

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2022

課題番号：19K24330

研究課題名（和文）骨格筋由来のIGF-Iが運動による脳の健康増進に及ぼす影響の解明

研究課題名（英文）Role of skeletal muscle-derived IGF-I in exercise-induced enhancement of brain functions

研究代表者

横川 拓海（Yokokawa, Takumi）

京都大学・農学研究科・助教

研究者番号：80844323

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）：本研究では、成体マウスの骨格筋にてインスリン様成長因子1（IGF-I）を欠損させた後、行動解析（オープンフィールド試験・高架式十字迷路試験・Y迷路試験・バーンズ迷路試験）および生化学解析を実施することで、骨格筋IGF-Iの脳機能への寄与を検討した。その結果、成熟骨格筋におけるIGF-Iの欠損は、1) 自発行動量、不安様行動、学習機能に顕著な影響をもたらさない、2) 海馬におけるシナプス分子および神経活動マーカーの発現量に顕著な影響を与えない、3) 血漿・血清のIGF-I濃度を変化させないとの知見が得られた。以上より、骨格筋IGF-Iは、脳機能に顕著な影響を及ぼさないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまで間接的なエビデンスにより示唆されてきた骨格筋IGF-Iの脳機能への寄与を、成熟骨格筋特異的IGF-I欠損マウスを用いて検証した。その結果、成熟骨格筋におけるIGF-Iの欠損は、自発行動量・不安様行動・学習能力に顕著な影響を及ぼさないことが明らかとなった。また、海馬の生化学解析においても、同様に顕著な影響は観察されなかった。本研究は骨格筋による脳機能制御の分子機序におけるIGF-I以外の分子の重要性を示唆するとともに、骨格筋-脳の臓器連関を検証する研究のモデルデザインとなり得る点で学術的・社会的意義を持つと考えられる。

研究成果の概要（英文）：To clarify the contribution of adult skeletal muscle-derived insulin-like growth factor 1 (IGF-I) to brain functions, we have performed the behavioral and biochemical analysis using inducible skeletal muscle-specific IGF-I knockout (iskm-IGF-I KO) mice. In this study, we found no significant change in spontaneous locomotor activity, anxiety-like behavior, and spatial learning in iskm-IGF-I KO mice. The biochemical analysis also showed no significant effect on the expression of synaptic molecules and neural activity markers in the hippocampus of iskm-IGF-I KO mice. These results suggest the no or limited contribution of adult skeletal muscle-derived IGF-I on brain functions.

研究分野：運動生化学

キーワード：インスリン様成長因子1 骨格筋 脳 臓器連関 情動 学習

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

運動は、学習能力の改善、認知症・うつ病の予防に効果があることが報告されているが、その分子機序は明らかでない。運動による健康増進効果の分子機序の解明は、適切な運動療法の確立に寄与するだけでなく、その作用機序を模倣する新規栄養・薬理因子(運動模倣剤)の探索につながる可能性があり、臨床的意義を持つ。循環血液共有実験から、末梢環境が脳機能に寄与することが明らかとなっている。近年、運動生理学分野においても骨格筋が学習・うつ様行動に関与することが示唆されているが、そのエビデンスは限定的である。

血中のインスリン様成長因子 I (IGF-I) は脳に輸送され (Nishijima et al., Neuron, 2010)、海馬の神経可塑性に関わるシグナル応答を惹起する (Trejo et al., J Neurosci, 2001)。先行研究により、運動に伴い骨格筋の IGF-I が増加すること、骨格筋特異的 IGF-I 欠損マウスにおいて血中 IGF-I 濃度が減少することが報告されている (Vassilakos et al., FASEB J, 2019)。従って、運動に伴い骨格筋から分泌された IGF-I が血流を介して、脳に作用することで脳健康増進に寄与している可能性がある。しかしながら、IGF-I が骨格筋-脳臓器連関の媒介因子であることを直接的に示した先行研究は存在しない。

2. 研究の目的

本研究では、IGF-I が骨格筋-脳臓器連関による脳機能制御の媒介因子である可能性を、骨格筋特異的 IGF-I 欠損マウスを用いて検証することを目的とした。

3. 研究の方法

研究課題 1 : 運動が骨格筋 IGF-I 発現量ならびに血中 IGF-I 濃度に及ぼす影響の検討

8-10 週齢の野生型 C57BL/6J マウスをランニングホイールあり(自発性走運動群)・なし(非運動群)の各条件にて 4 週間飼育した後、血漿ならびに足底筋をサンプリングした。その後、enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA) 法により血漿 IGF-I 濃度、real-time polymerase chain reaction (PCR) 法により足底筋 *Igf1* 遺伝子発現量を評価した。

