

ユビキチンリガーゼ Cbl-bを介した筋萎縮の分子機構 (Myo Lab)

原田 晃子¹, 河野 尚平¹, 中尾 玲子¹, 真板 綾子¹, 平坂 勝也¹, 奥村 裕司¹, 鈴木 ひろみ²,
嶋津 徹², 山崎 丘³, 東端 晃³, 石岡 憲昭³, 二川 健¹

¹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

²(財)日本宇宙フォーラム 宇宙利用事業部 生命科学研究グループ

³宇宙航空研究開発機構 宇宙科学研究本部 宇宙環境利用科学研究系 宇宙生命科学

Physiological relevance of Cbl-b ubiquitin ligase during microgravity-mediated muscle atrophy (Myo Lab)

Akiko Harada-Sukeno¹, Shohei Kohno¹, Reiko Nakao¹, Ayako Ohno¹, Katsuya Hirasaka¹,
Yuushi Okumura¹, Hiromi Suzuki², Toru Shimazu², Takashi Yamazaki³, Akira Higashibata³,
Noriaki Ishioka³, Takeshi Nikawa¹

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

² Japan Space Forum, Tokyo, 105-0013, Japan

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

Abstract: Since human beings have been evolving technology of rocket, so that they can stay in space for several months and years. A long stay in space cause severe abnormalities in various organs. In particular, skeletal muscles are vulnerable to rapid and marked atrophy under microgravity. In the STS-90 mission, we previous report that the ubiquitin-dependent proteolytic pathway plays an important role in muscle atrophy. Expressly, we identified that Cbl-b (Casitus B-lineage lymphoma-b), ubiquitin ligase family (E3), plays a major role in skeletal muscle atrophy. Cbl-b deficient mice are resistant to muscle atrophy and dysfunction induced during unloading by tail-suspension. Here, we hypothesize that Cbl-b-dependent destruction of IRS-1(insulin receptor substrate-1) is a critical dual mediator of both increased protein degradation and reduced protein synthesis observed in muscle atrophy under microgravity. Next, we are planning to perform a space experiment in “Kibo” to clarify the molecular mechanism of muscle atrophy caused by microgravity. In this paper, we report our history and future plan to develop space research (Myo Lab).

Key word: Cbl-b ubiquitin ligase, skeletal muscle atrophy, IRS-1, Myo Lab.

1. はじめに

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。

ここで人類初の有人宇宙飛行から半世紀近くの歳月を経て、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(Myo Lab)に臨む。本稿は本宇宙実験(Myo Lab)に至った経緯、その準備状況と現況および将来への展望などを紹介する。

2. 歩んできた道(STS-90宇宙実験)

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最も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)。このユビキチン-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(図2)(Herhsko, A., et al. *Annun. Rev. Biochem.*, 1998)。STS-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)

3. ユビキチンリガーゼCb1-bと筋萎縮(地上実験)

Cb1-bが筋萎縮に関与することを、Cb1-b遺伝子欠損マウスを用いて検討した。Cb1-b遺伝子欠損マウスに微小重力モデルとして尾部懸垂を施すとその筋量減少が抑制された(図3)。また筋線維断面積は維持され、骨格筋の機能も正常に保たれていた。つまり、Cb1-bが微小重力下による筋萎縮原因遺伝子の1つであることが示唆された。

これまでの地上実験により、この現象はCb1-bがIRS-1 (insulin receptorsubstrate-1)をユビキチン化し分解したため、筋萎縮関連遺伝子(Atrogin-1など)の発現を亢進させることを明らかにした(Nakao, R., et al. *MCB*, 2009) (図4)。また微小重力下によるCb1-bの発現調節には、骨格筋内の酸化ストレス、ERK経路に続く転写調節因子Egrの活性化が重要であることを確認している(D. I. I. Hemdan., et al. *J Med Invest.*, 2009)。

4. 「きぼう」でのユビキチンリガーゼCb1-bを介した筋萎縮の分子機構 (Myo Lab)

2004年第4回ライフサイエンス国際公募にて、私達の研究テーマ「蛋白質ユビキチンリガーゼCb1を介した筋萎縮の新規メカニズム (Myo Lab: {Myoは筋肉、Labは研究の意味})」が選定され、2010年3月の国際宇宙ステーション日本実験棟「きぼう」での実験が決定した。Myo Labはこれまでの宇宙・地上実験の結果を集大成したものである。従来の筋萎縮のメカニズムでは、筋肉の構成タンパク質がユビキチン化されタンパク質分解が亢進し、結果として筋体積が減少するとされてきた。実際の宇宙フライトにおいても、私達はその経路の他にCb1-bが通常筋肥大に作用するインスリン刺激伝達物質であるIRS-1 など細胞増殖伝達物質を特異的に分解することにより、インスリンやIGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1)に対する筋細胞の応答性を低下させる。その結果、筋肉の萎縮が引き起こるといふ仮説(図4)を立てた。

この仮説を証明するため、ラット横紋筋芽細胞L6細胞を日本実験棟「きぼう」にて培養をする。微小重力下の培養10日目に細胞増殖因子であるIGF-1を添加し細胞増殖シグナルを亢進させ、その後細胞を固定冷凍させ回収する。そして筋細胞内の遺伝子発現量とタンパク量の比較をはじめ、Cb1-bがどの細胞増殖伝達物質に作用し分解しているのかを特定する。

