

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

2020 年 4 月 30 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 2019 年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号: 191007)

1. 共同利用研究 課題名	筋におけるインスリン作用に及ぼす分岐鎖アミノ酸の効果に関する研究			
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、筋におけるインスリン作用に及ぼす分岐鎖アミノ酸の効果を明確にすることを目的とする。			
3. 共同利用研究 期間	2019 年 7 月 1 日 ~ 2020 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) 中島 佳恵 澤 蘭	神戸女子大学・家政学部 神戸女子大学・家政学部	大学院生 研究補助員	細胞培養実験 細胞培養実験・細胞内 BCAA 低下 筋細胞の構築	
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: 191007)

6. 共同利用研究計画

C2C12細胞におけるインスリン/ インスリン様成長因子 I (IGF-I) の情報伝達に及ぼす各種アミノ酸の影響

C2C12 細胞を C2C12 筋管細胞に分化させたのち、メディアム中の各種アミノ酸量を変化させ、mTORC1 活性に影響を及ぼす Sestrin2 量の変動するか調べる。するならば、Sestrin2 の変動がインスリン/ インスリン様成長因子 I シグナルに影響するか、その下流に位置する mTORC1 活性の変化を S6 kinase、4E-BP1 のリン酸化で評価する。さらに、インスリン/ インスリン様成長因子 I シグナルに関与する他の因子の発現について調べる。

7. 共同利用研究の成果

Sestrin family タンパク質発現に及ぼすアミノ酸の効果

C2C12 筋管細胞において、メディアム中のアミノ酸を除去すると、mTORC1 活性に影響を及ぼす Sestrin2 量が増加することを見出した。さらに、アミノ酸不含メディアムに各種アミノ酸 (1mM) をそれぞれ単独で 5 時間添加し、Sestrin2 発現に及ぼす効果を検討したところ、ロイシン、バリン、イソロイシン、グルタミン酸、グルタミン、アスパラギン酸、アラニン、システインは Sestrin2 mRNA を減少させ、ロイシン、イソロイシンは sestrin2 タンパク質も減少させることが明らかとなった。Sestrin2 に相同性の高い Sestrin1、Sestrin3 の mRNA 量はアミノ酸除去により明確な変動がみられなかった。

IGF-I 作用に及ぼすイソロイシン前処置の効果

C2C12 細胞のメディアムにイソロイシンを添加し、5 時間後にインスリンシグナルを作動させる IGF-I を添加した。イソロイシンの添加により Sestrin2 タンパク量が減少するならば、IGF-I の下流の mTORC1 が活性化されると想像したわけであるが、S6 kinase、4E-BP1 のリン酸化は亢進しなかった。しかし、Sestrin2 をノックダウンすると、IGF-I による両者のリン酸化は亢進したことから、Sestrin2 は C2C12 細胞で mTORC1 活性を抑制しているが、イソロイシン添加による Sestrin2 の増加は mTORC1 活性に影響しないことが示唆された。

Cbl-b 発現に及ぼすアミノ酸の効果

Cbl-b は IGF-I 受容体を標的とするユビキチン化酵素であり、IGF-I 受容体の分解を促進する。筋において IGF-I は筋肥大を起こすが、Cbl-b は IGF-I 受容体の分解を介して IGF-I 抵抗性を生じさせる因子として報告されている。興味深いことに、アミノ酸を除去したメディアムでは Cbl-b mRNA 量は著明に増加した。その生理的意義は不明であるが、アミノ酸欠乏状態では筋肥大を起こす IGF-I が作用しても有効でないのを回避する仕組みがあることを意味しているのかもしれない。

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。)

澤蘭、大野麻耶、大西彩加、永田麻衣佳、和田千明、國井由佳、中島佳恵、置村康彦
C2C12 筋管細胞においてアミノ酸は ATF4 を介して sestrin2 mRNA 量および蛋白量を調節する
第 92 回日本生化学会大会 2019 年 9 月 18-20 日

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