

学位論文要旨

(Summary of the Doctoral Dissertation)

学位論文題目

(Dissertation Title)

骨格筋細胞の構造・機能特性におけるアディポネクチン受容体活性化とミオスタチン遺伝子多型の関与

氏名(Name)

伊藤理香

本研究ではアディポネクチンとミオスタチンに着目して、骨格筋量を調節する仕組みに関して、1) 高濃度 アディポネクチン (Adipo) は骨格筋を萎縮させる、2) ミオスタチン遺伝子多型は骨格筋トレーニング効果を変調させる、という仮説を検証した。

アディポネクチンレセプター (AdipoR) のアゴニストであるAdipoRon は、AMPK リン酸化の増加を介して、C2C12 筋管細胞のタンパク含有量、筋管細胞直径および筋管細胞当たりの筋核数を濃度依存性に低下させた。このようなAdipoRon によるC2C12 筋管細胞のタンパク質含量、筋管直径および筋管当たりの筋核数の低下は、AdipoR1 およびAdipoR2 あるいは両受容体のノックダウンにより部分的に抑制された。継続的なAdipoRonをマウスの静脈内投与により、速筋型の足底筋(PLA)の筋湿重量は低下したが、遅筋型のヒラメ筋(SOL)にはAdipoRon 投与の影響は認められなかった。しかし、PLA およびSOL におけるAMPK リン酸化レベルは、AdipoRon 投与によって増加した。一方、Adipo 発現量は速筋型の長趾伸筋(EDL) よりもSOL で有意に高値を示した。さらに、EDL におけるAdipo 発現量およびAMPK リン酸化レベルは加齢により増加したが、SOL では有意な増加は認めなかった。SOL ならびにEDL におけるAdipoR1 およびAdipoR2 発現量に、加齢の影響は認めなかった。以上の結果より、高濃度の循環血液中のAdipo は速筋の萎縮を引き起こすことが示唆された。

また、競走馬のトレーニング効果に対してミオスタチン遺伝子多型(SNP) が影響するか否かについて、成長期の競走馬におけるミオスタチン遺伝子多型(g.66493737、T/T、C/T、およびC/C 遺伝子型)と筋衛星細胞および酸化的代謝関連因子のmRNA 発現レベルとの間の関連を検討した。その結果、トレーニング前における筋線維タイプ構成比率や筋線維横断面積においてミオスタチンSNP の影響は認めなかった。しかし、T/T 型におけるIIx 筋線維構成比率はトレーニングより有意に減少した。さらに、トレーニングによりC/C 型のミオスタチンmRNA 発現レベルは有意に低下し、タイプIIx 筋線維横断面積は有意に肥大した。さらに、すべての遺伝子型の中で最も顕著な差は、トレーニング後におけるT/T 型のミトコンドリア生合成に関与する分子(SDH α およびPGC1 α)のmRNA 発現レベルの増加であった。以上の結果より、ミオスタチン発現量ならびにミオスタチンSNP は、サラブレッド骨格筋のトレーニングに対する収縮および代謝的適応変化に影響することが示唆された。

以上の結果より、高濃度の循環血液中のAdipo および骨格筋Adipo 発現量の増加が加齢による骨格筋萎縮すなわちサルコペニアの発症に関与していること、ミオスタチンSNP はトレーニングに対する骨格筋の適応変化に大きく影響することが示唆された。

学 位 論 文 要 旨

(Summary of the Doctoral Dissertation)

学位論文題目 (Dissertation Title)	A physiological role of adiponectin receptor-associated intracellular signal and single-nucleotide polymorphism in myostatin gene in both structural and functional properties in mammalian skeletal muscle
氏 名 (Name)	Rika Ito

The purpose of this study was to investigate the effects of the activation of adiponectin receptors (AdipoRs) of C2C12 myotubes and mouse skeletal muscles, and the effects of single-nucleotide polymorphism (SNP) in myostatin gene (g.66493737, T/T, C/T, and C/C genotypes) on trainability of young Thoroughbred horse skeletal muscle.

