

令和元年6月25日現在

機関番号：24403

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K13071

研究課題名(和文) 内在性硫化水素をトリガーとした新規骨格筋肥大メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of a novel skeletal muscle hypertrophy mechanism triggered by endogenous hydrogen sulfide.

研究代表者

永野 ひかる (nagano, hikaru)

大阪府立大学・総合リハビリテーション学研究科・客員研究員

研究者番号：10748924

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)：1989年ほ乳類の脳に内在性硫化水素が存在することが報告されて以降、一酸化窒素、一酸化炭素に続くガス状生理活性物質としての機能性が注目されている。骨格筋萎縮は患者のQOLの低下につながる重篤な状態であるにも関わらず、その治療法は確立されていない。本研究では、マウス骨格筋細胞株において硫化水素が骨格筋肥大を引き起こすことを見出した。さらに、生体内硫化水素供与体であるシステインの骨格筋肥大効果を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

寝たきりによる骨格筋萎縮はQOL(クオリティオブライフ)を著しく低下させ、医療費の増大につながっている大きな社会問題である。その治療法はリハビリに頼っているところが大きく、負担の少ない治療法の開発が必須である。本研究ではガス状生理活性物質である硫化水素による骨格筋肥大効果を初めて明らかにした。さらにその生体内供与体のアミノ酸であるシステインによる筋肥大効果も見出したことから、栄養成分(または食品)による骨格筋萎縮の治療法の第一歩となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Hydrogen sulfide was detected in mammalian brain in 1989. Thus, it has become recognized as a gasotransmitter such as nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO). Although skeletal muscle atrophy cause a decrease in QOL (Quality of life), effective treatment for skeletal muscle atrophy has not still been established. In this study, I elucidated that hydrogen sulfide contribute to the muscle hypertrophy in a mouse skeletal muscle cell line. I further found that cysteine contribute to the muscle hypertrophy.

研究分野：分子生物学

キーワード：骨格筋肥大 硫化水素

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

硫化水素 (H_2S) は、古くは腐卵臭のする有毒ガスとして研究されてきたが、1989 年ほ乳類の脳に内在性 H_2S が存在することが報告されて以降、一酸化窒素 (NO)、一酸化炭素 (CO) に続くガス状生理活性物質としての存在意義 (機能性) が注目されている。現在までに内在性 H_2S が、インスリン分泌調節、平滑筋収縮調節、心筋保護、血管新生などに関与することが報告されてきた。内在性 H_2S 由来の硫化水素イオン (HS^-) は、非酵素的にタンパク質のジスルフィド結合を還元して開裂し、硫黄 (S) を付与する S-スルフヒドリル化を引き起こす。 H_2S を体内で生合成する合成酵素はこれまでに 3 つ報告されており、それらのすべての経路の酵素基質はシステインであることが知られている。非常に興味深いことに石井ら (J Biol Chem. 2010) によって骨格筋においてシステイン不足から筋萎縮が起こることが報告されている。しかしながらそのメカニズムと H_2S の機能との相関は明らかとなっていない。

2. 研究の目的

本研究は運動刺激 (メカニカルストレス) による筋肥大経路のトリガーとして H_2S が機能していることを証明することで、侵襲性が低く、正確で簡便な評価方法の開発と薬理的・栄養学的治療法の開発につなげることである。

3. 研究の方法

1. 筋管細胞形態に対する H_2S の効果

マウス骨格筋細胞株 C2C12 筋管細胞に H_2S ドナーである NaHS (硫化水素ナトリウム) を投与後、形態変化を評価する。筋管細胞が肥大していることを確認するため具体的には NaHS 添加し、1~2 日後に C2C12 筋管細胞の筋管直径を計測する。

2. 筋合成系に対する H_2S の効果

NaHS で処理した C2C12 筋管細胞における、リン酸化 mTOR、リン酸化 S6 kinase (S6K) などの肥大した骨格筋において活性が上昇する筋合成系タンパク質の発現、活性を Western Blot を用いて評価する。また、細胞骨格タンパク質 (ミオシン・アクチン・チューブリン) の発現量を指標として筋管細胞肥大を評価する。

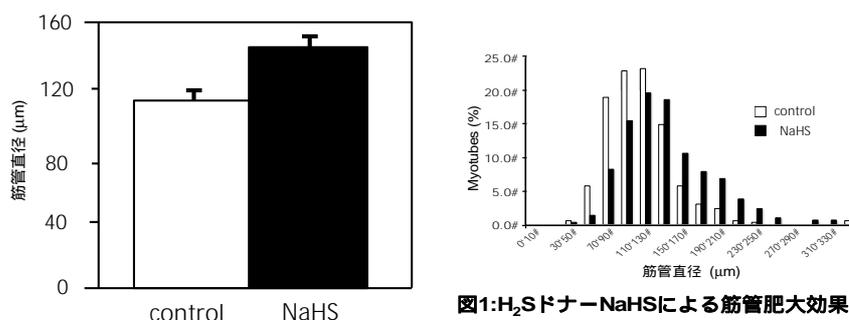
3. システインによる骨格筋肥大効果の検討

将来的な栄養学的治療法を見据え、生体内で H_2S ドナーとして機能することが予想されるアミノ酸であるシステインを用いて骨格筋肥大効果を検討した。具体的には C2C12 筋管細胞にシステインを処理した際の筋管直径を測定し、評価を行う。

