

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500773

研究課題名(和文) 運動による筋萎縮抑制機構におけるリボソーム合成の関与

研究課題名(英文) Influence of ribosome synthesis in muscle atrophy prevention mechanism by exercise

研究代表者

町田 正直 (Machida, Masanao)

佐賀大学・全学教育機構・講師

研究者番号：90579921

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、運動による骨格筋の萎縮抑制メカニズムにおけるリボソーム合成の関与を明らかにする事を目的として実施した。その結果、代表的な筋萎縮モデルである除神経及び後肢懸垂の両モデルで骨格筋の萎縮中にリボソームRNA(rRNA)の合成量の低下が引き起こされる事が明らかとなった。一方で、後肢懸垂による筋萎縮からの回復実験では、骨格筋量の回復が速い足底筋において通常よりも多くRNAが含まれていた事を明らかとした。この結果は、骨格筋のサイズが変化する際には、共通してrRNAの合成量の変化が引き起こされる事を示しており、筋萎縮や運動による筋萎縮抑制メカニズムにおけるrRNAの重要性を示す結果であった。

研究成果の概要(英文)：The main aim of the study was to elucidate the Influence of ribosome synthesis in muscle atrophy prevention mechanism by exercise. As a result we found that ribosomal RNA (rRNA) synthesis in skeletal muscle decreased in both common atrophy model as denervation and tail suspension. Additionally, in muscle recovery study, significantly high volume of total RNA was observed in plantaris muscle which had quickly recovered from atrophy. These results indicated that amount of rRNA synthesis is altered along change of skeletal muscle size. Furthermore, these results suggest the importance of rRNA in exercise-induced muscle atrophy prevention mechanism.

研究分野：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 筋萎縮 リボソームRNA

1. 研究開始当初の背景

レジスタンス運動などの身体活動は、生活の質の低下に直結する骨格筋の萎縮を抑制することができる。そして、より効果の高い運動方法の開発は、高齢化社会を向かえた経済先進諸国にとって重要な課題である。我々の研究室では、筋萎縮の分子機構を解明し、その分子機構に対する運動の効果を明らかにすることを通して、より効果的な運動プロトコルを開発を目指している。研究分担者である武政徹が研究代表者を勤めた「基盤研究(B)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(2007年度～2008年度)」の研究成果により、リボソームの合成不全が筋萎縮の主な要因である可能性を報告した[町田ら; 第18回日本運動生理学会・大会(鹿児島)、町田ら; 第65回日本体力医学会・大会(千葉)]。具体的には、マウスを用いて除神経による筋萎縮時に、リボソームの合成量が30%程度まで低下することを確認した。リボソームは、タンパクを合成する唯一の分子装置である為、その低下は筋萎縮において重要な意味を持つことが予測されるものの、骨格筋に限らず細胞の萎縮時にリボソームの合成が低下するという報告は、我々の報告以外に皆無であり、リボソームの合成低下が筋萎縮を本当に引き起こすのか、さらにその分子機構は解明されていない。

2. 研究の目的

そこで本研究では、リボソーム RNA の合成量の低下が筋萎縮時に共通した現象である事を実験動物を用いて明らかにする。さらに、リボソーム RNA の合成低下の原因遺伝子の探索とその原因遺伝子の欠損が筋量の変化に与える影響を検討する。さらに、筋萎縮を抑制する様な運動がこれらの分子機構にポジティブな影響を及ぼすかを解析することを通して、リボソーム RNA の合成量の調節を介した運動による筋萎縮の抑制機構の解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) 本研究では実験動物として、B6 マウスを用いて、除神経2週間後の腓腹筋とひらめ筋を採取する。それらの筋からリアルタイム PCR 法を用いて、リボソーム RNA の合成量の指標である 45s pre-rRNA の発現量の比較を行う。さらに、リボソーム RNA の合成量の変化に影響を及ぼすと考えられる mTOR や ERK のリン酸化状況について検討する。また、リボソーム RNA の転写因子群の遺伝子発現の検討を行う。

(2) 次に、後肢懸垂モデルにおいても同様にリボソーム RNA の合成量の低下が引き起こされているかを検証する為に、B6 マウスに後肢懸垂を施し、2週間後の前頸骨筋を採取する。そして、リアルタイム PCR 法を用いて、リボソーム RNA の合成量の指標である 45s pre-rRNA の発現量の比較を行う。さらに、リボソーム RNA の合成量の変化に影響を及ぼすと考えられる mTOR や ERK のリン酸化状況について検討する。

