

令和 6 年 5 月 10 日現在

機関番号：35309

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11715

研究課題名（和文）ロイシン摂取による骨格筋mTORC1活性化を促進・抑制する新規制御機構の解明

研究課題名（英文）Role of the Sestrin/GATOR2 pathway in skeletal muscle mTORC1 activation

研究代表者

神崎 圭太（Kanzaki, Keita）

川崎医療福祉大学・医療技術学部・准教授

研究者番号：30637286

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ロイシン摂取が骨格筋タンパク質合成の増加に重要な役割を果たすmTORC1を活性化させる作用は、筋収縮後に促進され、不活動や疾病への罹患で抑制されることが報告されている。本研究ではこのメカニズムとしてSestrin-GATOR2複合体経路に着目した。その結果、1) 速筋ではSestrin1が、遅筋ではSestrin1とSestrin2がロイシンセンサーとして機能すること、および2) ロイシンによる骨格筋mTORC1活性化の促進・抑制に、Sestrinのセンサー機能における変化は寄与しないことを示唆する結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、同量のロイシン（またはたんぱく質）を摂取しても、骨格筋タンパク質合成の増加が健康な若年者よりも高まらない「同化抵抗性」という現象が、加齢、疾病への罹患、活動量の低下などによって生じることが知られるようになってきた。しかし、同化抵抗性の分子メカニズムはあまり明らかになっていない。本研究ではロイシンセンサーとして同定されたSestrinの機能低下が、同化抵抗性の原因であるという仮説を、不活動モデルと糖尿病モデルで検討したが、この仮説を支持する結果は得られなかった。この成果は他のロイシンセンサーや、Sestrinの下流に位置するRag二量体などに着目した検討の必要性を示すものである。

研究成果の概要（英文）：Oral administration of leucine, one of the branched chain amino acids, stimulates skeletal muscle protein synthesis. This effect of leucine is largely regulated by the activity of mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1). It has been shown that leucine-induced mTORC1 activation is enhanced by the repeated muscle contractions and suppressed by the inactivity and metabolic disorders. The main results of the present study were that (1) Sestrin1 functions as a leucine sensor in both fast- and slow-twitch muscles, whereas Sestrin2 functions only in slow-twitch muscles, and (2) functional changes of Sestrins do not contribute to the promotion/suppression of mTORC1 activation by leucine ingestion.

研究分野：運動・栄養生化学

キーワード：ロイシン 筋収縮 不活動 糖尿病 Sestrin GATOR2 mTORC1 骨格筋

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

分岐鎖アミノ酸の1つであるロイシンの摂取は、骨格筋のタンパク質合成を増加させること、およびこの増加にはラパマイシン標的タンパク質複合体1 (mTORC1) の活性化が重要であることが広く知られている。また、ロイシン摂取による mTORC1 活性化は、筋収縮運動後に促進され、不活動や疾病への罹患で抑制されることも示されている。しかしながら、mTORC1 活性化が促進・抑制されるメカニズムは、あまり明らかになっていない。

Sestrin は、通常、GATOR2 複合体との結合を介して mTORC1 を阻害しているが、ロイシンと結合すると、GATOR2 からの解離を引き金として mTORC1 を活性化するロイシンセンサーである。培養細胞を用いた先行研究では、Sestrin1 および Sestrin2 がロイシンセンサーとして機能することが示されているが、生体の骨格筋においても、これらの Sestrin がロイシンセンサーとして機能するかは不明であった。また、Sestrin のセンサー機能の亢進は mTORC1 活性化の促進に、センサー機能の低下は mTORC1 活性化の抑制に寄与することが推測されるが、この点を検討した報告もなかった。

2. 研究の目的

そこで本研究では、Sestrin が骨格筋においてもロイシンセンサーとして機能するか、および mTORC1 活性化の促進・抑制に Sestrin のセンサー機能の変化が関連しているかを明らかにすることを目的とし、以下の課題に取り組んだ。

課題1：ロイシン摂取や筋収縮運動が Sestrin と GATOR2 の結合に及ぼす影響

課題2：ロイシン摂取や脱神経が Sestrin と GATOR2 の結合に及ぼす影響

課題3：ロイシン摂取やストレプトゾトシン投与が Sestrin と GATOR2 の結合に及ぼす影響

3. 研究の方法

(1) 課題1

Wistar 系雄性ラットを control (C) 群、leucine (L) 3 群、L10 群に分類した。一晩の絶食後に、左脚の下半三頭筋に 10 回×3 セットの等尺性収縮を負荷した。右脚は安静脚とした。収縮終了 2 時間後に、C 群には蒸留水を、L3 群には 3 mmol/kg 体重のロイシンを、L10 群には 10 mmol/kg 体重のロイシンを経口投与し、投与 30、60、120 分後に血液と腓腹筋を採取した。