4. 研究成果

1. 筋管細胞形態に対する H_2S の効果

ガス状生理活性物質である硫化水素 (H_2S) ドナーである NaHS (硫化水素ナトリウム) を用いて骨格筋細胞株 C2C12 筋管細胞を筋管直径計測によって検討したところ有意に筋管直径の増大が観察された。(図 1 参照)



2.筋合成系に対する H₂S の効果

C2C12 筋管細胞への H₂S ドナー (GY4137) 添加によってリン酸化 mTOR、リン酸化 S6 kinase (S6K) などの肥大した骨格筋において活性が上昇する筋合成系タンパク質の発現、活性上昇を Western Blot を用いて明らかとした。加えて筋管細胞肥大の指標である細胞骨格タンパク質(ミオシン・アクチン・チューブリン)の発現増大も観察された。以上から硫化水素が骨格筋肥大において正の効果があることを見出した。

3. システインによる骨格筋肥大効果の検討

生体内 H₂S ドナーとして機能することが予想されるアミノ酸であるシステインを用いて骨格筋肥大効果を検討した所、当初の予想通り筋合成系蛋白質 (mTOR・S6 kinase) の発現、活性上昇が明らかとなった。この結果から、システインの筋肥大効果が示唆され、栄養学的治療法の開発につながる知見が得られた。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

1. Nagano H, Matsuyama C, Sunagawa M, Nakatsu Y, Nikawa T, Teshima-Kondo S. Transcriptional regulation of skeletal muscle-specific insulin receptor substrate-1 transcript. *Journal of Life Science Research* 16 9-12 Dec 2018 (2018) <http://www.rehab.osakafu-u.ac.jp/jlsr-v16/> (査読有)
2. Tomida C, Yamagishi N, Nagano H, Uchida T, Ohno A, Hirasaka K, Nikawa T, Teshima-Kondo S. VEGF pathway-targeting drugs induce evasive adaptation by activation of neuropilin-1/cMet in colon cancer cells. *International journal of oncology* 52(4) 1350-1362 (2018) doi: 10.3892/ijo.2018.4291. (査読有)
3. Tomida C, Yamagishi N, Nagano H, Uchida T, Ohno A, Hirasaka K, Nikawa T, Teshima-Kondo S. Antiangiogenic agent sunitinib induces epithelial to mesenchymal transition and accelerates motility of colorectal cancer cells. *The journal of medical investigation : JMI* 64(3.4) 250-254 (2017) doi: 10.2152/jmi.64.250. (査読有)
4. Tomida C, Nagano H, Yamagishi N, Uchida T, Ohno A, Hirasaka K, Nikawa T, Teshima-Kondo S. Regorafenib induces adaptive resistance of colorectal cancer cells via inhibition of vascular endothelial growth factor receptor. *The journal of medical investigation: JMI* 64(3.4) 262-265 (2017) doi: 10.2152/jmi.64.262. (査読有)

[学会発表](計6件)

1. 松山知菜未, 永野ひかる, 砂川実乃莉, 中津由香, 近藤茂忠
フラボノイド類による大腸がん細胞の悪性化抑制機構の解明 第57回日本栄養・食糧学会近畿支部大会 2018年11月 畿央大学(奈良県香芝市)
2. 松山知菜未, 永野ひかる, 砂川実乃莉, 中津由香, 近藤茂忠

大腸がん細胞の悪性化における EGF シグナルと VEGF シグナルのクロストーク
第 41 回日本分子生物学会年会 2018 年 11 月 パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

3. 永野ひかる，松山知菜未，砂川実乃莉，中津由香，近藤茂忠
フラボノイドによる大腸がん細胞の悪性化抑制とその分子機構の解明
第 41 回日本分子生物学会年会 2018 年 11 月 パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

4. 永野ひかる，富田知里，松山知菜未，砂川実乃莉，中津由香，二川健，近藤茂忠
アピゲニンによる大腸がん細胞悪性化の抑制とその分子機構の解明
第 23 回日本フードファクター学会 2018 年 9 月 メルパルク京都（京都府京都市）

5. 富田 知里，永野 ひかる，近藤 茂忠
VEGF/VEGF 受容体阻害剤のヒト大腸がん細胞に対する直接的影響
第 76 回日本癌学会 2017 年 9 月 パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

6. 真板綾子，真板宣夫，奥村裕司，永野ひかる，有田恭平，平坂勝也，安倍知紀，近藤茂忠，二川健
高病原性インフルエンザ感染に関わる宿主酵素 MSPL と阻害ペプチドとの複合体構造
第 71 回日本栄養・食糧学会 2017 年 4 月 沖縄コンベンションセンター（沖縄県宜野湾市）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。