(3) 最後に、筋萎縮からの筋量の回復モデルである後肢懸垂からの再接地モデルを用いて、リボソーム RNA が 80%以上を占める total RNA の量の変化及び mTOR や ERK のリン酸化状況について足底筋を研究対象として解析する。

4. 研究成果

(1) 筋萎縮とリボソーム RNA の合成量の低下について

本研究では、はじめに代表的な筋萎縮モデルである除神経を用いて、リボソーム RNA の合成量の低下が筋萎縮時に共通して起こる可能性について確認した。その結果、除神経においては、腓腹筋でもヒラメ筋でもリボソーム RNA の合成量が低下する事が確認された(図1)。そこで、リボソーム RNA の合成量を制御すると言われている mTOR 経路をウェスタンブロッティングによって確認したところ、その活性化は除神経により増加してい

る事が確認された。このことから、除神経による骨格筋内のリボソーム RNA の合成量の低

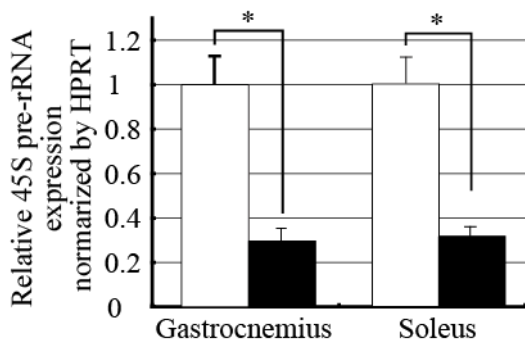


図1 除神経時のリボソーム RNA 合成量の変化

下は、mTOR 以外の因子によるものである可能性が出てきた事から、リボソーム RNA の転写因子群の遺伝子発現について検討した。その結果、リボソーム RNA の転写因子群のうち、TAF1a のみが減少している事をリアルタイム PCR やウェスタンブロッティングによって明らかとした (図2)。

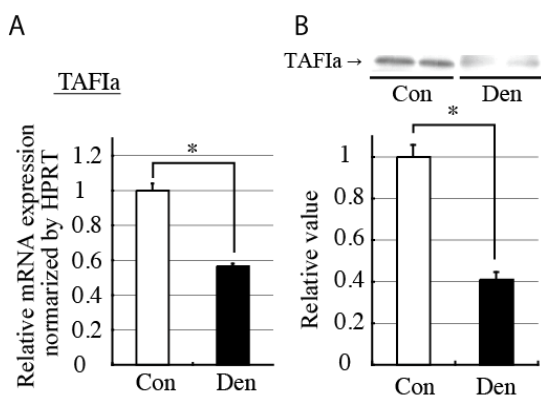


図2 除神経による TAF1a の発現量の変化

一方で、後肢懸垂による筋萎縮時には、リボソーム RNA の合成量の指標である 45s pre-rRNA が減少すると共に、mTOR 経路が不活性化している事を明らかとした (図3)。

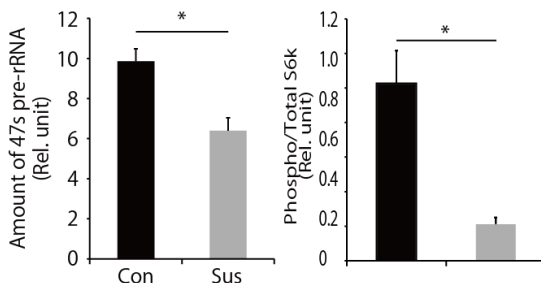


図3 後肢懸垂による 47s pre-rRNA 量の変化と mTOR 経路の変化

これらの2つの萎縮モデルによるリボソーム RNA の発現変化とその関連因子の発現等の解析から、リボソーム RNA の合成量の低下は、筋萎縮時に共通した現象であるものの、その原因は異なる事が明らかとなった。

