

# 廃用性筋萎縮に有効な食材の開発とMyolab宇宙実験の速報

上村 啓太<sup>1</sup>, 山 智成<sup>1</sup>, 越智 ありさ<sup>1</sup>, 河野 尚平<sup>1</sup>, 中尾 玲子<sup>2</sup>, 東端 晃<sup>3</sup>, 平坂 勝也<sup>4</sup>,  
真板 綾子<sup>1</sup>, 原田 晃子<sup>1</sup>, 奥村 裕司<sup>1</sup>, 石堂 一巳<sup>5</sup>, 二川 健<sup>1</sup>

<sup>1</sup>徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 栄養医科学講座 生体栄養学分野

<sup>2</sup>宇宙航空研究開発機構(JAXA)宇宙医学生物生物研究室 <sup>3</sup>宇宙航空研究開発機構(JAXA)

<sup>4</sup>テキサス大・オースティン校 <sup>5</sup>徳島文理大学・健康科学研究所

## Development of effective ingredient for muscle atrophy and News flash of Myolab cosmic experiment

Keita Kanmura<sup>1</sup>, Tomonari Yama<sup>1</sup>, Arisa Ochi<sup>1</sup>, Reiko Nakao<sup>2</sup>, Akira Higashibata<sup>3</sup>,  
Katsuya Hirasaka<sup>4</sup>, Ayako Maita<sup>1</sup>, Akiko Harada<sup>1</sup>, Yuushi Okumura<sup>3</sup>, Kazumi Ishidoh<sup>5</sup>,  
Takeshi Nikawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Nutritional Physiology, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, Tokushima, 770-8503, Japan

<sup>2</sup>Space Biomedical Research office, JAXA

<sup>3</sup>Institute of Space and Astronautical Science, Japan Aerospace Exploration Agency(JAXA), Tsukuba, Ibaragi, 305-8505, Japan

<sup>4</sup>The University of Texas, Austin <sup>5</sup>Institute for Health Sciences, Tokushima-Bunri University

**Abstract: BACKGROUND:** In muscle atrophy, Cbl-b ubiquitin ligase interacts with and degraded IGF-1 signaling intermediate IRS-1. This study aimed to inhibit Cbl-b-mediated IRS-1 ubiquitination and degradation by soy glycinin. **METHODS:** We used denervated mice fed soy glycinin diet, and examined the influence of muscle atrophy. **RESULTS:** Intake of soy glycinin prevented reduction of muscle wet weight and myofiber size. Furthermore, as a result in analysis of the effect to protection of IGF-1 pathway, the degradation and the ubiquitination of IRS-1 were inhibited. In addition, elevation of gene expression of MAFbx/atrogen-1 and MuRF-1, activated by the loss of IRS-1, decreased significantly. **CONCLUSIONS:** This study suggested that soy glycinin protein contains inhibitory peptides against Cbl-b ubiquitin ligase. Soy glycinin peptide may provide new therapeutic applications for the prevention or treatment of muscle atrophy.

**Key word:** Cbl-b, Denervation, Muscle atrophy, Soy glycinin, Ubiquitin-dependent proteolysis.

### 1. はじめに-Unloadingによる筋萎縮のメカニズム-

1961年に人類が有人宇宙飛行に成功してから、はや半世紀を迎えようとしている。それから人類は数か月また年単位での長期滞在が可能な時代へと進歩し続けてきた。しかし、宇宙などの微小重力下では骨格筋に対する物理的負荷が低下し、筋萎縮をきたす。実際に日本人宇宙飛行士の下肢筋量は1日約1%もの減少が認められており、このような宇宙飛行士の身体的負荷を軽減させる方法を見出すことが急務である。