研究課題 2 : 骨格筋特異的 IGF-I 欠損が脳機能に及ぼす影響の検討

骨格筋特異的な発現を示す human α -skeletal actin (HSA) のプロモーターにより MerCreMer 遺伝子の発現がドライブされる(HSA-MCM)マウスを、*Igf1*-floxed マウスと掛け合わせることで、タモキシフェン誘導性格格筋特異的 IGF-I 欠損マウスを作出した。16 週齢以降に 5 日間連続でタモキシフェンを腹腔内投与することで、*Igf1* 遺伝子の欠損を誘導した。欠損誘導 3 週間後から、行動解析(オープンフィールド試験・高架式十字迷路試験・Y 迷路試験・バーンズ迷路試験)を実施した。また、血漿および血清を採取し、ELISA 法により IGF-I 濃度を測定した。加えて、ヒラメ筋、足底筋、腓腹筋、肝臓ならびに海馬をサンプリングし、標的分子の遺伝子・タンパク質発現量を real-time PCR 法ならびに western blot 法により評価した。

4. 研究成果

研究課題 1 : 運動が骨格筋 IGF-I 発現量ならびに血中 IGF-I 濃度に及ぼす影響

IGF-I は運動誘導性のマイオカインとして、運動による健康増進効果に関与している可能性が示されているが、自発性走運動の際の血中 IGF-I 動態に関しては十分な知見が得られていない。以上より、4 週間の自発性走運動が、血漿 IGF-I 濃度ならびに骨格筋 *Igf1* 遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。その結果、自発性走運動は、血漿 IGF-I 濃度ならびに足底筋 *Igf1* 遺伝子発現に統計学的に有意な変化を及ぼさなかった。

研究課題 2 A : 骨格筋 IGF-I 欠損の確認および血中 IGF-I 濃度への寄与

成熟骨格筋由来 IGF-I の脳への作用を検討するために、タモキシフェン投与に伴い骨格筋特異的に *Igf1* 遺伝子が欠損するマウスを作成した。16 週齢以降の成熟期にタモキシフェンを投与し 4 および 8 週間後にサンプリングを実施したところ、足底筋ならびにヒラメ筋において Cre recombination の誘導ならびに *Igf1* 遺伝子発現量の低下が観察された。一方、肝臓の *Igf1* 遺伝子発現量に関しては、有意な変化は観察されなかった。また、血清ならびに血漿 IGF-I 濃度に関しても、有意な変化は観察されなかった。先行研究とは異なり骨格筋 IGF-I 欠損に伴う血中 IGF-I の減少が確認されなかった原因としては、コントロールとして本研究では *Igf1*-floxed/floxed マウス

を用いている事に対し、先行研究では Cre ドライバーマウスを用いている事が考えられる (Vassilakos et al., FASEB J, 2019)。実際、野生型マウスと比較したところ、Igf1-flox/flox マウスは血中 IGF-I 濃度が低値を示すことが確認された。従って、先行研究により報告されている骨格筋 IGF-I 欠損マウスの血中 IGF-I 濃度の低下は、骨格筋 IGF-I の欠損によるものではないと考えられる。

研究課題 2 B : 骨格筋特異的 IGF-I 欠損が骨格筋重量ならびに分子経路に及ぼす影響

IGF-I は骨格筋の量的制御に関与していることが示唆されている。従って、骨格筋 IGF-I の欠損が骨格筋量に及ぼす影響を検討した。タモキシフェン投与 4 週間後において、足底筋・腓腹筋・ヒラメ筋の湿重量に有意な変化見られなかった。加えて、骨格筋量制御に関わるユビキチンリガーゼ (*Trim63*, *Fbxo32*) の遺伝子発現ならびに Akt/mechanistic target of rapamycin complex 1 経路 (インスリン受容体、IGF-I 受容体、Akt、ribosomal protein S6、p70 S6 kinase) に関しても、骨格筋 IGF-I 欠損による影響は観察されなかった。以上より、骨格筋に由来する IGF-I は、骨格筋量の制御に対し顕著な影響を及ぼさないことが示された。

研究課題 2 C : 骨格筋特異的 IGF-I 欠損が自発行動量・情動・学習機能に及ぼす影響

骨格筋 IGF-I 欠損が脳機能に及ぼす影響を検討するために、タモキシフェン投与 3 週間後から自発行動量・不安様行動・学習能力に関わる行動解析を実施した。オープンフィールド試験・高架式十字迷路試験・Y 迷路試験において、自発行動量の変化は観察されなかった。情動に関しては、オープンフィールドにおけるセンターゾーンでの滞在時間ならびに高架式十字迷路試験におけるオープンアームでの滞在時間の双方で遺伝子型による変化は検出されず、骨格筋 IGF-I の欠損による不安様行動への影響は観察されなかった。Y 迷路試験におけるワーキングメモリの指標である自発的交替行動に関しても、骨格筋 IGF-I 欠損による影響は観察されなかった。バーンス迷路試験においては、両群ともに空間記憶学習が観察され、骨格筋 IGF-I 欠損による学習障害は観察されなかった。以上より、成熟骨格筋における IGF-I の欠損は、自発行動量・不安様行動・学習障害に関与しないことが示唆された。

