

平成 22 年 1 月 25 日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19300219  
 研究課題名（和文）サルコペニアの進行を運動負荷が抑制するメカニズムの解明  
 研究課題名（英文）Elucidation of mechanism for anti-sarcopenic effect of exercise  
 研究代表者  
 武政 徹（TAKEMASA TOHRU）  
 筑波大学・大学院人間総合科学研究科・准教授  
 研究者番号：50236501

## 研究成果の概要：

本研究では「サルコペニアの進行は運動負荷により抑制されるが、そのメカニズムには microRNA (miRNA) が密接に関わっている」という作業仮説を設定し、これに関わる miRNA の機能を解明するため、検討を行った。代償性筋肥大モデルマウスにマイクロアレイ解析を適用し、代償性筋肥大の際に miR-21 の発現量が増加することを実証した。また miR-21 標的遺伝子の発現量は逆に減少していることから、miR-21 はこれらを標的として筋肥大に関わっていることが示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	9,700,000	2,910,000	12,610,000
2008年度	5,800,000	1,740,000	7,540,000
年度			
年度			
年度			
総計	15,500,000	4,650,000	20,150,000

研究分野：骨格筋の分子運動生理学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・スポーツ科学

キーワード：骨格筋，サルコペニア，microRNA，運動負荷，筋肥大

## 1. 研究開始当初の背景

骨格筋は運動刺激により微細な損傷を生じ、成長因子やサイトカインの分泌が促がされ、シグナル伝達系を介して様々な転写因子を活性化/不活性化し、その結果、数千にも及ぶ遺伝子の発現量に変化することで肥大を起こす。しかし、膨大な規模の遺伝子発現が一体どのように理路整然と制御され、最終的に筋肥大を導くのかについては未だ不明な点が多い。近年、microRNA（以降 miRNA と略す）と呼ばれる 22 塩基ほどの低分子 RNA が

骨格筋の発生・分化の際に重要な役割を果たしていることが明らかとなり、過負荷による筋肥大においても何かしら関与をしていることが示唆されている。2007年に代償性筋肥大によって幾つかの miRNA の発現量が増加することが報告されたものの (McCarthy JJ and Esser KA, J Appl Physiol, 2007), その他の miRNA の動向や、miRNA が実際にどのような遺伝子をターゲットとして骨格筋の肥大に関与しているかについて調べた報告はまだない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、現在報告されている miRNA の中から骨格筋の肥大に関与する miRNA を探索し、さらにそれらの miRNA の機能と標的遺伝子を「サルコペニアの進行を運動負荷が抑制するメカニズムの解明」という観点から明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

アキレス腱切除によって代償性過負荷を起こさせ、筋肥大を誘導したマウスの足底筋を肥大群、偽手術を施したマウスの足底筋をコントロール群とし、各群から採取した RNA を使って、448 種類の miRNA の発現量をマイクロアレイ解析によって比較した。その中で最も顕著な増加を示した miR-21 に着目し、代償性筋肥大モデルマウスと骨格筋培養細胞 C2C12 を用いて miR-21、および筋分化制御遺伝子、さらに miR-21 標的遺伝子の発現量変化を検討した。その後、miR-21-precursor もしくは inhibitor の導入によって miR-21 の発現量をコントロールした C2C12 細胞を用いて、同様に上記の遺伝子発現量を調べた。

## 4. 研究成果

マイクロアレイ解析により代償性筋肥大の際にひき起こされる miRNA の発現プロファイルが明らかとなった (図 1)。

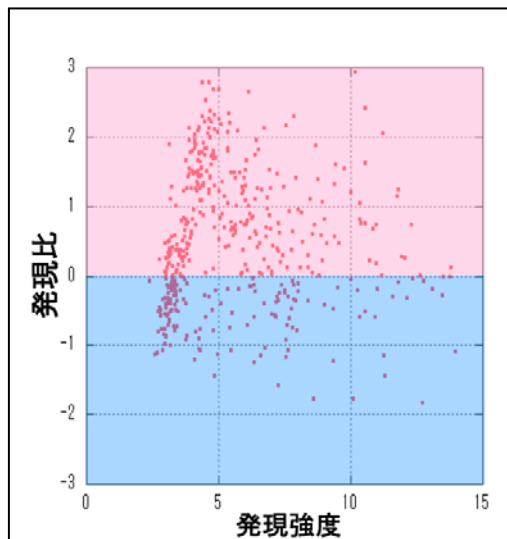


図 1: miRNA 448 種類の発現をマイクロアレイで解析した結果 発現比を  $\log_2(\text{OP群}/\text{Sham群})$  とし、ピンクの部分が up-regulate されたもの、水色の部分が down-regulate されたものを示している。また、右にいくほど発現強度は高い。