人類初の有人宇宙飛行から半世紀近くの歳月を経た今、私達は「筋萎縮の分子メカニズム」の解明を目指し、2010年3月国際宇宙ステーション日本実験棟「きぼう」にて宇宙実験(Myolab)に臨んだ(本稿ではきぼう宇宙実験に関してはデータを示さず)。筋萎縮の発症メカニズムを明らかにするために、私達は1998年にスペースシャトル(STS-90)にて初めての宇宙実験を行った。DNAマイクロアレイ解析により宇宙ラットの骨格筋では、タンパク分解経路が亢進していることを見出した(図1)。骨格筋の構成タンパク質を分解する経路には、カテプシン群のリソソーム経路、カルパインによるカルシウム依存性経路、ユビキチン-プロ

テアソーム経路がある。微小重力下による筋萎縮では、特にユビキチン-プロテアソームタンパク質分解経路が重要な働きをしていることが示唆された(Ikemoto, M., et al. *FASEB J.*, 2001)。

ユビキチン-プロテアソーム経路とは、分解しようとするタンパク質をユビキチンで標識し(ユビキチン化)し、選択的にプロテアソームで分解させる機構である(Hershko, A., et al. *Annun. Rev. Biochem.*, 1998)。ST S-90の宇宙実験により、基質特異性を決定するユビキチンリガーゼ(E3)の1つであるCbl-b(Casitus B-lineage lymphoma-b)が、地上群と比較し10倍以上も増大することを見出した(Nikawa, T., et al. *FASEB J.*, 2004)。さらに、このCbl-bがIRS-1 (insulin receptorsubstrate-1)をユビキチン化し、分解するために、筋萎縮関連遺伝子(A trogen-1など)の発現が亢進することを明らかにした。(Nakao, R., et al. *MCB.*, 2009)

### 2. ペプチドのIRS-1ユビキチン化抑制効果

これまでの研究で、私達は、Cbl-bがIRS-1の特定の配列を認識して結合する性質に注目し、IRS-1のリン酸化チロシン部位をミミックしたペプチド(C

blin ; DGpYMP , 特願 2006-145944)が、*in vitro*及び *in vivo*にてCbl-bの活性を阻害しうることを確認した。このCblinと類似した配列を有する食品を検索したところ、大豆11Sグリシニンタンパク質がCblinと類似した配列 (DI/FYNP)を有することがわかった。本研究では、大豆グリシニンタンパク質に含まれる機能性配列に着目し、筋萎縮に対する有効性を検討した。

### 3. Cblin様合成ペプチドのIRS-1ユビキチン化抑制効果

大豆グリシニン中のCblinに類似したアミノ酸配列を化学合成したペプチド(Cblin様合成ペプチド)を細胞培養系に供し、IRS-1のユビキチン化に対する効果を検討した。Cbl-b、IRS-1、ユビキチンを強発現したHEK293細胞の培養液中に、Cblin様合成ペプチドを添加したところ、350 μM/mlでCbl-b阻害効果を示した。また、大豆グリシニンタンパク質をペプチド化(5~6 amino acid)したものを細胞培養系に供したところ、同様にCbl-b阻害効果を示した(deta not shown)。

### 4.経口摂取による11Sグリシニンの筋萎縮抑制効果

大豆グリシニンの機能性を最終確認するため、坐骨神経切除を施したマウスに大豆グリシニンを経口摂取させ、筋萎縮の阻害効果を検討した(Fig. 2)。坐骨神経切除により減少する筋湿重量および筋横断面積を、20%カゼイン(control)食と比べ、20%大豆グリシニン食は有意に抑制することがわかった(Table. 1)。また、IGF-1の細胞内シグナルでは、20%大豆グリシニン食は、IRS-1の分解とユビキチン化を阻害し(deta not shown)、MAFbx/atrogin-1とMuRF-1の発現も有意に抑制していた(Table. 2)。Atrogin-1,MuRF-1は、尾部懸垂や神経切除などにより筋肉が萎縮するときに発現が増大するユビキチンリガーゼとして知られている。以上の結果より、大豆グリシニン蛋白質は筋萎縮関連ユビキチンリガーゼCbl-bを*in vitro*, *in vivo*で阻害しうる機能性ペプチドを有していることが分かった。