(2) TAF1a の遺伝子操作による筋量の変化について

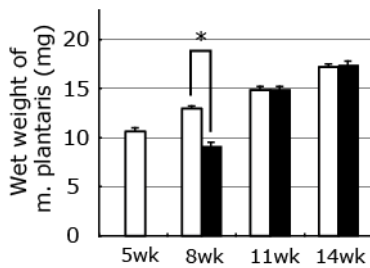
除神経によりリボソーム RNA の合成量が低下すると同時に、リボソーム RNA の転写因子群の中で TAF1a が減少していた事から、この遺伝子の発現抑制によりリボソーム RNA の合成量の低下や筋萎縮が引き起こされるのではないかと考え、TAF1a に対する siRNA を用いて発現の抑制実験を行った。TAF1a に対する siRNA をもちいる事で、TAF1a やリボソーム RNA の発現量の減少をさせる事に、培養細胞や実験動物を用いた実験で確認できたものの、TAF1a の発現抑制だけでは筋萎縮を引き起こす事ができなかった。この結果は、リボソーム RNA の合成量の低下は筋萎縮のいち現象であるものの、そのみの制御では筋萎縮をコントロールする事は不可能であることを示唆する結果である。

(3) 筋萎縮からの回復過程におけるリボソーム RNA の変化について

本研究の最後に、筋萎縮からの回復過程において、リボソーム RNA が 80%以上を占めると考えられている total RNA 量の変化と mTOR 及び ERK 経路の変化について検討した。3週間の後肢懸垂からの再接地 6週間の過程において、筋量および total RNA 量の変化を検討した結果、後肢懸垂からの再接地 3週間目において筋量は完全に回復しており、筋量の回復した筋では、total RNA 量が通常より有為に多く存在する事が確認された (図4)。

この結果は、このような骨格筋の急速な回復には、リボソーム RNA の増加が欠かすこと

A



B

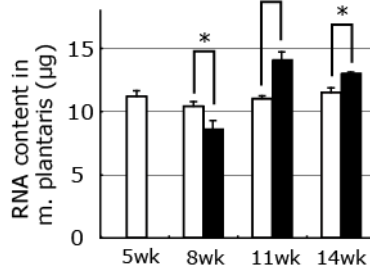


図4 筋萎縮からの回復過程における筋量と total RNA 量の変化について

のできない現象である可能性を示している。

これらの実験結果から、筋萎縮時のリボソーム RNA の合成量の低下をレジスタンス運動により抑制する事は、筋量回復の為のひとつの現象である可能性を明らかにした。本研究は、実験動物を用いて行った実験である事から、ヒトでも同様の結果が得られるのかについては、十分な検討を要する事を考慮する必要がある。

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 2 件)

(1) RNA overshoot Accompanies Recovery of Delayed Plantaris Muscle Growth Resulting from Juvenile Hindlimb Suspension
Masanao Machida, Kohei Takeda, Shin Fuzimaki, Sachiko Ikemune, Sachie Nesori, Hidenori Kiyosawa, Tohru Takemasa
 Advances in Exercise and Sports Physiology, 19(2), pp39-46, 2013 (査読あり)

(2) Reduction of ribosome biogenesis with activation of the mTOR pathway in denervated atrophic muscle
Masanao MACHIDA, Kohei TAKEDA, Hiroyuki

YOKONO, Sachiko IKEMUNE, Yuka TANIGUCHI, Hidenori KIYOSAWA, Tohru TAKEMASA.

Journal of Cellular Physiology, 227(4): pp1569-76, 2012 (査読あり)

〔学会発表〕(計 2 件)

(1) 代償性過負荷に伴う骨格筋衛星細胞の性質の変容
 藤巻 慎, 日高 亮, 町田 正直, 浅島 誠, 武政 徹, 桑原 知子
 第 36 回日本分子生物学会、兵庫、2013 年 12 月 3 日

(2) High-Frequency Acupuncture Represses the Atrophy of Fast-Fiber Rich Skeletal Muscle

Shin Fujimaki, Masanao Machida, Kohei Takeda, Tohru Takemasa
 American College of Sports Medicine, San Francisco, 2012 年 5 月 29 日

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

町田 正直 (MACHIDA Masanao)
 佐賀大学・全学教育機構・講師
 研究者番号：90579921

(2) 研究分担者

武政 徹 (TAKEMADSA Tohru)
 筑波大学・体育系・教授

研究者番号：50236501

(3) 研究分担者

清澤 秀孔 (KIYOSAWA Hidenori)

高知大学・医学部・准教授

研究者番号：30295422