

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 24 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22657046

研究課題名（和文）

力学刺激受容機構から代謝を調節する

研究課題名（英文）

Metabolic regulation through the mechanotransduction pathway

研究代表者

小椋 利彦（ OGURA TOSHIHIKO ）

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：60273851

研究成果の概要（和文）：

心筋や骨格筋で力刺激に反応して細胞質から核に移動するタンパク質を2つ確認した。ひとつは細胞の接着斑にあり、細胞に力刺激を加えると核に移行する。この因子は間葉系幹細胞に導入すると脂肪細胞へ分化を促進した。もうひとつの因子も同様に核に移行するが、これは脂質代謝を調節する核内受容体を活性化し、脂肪燃焼を促進し ATP の産生を促す。この結果は、運動や心拍による力刺激が代謝を制御することを意味し、創薬の新ターゲットとなり得る。

研究成果の概要（英文）：

In this project, we have found two force-sensitive metabolic regulators. One of them is localized in the adhesion complexes. When cells are stretched, this factor shuttles from the cytoplasm to the nucleus to regulate adipogenic differentiation of stem cells. Another metabolic regulator also shuttles into the nucleus in response to hemodynamic forces to activate nuclear orphan receptors and increase ATP production in heart, hence activate an essential adaptive responses of cardiomyocytes to hemodynamic overload Our data provide novel targets of metabolic regulation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	0	1,600,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	420,000	3,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：力学刺激、運動、心臓、筋肉、ATP

1. 研究開始当初の背景

これまで、細胞を伸展するなどの力学刺激で細胞内局在を変える因子の同定を進めてきた。その結果、細胞質から核内に速やかに移行する複数の因子を同定できた。予備的な解析から、これらの因子が細胞の代謝に関与することが予想されたので、本研究では、力学刺激と代謝調節の観点から研究を推進することとした。

2. 研究の目的

生物は、常に力の刺激を受けて生活している。これは、無重力下の宇宙飛行士に見られる顕著な骨や筋肉の萎縮、代謝の不活性化を見れば明らかであり、長期にわたる病臥患者にも同様の現象が見られる。これとは逆に、運動による力学刺激を筋肉や骨は感知し、肥大や骨組織の強化によって適応している。また、循環器系においても、長期、短期の血圧負荷、循環血液量の増大などは心肥大を起こすし、機械的刺激の受容系、反応系の破綻が拡張性／肥大型心筋症を発症することが示されている。力学刺激への適応的応答は代謝系にも見られ、運動が代謝を活性化して II 型糖尿病を改善したり、肥満の解消に役立っている。一般に、力学刺激は細胞内で生化学的反応に転換されていると考えられている。この経路を明らかにし、力学刺激がもたらす効果を薬剤で引き起こすことができれば、そのような薬剤は exercise pill、exercise mimetics としてきわめて有用なものとなる。本研究では、申請者が新たに同定した力感知分子を軸に、機械的刺激と代謝との関係を説明することを目的とする。

3. 研究の方法

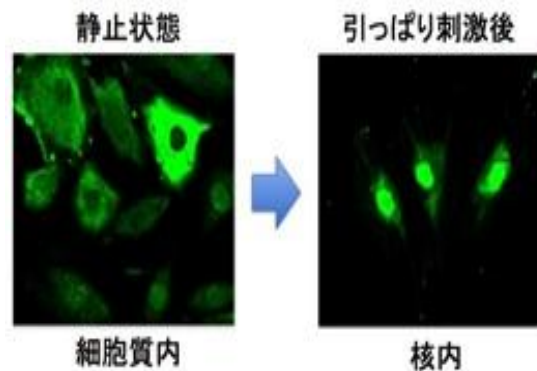
1) 力感知分子の解析 これまでの予備的な実験から、Mmr1 (Mechanical metabolic regulator 1) はアクチン骨格、細胞接着斑に局在する。そこで、接着斑において、どのようなタンパク質と共局在するかを確かめる。この時、細胞を伸展するなどして力刺激を加えると細胞質から核内にシャトルすることから、力学刺激によって変形し得るタンパク質の同定を念頭に置いて解析する。また、接着斑に局在すると報告されている種々の蛋白と免疫沈降を行ない、相互作用する蛋白を同定する。加えて、細胞を伸展する機器を新しく設計、試作し、様々な力刺激を加えて、Mmr1 の核シャトルを起こす条件を決定する。

