

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K10816

研究課題名(和文) 骨格筋線維の機能特性や適応変化に対するp38マップキナーゼの作用

研究課題名(英文) Effects of p38 MAPK on the functional characteristics and adaptability of skeletal muscle fibers

研究代表者

大石 康晴(OISHI, YASUHARU)

熊本大学・大学院教育学研究科・教授

研究者番号：10203704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：マップキナーゼ(MAPK)ファミリーの一つである p38MAPK と筋線維タイプの関連について検討した結果、リン酸化p38MAPKは速筋線維が多く含まれる足底筋および腓腹筋表層部において多量に発現し、逆に速筋線維の割合の低いヒラメ筋で発現量が少ない知見を得た。p38MAPKの総発現量には骨格筋間の差は認められなかった。これらの知見により、リン酸化p38MAPKが速筋線維の発現に関与する可能性が推測された。

また、8週齢のラットに熱ストレス負荷実験を施し、ヒラメ筋と足底筋においてリン酸化ERK1/2MAPKおよびリン酸化p38MAPKともに発現量の有意な増加が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、マップキナーゼファミリーの一つ p38MAPK と骨格筋線維の関連を検討し、p38MAPKが速筋線維発現型と密接に関連する可能性を示した。また、熱ストレスにより、リン酸化ERK1/2、リン酸化p38MAPKともに有意に増加し、これらのタンパク質が熱ストレス誘導性であることを示した。

これらの知見は学術的にみて新たな知見であり、論文発表や国内外の学界において発表することにより、社会的な貢献に帰すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Phosphorylated type of p38MAPK protein, one of the MAPK family, was more expressed in fast-twitch fiber rich Plantaris and superficial portion of the Gastrocnemius muscles than slow soleus muscle in adult rat. These results may suggest that phosphorylated p38MAPK relates to the expression of fast fiber in hindlimb skeletal muscles.

Also, heat stress to rat hindlimb muscles accelerated the phosphorylated type of some MAPK family, such as ERK1/2 and p38MAPK, in the soleus and plantaris muscle. Although the physiological significance of these enhancement are unclear, our results indicate that phosphorylated type of ERK1/2 and p38MAPK are heat stress inducible.

研究分野：骨格筋生理・生化学

キーワード：マップキナーゼ ERK1/2 p38MAPK リン酸化 骨格筋線維 筋線維タイプ 熱ストレス ラット

1. 研究開始当初の背景

分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (Mitogen-activated Protein Kinase, MAPK) はセリン/スレオニンキナーゼの一つであり、様々な刺激 (酸化ストレス、サイトカイン、放射線など) を受けて活性化 (リン酸化) される。MAPK は全身の細胞に広く発現しており、様々な細胞の機能発現において重要な働きをしている。

これまでの骨格筋との関連した研究では、MAPK シグナル伝達経路が骨格筋重量を維持することや骨格筋線維の増殖や分化に重要な役割を果たしていることが報告されている。さらに、レジスタンストレーニングや、インターバルトレーニング、スプリントトレーニングなどのいくつかのタイプ筋活動がこのシグナル経路を活性化し、その結果として骨格筋線維の適応が生じると考えられる。

MAPK ファミリーの一つである ERK1/2 について、筋線維の発現型を決定する ERK1/2 の役割ははっきりしておらず、ERK1/2 が遅筋タイプ I 型線維表現型の発現と密接に関連しているとの報告や、逆に、速筋タイプ II 発現型の増加に強く関わっているとの報告もみられる。

我々の研究室では、雄 Wistar ラットにおける 3 種類の生体内条件におけるこの関係を検討した実験により以下のことが示された。第 1 に、リン酸化 ERK1 / 2 タンパク質のレベルは、コントロールラットの後肢骨格筋の筋線維組成と密接に関連していた、つまり 100% 速筋線維の腓腹筋表層部で発現量が最も高く、速筋線維の割合が 80% の足底筋で低く、そして速筋線維の割合 15% のヒラメ筋で最も低いというものである。

第 2 に、発育中のラットヒラメ筋では、生後 3 週目では速筋線維の割合は 40% であったが、その割合は徐々に減少し、生後 65 週間では 1.5% 速筋線維であった。この変化と類似してヒラメ筋におけるリン酸化 ERK1 / 2 のレベルも徐々に減少した。

第 3 に、坐骨神経を徐神経することにより、ヒラメ筋と足底筋の両方の筋重量の有意な減少が見られたが、ヒラメ筋においてのみ遅筋線維から速筋線維への筋線維タイプの移行がみられ、同時にリン酸化された ERK1 / 2 タンパク質の増加が観察された。

