

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03362

研究課題名(和文) リン脂質の脂肪酸リモデリングによる骨格筋機能調節機構の解明

研究課題名(英文) Regulatory Mechanism of Skeletal Muscle Function by Fatty Acid Remodeling of Phospholipids

研究代表者

三浦 進司 (Miura, Shinji)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授

研究者番号：10342932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：リン脂質のアシル鎖は、筋線維タイプで異なるが、そのメカニズムや生理的役割は不明である。我々はマウス長趾伸筋(EDL)では、PC分子の大部分はパルミチン酸(16:0-PC)を含んでいたが、ヒラメ筋では、16:0-PCに加えて、27.9%のPC分子がステアリン酸(18:0-PC)を含んでいることを明らかにした。LPGAT1のノックアウトは、マウス骨格筋における18:0-PCと18:0-PEの量を減少させ、LPGAT1を介したPCとPEの筋線維特異的アシル鎖プロファイルの制御を説明した。骨格筋におけるLPGAT1発現の喪失は持久力に影響を及ぼすことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リン脂質は生体膜を構成する主要な脂質であるが、リン脂質に結合している脂肪酸種の制御に関する研究の歴史は浅く、組織レベルでの解明や組織の機能に及ぼす影響についての検討は遅れている。その理由として、脂質はゲノムに直接コードされないため解析が難しいことや、抗体を用いた検出が難しいことなどが考えられる。本研究課題では、骨格筋の筋線維タイプによるリン脂質分子種の相違を手がかりに、“生体を構成する脂質の質”と生体機能の関係性まで踏み込んだ解析を実施した。今回の研究成果は、栄養学における脂質の新たな意義を見出し、栄養学の新しい研究領域の開拓や新概念の提唱につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Although some studies have shown that acyl chain species in phospholipids differ among various muscle fiber types, the mechanisms and physiological roles underlying these differences are unclear. To investigate this, we analyzed PC and PE molecules in the murine extensor digitorum longus (EDL) and soleus muscles. In the EDL muscle, the vast majority of PC molecules contained palmitate (16:0-PC), while in the soleus muscle, in addition to 16:0-PC, 27.9% of PC molecules contained stearate (18:0-PC). LPGAT1 was highly expressed in the soleus as compared to the EDL muscle. LPGAT1 knockout decreased the amount of 18:0-PC and 18:0-PE in murine skeletal muscle, which explains the LPGAT1-mediated regulation of myofiber type-specific acyl chain profiles of PC and PE. Loss of LPGAT1 expression in the skeletal affects endurance capacity, suggesting that LPGAT1-mediated regulation of acyl chain profiles in phospholipids plays an important role in the physiological functions of the skeletal muscle.

