,000 | 28,600,000 |

研究分野：スポーツ・健康科学

科研費の分科・細目：スポーツ科学

キーワード：筋肉、軟骨、骨、運動、細胞内シグナル伝達、物理的ストレス、細胞分化

## 1. 研究開始当初の背景

PGC-1 は脂肪細胞からクローニングされた転写コアクティベータで、白色脂肪細胞の分化や熱産生を調節している（Pigserver et al., Cell, 1998）。また、脂肪細胞での役割に加え、筋肉ではミトコンドリアバイオジェネシス、筋繊維タイプの決定に関わっており（Lin et al., Nature, 2002）、筋肉においても分化に関わっていることが推測される。

さらに最近、軟骨細胞において、PGC-1 が軟骨の分化に必須の転写因子である Sox9 と結合し、軟骨の分化を調節することが明らかとなった（Kawakami et al., PNAS, 2005）。これらのことから、PGC-1 は間葉系組織に広く存在し、その分化調節に関わっていると考えられる。

メカニカルストレスが脂肪における PGC-1 の発現に与える影響に関しては全く報告がないが、申請者がすでに発表しているよう

に、筋芽細胞から脂肪細胞への分化はメカニカルストレスによって阻害されるため、脂肪細胞や軟骨細胞の分化もメカニカルストレスによる PGC-1 の発現変化によって調節されている可能性は高いと考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では筋、骨、軟骨、脂肪などの間葉系組織の分化について PGC-1 を中心にメカニカルストレス（物理的刺激）によるその制御を検討する。

## 3. 研究の方法

間葉系幹細胞株（NIH3T3）、筋芽細胞株（C2C12）、軟骨細胞株（ATDC5）、脂肪細胞株（F442A）を用いた *in vitro* で、ストレッチ、静水圧、などのメカニカルストレスを負荷し、PGC-1 mRNA、タンパクの発現変化を検討する。また、PGC-1 レポーターアッセイを用いてプロモータ活性を検討する。

メカニカルストレスによる細胞内シグナル伝達に関してはすでに我々や他のグループが MAPK を中心としたいくつかのシグナル伝達経路を特定している。それに加え、その上流や他の経路の関与を検討する必要がある。このためまず、上記のようにメカニカルストレスを負荷した細胞を回収し、二次元電気泳動法とセリン・チロシン・スレオニン酸化抗体、あるいは放射性同位体を用いて、シグナル関連リン酸化タンパクの網羅的スクリーニングを行う。

上記の検討より得られた結果から、メカニカルストレスによるシグナル伝達経路を推定し、それらのシグナルをドミナントネガティブあるいはコンスティテューティブアクティブベクターを用いて修飾し、その表現系と PGC-1 の変化を検討する。申請者がすでに明らかにしている p38 MAPK, ERK1/2 については共同研究者の R. Sanders Williams 教授（Duke University）より、各種ドミナントネガティブおよび恒常活性型のベクター供与を受け、それらを上記の細胞に導入することにより、p38 MAPK シグナルの関与を検討する。また共同研究者の牛田多加志教授（東京大学医学系研究科）の知見では、メカニカルストレスによって Ca<sup>2+</sup>ばかりでなく、IP<sub>3</sub> も変化するため、その上流の PLC の関与を アレスチンと GFP の融合タンパクを用いて同様に検討する。

## 4. 研究成果

メカニカルストレスが PGC-1 の転写調節を行うシグナル伝達経路を追う過程で、メ

カニカルストレス誘導性の細胞内シグナル伝達経路を複数同定した。この研究を通じて、ある程度メカニカルストレス誘導性のシグナル伝達経路を特定できたこと（*J Biol Chem*, 2008; *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008; *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006）は、メカニカルストレスによって間葉系細胞の分化・成熟を制御するうえで有意義であると考えられる。

また、本研究を遂行中に偶然、メカニカルストレス誘導性のマイクロ RNA（miRNA）を同定した。このストレス誘導性 miRNA を培養筋細胞、およびマウス個体で強制発現させることにより、デキサメタゾン依存性の筋萎縮が完全に抑制された（2008 年アメリカ生化学会 (IBE) にて発表し、Research Recognition Award 受賞）。我々は、さらにこの miRNA の標的遺伝子を同定し、大まかな機能解析を終え、特許出願および現在論文投稿中である。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 9 件）

T. Akimoto, P. Li, Z. Yan. Functional interaction of regulatory factors with the Pgc-1 promoter in response to exercise by *in vivo* imaging. *Am J Physiol Cell Physiol*, 295(1), 288-292, 2008（査読有）

A. A. Wooldridge, C. N. Fortner, B. Lontay, T. Akimoto, R. L. Neppl, C. Facemire, M. B. Datto, A. Kwon, E. McCook, P. Li, S. Wang, R. J. Thresher, S. E. Miller, J. Perriard, T. P. Gavin, R. C. Hickner, T. M. Coffman, A. V. Somlyo, Z. Yan, T. A. Haystead. Deletion of the PKA/PKG target SMTNL1 promotes an exercise-adapted phenotype in vascular smooth muscle. *J Biol Chem*, 283(17), 11850-11859. 2008（査読有）

T. Akimoto, M. Kawanishi, T. Ushida. Mechanical stress and tissue engineering. *Clin Calcium*, 18(9), 1313-1320, 2008（査読なし）

秋本崇之, 牛田多加志. 物理刺激. 遺伝子医学 MOOK 別冊, (in press)（査読無）

秋本崇之, 和田正吾. 骨格筋のミトコンドリア・バイオジェネシスと PGC-1. 体

育の科学, 57(5), 345-350, 2007 (査読無)

