

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：24302

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19718

研究課題名（和文）骨格筋における超硫黄化合物の動態・機能解明

研究課題名（英文）Investigation of dynamics and function of supersulfide in skeletal muscle

研究代表者

青井 渉（Aoi, Wataru）

京都府立大学・生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：60405272

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、動物モデルを用いて、骨格筋硫黄分子の代謝変動および機能性について検討することを目的とした。運動、筋不活動および高脂肪食によって骨格筋の硫黄代謝関連因子および超硫黄分子量が変化することが観察された。また、超硫黄分子ドナーを投与することにより、不活動による筋萎縮、タンパク質分解シグナル活性が抑制された。これらより、骨格筋機能の維持・向上において、超硫黄分子が関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、骨格筋の硫黄代謝および超硫黄分子が運動・身体活動による筋機能の変化に関与すること、超硫黄分子量を制御することが不活動による筋萎縮の抑制につながることを示した。骨格筋のエネルギー産生や肥大・萎縮を調節するシグナル活性に硫黄代謝が関与することを踏まえ、筋機能の新しい調節機構を開拓した。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate metabolic changes and function of sulfide compounds in skeletal muscle using animal models. We observed that exercise, muscle inactivity, and high-fat diet altered sulfur metabolism and supersulfide contents in skeletal muscle. In addition, administration of a supersulfide donor suppressed muscle atrophy and proteolytic signaling activity induced by inactivity. These results suggest the involvement of supersulfide in the maintenance and improvement of skeletal muscle function.

研究分野：スポーツ生化学

キーワード：骨格筋 硫黄代謝 抗酸化システム 運動 不活動

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、硫黄原子が過剰に付加されたアミノ酸やタンパク質等の超硫黄分子は高い求核性を有し、エネルギー代謝や生体防御機構を制御して恒常性の維持に関与することがわかってきた。しかし、骨格筋における超硫黄分子の動態、機能については不明である。骨格筋は身体活動や体脂肪量、血糖値を調整する臓器であり、代謝性疾患、循環器系疾患をはじめ様々な生活習慣病のリスクに關与する。さらに、加齢に伴うフレイルを予防する上でも重要な役割を果たし、高齢社会における介護予防の標的臓器となる。そのため、骨格筋機能の制御機構を解明することは、体力向上、健康づくりにおいて極めて重要課題である。このような背景から、骨格筋における硫黄代謝が様々なライフイベントによって変動し、超硫黄分子を介した生体機能制御系が存在すると考えた。

2. 研究の目的

運動、不活動、食習慣による骨格筋硫黄化合物の代謝変動および機能性について明らかにし、運動適応や病態発症における超硫黄分子の関与について検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物実験モデルにおける超硫黄分子動態の検証

以下の動物実験モデルを用い、骨格筋組織を得た。

以下の動物実験モデルを用い、骨格筋組織を得た。

運動モデル：単回走運動、走運動トレーニング（週5回、4週間）を負荷し、安静群と比較した。筋不活動モデル：片脚ギプス固定（2週間）により筋萎縮を誘発し、固定のない対照肢と比較した。食事誘発代謝障害モデル：高脂肪食（60%脂質エネルギー食、8週間）を摂取させた群と、対照食（5%脂質エネルギー食、8週間）を摂取させた群を比較した。

筋組織における硫黄関連分子（含硫アミノ酸、硫黄付加ペプチド・タンパク質、硫化水素など）を質量分析により測定した。また、硫黄転移酵素の発現量を測定した。

(2) 超硫黄分子機能性の検証

不活動試験では、マウスの後肢をギプス固定することにより、不活動状態を誘発した。また、超硫黄分子ドナー（ Na_2S_4 ）を毎日腹腔内投与することにより、超硫黄分子が筋萎縮におよぼす影響についても検討した。培養細胞試験では、超硫黄分子ドナーを骨格筋管細胞C2C12に作用させ、ミトコンドリア呼吸指標、過酸化タンパク質を評価した。培養上清中における硫黄関連分子を定量し、筋細胞の取り込みならびに分泌について検討した。

