

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：33303

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06446・19K21517

研究課題名(和文)細胞ストレス応答の解析から迫る「疲労」の分子細胞生物学的実態

研究課題名(英文)Molecular analysis of cellular stress response in fatigue model mice

研究代表者

赤井 良子 (AKAI, Ryoko)

金沢医科大学・総合医学研究所・助手

研究者番号：60823317

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：私たちは哺乳動物の生体防御機構に興味を持ち、この十数年にわたって細胞レベルで感知されるストレスの応答機構を研究してきた。その過程で4種の細胞ストレスを生体レベルで視覚化できるモデルマウスの開発に成功しており、様々な疾患との関連性を見出してきた。最近になり細胞ストレスや炎症と疲労との間に何らかの関連性があると考えられているが、その詳細はほとんど解明されていない。しかし本研究から疲労負荷によってIRE1を介した小胞体ストレス応答とATF4を介した統合ストレス応答およびIL-1を介した炎症反応が副腎で活性化することを突き止めることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は疲労が生じる際や回復する際の仕組みを分子/細胞生物学的観点から解明することにアプローチするべく行われてきた。疲労に苦しむ人々は非常に多く、これは現代社会において決して無視できない大きな問題であり、その解決の糸口となることを目指していることが本研究の大きな意義である。この研究から明らかになることが単に基礎的な生命科学へ貢献するだけでなく、疲労が生む社会問題(健康障害から事故・自殺に至るまで)に対する解決への糸口になる可能性を十分に含んでいる。

研究成果の概要(英文)：We are interested in mechanisms of biological defense, and have researched them for the last dozen years. Until now we have developed some model mice for imaging analysis of cellular stresses in vivo, and found relationship with various diseases. Cellular stress and inflammation are recently thought to have some connection to "fatigue", but it is poorly understood. Here we applied fatigue loading (sleep deprivation) to our model mice, and analyzed these stress responses by in vivo imaging. As results, we can discovered that ER stress response (IRE1), integrated stress response (ATF4), and inflammatory response (IL-1) were activated in the adrenal glands by sleep deprivation.

研究分野：実験動物学

キーワード：疲労 ストレス 生体イメージング

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

古くから今日に至るまで疲労研究は心療内科学、栄養学、感染学、免疫学、睡眠学、脳神経科学など様々な視点から行われてきた。その甲斐あって疲労を科学的に評価する方法は確立されつつあり、血中の酸化ストレス度や唾液中のヘルペスウイルス数などは疲労の指標となっている。また以前には信じられていた学説も訂正されつつある。例えば、無酸素運動時に筋肉組織中で生じる代謝産物の乳酸は疲労を生じさせるかのような誤解があったが、現在では乳酸にそのような機能は備わらないことが確認されている。その一方で未だに疲労の実態を理解することはできておらず、誰しもが感じる疲労の発生/回復メカニズムはほとんど分かっていない。その大きな理由として応募者は疲労研究への分子生物学および細胞生物学的な取り組みが弱いからだと考えた。

また疲労しない人間はいないと言っても過言ではないほど、私たちは日々の仕事や運動で疲労する。現代社会においては過度な疲労が原因となり心身の健康を崩す人も多い。にもかかわらず疲労研究は不十分であり、ぜひとも自身が培ってきた技術や知見を役立てながら、その理解に迫りつつ疲労が抱える問題の解決に貢献したいと考えている。私たちは最近になりストレス研究の一環として eIF2 α とよばれる分子のリン酸化制御に着目しており、そのリン酸化状態を生体イメージング解析できるマウスの開発に成功したところである。とても興味深いことに「ラットを用いた疲労実験で eIF2 α のリン酸化状態が変化する」との報告を研究開始の前年に日本疲労学会で聞き、私たちは研究のエフォート比重を疲労へ傾けることにした。

研究が遅れている一方で、疲労回復を謳った健康グッズやドリンク剤などは世間に溢れており、現代人の疲れを癒したい思いが強く表れている。しかし大抵のドリンク剤にはカフェインが入っていて、疲労により生じた眠気を覚ましていて、かえって疲労問題を悪化させる原因になっており、疲労自体や疲労回復の研究が人間社会に急務であると私たちは実感していた。

2. 研究の目的

前述の背景および問題をうけて本研究では疲労が生じる際や疲労が回復する際のカラダの仕組みを分子生物学および細胞生物学のレベルで解明することに目標を定めた。ただ「分子生物学および細胞生物学のレベルで」と言っても、あまりに漠然とした研究では上手くいかないことが予想された。そこで私たちは細胞ストレス応答や炎症反応で機能する分子や細胞の働きと疲労との関連性に着眼して研究を進めた。これら細胞ストレス応答や炎症反応は生体内で生じる異常からカラダを守るために生き物が有する防御反応であり、疲労と密接な関係にあっても不思議ではない。加えて私たちは今日まで 20 年近く細胞ストレス応答や炎症反応を研究しており、その間に培った独自の手法や知見を本研究に注ぐことができた。また重要なのは、この研究から明らかになることが単に基礎的な生命科学へ貢献するだけでなく、疲労が生む社会問題（健康障害から事故・自殺に至るまで）に対する解決への糸口になる可能性を十分に含んでいることであると考えた。

3. 研究の方法

本研究では細胞ストレス応答や炎症反応に焦点を絞り、疲労の分子メカニズムに迫ることを一つの目的にしていた。その目的を達成するために、まず私たちは独自に開発した 4 種類 (ERAI、UMAI、OKD48、および IDOL) の遺伝子組換えマウスを利用した。これらのマウスは異なるストレスに応答して発光する性質を有しており、その発光を検出できる装置を使えば、マウスを生かしたままで特定のストレス応答分子が「いつ」「どこで」活性化するか調べられる。実際には各マウスへの疲労負荷期間は 1 週間を計画していて、その間は 1 日おきに生体イメージング評価として発光シグナルを全身で測定した。実験終了時には質量分析機や次世代シーケンサーを用いたオミックス解析も行えるように血液の採取および各種臓器から RNA の抽出を行った。マウスへの疲労負荷では一般に強制水泳や浸水飼育などの処置が施されることが多い。これらの処置を私たちも事前に試したところ、負荷が大きすぎて恐怖体験や体温低下の影響が心配された。そこで本研究では、睡眠不足（過酷な断眠とは異なる）が良い疲労負荷モデルになると考えて、メルクエスト社の睡眠障害ケージを利用することにした。このケージにおいてマウスは、餌や水を自由に摂れるが、常に回転カゴ内で過ごすことになる。回転カゴは抵抗の極めて小さい軸で支えられているため、少しでも動くと「ゆらゆら」してマウスの不眠時間が増すようになっている。ちなみにマウスを回転カゴに馴化させるために実験直前の 1 週間は回転カゴに出入り自由なケージで飼育する。また非睡眠障害のコントロール実験でも同じく回転カゴに出入り自由なケージを用いる。各実験区分で使用するマウス数は雌雄 8 匹ずつとし、1 実験期間（2 週間）ごとに解析するマウス数を 4 匹とした。

4. 研究成果

上述の方法を用いた解析から疲労負荷によって IRE1 を介した小胞体ストレス応答と ATF4 を介した統合ストレス応答および IL-1 β を介した炎症反応が副腎で活性化することが分かった。一方で酸化ストレス応答については調べた限り断眠との関連性が見出せなかった。加えて副腎以外では小胞体ストレス応答や統合ストレス応答および炎症反応も活性化しなかった。さらに副腎から RNA を抽出して幾つかの遺伝子について発現動態を解析したところ、小胞体ストレス

応答遺伝子の発現が有意に高まっていた。これらの結果は副腎でのホルモン産生または分泌に小胞体ストレス応答機構が関与している可能性を示唆する。なお本成果については第 66 回日本実験動物学会総会で発表している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 岩脇隆夫, 赤井良子	4. 巻 32
2. 論文標題 小胞体ストレスの生体イメージング	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 THE BONE	6. 最初と最後の頁 171 ~ 177
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 無
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 Urra H, Henriquez DR, Canovas J, Villarroel-Campos D, Carreras-Sureda A, Pulgar E, Molina E, Hazari YM, Limia CM, Alvarez-Rojas S, Figueroa R, Vidal RL, Rodriguez DA, Rivera CA, Court FA, Couve A, Qi L, Chevet E, Akai R, Iwawaki T, Concha ML, Glavic A, Gonzalez-Billault C, Hetz C	4. 巻 20
2. 論文標題 IRE1 governs cytoskeleton remodelling and cell migration through a direct interaction with filamin A	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Cell Biology	6. 最初と最後の頁 942 ~ 953
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41556-018-0141-0	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 該当する
1. 著者名 Sekiguchi A, Motegi SI, Uchiyama A, Uehara A, Fujiwara C, Yamazaki S, Perera B, Nakamura H, Ogino S, Yokoyama Y, Akai R, Iwawaki T, Ishikawa O	4. 巻 90
2. 論文標題 Botulinum toxin B suppresses the pressure ulcer formation in cutaneous ischemia-reperfusion injury mouse model: Possible regulation of oxidative and endoplasmic reticulum stress	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 144 ~ 153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jderm.2018.01.006	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 該当する
1. 著者名 Sekiguchi A, Motegi SI, Fujiwara C, Yamazaki S, Inoue Y, Uchiyama A, Akai R, Iwawaki T, Ishikawa O	4. 巻 96
2. 論文標題 Inhibitory effect of kaempferol on skin fibrosis in systemic sclerosis by the suppression of oxidative stress	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 8-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jderm.2019.08.004	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 Nakamura H, Sekiguchi A, Ogawa Y, Kawamura T, Akai R, Iwawaki T, Makiguchi T, Yokoo S, Ishikawa O, Motegi SI	4. 巻 95
2. 論文標題 Zinc deficiency exacerbates pressure ulcers by increasing oxidative stress and ATP in the skin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 62-69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2019.07.004	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4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 赤井良子、岩脇隆夫
2. 発表標題 ATF4の翻訳活性化機構を利用した統合ストレス可視化モデルマウスの開発
3. 学会等名 住商ファーマインターナショナル株式会社in vivoイメージングフォーラム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤井良子、岩脇隆夫
2. 発表標題 ATF4の翻訳活性化機構を利用した統合ストレス可視化モデルマウスの開発と疲労研究への応用
3. 学会等名 第14回日本疲労学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤井良子、岩脇隆夫
2. 発表標題 ATF4の翻訳活性化機構を利用した統合ストレス可視化モデルマウスの開発
3. 学会等名 第65回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤井良子、岩脇隆夫
2. 発表標題 睡眠不足モデルマウスにおける細胞ストレス応答と炎症反応の生体イメージング
3. 学会等名 第65回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

http://mri-cell-medicine.kanazawa-med.labos.ac/one/ http://www.kanazawa-med.ac.jp/~souiken/ls/dcm/
--

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	岩脇 隆夫 (IWAWAKI Takao) (50342754)	金沢医科大学・総合医学研究所・教授 (33303)	