

平成 30 年 6 月 24 日現在

機関番号：33930

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K13022

研究課題名(和文)高濃度の血中アディポネクチンは速筋細胞特異的に萎縮を誘発するか？

研究課題名(英文)High blood-level adiponectin induces muscle atrophy in fast-type muscle?

研究代表者

後藤 勝正(山下勝正)(GOTO, Katsumasa)

豊橋創造大学・保健医療学部・教授

研究者番号：70239961

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、善玉アディポカインあるいは長寿ホルモンとも呼ばれるアディポネクチンが速筋細胞を特異的に萎縮させるか解明し、骨格筋機能におけるアディポネクチンの生理学的意義を究明することを目的とした。培養細胞実験の結果より、高濃度アディポネクチンは骨格筋細胞量に対してネガティブな作用を持つことが示唆された。また、動物実験の結果から、高濃度の血中アディポネクチンは骨格筋量を低下させる要因であることが示唆され、またその影響は速筋に強く出現することが示唆された。以上の結果より、高濃度の血中アディポネクチンは速筋細胞特異的な萎縮を引き起こし、加齢に伴う骨格筋萎縮(サルコペニア)の原因になることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：the purpose of this study was to investigate the effects of high-level adiponectin on skeletal muscle mass. High concentration of adiponectin receptor agonist AdipoRon suppressed myogenic differentiation of C2C12 cells in a dose-dependent manner. Repetitive administration of AdipoRon caused to decrease in muscle wet weight of fast-type plantaris, but not of slow-type soleus, in mice. Evidences from this study suggest that high blood-level adiponectin may be a cause of aging-associated skeletal muscle atrophy, so-called sarcopenia, that exhibits fast muscle-specific skeletal muscle atrophy.

研究分野：骨格筋可塑性機構

キーワード：骨格筋 adiponectin C2C12 筋萎縮 加齢 速筋

1. 研究開始当初の背景

(1) 現代社会においてメタボリックシンドロームは大きな問題であり、その発症基盤として内臓脂肪蓄積によるアディポカイン分泌異常、特にアディポネクチン分泌の低下による血中アディポネクチン濃度の低下が挙げられている。一般に、アディポネクチンは善玉アディポカインあるいは長寿ホルモンとも呼ばれ、血中濃度を高めることが推奨されている。しかし、最近の疫学研究により、高齢者の血中アディポネクチン濃度と骨格筋機能には負の相関関係があると報告されている。こうした一般的な見解とは異なるアディポネクチンのネガティブな生理作用と考えられる現象を「アディポネクチン・パラドクス」と呼んでいる。

(2) 加齢に伴う骨格筋の萎縮と機能の低下は加齢性筋肉減弱症(サルコペニア)と呼ばれ、生活の質(QOL)維持の上で早急に解決が望まれている。しかし、これまで多くの研究が実施されているものの、サルコペニア発症の分子機序は明らかでない。

(3) 速筋線維特異的な萎縮が加齢性の骨格筋の萎縮と機能の低下の病態の特徴であることから、高濃度の血中アディポネクチンは速筋細胞特異的に萎縮を引き起こすことが示唆されるが、これまでこの視点から検討した報告はない。

2. 研究の目的

本研究では、アディポネクチンが速筋細胞を特異的に萎縮させるか解明し、骨格筋機能におけるアディポネクチンの生理学的意義を究明する。

3. 研究の方法

本研究は、骨格筋に対するアディポネクチンの影響を培養細胞実験ならびに動物実験の2つの実験系を採用し、アディポネクチン受容体アゴニストである AdipoRon を用いて実施した。

(1) 培養細胞実験

マウス筋芽細胞由来 C2C12 細胞を用いて、筋管細胞への分化誘導と同時に AdipoRon を分化培地に添加した。筋管細胞への分化誘導後、経時的に細胞の形態を観察すると共に、筋タンパク量を測定することで AdipoRon の影響を評価した。また、筋分化への AdipoRon の影響がアディポネクチン受容体(AdipoR)を介したもので確認するために、RNA 干渉法(siRNA)により AdipoR をノックダウンした細胞による評価も併せて行った。

(2) 動物実験

本研究では、生後 10 週齢および 100 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを用いた。各週齢のマウスより、遅筋としてヒラメ筋および速筋として長趾伸筋を摘出し、Western blotting に