これらの結果は、リン酸化 ERK1 / 2 はラット骨格筋の速筋線維発現型プログラムと密接に関連していることを示唆しており、これらの結果は、英論文として報告している (Oishi Y, Ogata T, Ohira Y, and Roy RR. (2019), Phosphorylated ERK1/2 protein levels are closely associated with the fast fiber phenotypes in rat hindlimb skeletal muscles. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 471:971–982)。

2. 研究の目的

MAPK ファミリーの主要なもう一つ p38MAPK と骨格筋との関連については不明な点が多い。2018 ~ 2020 の 3 ヶ年において、速筋線維と遅筋線維の割合は著しく異なるラット下肢骨格筋 (ヒラメ筋、足底筋、腓腹筋の深層部と表層部) における total p38 MAPK およびリン酸化 p38 MAPK の発現様式を明らかにすること：熱ストレスによる ERK1/2 MAPK および p38 MAPK の発現量変化の影響について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

1) 下肢骨格筋における非リン酸化、およびリン酸化 p38MAPK の発現様式の検討

生後 8 週齢の雄 Sprague Dauley ラットの下肢から、ヒラメ筋、足底筋、腓腹筋（深層部と表層部）を摘出し、非リン酸化およびリン酸化 p38MAPK の発現量の違いについて、生化学的に分析した。

2) 熱ストレスによる ERK1/2 および p38MAPK タンパク質発現量の変化の検討

実験には生後 8 週齢の雄 Sprague Dauley ラットを用い、対照群と熱ストレス群に分けた。熱ストレス群は、ラットを 42 °C のお湯に 1 日おきに 1 回目 10 分間、2 回目 15 分間、3 回目 20 分間入れ、熱ストレスを加えた。3 回目の熱ストレス終了から 48 時間後に両群ラットの下肢からヒラメ筋と足底筋を摘出し、生化学的分析に分析した。

4. 研究成果

1) 下肢骨格筋における非リン酸化、およびリン酸化 p38MAPK の発現様式の検討

非リン酸化 total p38 MAPK の発現量は、ヒラメ筋 (soleus, Sol)、足底筋(plantaris, Pla)、および腓腹筋(gastrocnemius, Gas)深層部 (Gas deep, GasD)、表層部 (Gas superficial, GasS)共にほとんど差はみられなかった。一方、リン酸化 (phosphorylated) p38 MAPK 発現量は、足底筋で最も高く Sol の約 3 倍の発現量を示し、つぎに腓腹筋表層部が多く、Sol の約 2.5 倍の発現量、そして腓腹筋深層部で Sol の約 1.5 倍の発現量を示し、ヒラメ筋のリン酸化 p38 MAPK 発現量が最も低い結果であった。

2) 熱ストレスによる ERK1/2 および p38MAPK タンパク質発現量の変化の検討

熱ストレス群 (Heat) ヒラメ筋 (Soleus)では、リン酸化 p38 MAPK 発現量は対照群と比較して約 1.5 倍の高い値を示し、また、リン酸化 ERK1/2 MAPK 発現量は対照群と比較して約 1.5 倍の高い値を示し、ともに熱ストレスにより増加することが確認された。非リン酸化 (Total) p38 MAPK 発現量および非リン酸化 (Total) ERK1/2 MAPK 発現量には熱ストレスの影響はみられなかった。

熱ストレス群 (Heat) 足底筋 (Plantaris)では、リン酸化 p38 MAPK 発現量は対照群と比較して約 1.3 倍の高い値を示し、また、リン酸化 ERK1/2 MAPK 発現量は対照群と比較して約 1.6 倍の高い値を示し、ともに熱ストレスにより有意に増加することが確認された。非リン酸化 (Total) p38 MAPK 発現量および非リン酸化 (Total) ERK1/2 MAPK 発現量には熱ストレスの影響はみられなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yasuharu Oishi, Tomonori Ogata, Yoshinobu Ohira, Roland R Roy	4. 巻 471
2. 論文標題 Phosphorylated ERK1/2 protein levels are closely associated with the fast fiber phenotype in rat hindlimb skeletal muscles	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pflugers Archiv - European Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 971-982
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00424-019-02278-z	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 該当する

1. 著者名 Katsuya Kami, Takashi Ohira, Yasuharu Oishi, Takayuki Nakajima, Katsumasa Goto, Yoshinobu Ohira	4. 巻 67
2. 論文標題 Role of 72-kDa Heat Shock Protein in Heat-stimulated Regeneration of Injured Muscle in Rat	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Histochemistry and Cytochemistry	6. 最初と最後の頁 791-799
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1369/00221554198598	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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