2) Mmr1 相互作用蛋白質の網羅的解析 Mmr1 に myc、His tag を付加して間葉系細胞に発現させ、Mmr1 を免疫沈降させて共沈する蛋白質を精製する。精製した蛋白質を質量分析して、Mmr1 と相互作用する蛋白質を同定する。

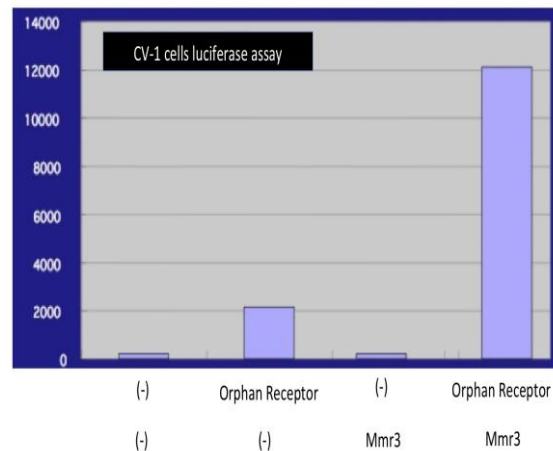
3) 複合体を構成する因子の単離方法 (*in vivo* biotinylation) の方法を確立する。

4. 研究成果

力感知分子 Mmr1 はアクチン骨格、細胞接着斑に局在する。特に、接着斑においては paxillin、Focal Adhesion Kinase と局在することも確認できた。また、細胞を伸展するなどして力刺激を加えると細胞質から核内にシャトルすることも見いだした。また、Mmr1 を C2C12 細胞に導入すると脂肪細胞への分化が促進され、筋肉細胞への分化は逆に抑制された。また、本年度に新たに単離され

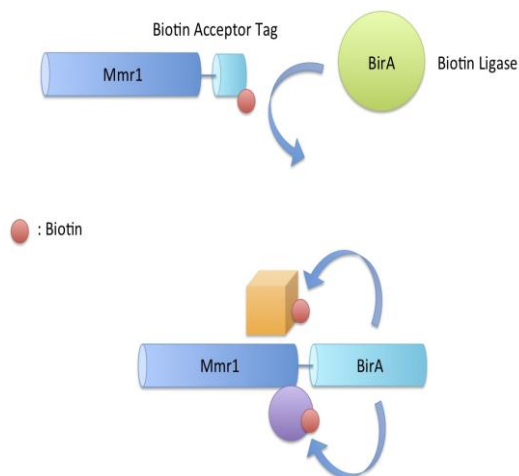
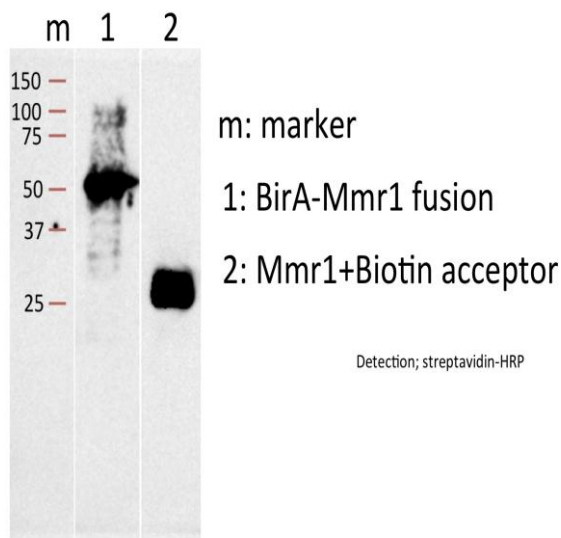


