

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 29年 4月 27日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 神戸女子大学・家政学部
 職 名 教授
 研究代表者名 置村 康彦

下記のとおり平成 28 年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号: 281020)

1. 共同利用研究 課題名	筋における成長ホルモンと分岐鎖アミノ酸の協調作用に関する研究			
2. 共同利用研究 目的	シグナル伝達に関する吉川教授の経験・知識と、バイオシグナル総合研究センターがもつ解析手段、設備を活用させていただき、筋における成長ホルモン(GH)と分岐鎖アミノ酸(BCAA)の協調作用機構について明確にすることを目的とする。			
3. 共同利用研究 期間	平成 28 年 7 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者)	神戸女子大学・家政学部	教授	研究総括	
(分担研究者) 山本 優 和気 郁実	神戸女子大学・家政学部 神戸女子大学・家政学部	大学院生 大学院生	動物実験・細胞培養実験 動物実験・細胞培養実験	
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル機能制御研究 部門・細胞情報研究分 野	氏 名	吉川 潮

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号: 281020)

6. 共同利用研究計画

in vivo 実験

GH 欠損ラット (spontaneous dwarf rat, SDR) に、浸透圧ポンプを使用して持続的に14日間 GH を皮下投与する。骨格筋を摘出後、ATPase 染色で速筋、遅筋を分別し、それぞれの筋線維断面積を測定する。また、総 RNA を抽出し、RT-PCR で BCAA 輸送体の mRNA 量を測定する。

In vitro 実験

C2C12 細胞を筋管細胞に分化させたのち、培養液に GH(100ng/mL)、IGF-I(100ng/mL)を添加、6 時間後に総 RNA を抽出、BCAA 輸送体 mRNA 量を測定する。C2C12細胞に BCAA 輸送体の1つである LAT1 の阻害薬である 2-Aminobicyclo[2.2.1]heptane-2-carboxylic acid (BCH)を添加し、cell counting kit-8 で、細胞増殖に及ぼす影響を検討する。

7. 共同利用研究の成果

SDRにGHを補充投与後、長趾伸筋の筋線維断面積は対照群のそれに比べて増加した。この時、BCAAを含むアミノ酸の輸送体であるLAT1 mRNA量は増加していた。すでに、BCAAの効果はSDRでは明瞭でなく、GHを補充した際に明瞭となることを報告しており、GHはLAT1量を増加させることを介して、BCAAの取り込みを促進し、BCAAの作用を発揮させる可能性が示唆された。

そこで C2C12 細胞を使用して検討した。C2C12 細胞を筋管細胞に分化させた後、培養液に GH(100ng/mL)、IGF-I(100ng/mL)を添加した。6時間後にハーベストし、総 RNA を抽出、RT-PCR で LAT1 mRNA 量を測定したところ、GH は LAT1 mRNA 量を増加させず、IGF-I で増加が認められた。LAT1 mRNA 増加は GH の直接作用でなく、IGF-I を介する作用である可能性が示唆された。C2C12 細胞でも GH により IGF-I 産生が誘導されるが、C2C12 細胞培養系では GH の効果が認められなかったことから、ラットで見られた GH の効果は肝で産生された血中 IGF-I の増加を介するものかもしれない。

さらに、LAT1 の阻害薬である BCH を添加したところ、C2C12 細胞の増殖が抑制され、LAT1 が C2C12細胞の増殖に関与している可能性が示唆された。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出して下さい。)

なし

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

分岐鎖アミノ酸と成長ホルモンによる筋委縮抑制作用の分子機構の解明 科研基盤 (C) 平成29-31年度