研究課題 2 D : 骨格筋特異的 IGF-I 欠損が海馬遺伝子・タンパク質発現量に及ぼす影響

骨格筋 IGF-I が脳組織に及ぼす影響を分子レベルで明らかとするため、タモキシフェン投与後 4 ならびに 8 週間後に海馬をサンプリングし、real-time PCR 法ならびに western blot 法により関連分子の遺伝子ならびにタンパク質発現量を検討した。情動・学習に関わる因子として、海馬シナプス分子の発現量を検討したところ、骨格筋 IGF-I の欠損はシナプスマーカー (synaptophysin および Synapsin 1) のタンパク質発現量に顕著な変化を及ぼさなかった。また、海馬苔状線維終末に同化する synaptoporin に関しても変化は観察されなかった。同様に、興奮性シナプスマーカー (VGLUT1、AMPA receptor subunits、NMDA receptor subunits、PSD95、Homer1) ならびに抑制性シナプスマーカー (VGAT、GAD2、GABAA receptor subunits、Gephyrin) の発現量に関しても、顕著な変化は観察されなかった。

骨格筋 IGF-I が海馬の神経活動に及ぼす影響を検討するために、神経活動依存的に発現制御を受ける最初期遺伝子の発現量を評価した。その結果、*Bdnf*、*Arc*、*Fosb* といった最初期遺伝子の発現量に関して、遺伝子型間での有意差は観察されなかった。

