

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 1 日現在

機関番号：32620  
 研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2010～2012  
 課題番号：22300223  
 研究課題名（和文）パールカンに着目した筋肥大を制御するメカニカルシグナル受容機構の研究  
 研究課題名（英文）Role of perlecan in muscle hypertrophy induced by mechanical-stress  
 研究代表者 平澤 恵理（HIRASAWA ERI）  
 順天堂大学・大学院医学研究科・准教授  
 研究者番号：50245718

### 研究成果の概要（和文）：

本研究では、筋肥大の分子機構に関し、増殖因子を含む複数の分子と結合する多機能糖鎖タンパク質パールカンに着目し、筋肥大をもたらすメカニカルストレスの受容機構、ミオスタチン、各種増殖因子シグナルへのパールカンの関与とその作用機構の解明を目的とした。パールカン筋で欠損するマウスでは運動負荷を過剰に需要し、下流シグナルが亢進することを示唆する研究結果が得られた。腱切除術を用いた機械的負荷の結果と同様であった。これらのことからパールカンは筋肥大の制御に関わることが明らかになった。

### 研究成果の概要（英文）：

The aim of this study is to identify the role of perlecan, a multifunctional glycoprotein, in skeletal muscle hypertrophy induced by mechanical stress such as exercise training. We found that in perlecan deficient mice, skeletal muscle hypertrophy was promoted with increased growth factor and myostatin signaling under the mechanical stress. Our findings reveal the important regulatory role of perlecan in muscle hypertrophy induced by mechanical stress.

### 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2011 年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2012 年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
総計	14,100,000	4,230,000	18,330,000

### 研究分野：筋病理学

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：メカニカルストレス、サルコペニア、ミオスタチン、パールカン

#### 1. 研究開始当初の背景

骨格筋においては、メカニカルストレスの受容が肥大や再生を維持していくために必須の刺激である一方で、筋の障害や病態と密接に関連するという複雑な状況にある。筋力トレーニングの効果や、廃用性筋萎縮または加齢に伴う筋機能の低下（サルコペニア）の根底にある詳細なメカニズムを明らかにする

ことは、競技力向上あるいは高齢者の自立支援のみならず、また筋疾患の治療のための根幹的課題でもある。近年の筋量維持や肥大シグナルの分子生物学的研究はミオスタチンシグナルを中心として学際的发展を遂げているが、依然としてメカニカルストレスと細胞内シグナルの間には大きなブラックボックスが存在している。我々は基底膜分子の研

究に取り組んできたが、主要基底膜分子の一つであるパルカンが欠損した筋では、速筋の肥大と遅筋の増加がみられることを見だし、パルカンの筋再生調節因子としての関与を明らかにした (2010 Matrix Biology)。これらの結果より、このブラックボックスの一端は筋を取りまわっている基底膜のメカニカルストレスの受容であるとの仮説を設定した。

## 2. 研究の目的

本研究では、増殖因子を含む複数の分子と結合する多機能糖鎖タンパク質パルカンに着目し、パルカンの1)メカニカルストレスの受容機構、と2)ミオスタチン、各種増殖因子シグナルへのパルカンの関与、作用機構解明を目的としている。

## 3. 研究の方法

1. 運動の強度および時間が異なる 10 週間の走トレーニングが、成ラットの足底筋における衛星細胞発現に及ぼす影響を用いて検討した。

2. パルカン欠損と運動負荷の関係を検討するため、トレッドミル走による運動負荷後、機械的負荷によりリン酸化される細胞内シグナル伝達物質 (p-Akt, p-mTOR, p-p70S6K, p-rpS6) をマウスのヒラメ筋、足底筋、大腿四頭筋で解析した。

## 4. 研究成果

1. 衛星細胞の割合は、負荷した運動の時間に関わらず、高強度運動負荷群が低強度および安静群に比較して有意に高かった。筋肥大に重要な役割を果たすと考えられている筋衛星細胞の発現は、運動時間よりも強度の影響を受けることが示唆された。運動と細胞外マトリックス分子の関連性をさらに検討する。

2. トレッドミル走の運動負荷では速筋である足底筋、大腿四頭筋において、KO マウスで p-Akt の発現量が高値を示したが、その下流シグナル p-p70S6K、p-rpS6 において発現量が低下する傾向を示した。このことは、パルカンが欠損すると、トレッドミル走と

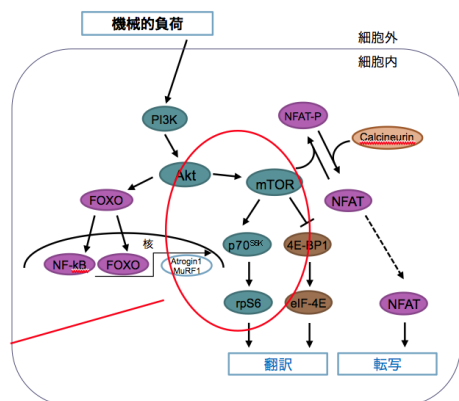
いう機械的負荷により、過剰に反応する可能性を示し、我々が tenotomy により検討した過去の結果 (2010 Matrix Biology) と一致している。しかし、p-p70S6K、p-rpS6 において発現量が低下する傾向を示したことから、さらに  $n$  を増やし Akt 以外のシグナルを網羅的に解析することが必要と思われた。