5. おわりに

これらCb1-bを介した筋萎縮の分子メカニズムが解明されれば、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。

ここに述べたように、宇宙実験は非常に多くの困難を伴うものである。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、有人宇宙システム株式会社の渡邊郁子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、学生の皆様はこの場をかりて感謝の意を表したい。そして、2010年3月に迫る宇宙実験本番の成功に向け油断することなく、最大限の努力を尽くしたい。

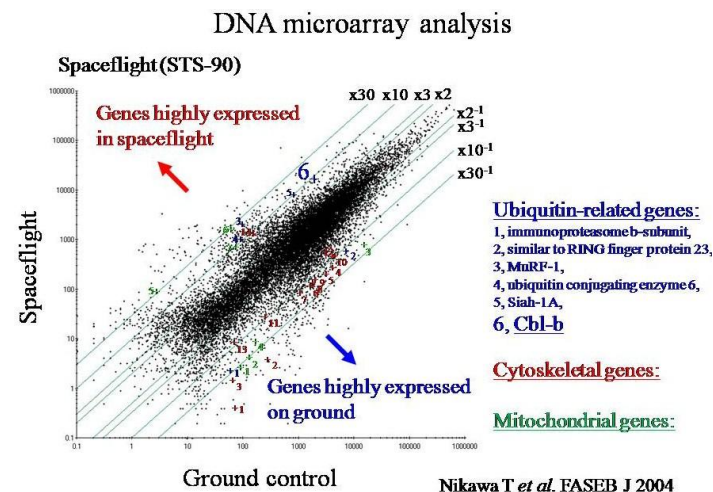


Fig. 1. Gene expression in gastrocnemius muscle of rats exposed to spaceflight.

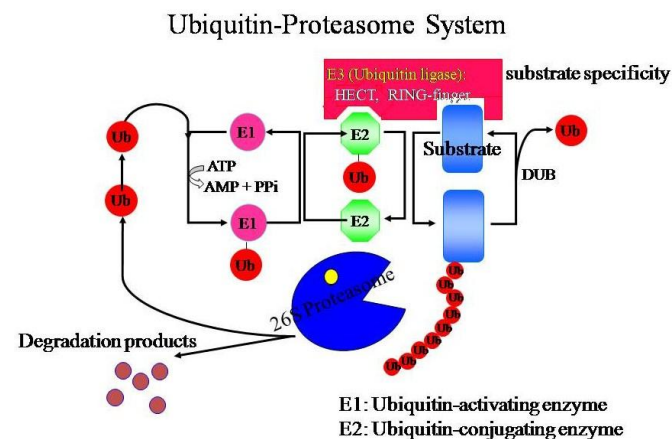


Fig. 2. Ubiquitin-Proteasome System

Cbl-b^{-/-} mice are resistant to suspension-induced muscle atrophy

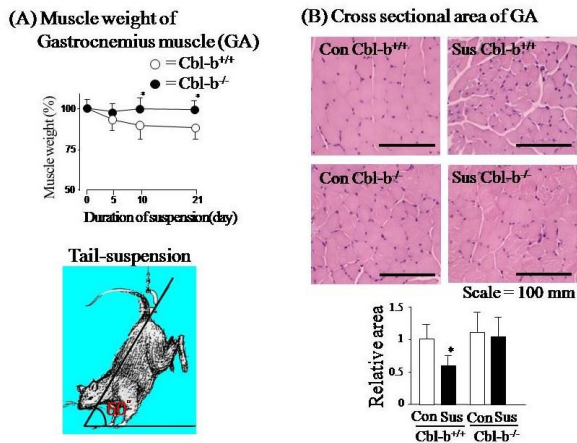


Fig. 3. Cbl-b^{-/-} mice are resistant to suspension-induced muscle atrophy. (A) Effect of tail-suspension on gastrocnemius muscle wet weight of Cbl-b^{-/-} mice. (B) Immunohistochemical analysis of gastrocnemius muscle of tail-suspended Cbl-b^{-/-} mice.

Summary of the roles of the IGF-1 pathway

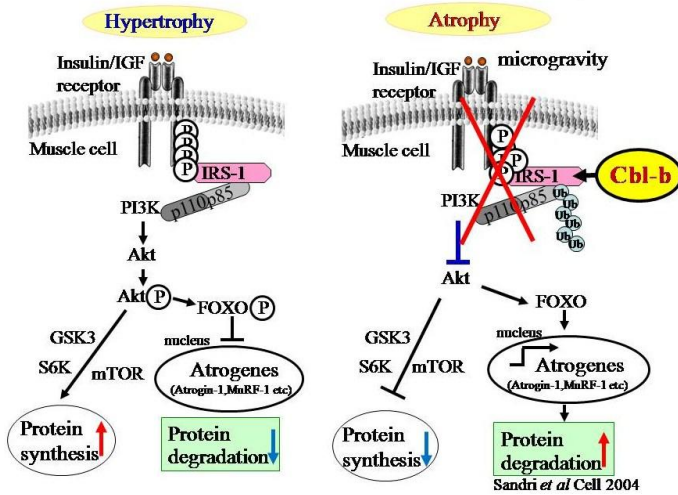


Fig. 4. Mechanistic model of muscle atrophy during spaceflight. Cbl-b-dependent destruction of IRS-1 is a critical dual mediator of both increased protein degradation and reduced protein synthesis observed in muscle atrophy under microgravity.