(2) 課題2

Wistar 系雄性ラットを control (C) 群と leucine (L) 群に分類した。右脚は安静 (R) 脚と、左脚は脱神経 (D) 脚とした。坐骨神経切除 7 日後に、L 群には 3 mmol/kg 体重のロイシン溶液を、C 群には蒸留水を経口投与し、その 60 分後に足底筋 (速筋) とヒラメ筋 (遅筋) を摘出した。

(3) 課題3

Wistar 系雄性ラットを control (C) 群と streptozotocin (S) 群に分類し、S 群には 75 mg/kg 体重の streptozotocin を、C 群には溶媒として用いたクエン酸バッファーを腹腔内投与した。投与 3 日後に各群の半数には生理食塩水を、残り半数には 1.5 mmol/kg 体重のロイシンを経口投与し、その 30 分後に腓腹筋を摘出した。

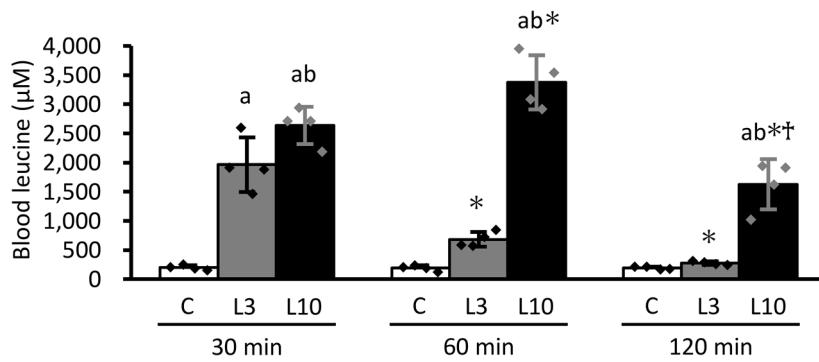
4. 研究成果

(1) 課題1

血中ロイシン濃度は、L3 群では 30 分後にピークに達し、その後大きく低下したが、L10 群では 30~60 分後にピークとなり、120 分後においても他の 2 群よりも高い値であった (図 1)。S6K1 のリン酸化 (mTORC1 活性化の指標) には、ロイシン濃度と同様の変化が認められた (図 2)。また、安静脚では L3 群よりも L10 群が高値となったが、収縮脚ではこの差異が認められなかった。WDR24 (GATOR2 構成タンパク質) に結合する Sestrin1 の量には、L3 群と L10 群で低下がみられた；L3 群では 30 分後が 60 分後よりも低値となったが、L10 群では 30 分後と 60 分後の間で低下の程度に差異はなく、また L3 群とは異なり 120 分後においても低下がみられた (図 3)。一方、Sestrin2 に結合する WDR24 の量には、C 群に比べて L3 群と L10 群で高値がみられた。このような WDR24 と Sestrin1 および Sestrin2 の結合量の変化には、安静脚と収縮脚の間で差異はみられなかった。

(2) 課題2

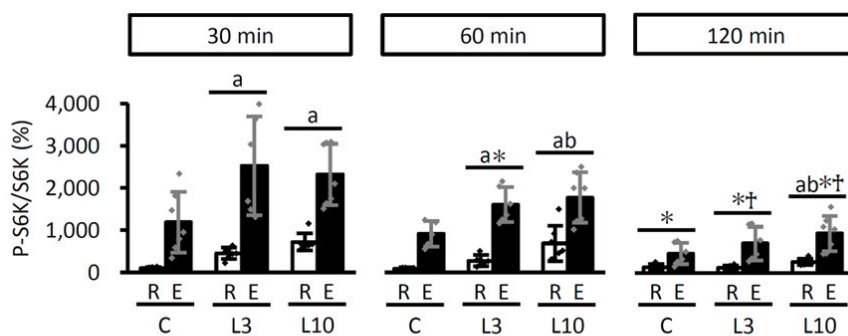
S6K1 のリン酸化および Sestrin と WDR24 の結合には、R 脚に比べ D 脚において、ヒラメ筋で減少が、足底筋で増加がみられた。S6K1 のリン酸化には、いずれの筋においても、C 群に比べ L 群で増加がみられた。C 群に比べ L 群で Sestrin と WDR24 の結合が低下することが、いずれの脚においても観察された。この低下はヒラメ筋では Sestrin1 と Sestrin2 の両方に、足底筋では Sestrin1 のみに認められた。



Group effect, $P < 0.001$; Time effect, $P < 0.001$; Group x Time interaction, $P < 0.001$.

