

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 30 年 4 月 18 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29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 29 年 4 月 1 日 ～ 平成 30 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)	置村 康彦	教授	研究総括	
(分担研究者)	山本 優	大学院生	細胞培養実験	
	和気 郁実	大学院生	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。

6. 共同利用研究計画

成長ホルモン(GH)により Insulin-like growth factor I(IGF-I)の産生分泌は増加する。これまでの私どもの成績から、筋細胞において、IGF-I は BCAA トランスポーターである LAT1 発現を増加させ、その結果 BCAA 作用を増強する可能性が示唆された。この成績をもとに次の研究を計画した。

1. IGF-I による LAT1 遺伝子発現制御に関わる検討

LAT1 遺伝子の転写調節領域に IGF-I により制御される因子が結合し、LAT1 遺伝子発現を調節している可能性がある。そこで、種々の長さの LAT1 遺伝子転写調節領域を含む Luc ベクターを C2C12 筋細胞にトランスフェクションした後 IGF-I 刺激を加え、Luc 活性を測定することにより IGF-I の作用点を調べる。

2. グルコースによる LAT1 遺伝子の発現制御に関する検討

これまでの実験成績より、IGF-I 以外にグルコースも LAT1 発現に影響を及ぼす。他の糖質により LAT1 発現が変化しないか比較検討する。糖質による調節は AMP-activated protein kinase (AMPK) が関与している可能性があるため、AMPK の阻害薬、促進薬を使用してその関与を、C2C12細胞で検討する。

3. sestrin 発現、機能に及ぼす IGF-I の作用

IGF-I は、LAT1 以外を標的に BCAA 作用を調節する可能性がある。ロイシンは sestrin に結合し、mTORC1 の作用を調節することが報告されているが、IGF-I は sestrin 発現量に影響し、ロイシンの mTORC1 活性化に影響を及ぼさないか、C2C12 筋管細胞で検討する。

7. 共同利用研究の成果

1. 転写開始点より 1958 塩基上流領域まで含むラット LAT1 レポータープラスミドを使用して検討したところ、この領域には IGF-I の作用点は見出せなかった。

2. グルコースのほか、フルクトースも LAT1 mRNA 量を減少させた。細胞内に移行しがたいマンニトールの作用は明確でなかった。AMPK 阻害剤添加で、グルコース添加と同程度まで LAT1 mRNA 量は減少した。一方、グルコース存在下でも、AMPK 活性化剤の添加で LAT1 mRNA 量は増加した。AMPK が LAT1 発現を調節している可能性がある。

3. IGF-I は、C2C12 筋管細胞において sestrin1、2、3 mRNA 量を減少させた。IGF-I 前処置後、ロイシンを添加したところ、vehicle 前処置後のロイシン添加に比べて mTORC1 活性は増加した。siRNA により sestrin をノックダウンしたところ、mTORC1 基礎活性は増加するものの、IGF-I による増加は認められなくなった。IGF-I は sestrin を介してロイシンの作用に影響す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部提出してください。)

Yamamoto Y, Sawa R, Wake I, Morimoto A, Okimura Y. Glucose-mediated inactivation of AMP-activated protein kinase reduces the levels of L-type amino acid transporter 1 mRNA in C2C12 cells. Nutr Res. 2017 47:13-20.

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