

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 31 年 4 月 26 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30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と分岐鎖アミノ酸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 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 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	神戸女子大学・家政学部	教授	研究総括	
(分担研究者) 山本 優 中島 佳恵	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	細胞培養実験 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6～9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6～9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

栄養、ホルモン、運動によって筋量は調節されている。栄養素のなかでは、ロイシンの筋肥大促進効果は明瞭であり、ロイシンは mTORC1 の活性化を介して蛋白合成を促進することが知られている。さらに最近、ロイシンは細胞内で sestrin2 に結合して、sestrin2 による mTORC1 の活性抑制を解除することが報告されている。このような sestrin2 の機能調節による mTORC1 活性化以外に、ロイシンをはじめとする種々のアミノ酸が sestrin2 量を調節して mTORC1 活性に影響を及ぼす可能性を考えた。

そこで今回、まず種々のアミノ酸の sestrin2 mRNA 量及び蛋白量に及ぼす効果を検討する。C2C12 細胞を筋管細胞に分化させたのち、各種アミノ酸(1mM)の sestrin2 mRNA 蛋白量に及ぼす効果を RT-PCR で調べる。また、Western Blot で sestrin2 のタンパク量についても調べる。Sestrin2 量に変化があった場合、mTORC1 下流の S6K、4E-BP1 のリン酸化を測定することにより mTORC1 活性について調べる。Sestrin2 をノックダウンした C2C12 細胞でも mTORC1 活性の検討を行い、sestrin2 の関与を明確にする。

7. 共同利用研究の成果

筋細胞において、ロイシンをはじめ種々のアミノ酸が sestrin2 発現量にも影響するか検討した。C2C12 細胞を筋管細胞に分化させたのち、メディアムをアミノ酸含有 DMEM からアミノ酸不含の DMEM に置換した。5時間後に、C2C12 筋管細胞内 sestrin2 mRNA 量、蛋白量をそれぞれ RT-PCR、Western Blot で測定した。アミノ酸不含 DMEM は、アミノ酸含有 DMEM に比べて、sestrin2 mRNA 量、蛋白量を増加させた。アミノ酸不含 DMEM に各種アミノ酸をそれぞれ 1mM 添加したところ、ロイシン、イソロイシンは、アミノ酸不含 DMEM により増加した sestrin2 mRNA 量、および蛋白量を減少させた。一方、アルギニン、スレオニン、リジンの添加は sestrin2 mRNA 量、および蛋白量に影響しなかった。アミノ酸が欠乏している状況では ATF4 の翻訳が増加し、一般に蛋白合成は低下するが、特定の蛋白質合成は促進される。sestrin2 の増減に ATF4 が関与する可能性を考え ATF4 蛋白量を測定したところ、ロイシン、イソロイシン、アルギニンの添加による ATF4 蛋白量の変動は sestrin2 量の変動と同様の変動パターンを示した。さらに ATF4 を RNAi でノックダウンしたところ、sestrin2 の mRNA 量は低下した。以上の成績から、特定のアミノ酸が ATF4 を介して sestrin2 量を調節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。)

Sawa R, Nishida H, Yamamoto Y, Wake I, Kai N, Kikkawa U, Okimura Y.

Growth hormone and Insulin-like growth factor-I (IGF-I) modulate the expression of L-type amino acid transporters in the muscles of spontaneous dwarf rats and L6 and C2C12 myocytes.

Growth Horm IGF Res. 2018 42-43:66-73

澤蘭、西田ひかる、山本優、和気郁実、甲斐法子、吉川潮、置村康彦、IGF-I は、筋細胞においてアミノ酸トランスポーターLAT1 mRNA 量を増加させる、第 91 回日本内分泌学会学術総会(宮崎)、2018 年

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。

該当なし