

IGF-1 シグナル経路の活性化を介した廃用性筋萎縮予防法

平坂 勝也（長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科），山田 明德（長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科），内田 貴之（徳島大学大学院医歯薬研究科），中尾 玲子（産業技術総合研究所），鈴木 穰（東京大学大学院新領域創成科学研究科），田嶋 敦（金沢大学 医薬保健研究域医学系），井本 逸勢（徳島大学大学院医歯薬研究科）東端 晃（宇宙航空研究開発機構），二川 健（徳島大学大学院医歯薬研究科）

Prevention of muscle atrophy under microgravity through an activation of IGF-1 signaling pathway

Katsuya Hirasaka, Akinori Yamada, Takayuki Uchida, Reiko Nakao, Yutaka Suzuki, Atsushi Tajima, Issei Imoto, Akira Higashibata, Takeshi Nikawa*

*Graduate School of Fisheries and Environmental sciences, Nagasaki University, 1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521

E-Mail: hirasaka@nagasaki-u.ac.jp

Abstract: Skeletal muscle atrophy caused by unloading is characterized by both decreased protein synthesis and increased proteolysis. Our previous study demonstrated that expression of muscle-specific ubiquitin ligases, atrogin-1 and MuRF1, which are associated with protein degradation, was significantly upregulated in gastrocnemius muscle of rats after spaceflight. In addition, we found that IGF-1 signaling molecules regulating the expression of atrogin-1 and MuRF1 were disrupted in muscle of animals exposed to spaceflight. In this study, we examined effect of IGF-1 on myotubes cultured under microgravity condition. The expression of IGF-1 signaling molecules in myotubes cultured under microgravity condition were decreased, compared with ground control. Decreased expression of IGF-1 signaling molecules under microgravity were improved by treatment of IGF-1. Furthermore, treatment of IGF-1 in myotubes cultured under microgravity condition resulted in a decrease in proteolysis and an increase in protein synthesis. These results suggest that activation of IGF-1 signaling molecules may provide new therapeutic strategies for muscle atrophy caused by unloading.

Key words; muscle atrophy, IGF-1 signaling molecule, ubiquitin ligase, protein synthesis.

1. 背景

微小重力環境下での長期間の滞在は筋萎縮を惹起する。このような環境下で引き起こされる廃用性筋萎縮は蛋白質の合成と分解のインバランスが原因とされている。特に、骨格筋の主要な蛋白質分解系（ユビキチン-プロテアソーム系、カルシウム-カルパイン系、リソソーム系）の中でも、ユビキチン-プロテアソーム依存性筋蛋白質分解経路は、微小重力による筋萎縮において重要な働きをしていることが報告されている¹⁾。この結果と一致して、我々はSTS-90にて、宇宙フライトしたラット腓腹筋内で発現変動する遺伝子を網羅的に解析した結果、ユビキチンリガーゼを中心としたユビキチン関連遺伝子群が上昇することを見出した²⁾。宇宙フライトしたラットの骨格筋内では筋特異的なユビキチンリガーゼ Atrogin-1 と MuRF1 (muscle RING finger 1) の発現増大が認められる。実際に、Atrogin-1 と MuRF1 ノックアウトマウスは、それぞれ坐骨神経切除による萎縮筋に対して抵抗性を示すことから、筋萎縮の原因因子として知られるようになった³⁾。

蛋白質分解に寄与する Atrogin-1、MuRF1 は IGF-1 (insulin growth factor-1)シグナル経路を介して、それら

の発現が調節されている。IGF-1 は、肝臓、筋細胞、骨芽細胞で合成され、骨格筋の成長や筋線維肥大に重要な役割を持つ。骨格筋において、IGF-1 が IGF-1 レセプターに結合すると、リン酸化を介して下流分子へとシグナルが伝わっていく。リン酸化(活性化)された IGF-1 レセプターはその基質であるインスリン受容体基質タンパク質 (insulin receptor substrate-1: IRS-1) のチロシン残基をリン酸化する。その後、PI3K (phosphoinositide-3-kinase)、Akt へとリン酸化を介してシグナルが伝わっていく。Akt のリン酸化はユビキチンリガーゼ Atrogin-1、MuRF1 の転写因子である FOXO (forkhead box O) のリン酸化を引き起こし、FOXO の核内移行を阻害する。一方、蛋白質合成は IRS-1/PI3K/Akt 下流シグナル分子である mTOR (a mammalian target of rapamycin) 複合体や 4E-BP (eukaryotic initiation factor 4E binding protein)、S6K (p70 S6 kinase) により調節されており、IGF-1 刺激による蛋白質の翻訳に関与する 4E-BP、S6K の活性化は結果として、蛋白質の合成を促進する⁴⁾。このように、IGF-1 は IGF-1 シグナル伝達経路を介して、蛋白質分解の抑制と蛋白質合成の促進に重要な働きをしている。