### 5. おわりに

これらCbl-bを介した筋萎縮の分子メカニズムの解明追究は、筋萎縮の予防する宇宙食と抗老化食の開発とその治療薬の開発に繋がると期待できる。現在、日本は世界で類をみない高齢化社会へ突入しており、運動器の廃用性疾患の治療法の開発は老後の健康的な生活を保証する上で欠かせない重要事項である。つまり本研究は、宇宙空間で長期間滞在するための宇宙

Table. 2

The levels of atrogenes in TA muscle measured by real-time RT-PCR

	control		SPI		10%glycinin		20%glycinin	
	Sham	Den	Sham	Den	Sham	Den	Sham	Den
MAFbx/atrogin-1/GAPDH	1.00	4.93	1.22	3.17	1.13	4.13	1.20	*# 3.53
SD	0.19	1.20	0.24	0.35	0.18	1.40	0.31	0.94
MuRF-1/GAPDH	1.00	5.67	1.21	4.23	1.04	4.55	1.15	*# 3.76
SD	0.21	2.24	0.27	0.82	0.10	1.50	0.19	1.05
Cbl-b/GAPDH	1.00	* 2.01	1.70	2.87	1.35	2.87	1.30	* 2.13
SD	0.19	0.49	0.52	1.04	0.16	0.80	0.41	0.31

Data are means ± SD (n = 5). \* P<0.05 versus sham operation; # P<0.05 versus control diet in denervated muscle.

医学の問題だけでなく、後期高齢者の直面している大きな問題の解決の糸口にも成り得る。

STS-90、きぼうMyolab宇宙実験をはじめ、筋萎縮のための実験は非常に多くの困難を伴うものであることは言うまでもない。これまでの研究成果は国立精神・神経センターの埜中征哉先生と武田伸一先生、徳島大学運動機能外科の安井夏生先生、JAXAの石岡憲昭先生をはじめ多くの先生方のご協力によりはじめて達成できたものである。これまでに世話になった全ての先生方、JAXA職員の皆様、学生の皆様にこの場をかりて、また、きぼうMyolab実験で得られた貴重なサンプル、データの解析に最大限の努力を尽くすことで、感謝の意としたい。

Fig. 1. Summary of the roles of the IGF-1 pathway

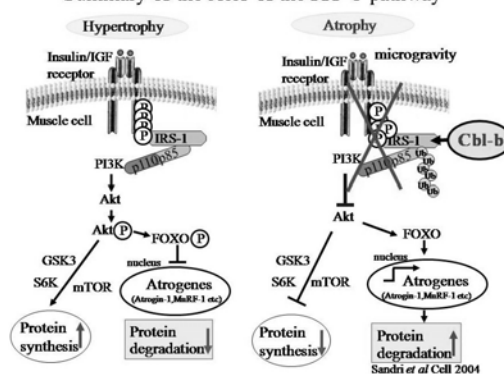


Fig. 2. 坐骨神経切除(Denervation) マウスを用いて、11Sグリシニンが筋萎縮に対して抑制効果を持つが検討した。

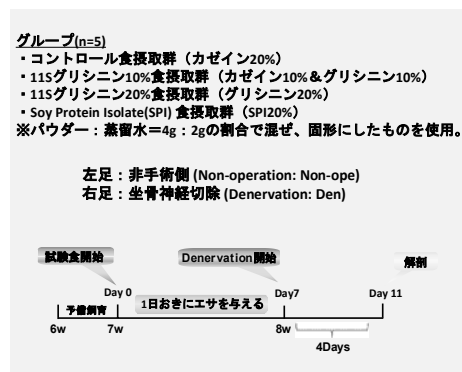


Table. 1

muscle wet weight and muscle cross-sectional area

	control	SPI	10% glycinin	20% glycinin
筋湿重量	91.12	94.10	96.09	* 97.95
SD	2.68	3.96	7.33	2.28
CSA	87.14	90.78	97.95	* 103.85
SD	11.14	4.96	6.56	8.77

CSA:cross sectional area

Data are mean ± SD (n = 5). \*P <0.05, versus control diet.