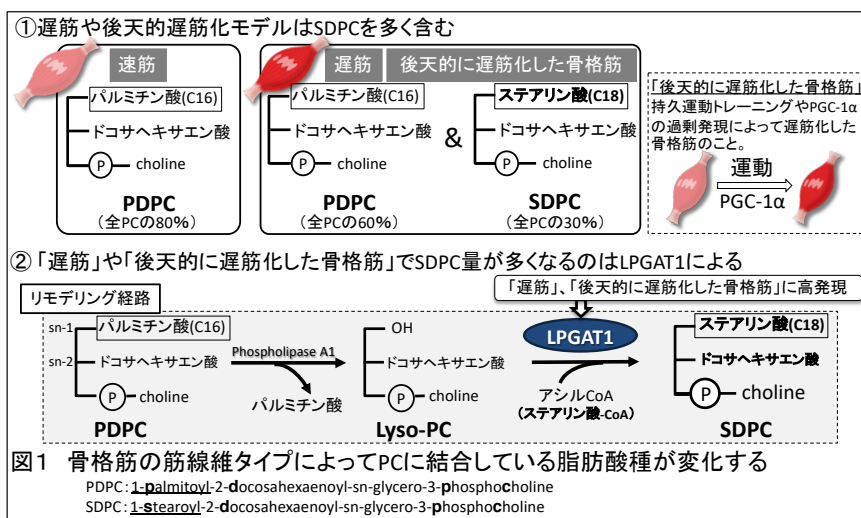
研究分野：分子栄養学

キーワード：リン脂質 リモデリング 骨格筋 遅筋線維 持久力

1. 研究開始当初の背景

生体膜の主要な構成成分である phosphatidylcholine (PC)は、グリセロール骨格に2つの脂肪酸が結合した構造を有し、結合している脂肪酸の種類(炭素数、二重結合の数)、およびその組み合わせによって数多くの分子種が存在する。この多様性が生体機能の制御に関与することが推察されているものの、その分子実体や機能制御のメカニズムについては不明な点が多い。骨格筋は収縮速度の違う速筋タイプと遅筋タイプの筋線維によって構成され、運動トレーニングや不活動などによりその性質を変化させるなど、他の臓器には無いユニークな性質を有している。これら筋線維タイプの違いや骨格筋性状の変化は、機能性タンパク質、構造タンパク質、ミトコンドリア、情報伝達系分子などの違いや変化によって説明されてきたが、筋細胞の大切な構成分子である脂質に関する情報は十分とは言えない。すなわち、筋線維タイプによってPCに結合する脂肪酸種が異なること、運動トレーニングに伴い特定の脂肪酸を含む PC 量が増加することは知られているが、変化する PC 分子種をインタクトな状態で検出できていなかったため、PC 分子種の違いや変化が生じるメカニズム、PC 分子種の違いが筋機能とどのように関係しているのかは明らかにされていない。PC を代表とするグリセリン脂質は、グリセロール骨格に2つの脂肪酸と1つの極性基が結合しており、結合する脂肪酸や極性基の種類と組み合わせから約 1,000 種類の分子種が生体内に存在する。グリセリン脂質分子の多様性は、生体膜のダイナミックな動きや、受容体やチャネルなどの膜タンパク質の機能を制御すると指摘されており、骨格筋における PC 分子種の多様性形成機構とその生理的意義の理解は、生命秩序の原理を知る上で重要である。

以上の学術的背景より、骨格筋の筋線維タイプによる PC 分子種の違いが骨格筋の機能、特に速筋タイプと遅筋タイプの筋線維の収縮特性と何らかの関係があるので



はないかという「問い」に至った。申請者らはすでに、2019～2020年度の科学研究費「挑戦的研究(萌芽)」により、筋線維タイプによって存在量の異なる PC 分子種をインタクトな状態で検出し、PC 分子種の違いを制御する遺伝子を発見している。すなわち、マウス骨格筋に含まれる PC 分子種は、速筋では 1-palmitoyl-2-docosahexaenoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (PDPC)が約 80%であるのに対し、遅筋では PDPC が 60%に低下する代わりに、1-stearoyl-2-docosahexaenoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (SDPC)が 30%含まれることを見出した(未発表、図1-①)。また、持久運動トレーニングによって「後天的に遅筋化した骨格筋」においても SDPC 量が増加することが観察され、その増加には「遅筋化を促す転写共役因子 PGC-1α」が必要であることを明らかにした(図1-①)。さらに、PC 分子種の違いに影響する遺伝子のうち、「速筋」に比べ、「遅筋」と「後天的に遅筋

化した骨格筋」で発現量が変化した遺伝子を検索し、数種類の候補遺伝子を見出した。詳細な検討の結果、SDPC 量の違いを説明できる遺伝子は、リン脂質の sn-1 位に脂肪酸を導入するリゾリン脂質アシル基転移酵素 LPGAT1 であることを見出した(未発表、図1-②)。以上のことから、LPGAT1 による PC の sn-1 位に結合する脂肪酸のリモデリングが、遅筋特性の発揮や維持に重要な役割を果たしていることが疑われるが、その解明には至っていない。

2. 研究の目的

本研究課題では、遅筋に多く存在する SDPC が遅筋特性の発揮や維持にどのように貢献しているのかを明らかにし、「生体膜を構成する PC に結合している脂肪酸の種類が筋機能を調節する」という新規概念が成立するか否かを検証する。

3. 研究の方法

【課題1】遅筋線維に SDPC 量が多いのは LPGAT1 による PC のリモデリング促進が関与するのか: 申請者らは、全身性の LPGAT1 欠損マウス(LPGAT1-KO マウス)のヒラメ筋(遅筋線維を多く含む)において、野生型マウスに比べて SDPC 量が著しく低下し、PDPC 量が増加することを認めている(未発表)。そこで、遅筋線維に SDPC 量が多いのは LPGAT1 を介した PC の脂肪酸リモデリングの促進によることを明らかにする。