これまでの研究において、我々は微小重力ストレスによって引き起こされる筋萎縮は、骨格筋内 IGF-1 シグナ

ル伝達経路の減弱が原因であることを明らかにしてきた⁵⁾。しかしながら、実際の国際宇宙ステーションにおける微小重力環境を用いた IGF-1 の効果については検討されていない。本研究では、Myolab 宇宙実験サンプルを用いて、IGF-1 の筋蛋白質合成、分解に対する作用について検討した。

2. 結果

微小重力による廃用性筋萎縮に対する IGF-1 の効果を検討するため、国際宇宙ステーションで培養したラット L6 筋管細胞を用いて、発現の変動する遺伝子を RNA-sequencing 法 (RNA-seq) で、網羅的に解析した。サンプルは、国際宇宙ステーションにて培養した筋管細胞に IGF-1 を添加した群 (ISS-IGF-1)、vehicle を添加した群 (ISS-vehi)、それらのコントロールとして地上で培養した群 (ground control) を用いた。微小重力環境下である国際宇宙ステーションで培養した群において、IGF-1 (*Igf1*) や IGF-1 シグナルのアダプタータンパク質である PI3K (*Pi3kr2*) や Akt (*Akt1*) の発現が減少した。一方、IGF-1 添加において、これら遺伝子群の発現が地上コントロール群と同等あるいは上昇する傾向が認められた (図上段)。筋蛋白質分解に関与する筋特異的ユビキチンリガーゼ Atrogin-1 (*Fbxo32*) と MuRF1 (*Trim63*) の発現は微小重力で培養しても、地上コントロール群とほとんど変わらなかったが、IGF-1 を添加することにより、これらユビキチンリガーゼの発現が減少した (図中段)。筋蛋白質合成に関与する mTOR 複合体蛋白質 (*Rptor*, *Deptor*)、4E-BP (*Eif4ebp1*)、および eIF2b (*Eif2b5*) は微小重力環境下の培養においても IGF-1 を処理することにより、それらの発現が上昇した (図下段)。

ル伝達分子の下流を活性化することで、筋蛋白質分解を抑制し、筋蛋白質合成を促進しうることを示唆した。近年、ロイシンを含む分岐鎖アミノ酸はアミノ酸トランスポーターを介して直接 mTOR の活性化を調節することが知られており、筋萎縮モデル動物を用いた研究により、分岐鎖アミノ酸摂取は筋萎縮を予防することが報告されている⁶⁾。したがって、分岐鎖アミノ酸による mTOR の活性化は筋萎縮予防に効果的であることが考えられる。分岐鎖アミノ酸を多く含む微細藻類は最近注目されつつあり、筋萎縮予防の有効な食源となりうるかもしれない。

参考文献

- 1) Ikemoto, N et al. Space shuttle flight (STS-90) enhances degradation of rat myosin heavy chain in association with activation of ubiquitin-proteasome pathway. *FASEB J.* 15: 1279-81 (2001).
- 2) Nikawa, T et al. Skeletal muscle gene expression in space-flown rats. *FASEB J.* 18: 522-524 (2004).
- 3) Bodine, SC et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science.* 294: 1704-1708 (2001).
- 4) Glass, DJ. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *Int J Biochem Cell Biol.* 37: 1974-1984 (2005).
- 5) Nakao, R et al. Ubiquitin ligase Cbl-b is a negative regulator for insulin-like growth factor 1 signaling during muscle atrophy caused by unloading. *Mol Cell Biol.* 29: 4798-4811 (2009).
- 6) Ham, DJ et al. Leucine as a treatment for muscle wasting: a critical review. *Clin Nutr.* 33: 937-945 (2014).

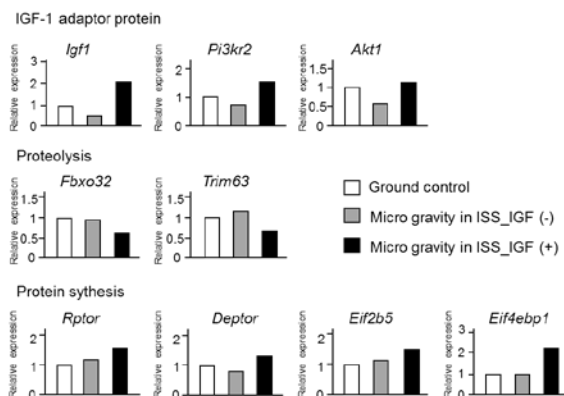


図 微小重力下におけるIGF-1シグナル伝達分子の変化とIGF添加の効果

3. 今後の展望と考察

微小重力環境下では、骨格筋内 IGF-1 シグナル伝達の減弱が起こることが知られている。今回の我々の結果は、微小重力環境下においても IGF-1 シグナ