より骨格筋組織におけるアディポネクチン発現量を評価した。また、血漿アディポネクチン濃度を ELISA 法により評価した。また、生後 10 週齢の雄性 C57BL/6J マウスに対して、AdipoRon(50 mg/kg body weight)を 1 日 1 回、週 3 回、4 週間にわたり静脈投与し、血中アディポネクチン濃度の上昇モデルを作成した。最終投与の 3 日後、マウスより遅筋としてヒラメ筋および速筋として足底筋を摘出し、筋重量を測定した。

4. 研究成果

(1) 培養細胞実験

C2C12 筋芽細胞から筋管細胞への分化誘導と同時に、分化培地中に AdipoRon を添加したところ、筋管形成が AdipoRon 濃度依存的に抑制された。特に、高濃度 AdipoRon は細胞死を引き起こす傾向が認められた。また、AdipoR ノックダウンにより AdipoRon の筋分化抑制作用は軽減する傾向が認められた。したがって、AdipoRon の筋分化抑制作用は AdipoR を介したものであると考えられた。

(2) 動物実験

骨格筋組織におけるアディポネクチン発現量を評価したところ、アディポネクチン発現量は遅筋であるヒラメ筋に比べて速筋である長趾伸筋で低い傾向が認められた。加齢により骨格筋組織におけるアディポネクチン発現量の増加はヒラメ筋および長趾伸筋で共に確認されたが、この加齢による骨格筋組織におけるアディポネクチン発現量の増加は、遅筋に比べ速筋で大きい傾向が認められた。また、血中アディポネクチン濃度に対する加齢の影響を評価したところ、本研究で対象とした 100 週齢マウスでは、10 週齢に比べて血中アディポネクチン濃度は上昇する傾向にあったものの、統計学的に有意な変化ではなかった。さらに、AdipoRon を投与して血中アディポネクチン濃度の増加を模倣したところ、速筋である足底筋において萎縮が確認された。しかし、遅筋であるヒラメ筋では、AdipoRon による筋重量の低下は認められなかった。

(3) 培養細胞実験の結果より、高濃度アディポネクチンは骨格筋細胞量に対してネガティブな作用を持つことが示唆された。また、動物実験の結果から、高濃度の血中アディポネクチンは骨格筋量を低下させる要因であることが示唆され、またその影響は速筋に強く出現することが示唆された。

(4) 本研究の結果は、アディポネクチンが速筋細胞を特異的に萎縮させることを強く示唆するものであった。したがって、高濃度の血中アディポネクチンは速筋細胞特異的な萎縮を引き起こし、加齢に伴う骨格筋萎縮の原因になることが示唆された。しかし一方で、加齢に伴う血中アディポネクチン濃度の上

昇は有意なものではなかったことから、加齢による血中アディポネクチン濃度の上昇には、未知の(第3の)因子が関与していることが示唆された。今後、加齢により血中アディポネクチン濃度を上昇させる機序の解明が必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

後藤 勝正、吉岡 利忠、筋力および筋力低下の生理学、理学療法ジャーナル、52 巻、2018、5-14

(査読有) Ohno, M., Fujiya, H., Goto, K., Kurosaka, M., Ogura, Y., Yatabe, K., Kudo, T., Kobayashi, H., Niki, H., Musha, H., Long term changes in muscles around the knee joint after ACL resection in rats: Comparisons of ACL-resected, contralateral and normal limb, J. Sports Sci. Med., 16 巻、2017、429-437
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5592296/>

(査読有) Egawa, T., Tsuda, S., Goto, A., Yokoyama, S., Ohno, Y., Goto, K., Hayashi, T., Potential involvement of dietary advanced glycation end products in impairment of skeletal muscle growth and muscle contractile function in mice, Br. J. Nutr., 117 巻、2017、21-29
DOI : 10.1017/S0007114516004591

(査読有) Ohno, Y., Matsuba, Y., Hashimoto, N., Sugiura, T., Ohira, Y., Yoshioka, T., Goto, K., Suppression of myostatin stimulates regenerative potential of injured antigravitational soleus muscle in mice under unloading condition, Int. J. Med. Sci., 13 巻、2016、680-685
DOI : 10.7150/ijms.16267

[学会発表](計 48 件)

Inamori, H., α -melanocyte stimulating hormone attenuates dexamethasone-induced atrophy of C2C12 myotubes, 第 95 回日本生理学会大会、2018