続いて、realtime RT-PCR による検証実験によって、代償性筋肥大の際に miR-21 の発現量が増加することが明らかとなった (図 2)。

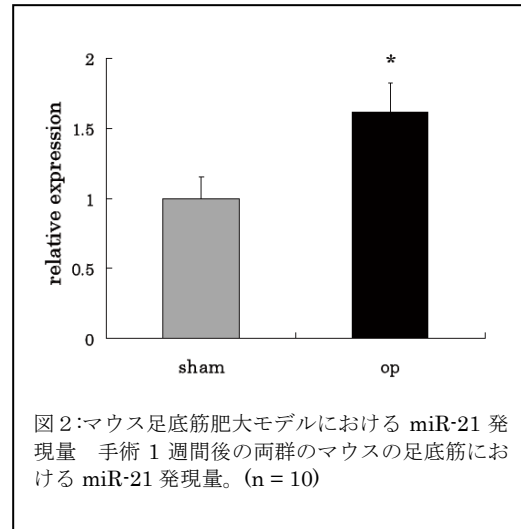


図 2: マウス足底筋肥大モデルにおける miR-21 発現量 手術 1 週間後の両群のマウスの足底筋における miR-21 発現量。(n = 10)

この際、筋分化制御遺伝子の発現量は運動量の増加に伴い、遅筋化の方向に進んでいることが明らかになった (図 3)。

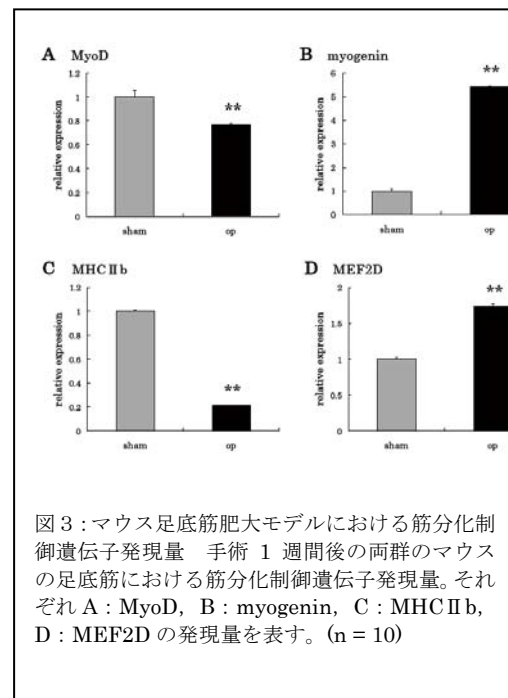


図 3: マウス足底筋肥大モデルにおける筋分化制御遺伝子発現量 手術 1 週間後の両群のマウスの足底筋における筋分化制御遺伝子発現量。それぞれ A: MyoD, B: myogenin, C: MHC II b, D: MEF2D の発現量を表す。(n = 10)

また miR-21 標的遺伝子 (ガン抑制遺伝子) の発現量は逆に減少していることから、miR-21 はこれらを標的として筋肥大に関わっていると予想された (図 4)。

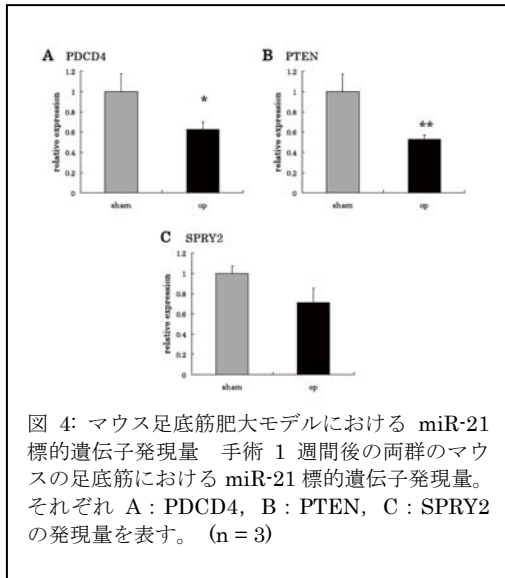


図 4: マウス足底筋肥大モデルにおける miR-21 標的遺伝子発現量。手術 1 週間後の両群のマウスの足底筋における miR-21 標的遺伝子発現量。それぞれ A: PDCD4, B: PTEN, C: SPRY2 の発現量を表す。(n = 3)

一方, C2C12 分化の際には筋分化制御遺伝子および miR-21 標的遺伝子の miR-21 依存度が低いことが示唆された。

以上の結果は miR-21 が, ガン抑制遺伝子である標的遺伝子の発現を阻害し, 増殖抑制機能をブロックすることにより細胞の増殖を促進することで筋肥大に関与している可能性を示唆している (図 5)