以上より、成熟骨格筋に由来する IGF-I は、脳機能に顕著な影響を及ぼさないことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Yokokawa Takumi, Kido Kohei, Sato Koji, Hayashi Tatsuya, Fujita Satoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Altered expression of synaptic proteins and adhesion molecules in the hippocampus and cortex following the onset of diabetes in nonobese diabetic mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e15673
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.15673	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 Matsumura Shigenobu, Miyakita Motoki, Miyamori Haruka, Kyo Satomi, Ishikawa Fuka, Sasaki Tsutomu, Jinno Tomoki, Tanaka Jin, Fujita Kotomi, Yokokawa Takumi, Goto Tsuyoshi, Momma Keiko, Takenaka Shigeo, Inoue Kazuo	4. 巻 36
2. 論文標題 CRT1 deficiency, specifically in melanocortin 4 receptor expressing cells, induces hyperphagia, obesity, and insulin resistance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 e22645
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.202200617r	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yokokawa Takumi, Sasaki Shohei, Sase Kohei, Yoshii Naomi, Yasuda Jun, Hayashi Tatsuya, Fujita Satoshi	4. 巻 17
2. 論文標題 Association of serum brain-derived neurotrophic factor with hepatic enzymes, AST/ALT ratio, and FIB-4 index in middle-aged and older women	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0273056
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0273056	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 Yokokawa Takumi, Hashimoto Takeshi, Iwanaka Nobumasa	4. 巻 9
2. 論文標題 Caffeine increases myoglobin expression via the cyclic AMP pathway in L6 myotubes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e14869
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14869	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 Tanaka Jin, Ishikawa Fuka, Jinno Tomoki, Miyakita Motoki, Miyamori Haruka, Sasaki Tsutomu, Yokokawa Takumi, Goto Tsuyoshi, Inoue Kazuo, Matsumura Shigenobu	4. 巻 17
2. 論文標題 Disruption of CRTC1 and CRTC2 in Sim1 cells strongly increases high-fat diet intake in female mice but has a modest impact on male mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0262577
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0262577	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 Egawa Tatsuro, Ogawa Takeshi, Yokokawa Takumi, Kido Kohei, Goto Katsumasa, Hayashi Tatsuya	4. 巻 132
2. 論文標題 Methylglyoxal reduces molecular responsiveness to 4 weeks of endurance exercise in mouse plantaris muscle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 477 ~ 488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jappphysiol.00539.2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasuda Jun, Murata Kao, Hasegawa Tsubasa, Yamamura Mana, Maeo Sumiaki, Takegaki Junya, Tottori Nobuaki, Yokokawa Takumi, Mori Risako, Arimitsu Takuma, Nishikori Shu, Fujita Satoshi	4. 巻 97
2. 論文標題 Relationship between protein intake and resistance training-induced muscle hypertrophy in middle-aged women: A pilot study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrition	6. 最初と最後の頁 111607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nut.2022.111607	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujiyoshi Haruna, Egawa Tatsuro, Kurogi Eriko, Yokokawa Takumi, Kido Kohei, Hayashi Tatsuya	4. 巻 23
2. 論文標題 TLR4-Mediated Inflammatory Responses Regulate Exercise-Induced Molecular Adaptations in Mouse Skeletal Muscle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1877
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23031877	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 Matsumura Shigenobu, Miyakita Motoki, Miyamori Haruka, Kyo Satomi, Shima Daisuke, Yokokawa Takumi, Ishikawa Fuka, Sasaki Tsutomu, Jinno Tomoki, Tanaka Jin, Goto Tsuyoshi, Momma Keiko, Ishihara Kengo, Berdeaux Rebecca, Inoue Kazuo	4. 巻 322
2. 論文標題 Stimulation of G _s signaling in MC4R cells by DREADD increases energy expenditure, suppresses food intake, and increases locomotor activity in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 E436 ~ E445
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpendo.00439.2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yokokawa Takumi, Mori Risako, Suga Tadashi, Isaka Tadao, Hayashi Tatsuya, Fujita Satoshi	4. 巻 527
2. 論文標題 Muscle denervation reduces mitochondrial biogenesis and mitochondrial translation factor expression in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 146 ~ 152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.04.062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yokokawa Takumi, Sato Koji, Narusawa Ryoko, Kido Kohei, Mori Risako, Iwanaka Nobumasa, Hayashi Tatsuya, Hashimoto Takeshi	4. 巻 528
2. 論文標題 Dehydroepiandrosterone activates 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase and suppresses lipid accumulation and adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 612 ~ 619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.05.136	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mori Risako, Yokokawa Takumi, Fujita Satoshi	4. 巻 529
2. 論文標題 Modified expression of vitamin D receptor and CYP27B1 in denervation-induced muscle atrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 733 ~ 739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.05.205	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Egawa Tatsuro, Kido Kohei, Yokokawa Takumi, Fujibayashi Mami, Goto Katsumasa, Hayashi Tatsuya	4. 巻 176
2. 論文標題 Involvement of receptor for advanced glycation end products in microgravity-induced skeletal muscle atrophy in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Astronautica	6. 最初と最後の頁 332 ~ 340
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actaastro.2020.07.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Egawa Tatsuro, Ohno Yoshitaka, Yokoyama Shingo, Yokokawa Takumi, Tsuda Satoshi, Goto Katsumasa, Hayashi Tatsuya	4. 巻 8
2. 論文標題 The Protective Effect of Brazilian Propolis against Glycation Stress in Mouse Skeletal Muscle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Foods	6. 最初と最後の頁 439 ~ 439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/foods8100439	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8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Yamamura, M., Yasuda, J., Yokokawa, T., & Fujita, S
2. 発表標題 Association between Serum 25-hydroxyvitamin D concentration and muscle mass and strength in Japanese elderly people
3. 学会等名 International Conference on Frailty and Sarcopenia Research 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yokokawa, T., Hayashi, T., & Fujita, S.
2. 発表標題 Time course effects of voluntary running exercise on protein products of immediate early genes in murine hippocampus
3. 学会等名 24th Annual Congress of the European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mori, R., Yokokawa, T., Katamoto, Y., Ishihara, K., Iwata, O., Asayama, Y., Suzuki, K., Fujita, S.
2. 発表標題 The influence of combination of Aurantiochytrium intake and resistance exercise on AMPK and mTORC1 signaling in murine skeletal muscle
3. 学会等名 24th Annual Congress of the European College of Sport Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横川 拓海, 木戸康平, 森理紗子, 佐瀬晃平, 増山律子, 林達也, 藤田 聡
2. 発表標題 骨格筋特異的IGF-I欠損が骨格筋ならびに全身性の代謝に及ぼす影響
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森理紗子, 横川拓海, 藤田聡
2. 発表標題 坐骨神経切除による骨格筋萎縮はビタミンD受容体およびCYP27B1のタンパク質発現量の増加を伴う
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木戸康平, 佐瀬晃平, 横川拓海, 藤田聡
2. 発表標題 ラバマイシンは単回レジスタンス運動に伴う骨格筋のインスリン感受性亢進効果を高める
3. 学会等名 第74回 日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横川拓海, 森理紗子, 菅唯志, 伊坂忠夫, 林達也, 藤田聡
2. 発表標題 脱神経がマウス骨格筋におけるミトコンドリア翻訳因子の発現量に及ぼす影響
3. 学会等名 第74回 日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森理紗子, 横川拓海, 藤田聡
2. 発表標題 マウスにおける経皮的電気刺激によるレジスタンス運動モデルの検討
3. 学会等名 第74回 日本体力医学会大会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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