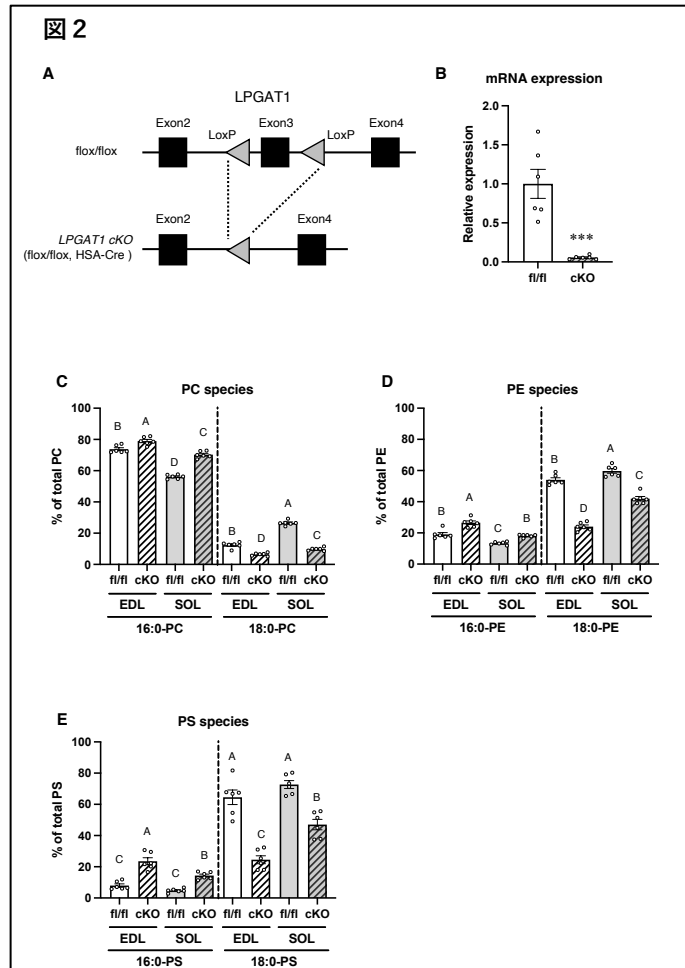
【課題2】LPGAT1 依存的な SDPC 量の変化は筋持久力維持に影響するのか: 申請者らは全身性の LPGAT1 欠損マウスにおいて、酸素摂取量や二酸化炭素排泄量には異常が認められない一方で、運動継続能力が著しく低下することを認めている(未発表)。そこで、骨格筋での LPGAT1 依存的な SDPC 量の変化が筋持久力や運動持久力に影響するか否かを明らかにする。