図1 血中ロイシン濃度の変化

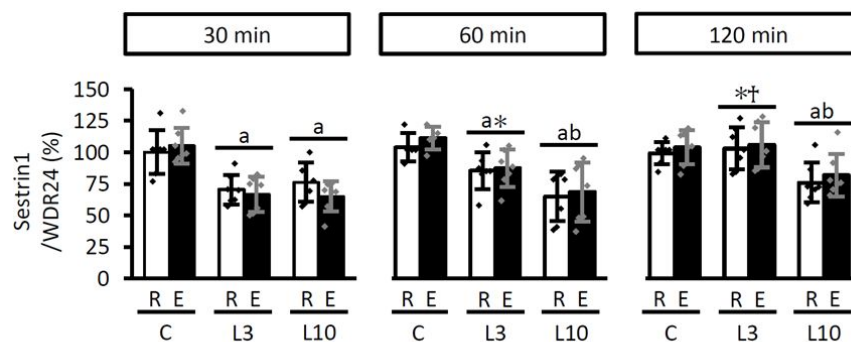
^a $P < 0.05$, versus C at each time point; ^b $P < 0.05$, versus L3 at each time point; * $P < 0.05$, versus 30 min in each group; † $P < 0.05$, versus 60 min in each group.



Group effect, $P < 0.001$; Time effect, $P < 0.001$; Leg effect, $P < 0.001$;
 Group x Time interaction, $P = 0.007$;
 Group x Leg interaction, $P = 0.006$ (C, L3 and L10, R < E; R, C < L3 < L10; E, C < L3 and L10);
 Time x Leg interaction, $P = 0.032$ (30, 60 and 120 min, R < E; R and E, 30 and 60 min > 120 min).

図2 リン酸化型 S6K1 の変化

^a $P < 0.05$, versus C at each time point; ^b $P < 0.05$, versus L3 at each time point; * $P < 0.05$, versus 30 min in each group; † $P < 0.05$, versus 60 min in each group.



Group effect, $P < 0.001$; Time effect, $P < 0.001$; Group x Time interaction, $P < 0.001$.

図3 Sestrin1 と WDR24 の結合の変化

^a $P < 0.05$, versus C at each time point; ^b $P < 0.05$, versus L3 at each time point; * $P < 0.05$, versus 30 min in each group; † $P < 0.05$, versus 60 min in each group.

(3) 課題3

S6K1 のリン酸化には、両群において、生理食塩水に比べてロイシンの摂取で増加が認められたが、ロイシン摂取条件での比較ではC群に比べてS群が低値であった。Sestrin1 と WDR24 の結合には、C群に比べてS群で有意な増加がみられること、および両群において生理食塩水に比べてロイシンの摂取で有意な低下がみられることが観察された。

(4) まとめ

以上のように本研究では、1) 速筋では Sestrin1 が、遅筋では Sestrin1 および Sestrin2 がロイシンセンサーとして機能すること、2) 筋収縮運動はロイシン摂取後の mTORC1 活性化を促進するが、これには Sestrin-GATOR2 複合体経路とは異なる経路が関与すること、3) 脱神経後に速筋で

起こる mTORC1 活性化および遅筋でおこる mTORC1 不活性化には, Sestrin-GATOR2 複合体経路における変化は寄与しないこと, 4) 1 型糖尿病モデルでは, ロイシン摂取後の mTORC1 活性化が抑制されるが, これには Sestrin-GATOR2 複合体経路における変化は寄与しないことを示唆する結果が得られた.

今後の研究では, Sestrin 以外のロイシンセンサーや, GATOR2 複合体の下流に位置する GATOR1 複合体および Rag 二量体における変化に着目した検討が必要である.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kanzaki Keita, Wada Masanobu	4. 巻 153
2. 論文標題 Effects of Leucine Ingestion and Contraction on the Sestrin/GATOR2 Pathway and mTORC1 Activation in Rat Fast-Twitch muscle	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 2228 ~ 2236
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.tjnut.2023.06.011	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 神崎圭太, 和田正信
2. 発表標題 脱神経がロイシン摂取後に起こるGATOR2複合体からのSestrinの解離に及ぼす影響
3. 学会等名 第77回日本体力医学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神崎圭太, 和田正信
2. 発表標題 ロイシン摂取および筋収縮運動がSestrinとGATOR2複合体の結合に及ぼす影響
3. 学会等名 第77回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 神崎圭太
2. 発表標題 脱神経がSestrin-GATOR2複合体経路に及ぼす影響
3. 学会等名 第31回日本運動生理学会大会
4. 発表年 2023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
---------	---------