## 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 23 件)

- 1 Syu A, Ishiguro H, Inada T, Horiuchi Y, Tanaka S, Ishikawa M, Arai M, Itokawa M, Niizato K, Iritani S, Ozaki N, Takahashi M, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Keino-Masu K, Arikawa-Hirasawa E, Arinami T. Association of the HSPG2 gene with neuroleptic-induced tardive dyskinesia *Neuropsychopharmacolog.* 2010 Apr;35(5):1155-64. Epub Jan 13. 2010 (査読あり)
- 2 Sakamoto Y, Ishijima M, Kaneko H, Kurebayashi N, Ichikawa N, Futami I, Kurosawa H, Arikawa-Hirasawa E Distinct Mechanosensitive Ca<sup>2+</sup> Influx Mechanisms in Human Primary Synovial Fibroblasts *J Orthop Res.* 28:859-864, 2010 (査読あり)
- 3 Namba T, Yabe T, Gonda Y, Ichikawa N, Sanagi T, Arikawa-Hirasawa E, Mochizuki H, Kohsaka S, Uchino S. Pigment epithelium-derived factor up-regulation induced by memantine, an N-methyl-d-aspartate receptor antagonist, is involved in increased proliferation of hippocampal progenitor cells. *Neuroscience.* 2010 May 5;167(2):372-83. 2010 (査読あり)
- 4 Xu Z, Ichikawa N, Kosaki K, Yamada Y, Sasaki T, Sakai LY, Kurosawa H, Hattori N, Arikawa-Hirasawa E. Perlecan deficiency causes muscle hypertrophy, a decrease in myostatin expression, and changes in muscle fiber composition *Matrix Biol.* 2010 Jul;29(6):461-70 2010 (査読あり)
- 5 Sasaki T, Takagi J, Giudici C, Yamada Y, Arikawa-Hirasawa E,



- Deutzmann R, Timpl R, Sonnenberg A, Bächinger HP, Tonge D. Laminin-121-Recombinant expression and interactions with integrins. *Matrix Biol.* 29(6):484-93. 2010 (査読あり)
- 6 Ning L, Ishijima M, Kaneko H, Kurihara H, Arikawa-Hirasawa E, Kubota M, Liu L, Xu Z, Futami I, Yusup A, Miyahara K, Xu S, Kaneko K, Kurosawa H, Correlations between both the expression levels of inflammatory mediators and growth factor in medial perimeniscal synovial tissue and the severity of medial knee osteoarthritis, *Int. Orthop.* 2011 Jun;35(6):831-8. 2010 (査読あり)
- 7 Koltai E, Szabo Z, Atalay M, Boldogh I, Naito H, Goto S, Nyakas C, Radak Z. Exercise alters SIRT1, SIRT6, NAD and NAMPT levels in skeletal muscle of aged rats. *Mech Ageing Dev.* 131:21-29, 2010. (査読あり)
- 8 Chyba M, Mercier F, Rader J, Douet V, Arikawa-Hirasawa E, Kwon YC, Kodama R Dynamic mathematical modeling of cell-fractone interactions *Journal of Math-for-Industry*, Vol. 3 (2011A-8), pp. 79-88 2011 (査読あり)
- 9 Ogura Y, Iemitsu M, Naito H, Kakigi R, Kakehashi C, Maeda S, Akema T. Single bout of running exercise changes LC3-II expression in rat cardiac muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 414:756-760, 2011. (査読あり)
- 10 Kakigi R, Naito H, Ogura Y, Kobayashi H, Saga N, Ichinoseki-Sekine N, Yoshihara T, Katamoto. Heat stress enhances mTOR signaling after resistance exercise in human skeletal muscle. *J Physiol Sci.* 61::131-140, 2011. (査読あり)
- 11 Ichikawa-Tomikawa N, Ogawa J, Douet V, Xu Z, Kamikubo Y, Sakurai T, Kohsaka S, Chiba H, Hattori H, Yamada Y, and Arikawa-Hirasawa E. Laminin a1 is essential for mouse cerebellar development *Matrix Biol.* 31:January, Pages 17-28 2012 (査読あり)
- 12 Mercier F, Arikawa-Hirasawa E: Heparan sulfate niche for cell proliferation in the adult brain. *Neuroscience Letters* Apr 15;315(1-2):15-9 2012 (査読あり)
- 13 Yoshinaga H, Sakoda S, Good JM, Takahashi MP, Kubota T, Arikawa-Hirasawa E, Nakata T, Ohno K, Kitamura T, Kobayashi K, and Ohtsuka Y: A novel mutation in SCN4A causes severe myotonia and school-age-onset paralytic episodes. *Journal of the Neurological Sciences* Apr 15;315(1-2):15-9 2012 (査読あり)
- 14 Inomata T, Ebihara N, Funaki T, Matsuda A, Watanabe Y, Ning L, Xu Z, Murakami A, Arikawa-Hirasawa E: Perlecan-Deficient Mutation Impairs Corneal Epithelial Structure, *Invest Ophthalmol Vis Sci.* Mar 9;53(3):1277-84., 2012 (査読あり)
- 15 Ishijima M, Suzuki N, Hozumi K, Matsunobu T, Kosaki K, Kaneko H, Hassell JR, Arikawa-Hirasawa E, Yamada Y Perlecan modulates VEGF signaling and is essential for vascularization in endochondral bone formation. *Matrix Biol.* (4):234-45 2012. (査読あり)
- 16 Suzuki N, Fukushi M, Kosaki K, Doyle AD, de Vega S, Yoshizaki K, Akazawa C, Arikawa-Hirasawa E, Yamada Y Teneurin-4 is a novel regulator of oligodendrocyte differentiation and myelination of small-diameter axons in the CNS. *J Neurosci.* Aug 22;32(34):11586-99. 2012 (査読あり)
- 17 Futami I, Ishijima M, Kaneko H, Tsuji K, Ichikawa-Tomikawa N, Sadatsuki R, Muneta T, Arikawa-Hirasawa E, Sekiya I, Kaneko K Isolation and Characterization of Multipotential Mesenchymal Cells from the Mouse Synovium. *PLoS ONE* 7(9): e45517 1-12 (査読あり)