4. 研究成果

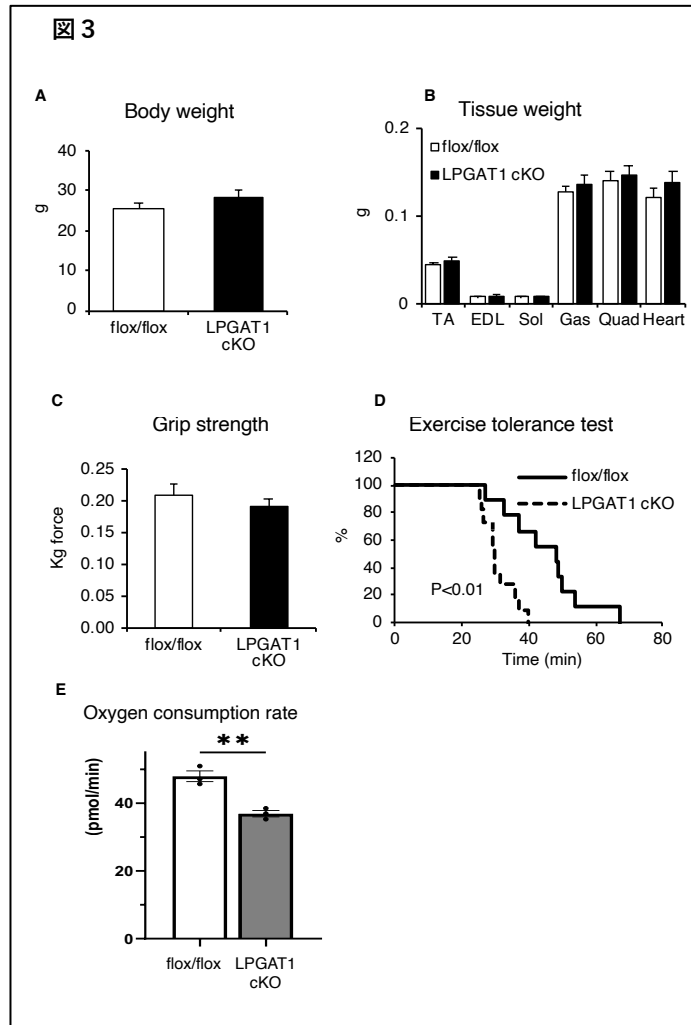
項目1:LPGAT1-cKOマウスの作

出と18:0-PC量の解析: ヒトα-アクチンプロモーター(HSA)によって骨格筋特異的にCreリコンビナーゼを発現した「HSA-Creマウス」を、「LPGAT1^(flox/flox)マウス(fl/fl)」と交配させ、LPGAT1-cKO(cKO)マウスを作出した。実験の対象群には、fl/flマウスを用いた(図2 A, B)。骨格筋を摘出し、LC-MSを用いて解析した結果、cKOマウスにおいて18:0-PC量の著しい低下を確認した(図2C)。この結果より、骨格筋において、LPGAT1が18:0-PC生成に大きく貢献していることが明らかになった。

項目2:LPGAT1-cKOマウスの表



現型解析: **18:0-PC**以外のリン脂質分子種の変化もLC-MSを用いて解析したところ、cKOマウスにおいて**1-stearoyl-2-docosahexaenoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (18:0-PE)**、**1-stearoyl-2-docosahexaenoyl-sn-glycero-3-phosphoserine (18:0-PS)**の著しい減少を認めた(図2D, E)。cKOマウスおよびfl/flマウスの体重、骨格筋重量に有意な差異は認められなかった(図3A, B)。さらに、四肢握力、運動継続能力を測定したところ、四肢握力には変化はなかったが、運動継続能力がcKOマウスで低下した(図3C, D)。次に、骨格筋より単離した骨格筋細胞におけるミトコンドリア呼吸鎖酵素活性を解析したところ、cKO由来ミトコンドリアにATP産生時の酸素消費量低下が認められた(図3E)。これら解析に



より**LPGAT1**が骨格筋に含まれるリン脂質性状に影響し、ミトコンドリア機能、運動継続能力の維持に関与することが示唆された。

項目3: LPGAT1-cKOマウス骨格筋のプロテオミクス解析: cKOマウスおよびfl/flマウスより、速筋線維を多く含む長趾伸筋、遅筋線維を多く含むヒラメ筋を各々摘出し、プロテオミクス解析を実施した。得られたデータについて、Gene Ontology解析を行ったところ、cKOマウスでは、**18:0-PC**量の減少とともにミトコンドリア呼吸鎖複合体Iを構成するタンパク質の存在量減少することが判明した。

結論

骨格筋において**18:0-PC**量の違いを説明できる遺伝子は**LPGAT1**であり、**LPGAT1**が特定のリン脂質のsn-1位にstearoyl基を導入することを見出した。また、骨格筋特異的**LPGAT1**欠損マウスにおいて、ミトコンドリア機能の低下とともに運動継続能力が低下することを認めており、**LPGAT1**によるPCのsn-1位に結合する脂肪酸のリモデリングが、遅筋特性の発揮や維持に重要な役割を果たしていることが疑われる。

