

廃用性筋萎縮を予防する高機能米の開発

北畑香菜子、越智ありさ、中尾玲子、安倍知紀、真板綾子、近藤茂忠、赤間一仁、二川健

Development of functional rice that presents unloading-induced skeletal muscle atrophy

Kitahata K, Ochi A, Reiko N, Abe T, Maita A, Kondo S, Akama K, Nikawa T

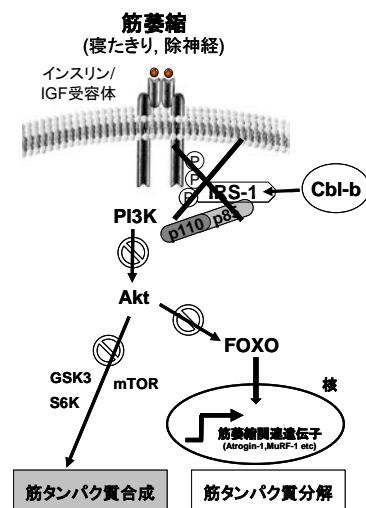
University of Tokushima, Tokushima, Tokushima, 7708502

Abstract: Skeletal muscle subjected to unloading conditions is vulnerable to be atrophied. We reported that ubiquitin ligase Cbl-b play a role in unloading-mediated skeletal muscle atrophy: Cbl-b ubiquitinate and lead to degrad IRS-1, an important IGF-1 signaling intermediate molecule, resulting in muscle mass loss. We also reported that intramuscular injection of a pentapeptide, mimetic of phosphorylated site sequence of IRS-1, significantly inhibited denervation-induced skeletal muscle loss. In the this study, we examined effects of oral administration of Cblin-like peptide transgenic rice on denervation-induced muscle mass loss. Our present results suggest that Cblin-like peptide transgenic rice may be available as a dietary therapy to prevent skeletal muscle atrophy.

Key words: IRS-1, Cbl-b

1.はじめに

超高齢化社会の日本では寝たきりの患者の増加が問題となっており、介護問題や医療費の増大など社会的な問題となってきた。また、現在、国際宇宙ステーション内の日本実験棟「きぼう」が完成し、長期の宇宙滞在が可能となってきた。廃用性筋萎縮とは、このような寝たきりや無重力環境下において、骨格筋への機械的な負担が著しく減少することにより起こる筋萎縮である。この廃用性筋萎縮のメカニズムは未だに分かっておらず、その有効な予防法・治療法は確立されていない。そこで、本稿では我々が見出した、廃用性筋萎縮とユビキチンリガーゼの関連性、および機能性ペプチドを用いた治療の可能性について紹介する。



2.結果

一般的に地上環境などの筋肉に機械的負荷がかかる状態では、常に筋タンパク質は分解と合成を繰り返しており、そのバランスが均等に保たれていることで骨格筋量は維持される。これに対し、寝たきりや無重力環境などでは、筋タンパク質合成の減少に加えて、筋タンパク質分解の亢進が起こり筋萎縮に至る。我々は、宇宙フライトを行ったラットの被覆筋を解析し、無重力環境によって萎縮した筋肉には、ユビキチン化したタンパク質が多く存在したことなどから、無重力における筋タンパク質の分解の亢進にはユビキチン・プロテアソーム系が重要な働きをしていることを明らかにした。また DNA マイクロアレイ法による網羅的な遺伝子発現解析によって、萎縮筋では *casitas B-lineage lymphoma (Cbl-b)* の発現が顕著に上昇しており、IGF-1 シグナルの重要な細胞内シグナル分子である IRS-1 の減少や、Akt のリン酸化の減少を確認した。したがって我々は、廃用性筋萎縮にはユビキチンリガーゼの働きが大きく関与していると考え、さらにこれらのユビキチンリガーゼの中で顕著に発現が上昇していたユビキチンリガーゼ **Cbl-b** に注目した。そしてこの **Cbl-b** のユビキチンリガーゼ活性を阻害することで、筋萎縮を治療できるのではないかと考え、我々はユビキチンリガーゼ活性阻害効果を持つ機能性ペプチド **Cblin (Cbl-b inhibitor)**を開発した。そしてさらに、イネを用いた大量発現系に注目し、**Cblin** を用いた機能性食材の開発を行った。消化によって多様な **Cblin** 様ペプチドが生成されるように、**Cblin** 様配列をタンデムに持つ遺伝子配列をイネの主要なタンパク質であるグルテリン分画へ組み込んだ。この配列を消化酵素であるキモトリプシン、またパンクレアチンを用いて消化実験を行ったところ、**Cblin** 様ペプチドが派生することを確認した。また、HEK 細胞を用いた培養細胞系ユビキチン化システムを用いて、この消化産物に **Cbl-b** 阻害活性があるかどうかを検討したところ、IRS-1 へのユビキチン化阻害効果をもつことが *in vitro* において示された。さらにマウスを用いた **Cblin** 米の摂食実験を行ったところ、**Cblin** 米を摂取したマウスでは坐骨神経切除による筋湿重量の減少が抑制されていた。坐骨神経切除によって **Cbl-b** の発現が上昇し、ユビキチン・プロテアソーム系により IRS-1 が分解されることが分かっている。そこで、**Cblin** 米摂取群における IRS-1 の分解を調べたところ、IRS-1 のユビキチン化が阻害され、その分解が抑制されたことが示された。また、**Cblin** 米摂取群では、筋萎縮関連遺伝子である **MAFbx/Atrogin-1** や **MuRF-1** の発現が抑制されており、腓腹筋の筋横断面積の減少が抑制された。さらに、**Cblin** 米を摂取したマウスの門脈血を除タンパクし、LC/MS に供したところ、門脈中に **Cblin** 様ペプチドが存在することを確認した。

3.今後の展望と考察

無重力環境や寝たきりによっておこる廃用性筋萎縮は、解決すべき重大な問題である。**Cblin** 米の摂取が人において可能になれば、寝たきりの患者や宇宙飛行士の筋萎縮を抑制できる。また日常の食事における長期的な摂取が可能となり、筋タンパク質代謝を効率よく制御できる食材につながると考えられる。そして今後さらなる検討を行い、この研究が、

栄養学的な予防・治療法の確立に貢献できることを期待している。

参考文献

1. Goldberg AL and Goodman HM. Effects of disuse and denervation on amino acid transport by skeletal muscle. *Am J Physiol.* 216: 1116-1119, 1969
2. Nakao R, Hirasaka K, Goto J, Ishidoh K, Yamada C, Ohno A, Nagano K, Tanaka K, Yasui N, Mills EM, Takeda S, Nikawa T. Ubiquitin ligase Cbl-b is a negative regulator for IGF-1 signaling during muscle atrophy caused by unloading. *Mol Cell Biol.* 29(17):4798-811, 2009
3. Medina R, Wing SS Haas A, and Goldberg AL. Activation of the ubiquitin-ATP-dependent proteolytic system in skeletal muscle during fasting and denervation atrophy. *Biomed Biochim Acta.* 50: 347-356, 1991