後藤 勝正、哺乳類骨格筋細胞における機械的刺激受容 Ca^{2+} チャンネルについての一考察、第 6 回骨格筋生物学研究会、2018

伊藤 理香、アディポネクチン受容体アゴニストの連続的な投与がマウス骨格筋量を減少させるか?、第 80 回日本体力医学会中国・四国地方会、2017

Aoshima, M., Glucose-dependent insulinotropic polypeptide stimulates the differentiation of mammalian skeletal muscle cells, American Society for Cell Biology 2017 Meeting, 2017

後藤 勝正、荷重除去による骨格筋萎縮とその後の再成長に伴う筋核内ストレスタンパク質の変化、第 63 回日本宇宙航空環境医学会大会、2017

Fujimoto, R., Some aspects of HSF2 and HSF4 in differentiation of skeletal muscle cells, 2017 Annual Meeting of American Society for Gravitational and Space Research (ASGSR), 2017

Nakamura, K., Profiles of linear ubiquitin assembly complex in skeletal muscle, 2017 Annual Meeting of American Society for Gravitational and Space Research (ASGSR), 2017

Kato, H., Estimation of the adaptation in the properties of rat soleus muscle to long-term stay on the Mars and the Moon, 2017 Annual Meeting of American Society for Gravitational and Space Research (ASGSR), 2017

Apostolopoulos, A., Ageing-associated nuclear accumulation HSP70 of mouse skeletal muscles, Biology of Ageing II "Impactful Interventions" Systems - Models - Pathways - Diseases, 2017

大野 善隆、筋衛星細胞の活性化に乳酸が及ぼす影響、第 72 回日本体力医学会大会、2017

横山 真吾、マウス骨格筋における PGC-1 発現の加齢性低下と MBNL1 の関与、第 72 回日本体力医学会大会、2017

中村 文音、骨格筋萎縮に伴う選択的スプライシング因子の挙動、第 72 回日本体力医学会大会、2017

青島 恵、グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド受容体のノックダウンが骨格筋細胞の分化に及ぼす影響、第 72 回日本体力医学会大会、2017

