

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20700559

研究課題名（和文） 骨格筋萎縮シグナルにおける PKC δ の役割研究課題名（英文） The role of PKC δ on signal transduction of muscle atrophy

研究代表者

田村 好史 (Tamura Yoshifumi)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：80420834

研究成果の概要(和文):

【目的】廃用性筋萎縮における PKC δ の役割を明らかにする。【方法】PKC δ ノックアウトマウスを用いて、後肢懸垂を行い、下肢骨格筋の萎縮並びに筋サイズに関わるシグナルの検討を行った。【結果】WT マウスに比べて、PKC δ ノックアウトマウスではヒラメ筋の湿重量が低下していた。また後肢懸垂による萎縮においては、WT,KO 間で差を認めなかった。【結語】PKC δ は平常時ヒラメ筋のサイズ制御に関わっている可能性が示唆されたが、廃用性筋萎縮への関与は低いことが示唆された。

研究成果の概要(英文):

(Aim) To clarify the role of PKC-delta on disuse muscle atrophy. (Method) We investigated muscle atrophy and signal transduction of hind-limb model in PKC-delta KO mice. (Result) In PKC-delta KO mice, weight of soleus muscle was lower than those in control mice. Muscle atrophy induced by hind-limb was similar between the groups. (Conclusion) Our result suggested that PKC-delta may contribute to the size of soleus muscle, while it may not affect on disuse muscle atrophy.

交付決定額

(金額単位:円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2008 年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 2009 年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 2010 年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野:総合領域

科研費の分科・細目:健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード:筋萎縮・インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

骨格筋は、極めて可塑性の高い組織である。不使用・不活動による骨格筋の萎縮は廃用性筋萎縮と呼ばれ、怪我をしたスポーツ選手の現場復帰を遅らせる原因になっているほか、長期入院後の高齢者のQOLを著しく低下させたり、転倒の原因となっている。近年、廃用性筋萎縮の発症・進行に酸化ストレスが関与するという報告が相次いでいるが、酸化ストレスがどのようにして廃用性筋萎縮という表現系を引き起こしているかは明らかにされていない。Protein kinase C delta (PKC δ)は、様々な細胞系・組織において酸化ストレスによって活性化され、酸化ストレスによる様々な生命現象に関与しているため、レドックスセンサーと考えられている。そこで、我々は酸化ストレスによる廃用性筋萎縮においても、PKC δ が関与すると仮説し、検証を行った。

2. 研究の目的

本研究の目的は、PKC δ が廃用性筋萎縮に関与しているかどうかを、PKC δ ノックアウトマウスを用いて明らかにすること、また、その分子機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究には、PKC δ ノックアウト(KO)マウス、並びにワイルドタイプ(WT)マウスを用いて行った。

まず、遺伝子欠損により、骨格筋に変化が生じるかを検討した。WT, KO マウスからヒラメ筋、足底筋、腓腹筋を摘出し、筋湿重量、筋線維横断面積を測定した。また、活性染色によりタイプ I 線維、タイプ II 線維を視覚化し、線維ごとの横

断面積の測定も行った。

次に、廃用性筋萎縮における PKC δ の関与を検討するため、WT, KO マウスに 1,3,7,14 日間の後肢懸垂を施し、筋湿重量、肥大・萎縮に関与するシグナル経路 (Akt-mTOR, JNK) の検討、筋タンパク質の分解に関与する E3 ユビキチンリガーゼである MAFbx, MuRF1 の発現量の検討を行った。さらに、同様の検討を、異なる筋萎縮モデルであるギプス固定においても行った。

4. 研究成果

WT, KO マウスの骨格筋において、足底筋、腓腹筋では、両群間で筋湿重量、筋線維横断面積に差は認められなかった。しかしながら、ヒラメ筋においては、KO マウス群で有意な筋湿重量の減少が認められた。また、ヒラメ筋においては、筋線維横断面積にも減少が認められ、その減少はタイプ I 線維の方が、タイプ II 線維に比べてより著明であった。これらのことから、PKC δ はタイプ I 線維において、通常時のサイズ維持に関与していることが示唆された。

次に、WT, KO マウスに 1 日~14 日の後肢懸垂を施し、骨格筋の萎縮を検討したところ、ヒラメ筋、足底筋、腓腹筋の萎縮の程度は WT, KO 群間で差は認められず、同程度萎縮した。肥大・萎縮に関与するシグナル経路に関しても、WT, KO マウス間で差は認められず、さらに後肢懸垂による E3 ユビキチンリガーゼである MAFbx, MuRF1 の遺伝子発現増加においても、WT, KO マウス間で差は認められなかった。

また、異なる萎縮モデルであるギプス固定による筋萎縮においても、WT, KO マウス間で差は認められなかった。

これらのことから、PKC δ は廃用性筋萎縮への関与は低いことが示唆された。

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 10 件)