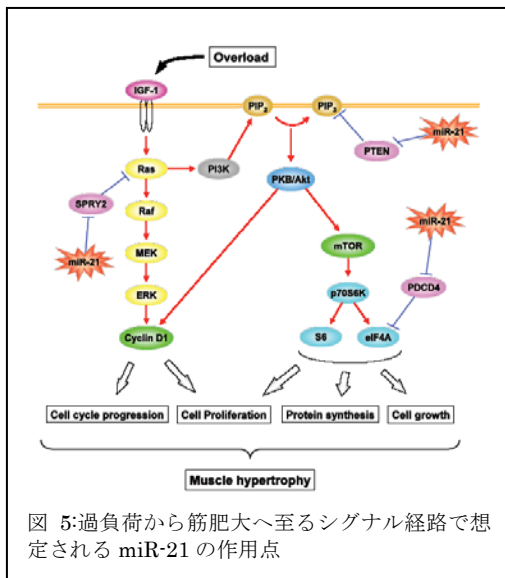


図 5: 過負荷から筋肥大へ至るシグナル経路で想定される miR-21 の作用点

本研究では高齢マウスを実験に用いておらず, サルコペニアにおける miR-21 の機能は証明できなかったため, 今後の課題としたい。また生体の miR-21 を遺伝子工学的に操作した際に, 筋肥大が引き起こされるのか否かも非常に興味深く, サルコペニアを抑える対症療法となる可能性も考えられる。

5. 主な発表論文等  
(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

①武政 徹: 運動による骨格筋の可塑性に関わる分子の研究. *体育の科学* (連載: 運動生理学分野の先端研究 2), 59: 623-630, 2009 (査読無し)

②Shin-ichi Ikeda, Takako Kizaki, Shukoh Haga, Hideki Ohno, Tohru Takemasa: Acute exercise induces biphasic increase in respiratory mRNA in skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 368: 323-328, 2008 (査読あり)

③Mitsunori Miyazaki, Miho Noguchi and Tohru Takemasa: Intermittent Reloading Attenuates Muscle Atrophy through Modulating Akt/mTOR Pathway. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 40: 845-855, 2008 (査読あり)

[学会発表] (計 22 件)

①熊谷千明, 清澤秀孔, 武政徹: マウス骨格筋の代償性筋肥大における microRNA の網羅的発現解析. *BMB2008 (第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会)*, 神戸, 2008. 12. 10

②熊谷千明, 武政徹: 筋肥大に関する microRNA の網羅的探索. *第 16 回日本運動生理学学会*, 奈良, 2008. 08. 02

③Kazuki Esaki, Takashi Kinugasa, Tohru Takemasa, Takafumi Hamaoka, Norio Murase, Toshihito Katsumura: The effect of a combined exercise training program on muscle oxidative capacity for the elderly. *7<sup>th</sup> International Society for Aging and Physical Activity (ISAPA)*, Ibaraki, Japan, 2008. 07. 27

④熊谷千明, 江口友昭, 町田正直, 藤原隆史, 小澤哲夫, 沼田治, 武政徹: ミトコンドリアを活性化する発酵茶由来高分子ポリフェノール (MAF) の筋肉に及ぼす効果. *2008 年生体運動研究合同班会議*, 宮城, 2008. 01. 08

⑤武政徹: 廃用性筋萎縮と運動負荷に関する分子メカニズム. *第 7 回日本抗加齢医学会総会*, 京都, 2007. 07. 20

〔図書〕（計 2 件）

①町田正直, 武政 徹: 運動と骨格筋と免疫.  
（分担:木崎節子, 大野秀樹編著）**運動と免疫  
-からだをまもる運動の不思議-**, ナップ; pp  
95-103, 2009

②武政 徹: 42 章 ; 動物のからだと運動の仕  
組み. (分担翻訳本: R/J Biology 翻訳委員会  
監訳) **レーヴン/ジョンソン生物学** 培風館;  
pp 855-886, 2007

〔産業財産権〕

○出願状況（計 2 件）

①

発明の名称: **筋増強系の Akt-mTOR-p70S6K を  
活性化する製剤およびその方法**

発明者: 武政 徹, 坪井誠, 田中友香, 伊藤  
賢一

権利者: 一丸ファルコス株式会社

種類: 特許

出願番号: 特願 2 0 0 9 - 0 4 0 1 4 8

出願日: 2 0 0 9 年 2 月 2 4 日

②

発明の名称: **生体高分子を網羅的に測定す  
るバイオセンサーシステム並びにその応用  
装置**

発明者: 武政 徹, カスター・デオカリス,  
ホセ・サントス

権利者: 筑波大学

種類: 特許

出願番号: 特願 2 0 0 8 - 3 0 0 0 3 2

出願日: 2 0 0 8 年 1 1 月 2 5 日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

武政 徹 (TAKEMASA TOHRU)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・准教  
授

研究者番号: 50236501

### (2) 研究分担者

清澤 秀孔 (KIYOSAWA HIDENORI)

独立行政法人理化研究所・動物変異動態解析  
技術開発チーム・開発研究員

研究者番号: 30295422