藤本 理沙、骨格筋細胞の分化に伴う熱ショック転写因子の発現応答、第 72 回日本体力医学会大会、2017

中村 晃大、骨格筋細胞における直鎖状ユビキチン鎖リガーゼ複合体 LUBAC の発現、第 72 回日本体力医学会大会、2017

小林 哲士、膝前十字靭帯再建術後の脚伸展筋力と骨格筋線維タイプの関係、第 90 回日本整形外科学会学術総会、2017

横山 真吾、カフェ酸およびクロロゲン酸が骨格筋細胞の分化に与える影響、第 71 回日本栄養・食量学会大会、2017

江川 達郎、終末糖化産物 AGEs 摂取はマウス骨格筋成長を抑制する、第 71 回日本栄養・食量学会大会、2017

横山 真吾、加齢による骨格筋組織内蓄積脂肪の増加 - マウスヒラメ筋を用いた検討 -、第 52 回日本理学療法学会大会、2017

大野 善隆、乳酸刺激による Erk1/2 の活性化が骨格筋肥大に及ぼす影響、第 52 回日本理学療法学会大会、2017

21Goto, K., A possible role of skeletal

- muscle-derived adiponectin in the regulation of skeletal muscle mass、Experimental Biology 2017、2017
- 22Yokoyama, S., Deficiency of heat shock transcription factor 1 suppresses unloading-associated slow-to-fast transition of myosin heavy chain isoforms in mouse soleus muscle、第 94 回日本生理学会大会、シンポジウム「宇宙生理学の新展開 - 臨床医学との融合 -」、2017
- 23後藤 勝正、加齢に伴う核内物質の挙動、第 5 回骨格筋生物学研究会、2017
- 24後藤 勝正、骨格筋細胞の量的変化に対する adiponectin の作用、平成 28 年度筋生理の集い、2016
- 25今安 正樹、新規軟質培養容器で培養したマウス筋芽細胞に対するメカニカルストレスの影響、第 39 回日本分子生物学会年会、2016
- 26Nakamura, A., Nuclear and cytoplasmic muscleblind-like 1 in mouse skeletal muscle in response to aging and unloading with or without reloading、APS (American Physiological Society) Intersociety Meeting: The Integrative Biology of Exercise、2016
- 27後藤 勝正、廃用性筋萎縮に伴うマウスヒラメ筋の速筋化における HSF1 の役割、第 11 回臨床ストレス応答学会大会、2016
- 28江川 達郎、代謝センサーAMPK の骨格筋萎縮・肥大調節機構、第 62 回日本宇宙航空環境医学会大会・日本宇宙生物科学学会第 30 回大会 ワークショップ「筋萎縮」、2016
- 29Ohira, Y., How does the antigravity soleus muscle adapt to long-term stay on the Mars and the Moon? Estimation using rat study、第 62 回日本宇宙航空環境医学会大会・日本宇宙生物科学学会第 30 回大会、2016
- 30鈴木 貴詞、消化管ホルモン GIP が骨格筋細胞の分化に与える影響、第 62 回日本宇宙航空環境医学会大会・日本宇宙生物科学学会第 30 回大会、2016
- 31小林 哲士、骨格筋筋線維タイプの比率と膝前十字靭帯再建術後の膝伸展筋力回復の関係、第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会、2016
- 32比嘉 正輝、骨格筋における adiponectin 発現量の加齢性変化、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 33青島 恵、グルカゴン様ペプチド 1 アゴニスト Exendin-4 が筋細胞の分化に及ぼす影響、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 34江川 達郎、食事性 AGEs がマウス骨格筋の成長に及ぼす影響、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 35伊藤 理香、高濃度アディポネクチンが骨格筋細胞の分化に及ぼす影響、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 36芝口 翼異なる温度刺激の併用が筋再生過程における線維化と筋衛星細胞の動態に及ぼす影響、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 37森廣 壮馬、ラット速筋損傷後の回復過程における筋成長因子に及ぼす異なる温度刺激の影響、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 38杉浦 崇夫、筋損傷後の回復過程における筋タンパク質分解系の変化、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 39池崎 和海、ラット速筋損傷後の回復過程における筋線維組成に及ぼす異なる温度刺激の影響、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 40横山 真吾、MBNL1 発現低下がマウス骨格筋細胞のミオシン重鎖 mRNA 発現に及ぼす影響、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 41池谷 直美、荷重除去による骨格筋萎縮とその後の再成長におけるユビキチン特異的ペプチターゼの発現応答、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 42大野 善隆、骨格筋量の調節における乳酸受容体の役割、第 71 回日本体力医学会大会、2016
- 43 Goto, K., A role of heat shock transcription factor 1 in the regulation of slow type myosin heavy chain expression in mouse soleus muscle、FASEB Science Research Conferences “Skeletal Muscle Satellite Cells and Regeneration”、2016
- 44小林 哲士、膝前十字靭帯再建術後の骨格筋筋線維タイプ別の筋力回復に関する研究 - 第 1 報 -、第 53 回日本リハビリテーション医学会学術集会、2016
- 45 Goto, K., A physiological role of skeletal muscle-derived adiponectin in C2C12 differentiation、Molecular Mechanisms Modulating Skeletal Muscle Development and Homeostasis in Health and Disease、2016
- 46大野 善隆、微弱電流刺激が筋再成長に伴う細胞膜タンパク質の変化に及ぼす影響、第 51 回日本理学療法学術大会、2016
- 47横山 真吾、荷重除去とその後の再荷重によるマウスヒラメ筋の筋線維タイプ移行と NFAT ファミリーの発現、第 51 回日本理学療法学術大会、2016
- 48中村 文音、加齢性の骨格筋萎縮に伴う選択的 スプライシング 因子 muscleblind-like 1 の変化、第 51 回日本理学療法学術大会、2016
- [図書](計 2 件)
Egawa, T. 他、In Tech、Phenolic Compounds - Biological Activity、2017、169-191
Ortuste Quiroga, H.P. 他、Methods in Molecular Biology “Skeletal Muscle

Regeneration in the Mouse” (Vol. 1460)、
2016、85-100

〔その他〕

ホームページ等

http://www.sozo.ac.jp/professor/goto_katsumasa/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤 勝正 (GOTO, Katsumasa)
豊橋創造大学・保健医療学部・教授
研究者番号：7 0 2 3 9 9 6 1

(2) 連携研究者

大野 善隆 (OHNO, Yoshitaka)
豊橋創造大学・保健医療学部・講師
研究者番号：8 0 4 4 0 8 0 8

横山 真吾 (YOKOYAMA, Shingo)
豊橋創造大学・保健医療学部・助教
研究者番号：3 0 7 0 6 8 5 9

江川 達郎 (EGAWA, Tatsuro)
豊橋創造大学・大学院健康科学研究科・協力研究員
研究者番号：0 0 7 2 2 3 3 1

永富 良一 (NAGATOMI, Ryoichi)
東北大学・大学院医工学研究科・教授
研究者番号：2 0 2 0 8 0 2 8