- 18 Douet V, Arikawa-Hirasawa E, Mercier F. Fractone-heparan sulfates mediate BMP-7 inhibition of cell proliferation in the adult subventricular zone. *Neurosci Lett.* Neurosci Lett. 24;528(2):120-5. 2012. (査読あり)
- 19 Ichinoseki-Sekine N, Yoshihara T, Kakigi R, Ogura Y, Sugiura T, Naito H. Fiber-type specific expression of  $\alpha$ -actinin isoforms in rat skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 419:401-404, 2012. (査読あり)
- 20 Naito H, Yoshihara T, Kakigi R, Ichinoseki-Sekine N, Tsuzuki T. Heat stress-induced changes in skeletal muscle: heat shock proteins and cellular signaling transduction. *J Phys Fitness Sports Med.* 1:125-131, 2012. (査読あり)
- 21 Kurosaka M, Naito H, Ogura Y, Machida S, Katamoto S. Satellite cell pool enhancement in rat plantaris muscle by endurance training depends on intensity rather than duration. *Acta Physiol.* 205 : 159-66, 2012. (査読あり)
- 22 Douet V, Arikawa-Hirasawa E, Mercier F Fractone-heparan sulfates mediate FGF-2 stimulation of cell proliferation in the adult subventricular zone *Cell Prolif.* 46(2):137-45. 2013 (査読あり)
- 23 Yoshihara T, Naito H, Kakigi R, Ichinoseki-Sekine N, Ogura Y, Sugiura T, Katamoto S. Heat stress activates the Akt/mTOR signaling pathway in rat skeletal muscle. *Acta Physiol.* 207:416-26, 2013. (査読あり)
- 2 Yoshihara T, Naito H, 他 4 名. Heat stress-induced autophagic regulations in rat skeletal muscle. *Experimental Biology* 2011, 2011 年 4 月 1 日, Washington DC, USA.
- 3 Yoshihara T, Naito H, 他 4 名. Effects of heat stress on Akt/mTOR signaling in rat skeletal muscle. *The American College of Sports Medicine 58th Annual Meeting*, 2011 年 5 月 30 日, Denver, USA.
- 4 平澤恵理 市川(富川)直樹、許卓、山田吉彦、服部信孝 マウス小脳発達における細胞外基質ラミニン $\alpha$ 1鎖の重要性 第52回日本神経学会総会 2011年5月19日名古屋国際会議場
- 5 Ichinoseki-Sekine N, Naito H, 他 5 名. Effects of heat stress on diaphragmatic atrophy induced by 12 h mechanical ventilation in rat. *2012 APS Intersociety Meeting: The Integrative Biology of Exercise-VI*, 2012年10月11日, Westminster, USA.
- 6 Naito H. Why does skeletal muscle have fast and slow muscle fibers? 第90回日本生理学会大会シンポジウム, 2013年3月27日, タワーホール船堀(東京都).

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

平澤 恵理 (HIRASAWA ERI)

順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号: 50245718

##### (2) 研究分担者

内藤 久士 (NAITO HISASHI)

順天堂大学・スポーツ健康科学研究科・教授

研究者番号: 70188861

#### [学会発表] (計 6 件)

- 1 Ichinoseki-Sekine N, Naito H, 他 4 名. Response of  $\alpha$ -actinin isoforms to mechanical ventilation-induced diaphragmatic atrophy. *ACSM Conference on Integrative Physiology of Exercise.* 2010年9月25日, Miami, USA.