た Mmr3 も、力刺激負荷前には細胞質に存在、伸展などの刺激によって核内へ移行することを見いだした (上図)。また、Mmr3 は核



内で orphan 受容体の転写活性化能を正に制御し、脂質の代謝による酸化リン酸化を促進して ATP 産生を促していることがわかった (上図)。このことは、血圧上昇、頻脈、循

環血液量の増大等、循環系動態の変化に伴う心臓機能の亢進を、エネルギー代謝からサポートしていることを意味している。事実、マウスの心臓で、大動脈を結紮して左心室に強い圧負荷をかけると Mmr3 は速やかに核内に移行することを確認した。また、Mmr1 と相互作用するタンパク質を単離、同定する目的で、*in vivo* biotinylation の系を確立した。Mmr1 に biotin acceptor tag を付加する方法と Mmr1 に BirA タンパク質を融合させる2つの方法を用いたが、両方で効率よくビオチン化を起こすことを確認した（下図）。この方法は、複合体を作る因子を同定する方法として、他のタンパク質にも適用できる系で、汎用性が高いこともわかった。



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 5 件)

1; Roles of planar cell polarity signaling in maturation of neuronal precursor cells in the postnatal mouse olfactory bulb. Yuki Hirota, Masato Sawada, Yasuyuki S. Kida, Shi-hui Huang, Osamu Yamada, Masanori Sakaguchi, Toshihiko Ogura, Hideyuki Okano, Kazunobu Sawamoto. *Stem Cells* in press 2012 (査読・有)

2; Heartbeat regulates cardiogenesis by suppressing retinoic acid signaling via expression of *miR-143*. Kota Y. Miyasaka, Yasuyuki S. Kida, Toshihiro Banjo, Yosuke Ueki, Kazuaki Nagayama, Takeo Matsumoto, Masaaki Sato, Toshihiko Ogura *Mechanism of Development* 128, 18-28, 2011 (査読・有)

3; Gene manipulation of chick embryos in vitro, EC culture, and long survival in transplanted eggs. Tanaka J, Harada H, Ito K, Ogura T, Nakamura H. *Dev Growth Differ* 52, 629-634, 2010 (査読・有)

4; Expression and proliferation-promoting role of Diversin in the neuronally committed precursor cells migrating in the adult mouse brain. Makiko Ikeda, Yuki Hirota, Masanori Sakaguchi, Osamu Yamada, Yasuyuki S. Kida, Toshihiko Ogura, Takanobu Otsuka, Hideyuki Okano, Kazunobu Sawamoto *Stem Cells* 28, 2017-2026, 2010 (査読・有)

5; Planar polarity of multiciliated ependymal cells involves the anterior migration of basal bodies regulated by non-muscle myosin II. Yuki Hirota, Alice Meunier, Shihui Huang, Togo Shimozawa, Osamu Yamada, Yasuyuki S Kida, Masashi Inoue, Tsubasa Ito, Hiroko Kato, Masanori Sakaguchi, Takehiko Sunabori, Masa-aki Nakaya, Shigenori Nonaka, Toshihiko Ogura, Hideo Higuchi, Hideyuki Okano, Nathalie Spassky, and Kazunobu Sawamoto. *Development* 137, 3037-3046, 2010 (査読・有)

〔学会発表〕 (計 3 件)

1; 小椋利彦. Physical forces generated by cells and sensed by cells, “ワークショップ 量子ビームを用いた物質、生命科学の新展開 (I) 東北大と KEK の連携を礎として”. 2011年12月21日, 東北大学

2; 小椋利彦. Hemodynamic force is a

Physical regulator of cardiac
valvulogenesis. 2011年12月16日, 日本分子
生物学会(横浜)

3; 小椋利彦. Physical forces generated by
cells and sensed by cells. 2010年9月20
日, 日本生物物理学会(仙台)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

<http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/devn/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小椋 利彦 (OGURA TOSHIHIKO)
東北大学・加齢医学研究所・教授
研究者番号：60273851

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：