4. 研究成果

(1) 動物実験モデルにおける検証

マウスに単回運動あるいはトレーニングを負荷した後、骨格筋の活性硫黄種産生酵素、過酸化タンパク質、硫黄含有化合物を測定した。単回運動、トレーニングいずれにおいても、骨格筋のCysteinyI tRNA synthetase 2 (CARS2) 発現量が増加した。また、27種の硫黄含有化合物が検出され、単回運動によって、グルタチオンジスルフィドの増加、酸化型グルタチオンモノスルフィドの減少を認めた。トレーニングによっては、硫化物イオン、システインおよび酸化型グルタチオ

ンの増加を認めた。トレーニング試験では、骨格筋における過酸化タンパク質量の変化がみられ、中でもミトコンドリアの好氣的代謝に関わるタンパク質の過酸化が高まることを観察した。筋不活動モデルでは、CARS2 および 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase の発現量が固定脚で高値を示した。運動、不活動いずれのモデルにおいても、複数の過酸化タンパク質が検出された。さらに、高脂肪食を 12 週間摂取させたマウスの腓腹筋においても CARS2 発現量の増加を認めた。

(2) 超硫黄分子機能性の検証

3 日間の不活動によって、ユビキチン化タンパク質量は、対照群に比べて不活動群で高値であったが、 Na_2S_4 投与群ではその増加はみられなかった。また、炎症性因子 Chemokine C-C motif ligand 2 発現量は、不活動によって増加したが、 Na_2S_4 の投与により抑制された。2 週間の不活動によって、腓腹筋重量は対照群に比べて不活動群で低値であったが、 Na_2S_4 の投与により萎縮の抑制がみられた。このとき CysteinyI tRNA synthetase 2 発現量は、対照群に比べ Na_2S_4 投与群で高値であった。これらより、超硫黄分子が不活動による骨格筋の炎症およびユビキチン化タンパク質の増加を抑制し、萎縮を抑えることが示唆された。

培養細胞実験では、筋管細胞を 1 日培養した上清中において 6 種類の硫黄分子の増加を観察した。また、過酸化水素刺激下で Na_2S_4 の影響を検討したところ、細胞毒性や過酸化タンパク質におよぼす Na_2S_4 の濃度や反応時間についての情報を得たが、その効果については今後の検討課題とされた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sakuma, K., Hamada, K., Yamaguchi, A., Aoi, W.	4. 巻 12
2. 論文標題 Current Nutritional and Pharmacological Approaches for Attenuating Sarcopenia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2422 ~ 2422
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells12192422	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 -

1. 著者名 Takami, M., Aoi, W., Ando, C., Kato, Y., Kobayashi, Y., Kuwahata, M.	4. 巻 9
2. 論文標題 High-intensity exercise training induces the oxidative modification of malate dehydrogenase 2 in skeletal muscles	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Advances in Redox Research	6. 最初と最後の頁 100076 ~ 100076
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.arres.2023.100076	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 -

1. 著者名 Takami, M., Aoi, W., Matsumoto, K., Kato, Y., Kobayashi, Y., Kuwahata, M.	4. 巻 74
2. 論文標題 High-intensity exercise impairs intestinal barrier function by generating oxidative stress	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 136 ~ 140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3164/jcbn.23-96	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高見真, 青井渉, 安藤ちなつ, 加藤陽二, 小林ゆき子, 桑波田雅士
2. 発表標題 高強度運動トレーニングは骨格筋におけるミトコンドリアタンパク質の酸化修飾を誘発する
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安藤ちなつ, 青井渉, 小林ゆき子, 桑波田雅士
2. 発表標題 運動トレーニングが骨格筋の硫黄代謝に及ぼす影響
3. 学会等名 第77回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 安藤ちなつ, 青井渉, 小林ゆき子, 桑波田雅士
2. 発表標題 単回運動及び運動トレーニングによる骨格筋活性硫黄種代謝の応答に関する検討
3. 学会等名 第76回日本酸化ストレス学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高見真, 青井渉, 安藤ちなつ, 加藤陽二, 小林ゆき子, 桑波田雅士
2. 発表標題 高強度運動による骨格筋ミトコンドリアMalate dehydrogenase 2の酸化修飾
3. 学会等名 第76回日本酸化ストレス学会学術集会
4. 発表年 2023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
研究 分 担 者	佐久間 邦弘 (Sakuma Kunihiro) (60291176)	東京工業大学・リベラルアーツ研究教育院・教授 (12608)	

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
---------	---------