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 1件）

1. 著者名 Sato Tomoki, Umebayashi Shuhei, Senoo Nanami, Akahori Takumi, Ichida Hiyori, Miyoshi Noriyuki, Yoshida Takuya, Sugiura Yuki, Goto-Inoue Naoko, Kawana Hiroki, Shindou Hideo, Baba Takashi, Maemoto Yuki, Kamei Yasutomi, Shimizu Takao, Aoki Junken, Miura Shinji	4. 巻 299
2. 論文標題 LPGAT1/LPLAT7 regulates acyl chain profiles at the sn-1 position of phospholipids in murine skeletal muscles	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 104848 ~ 104848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2023.104848	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 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 5件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 三浦進司、佐藤友紀
2. 発表標題 リン脂質クオリティと骨格筋機能
3. 学会等名 第76回日本栄養・食糧学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三浦進司、梅林脩平、佐藤友紀、妹尾奈波、赤堀拓、市田日和、三好規之、吉田卓矢、杉浦悠毅、井上菜穂子、川名裕己、進藤英雄、馬場崇、前本佑樹、亀井康富、清水孝雄、青木淳賢
2. 発表標題 LPGAT1によるリン脂質のアシル基リモデリングと骨格筋機能(1)
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miura, S., Sato, T., Miyoshi, N., Sugiura, Y., Goto-Inoue, N., Kawana, H., Shindou, H., Kamei, Y., Shimizu, T. and Aoki, J.
2. 発表標題 LPGAT1/LPLAT7-mediated regulation of acyl chain profiles in muscle phospholipids affects endurance capacity in mice.
3. 学会等名 22nd IUNS-International Congress of Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤友紀、曾我茜、市田日和、榛葉有希、三好規之、三浦進司
2. 発表標題 LPGAT1によるリン脂質のアシル基リモデリングと骨格筋機能(2)
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三浦進司、梅林脩平、佐藤友紀、妹尾奈波、赤堀拓、三好規之、杉浦悠毅、井上菜穂子、川名裕己、進藤英雄、亀井康富、清水孝雄、青木淳賢
2. 発表標題 骨格筋に含まれるリン脂質のアシル基プロファイル制御機序の解明と生理学的意義
3. 学会等名 第8回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 曾我茜、三浦菜穂、市田日和、赤堀拓、梅林脩平、妹尾奈波、三好規之、守田昭仁、亀井康富、川名裕己、青木淳賢、佐藤友紀、三浦進司
2. 発表標題 アシル基転移酵素LPGAT1による骨格筋でのリン脂質リモデリングが持久運動能力に及ぼす影響
3. 学会等名 第76回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三浦進司
2. 発表標題 骨格筋の脂質生物学 リン脂質と骨格筋機能
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第195例会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 三浦進司
2. 発表標題 外部環境への骨格筋適応に伴うリン脂質クオリティの変化
3. 学会等名 日本体力医学会特別大会 2023東京シンポジウムー（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Sato, T., Umebayashi, S., Senoo, N., Akahori, T., Ichida, H., Miyoshi, N., Yoshida, T., Morita, A., Sugiura, Y., Goto-Inoue, N., Kawana, H., Shindou, H., Baba, T., Maemoto, Y., Kamei, Y., Shimizu, T., Aoki, J., and Miura, S.
2. 発表標題 LPGAT1/LPLAT7 regulates acyl chain profiles at sn-1 position of phospholipids in murine skeletal muscle.
3. 学会等名 iSLS11(11th International Singapore Lipid Symposium) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 滝田紗恵、梅林脩平、佐藤友紀、妹尾奈波、赤堀拓、三好規之、杉浦悠毅、井上菜穂子、川名裕己、幡野敦、松本雅記、進藤英雄、亀井康富、清水孝雄、青木淳賢、三浦進司
2. 発表標題 LPGAT1/LPLAT7による骨格筋中リン脂質のアシル基リモデリング機構の解明とLPGAT1/LPLAT7欠損が骨格筋機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第65回日本脂質生化学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤友紀、三浦進司
2. 発表標題 骨格筋適応反応におけるリポクオリティの変化と生理的役割
3. 学会等名 第66回日本脂質生化学会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 三浦進司、佐藤友紀
2. 発表標題 骨格筋リン脂質クオリティの制御機構と生理的意義の解明
3. 学会等名 第78回日本栄養・食糧学会大会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Sato, T., Umebayashi, S., Senoo, N., Akahori, T., Ichida, H., Miyoshi, N., Yoshida, T., Morita, A., Sugiura, Y., Goto-Inoue, N., Kawana, H., Shindou, H., Baba, T., Maemoto, Y., Kamei, Y., Shimizu, T., Aoki, J., and Miura, S.
2. 発表標題 LPLAT7 regulates acyl chain profiles at sn-1 position of phospholipids in murine skeletal muscle.
3. 学会等名 DiscoverBMB2024 American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 滝田紗恵、佐藤友紀、三好規之、杉浦悠毅、川名裕己、幡野敦、松本雅記、青木淳賢、三浦進司
2. 発表標題 骨格筋および心臓におけるLPLAT7によるリン脂質リモデリングの持久運動能力への影響
3. 学会等名 第66回日本脂質生化学会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 亀井 康富	4. 発行年 2022年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 236
3. 書名 栄養・代謝物シグナルと食品機能	

1. 著者名 藤井 宣晴	4. 発行年 2022年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 227
3. 書名 健康寿命の鍵を握る骨格筋	

〔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
---------	---------