1. Sakurai Y, Tamura Y, Takeno K, Sato F, Fujitani Y, Hirose T, Kawamori R, Watada H: Association of T2 relaxation time determined by magnetic resonance imaging and intramyocellular lipid contents of the soleus muscle in healthy subjects
J Diabetes Invest in press, 2010
2. Tamura Y, Watada H, Tanaka Y, Daimaru N, Nomiyama T, Sakuraba K, Sawaki K, Kawamori R: Preliminary report: mitochondrial DNA 5178 polymorphism in male elite Japanese endurance runners. *Metabolism* 59:62–63, 2010
3. Sakurai Y, Tamura Y, Takeno K, Kumashiro N, Sato F, Kakehi S, Ikeda S, Katamoto S, Ogura Y, Saga N, Naito H, Fujitani Y, Hirose T, Kawamori R, Watada H: Determinants of intramyocellular lipid accumulation after dietary fat loading in non-obese men. *J Diabetes Invest* in press, 2010
4. Kubota A, Sakuraba K, Koh S, Ogura Y, Tamura Y: Blood flow restriction by low compressive force prevents disuse muscular weakness. *J Sci Med Sport*, 2010
5. Sumide T, Sakuraba K, Sawaki K, Ohmura H, Tamura Y: Effect of resistance exercise training combined with relatively low vascular occlusion. *J Sci Med Sport* 12:107–112, 2009
6. Tamura Y, Watada H, Sato F, Kumashiro N, Sakurai Y, Hirose T, Tanaka Y, Kawamori R:

Effects of metformin on peripheral insulin sensitivity and intracellular lipid contents in muscle and liver of overweight Japanese subjects. *Diabetes Obes Metab* 10:733–738, 2008

7. Tamura Y, Watada H, Igarashi Y, Nomiyama T, Onishi T, Takahashi K, Doi S, Katamoto S, Hirose T, Tanaka Y, Kawamori R: Short-term effects of dietary fat on intramyocellular lipid in sprinters and endurance runners. *Metabolism* 57:373–379, 2008
8. Tamaki M, Shimizu T, Kanazawa A, Tamura Y, Hanzawa A, Ebato C, Ito C, Yasunari E, Sanke H, Abe H, Kawai J, Okayama K, Matsumoto K, Komiya K, Kawaguchi M, Inagaki N, Watanabe T, Kanazawa Y, Hirose T, Kawamori R, Watada H: Efficacy and safety of modified Yale insulin infusion protocol in Japanese diabetic patients after open-heart surgery. *Diabetes Res Clin Pract* 81:296–302, 2008
9. Kumashiro N, Tamura Y, Uchida T, Ogihara T, Fujitani Y, Hirose T, Mochizuki H, Kawamori R, Watada H: Impact of oxidative stress and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha in hepatic insulin resistance. *Diabetes* 57:2083–2091, 2008
10. Kubota A, Sakuraba K, Sawaki K, Sumide T, Tamura Y: Prevention of disuse muscular weakness by restriction of blood flow. *Med Sci Sports Exerc* 40:529–534, 2008

[学会発表] (計 12 件)

1. Tamura Y.: Anatomic and functional imaging of the body: US-Japan Nutrition and Metabolism Panel Annual Symposium, Baton Rouge (US) 9–10, Nov. 2009
2. Tamura Y.: Diabetes and

- Exercise: Intramyocellular Lipid Accumulation and Insulin Sensitivity. The 15th Korea-Japan Symposium on Diabetes Mellitus Jeju (Korea), 20-21 Nov. 2009
3. **田村好史**: 運動不足・身体不活動と異所性脂肪蓄積: シンポジウム「運動不足・身体不活動と生活習慣病」第 65 回日本体力医学会 千葉(日本), 2010
 4. **田村好史**: 異所性脂肪からみた適切な運動のあり方: シンポジウム「体質改善を主眼においた最新の生活習慣病治療法開発」第 60 回体質医学会総会 熊本, 2010
 5. **田村好史**: 糖尿病の運動療法 -理論と実際-. In 第 44 回糖尿病学の進歩 大阪府大阪市(日本), 社団法人糖尿病学会, 2010
 6. **田村好史**: 新規インスリン抵抗性規定因子「脂肪負荷感受性仮説」の検証 - proton-MRS を用いた骨格筋細胞内脂質の研究から-. In 福岡大学グローバル FU プログラム 福岡県福岡市(日本), 2009
 7. **田村好史**: 肥満とは独立したインスリン抵抗性規定因子の解明. In 第 24 回東京臨床肥満研究会 東京都中央区(日本), 2009
 8. **田村好史**: 肝、骨格筋の糖の取り込みの評価法と細胞内脂肪脂質蓄積の関連性. In 第 43 回糖尿病学の進歩 長野県松本市(日本), 社団法人日本糖尿病学会, 2009
 9. **田村好史**: 糖尿病の運動療法 -理論と実際-. In 第 59 回日本体質医学会総会 東京都千代田区(日本), 日本体質医学会, 2009
 10. **田村好史** 他: ヒトにおける高脂肪食負荷が、骨格筋細胞内脂質蓄積とインスリン抵抗性発生に与える影響とその規定因子. In 第 64 回日本体力医学会 新潟県新潟市(日本), 2009
 11. **田村好史**: 肝、骨格筋、脂肪のインスリン抵

抗性と肝細胞内脂肪蓄積 - その因果関係と治療戦略 -. In 第 1 回 Metabolic-hepatology 研究会 宮城県仙台市(日本), Metabolic-hepatology 研究会, 2008

12. **田村好史**: 運動がインスリン抵抗性を改善するメカニズム. In 第四回宮崎県糖尿病運動療法研究会 宮崎宮崎市(日本), 宮崎県糖尿病運動療法研究会, 2008

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田村 好史 (TAMURA Yoshifumi)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号: 80420834