AdipoRon, an agonist for adiponectin receptors (AdipoRs), suppressed the protein content, myotube diameter and number of myonuclei per myotube of C2C12 cells in a dose dependent manner. AdipoRon activated AMP-activated protein kinase (AMPK) in C2C12 myotubes. AdipoRon-associated decline of protein content, diameter, and number of nuclei per myotube in C2C12 cells was partially rescued by knockdown of AdipoR1 and/or AdipoR2. Phosphorylated AMPK was also decreased by knockdown of AdipoR1 and/or AdipoR2. Successive intravenous injections of AdipoRon into mice caused a decrease in the wet weight of plantaris muscle (PLA), but not in soleus muscle (SOL). Expression level of phosphorylated AMPK and ubiquitinated protein in SOL and PLA muscles was upregulated by AdipoRon administration. Expression level of adiponectin in extensor digitorum longus (EDL) muscle was increased by aging, but not in SOL muscle. Phosphorylation level of AMPK in EDL was increased by aging, but not SOL muscle. Aging had no effect on the expression level of AdipoR1 and AdipoR2 in both muscles. Results suggest that high level of circulating adiponectin may induce skeletal muscle atrophy, especially fast-type muscle.

On the other hand, no difference due to the myostatin SNP was noted in the muscle fiber population or area before training, but the type IIx fiber population in T/T genotype was significantly decreased by training. In addition, training significantly decreased the C/C genotype myostatin mRNA expression level and type IIx fibers significantly hypertrophied. Furthermore, the most marked difference among all the genotypes was a marked increase in the mRNA expression level of molecules (succinate dehydrogenase subunit a:SDHa and PGC1a) involved in mitochondrial biogenesis in the T/T type after training. Results suggest that myostatin SNP has an impact on the effects of training on both contractile and metabolic properties of skeletal muscle fibers in Thoroughbred horses.

Evidences from this study suggest that high level of circulating adiponectin and aging-associated upregulation of adiponectin in skeletal muscle may induce aging-associated skeletal muscle atrophy, so-called sarcopenia, and that myostatin SNP may modify the training effects of both contractile and metabolic properties of skeletal muscle.

学位論文審査の結果及び最終試験の結果報告書

山口大学大学院創成科学研究科

氏 名	伊 藤 理 香
審 査 委 員	主 査： 宮 田 浩 文
	副 査： 松 井 健 二
	副 査： 内 海 俊 彦
	副 査： 井 内 良 仁
	副 査： 丹 信 介
論 文 題 目	骨格筋細胞の構造・機能特性におけるアディポネクチン受容体活性化とミオスタチン遺伝子多型の関与 (A physiological role of adiponectin receptor-associated intracellular signal and single-nucleotide polymorphism in myostatin gene in both structural and functional properties in mammalian skeletal muscle)
【論文審査の結果及び最終試験の結果】	
<p>本研究では脂肪細胞由来サイトカインアディポネクチンと骨格筋由来ミオスタチンに着目して、骨格筋量を調節する仕組みに関して、1) 高濃度アディポネクチンは骨格筋を萎縮させる、2) ミオスタチン SNP は骨格筋トレーニング効果を変調させる、という仮説を検証した。その結果、高濃度の循環血液中のアディポネクチンおよび骨格筋アディポネクチン発現量の増加が加齢による骨格筋萎縮すなわちサルコペニアの発症に関与していること、ミオスタチン SNP はトレーニングに対する骨格筋の適応変化に大きく影響することが示唆された。</p> <p>平成31年1月24日(木)、上記審査委員5名で構成された審査委員会は、山口大学において、学位申請者本人に研究内容を、公開発表会の形式で発表させ、その内容について質疑応答を行った。また、関連事項についても試問を行った。その結果、研究内容はオリジナリティが高く、その成果は関連分野の水準を高めるものであり、また質問に対して満足すべき回答が得られた。よって審査委員会は、同人を大学院創成科学研究科博士後期課程修了者としての学力、見識を有するものと認め、博士(生命科学)の学位を与えるに十分な資格を有するものと判定した。</p>	