Z. Yan, P. Li, T. Akimoto. Transcriptional control of the Pgc-1 gene in skeletal muscle in vivo. *Exerc Sport Sci Rev*. 2007 Jul;35(3):97-101. (査読有)

M. Kon, K. Tanabe, F. Kimura, H. S. Lee, T. Akimoto, I. Kono. Eccentric muscle contraction induces greater oxidative stress in skeletal muscle than concentric contraction. *Appl Physiol, Nutrition Metabolism*, 32(2), 273-281, 2007 (査読有)

M. Kon, F. Kimura, T. Akimoto, K. Tanabe, Y. Murase, S. Ikemune, I. Kono. Effect of Coenzyme Q10 supplementation on exercise-induced muscular injury of rats. *Exerc Immunol Rev*, 13:76-88, 2007 (査読有)

P. Li, T. Akimoto, M. Zhang, R. S. Williams, Z. Yan. Resident stem cells are not required for exercise-induced fiber type-switching and angiogenesis, but required for activity-dependent muscle growth. *Am J Physiol Cell Physiol*, 290(6):C1461-1468, 2006 (査読有)

[学会発表](計 16 件)

秋本崇之, 和田正吾, 相澤勝治, 牛田多加志. 筋収縮/メカニカルストレスによる PGC-1 $\alpha$  転写活性化のメカニズム. 第 63 回日本体力医学会学術総会, 別府, 2008.9.18

和田正吾, 奥津光晴, 鈴木克彦, 牛田多加志, 秋本崇之. ストレス誘導性 miR-23a は atrogen-1 の転写後制御を介して骨格筋萎縮を抑制する 第 63 回日本体力医学会学術総会, 別府, 2008.9.19

S. Wada, Y. Kato, M. Okutsu, S. Miyaki, K. Suzuki, H. Asahara, T. Ushida, T. Akimoto. Stress responsive miR-23a attenuates skeletal muscle atrophy by targeting MAFbx /Atrogin. APS Meeting Integrative Biology of Exercise, Hilton Head, 2008.9.26

T. Akimoto, P. Li, Z. Yan. Functional interaction of regulatory factors with the Pgc-1 promoter in response to

exercise by in vivo imaging. APS Meeting Integrative Biology of Exercise, Hilton Head, 2008.9.25

K. Aizawa, M. Iemitsu, S. Maeda, K. Sato, T. Otsuki, T. Ushida, N. Mesaki, T. Akimoto. Exercise stimulates local bioactive androgen metabolism in skeletal muscle. APS Meeting Integrative Biology of Exercise, Hilton Head, 2008.9.27

T. Akimoto. Exercise-induced transcriptional control of PGC-1 $\alpha$  in skeletal muscle. 9th Annual Meeting of Korean Association of Certificated Exercise Professionals Daegu, 2008.6.22 (invited)

秋本崇之. 筋収縮/メカニカルストレスによる PGC-1 $\alpha$  転写活性化のメカニズム. 名取禮二記念 筋肉の構造と機能のシンポジウム, 東京, 2008.3.24

秋本崇之, 牛田多加志, 味八木茂, 赤荻博, 槌谷宏平, Z. Yan, R. S. Williams, 立石哲也. ストレッチによる脂肪分化抑制の新たな分子メカニズム. 第 34 回日本臨床バイオメカニクス学会, 東京, 2007.12.7

M. Kon, K. Tanabe, F. Kimura, H. S. Lee, T. Akimoto, I. Kono. Eccentric muscle contraction induces greater oxidative stress in skeletal muscle than concentric contraction. 8th symposium of International Society of Exercise and Immunology, Sendai, 2007.10.26

秋本崇之. ストレッチによる脂肪分化抑制の新たな分子メカニズム. シンポジウム 10「生活習慣病に対する運動の効用 - そのメカニズムを分子レベルで紐解く - 」, 第 62 回日本体力医学会学術総会, 秋田, 2007.9.15

今 有礼, 木村文律, 田辺 解, 秋本崇之, 河野一郎. コエンザイム Q10 投与が高強度運動後の酸化ストレスに及ぼす影響, 第 62 回日本体力医学会学術総会, 秋田, 2007.9.15

和田正吾, 奥津光晴, 鈴木克彦, 牛田多加志, 秋本崇之. 熱ストレスが骨格筋萎縮に与える影響, 第 62 回日本体力医学会学術総会, 秋田, 2007.9.15

秋本崇之, 槌谷宏平, 味八木茂, 浅原弘嗣, 牛田多加志. 関節内靭帯の網羅的遺伝子発現解析. 第 62 回日本体力医学会学術総会, 秋田, 2007.9.16

T. Akimoto, S. C. Pohnert, P. Li, M. Zhang, C. E. Gumbs, P. B. Rosenberg, R. S. Williams, Z. Yan. Exercise stimulates PGC-1 transcription in skeletal muscle through activation of the p38 MAPK pathway. 14th Meeting of International Research Group of Biochemistry of Exercise, Seoul, 2006.10.12 (invited)

秋本崇之. 骨格筋の有酸素運動適応における p38 MAPK の役割. シンポジウム 10 「分子でみる骨格筋の適応メカニズム」, 第 61 回日本体力医学会学術総会, 神戸, 2006.9.24

今有礼, 田辺解, 谷村祐子, 清水和弘, 木村文律, 秋本崇之, 河野一郎. コエンザイム Q10 摂取が合宿期における大学剣道選手の筋損傷と酸化ストレスに及ぼす影響. 第 61 回日本体力医学会学術総会, 神戸, 2006.9.24

#### 〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

秋本崇之, 牛田多加志, 和田正吾. 抗筋萎縮剤. (特許出願中, 特願 2009-28836)

取得状況 (計 0 件)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

秋本 崇之 (AKIMOTO TAKAYUKI)  
東京大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号: 00323460

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし