

令和 3 年 8 月 21 日現在

機関番号：32672

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24323

研究課題名（和文）活動制限に伴う骨格筋リボソーム量の減少は、廃用性筋萎縮の原因となりうるか？

研究課題名（英文）Does the decrease in ribosome volume induce skeletal muscle atrophy?

研究代表者

小谷 鷹哉（KOTANI, Takaya）

日本体育大学・体育学部・助教

研究者番号：60849727

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：骨格筋萎縮が誘導される際のリボソーム分解系の変化を明らかにすることが本研究の主たる目的である。マウスを対象に坐骨神経切除や下肢のギプス固定を行い、腓腹筋の廃用性筋萎縮を誘発した結果、両萎縮モデルにおいてリボソーム分解に関わるタンパク質の発現亢進およびリボソーム量の減少が確認された。しかし、培養筋管細胞を対象にデキサメタゾンで筋管細胞の萎縮を誘発する条件で、リボソーム分解に関わるタンパク質をsiRNAの導入により発現抑制したところ、むしろリボソーム量の減少を引き起こす結果となった。今後、骨格筋の活動制限におけるリボソーム分解に関わるタンパク質の役割をさらに解明する必要があることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

廃用性筋萎縮の予防・改善は健康に生きていく上で必要不可欠なものである。近年、筋力トレーニングによる筋肥大にリボソーム量の増加が重要となることが明らかとなっており、本研究は世界に先駆けてこの最新の知見を廃用性筋萎縮に応用した研究である。骨格筋の活動制限によるリボソームの分解に関わるタンパク質の発現亢進がリボソーム量に影響するといった結果も一部示され、廃用性筋萎縮のメカニズム解明につながるものが期待される。

研究成果の概要（英文）：The main purpose of this study is to clarify the changes in the ribosomal degradation system during the induction of skeletal muscle atrophy. We induced disuse atrophy of the gastrocnemius muscle in mice by sciatic nerve resection and casting of the lower limbs. We found increased expression of proteins involved in ribosome degradation and decreased ribosome volume in both atrophy models. However, when the expression of ribosomal degradation proteins was suppressed by siRNA in cultured myotube cells under conditions in which dexamethasone-induced atrophy, the ribosomal content was reduced. The role of ribosomal degradation proteins in disuse skeletal muscle needs to be further elucidated in the future.

研究分野：分子生物学

キーワード：廃用性筋萎縮 骨格筋萎縮 リボソーム分解

## 1. 研究開始当初の背景

骨格筋量の保持・増進が健康維持には重要となる。一方で、骨格筋は非常に可塑性が高く、怪我や長期臨床などにより骨格筋の活動量が低下すると、骨格筋は萎縮する(廃用性筋萎縮)。そのため、効果的な廃用性筋萎縮の予防・改善方法の開発が必要であり、そのためには筋萎縮メカニズムの詳細な解明が必要となる。骨格筋萎縮の原因の1つとして、筋量を正に制御する筋タンパク質合成の低下が挙げられる。近年、筋タンパク質合成速度にタンパク質の翻訳の場であるリボソームの量が影響することが明らかとなってきた。一方で、骨格筋への力学的負荷の減少および活動量の低下は、リボソーム合成の低下およびリボソーム量の減少を引き起こすことが明らかとなっている。一方で、廃用性筋萎縮におけるリボソーム分解系の変化は未だ明らかとなっていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、骨格筋の活動制限によるリボソーム量の減少メカニズムの解明を目指して、リボソーム分解に関わるタンパク質の変化を検討した。

## 3. 研究の方法

### 絶食がマウス骨格筋のリボソーム分解系に及ぼす影響の検討

まずリボソームの分解が亢進することが培養細胞を対象とした研究で明らかとされている絶食条件で、マウス生体の骨格筋のリボソーム分解系に関わるタンパク質の発現を検討した。雄性の C57/BL6J マウスを通常飼育群(n=6)と 24 時間絶食群(n=6)に分け、腓腹筋を対象に解析を行った。

### マウスの骨格筋を対象とした廃用性筋萎縮におけるリボソーム分解系の変化の検討

マウスの坐骨神経を切除することで腓腹筋の廃用性筋萎縮を引き起こすモデルでリボソーム分解系に関わるタンパク質の発現の変化を検討した。雄性の C57/BL6J マウスを偽手術群(n=6)と坐骨神経切除群(n=6)に分け、手術後 3 日後と 7 日後に腓腹筋を解析した。加えて、より臨床に近いとされているギプスによるマウスの下肢固定モデルでも同様に検証した。雄性の C57/BL6J マウスを通常飼育群(n=6)とギプスによる下肢固定群(n=6)に分け、腓腹筋を対象に解析を行った。

### マウスの骨格筋におけるリボソーム分解に関わるタンパク質の過剰発現がリボソーム量および骨格筋量に及ぼす影響の検討

リボソーム量の減少および廃用性筋萎縮が誘導される際にリボソーム分解系に関わるタンパク質の発現が亢進することから、遺伝子工学の技術を用いて通常飼育のマウス骨格筋にリボソーム分解に関わるタンパク質を過剰発現させ、同様の減少が観察されるか否かを検証した。雄性の C57/BL6J マウスを対照群(n=6)と過剰発現群(n=6)に分け、腓腹筋を対象に解析を行った。

## 培養筋管細胞におけるリボソーム分解に関わるタンパク質の発現抑制がリボソーム量に及ぼす影響の検討

培養筋管細胞(C2C12)を対象に、siRNA の導入によりリボソーム分解に関わるタンパク質の発現を抑制を行った。またデキサメタゾンの投与により筋管細胞の萎縮を誘発する条件も追加で行った。

### 4 . 研究成果

絶食により骨格筋のリボソーム量の減少およびリボソーム分解系に関わるタンパク質の発現の亢進が観察された。この結果より、リボソーム分解系の評価手法の妥当性および、生体の骨格筋においても絶食によりリボソーム量が急速に減少する際にリボソーム分解系が亢進することが示された。

坐骨神経切除により腓腹筋のリボソーム量の減少およびリボソーム分解に関わるタンパク質の発現亢進が観察された。ギプス固定によりリボソーム量の減少およびリボソーム分解に関わるタンパク質の発現亢進が観察された。これらの結果より、マウスにおいて廃用性筋萎縮によるリボソーム量の減少には、リボソーム分解系の亢進が関与している可能性が示された。

まず過剰発現が腓腹筋内で誘導されているかについては、GFP タンパク質の発現の観察により確認できた。続いて、リボソーム分解に関わるタンパク質の過剰発現も観察されたが、リボソーム量および骨格筋重量については対照群と過剰発現群の間に差は観察されなかった。本研究では、リボソーム分解に関わるタンパク質を過剰発現することでリボソーム量の減少および筋重量の低下が誘発されると仮説を立てていたが、反する結果となった。その原因として、リボソーム分解に関わるタンパク質が多く存在しているだけでは大きな影響は出ない可能性が考えられる。今後の研究では、リボソーム分解に関わるタンパク質を過剰に発現させた条件で、萎縮誘導によるリボソームの減少および筋重量の減少を比較検討していく。

分化培地中でのリボソーム分解に関わるタンパク質の発現抑制は、リボソーム量に影響を及ぼさなかった。一方で、デキサメタゾン投与条件でのリボソーム分解に関わるタンパク質の発現抑制は、リボソーム量を減少させる結果となった。萎縮誘導によりリボソーム分解に関わるタンパク質の発現が亢進しリボソーム量の減少が観察されることから、リボソーム分解に関わるタンパク質の発現を抑制すればリボソーム量の減少は抑制されると考えていたが、反する結果となった。これらの結果より、リボソーム分解に関わるタンパク質は萎縮誘導によるリボソーム量の減少にプロテクティブな働きをしている可能性などが新たに考えられる。今後、さらにタンパク質の役割を詳細に解明し、リボソーム量の減少メカニズムを明らかにしていく。

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 Takaya Kotani, Junya Takegaki, Ryo Takagi, Koichi Nakazato, Naokata Ishii	4. 巻 126
2. 論文標題 Consecutive bouts of electrical stimulation-induced contractions alter ribosome biogenesis in rat skeletal muscle.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology (1985)	6. 最初と最後の頁 1673-1680
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/jappphysiol.00665.2018	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小谷鷹哉, 田村優樹, 鴻崎香里奈, 中里浩一, 石井直方
2. 発表標題 単回のレジスタンス運動における運動容量がラット骨格筋リボソーム量に及ぼす効果
3. 学会等名 日本筋学会 第5回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小谷鷹哉, 加藤光, 田村優樹, 鴻崎香里奈, 中里浩一, 石井直方
2. 発表標題 高容量のレジスタンス運動が骨格筋リボソーム合成に及ぼす影響
3. 学会等名 第74回 日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小谷鷹哉
2. 発表標題 ギプス固定に伴う骨格筋萎縮メカニズムの検討ーリボソーム量の減少に着目してー
3. 学会等名 第28回 日本柔道整復整骨医学会 学術大会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------