

## 7.5 学位論文要旨 (別紙様式博5)

### 学位論文要旨

学位授与申請者

氏名 畑澤 幸乃



題目 : Gene regulation in skeletal muscle function; exercise and atrophy  
(骨格筋機能における遺伝子制御 ; 運動と萎縮)

本研究は、骨格筋の生理的・病態生理的な機能の変化を理解するため、運動時の骨格筋における代謝変化、および筋萎縮時の筋再生能低下のメカニズムの解析を行った。

#### Chapter 1: General introduction (序論)

骨格筋は環境の変化に順応する可塑性があり、がん、寝たきりや加齢などによって萎縮が生じる。加齢による筋再生能の低下は、加齢性筋萎縮 (サルコペニア) を促進させることが知られており、その分子機序を理解することはサルコペニア予防の観点から重要である。また、運動トレーニングは筋機能を高め、筋萎縮を予防できることが知られているが、寝たきりなどで運動ができない人もいる。そのため、骨格筋における運動時の代謝変化を調べることは、エビデンスのとれた運動模倣食品・医薬品の開発につながるため重要である。

Chapter 2、3 では運動時の代謝変化を調べるために、骨格筋において運動時に発現増加し、運動に対して様々な適応をもたらす転写調節因子 PGC-1 $\alpha$  に着目し、PGC-1 $\alpha$  により制御される運動代謝経路について解析を行った。Chapter 4 では加齢による筋再生能低下のメカニズムの解析を行った。

#### Chapter 2: PGC-1 $\alpha$ -mediated branched-chain amino acid metabolism in the skeletal muscle (骨格筋における PGC-1 $\alpha$ を介した分岐鎖アミノ酸代謝)

骨格筋は、運動や栄養素代謝のみならずヒトの健康に重要な組織である。転写共役因子である PGC-1 $\alpha$  は、運動によって骨格筋での発現量が増加する。申請者の所属する研究室ではこれまでに、PGC-1 $\alpha$  を骨格筋特異的に過剰発現させた PGC-1 $\alpha$ -トランスジェニック (Tg) マウスにおいて、骨格筋の遅筋化と持久力の向上を観察している。そこで申請者は、PGC-1 $\alpha$ -Tg マウスの骨格筋を用いて網羅的な遺伝子発現解

析（マイクロアレイ解析）を行った。その結果、PGC-1 $\alpha$ -Tg マウスの骨格筋においてエネルギー代謝に重要な TCA 回路やミトコンドリア関連の遺伝子発現の増加が観察され、さらに興味深いことに BCAA（分岐鎖アミノ酸）代謝が亢進していることが示唆された。また、PGC-1 $\alpha$ -Tg マウスの骨格筋において BCAA 代謝酵素の遺伝子とタンパク質発現が増加したことを Real time PCR 法及びウエスタンブロット法を用いて確認した。さらに、骨格筋特異的 PGC-1 $\alpha$  欠損マウスを作製し、マイクロアレイ解析により運動による TCA 回路や BCAA 代謝の遺伝子発現が PGC-1 $\alpha$  により制御されることを観察した。BCAA は、運動時に骨格筋において有用なエネルギー源となることが知られ、サプリメントとして市販されている。しかし、運動時、BCAA がどのようなメカニズムでエネルギー源として利用されるか詳細は不明であった。本研究において、運動時に骨格筋における BCAA 利用促進は PGC-1 $\alpha$  を介していることを見出した。

### Chapter 3: Metabolomic analysis of the skeletal muscle of mice overexpressing PGC-1 $\alpha$ (PGC-1 $\alpha$ 過剰発現マウスの骨格筋のメタボローム解析)

メタボローム解析により、PGC-1 $\alpha$ -Tg マウスの骨格筋中の低分子代謝物、特に水溶性代謝物の変動を検討した。その結果、TCA 回路の代謝産物のレベルが増加していた。そして、TCA 回路の基質となりうる BCAA や  $\beta$ -アラニンを含むアミノ酸のレベルが顕著に減少していた。さらに運動時に活性化することが知られているプリンヌクレオチド回路とアスパラギン酸-リンゴ酸シャトルの代謝産物のレベルが増加した。これらの結果から、PGC-1 $\alpha$  がアミノ酸を含む様々な基質を利用して TCA 回路を活性化し、運動時のエネルギー源としている可能性が示唆された。

一方、このメタボローム解析において PGC-1 $\alpha$ -Tg マウスの骨格筋では BAIBA（ $\beta$  アミノイソ酪酸）、GABA（ $\gamma$  アミノ酪酸）、セロトニンの量が顕著に増加していた。最近、運動時の骨格筋において BAIBA が分泌され、白色脂肪組織を褐色化してエネルギー消費を増加させるという報告がなされている。BAIBA、GABA、セロトニンなどは、PGC-1 $\alpha$ -Tg マウスの骨格筋から分泌され、他臓器に影響を及ぼす新たな筋由来生理活性物質（マイオカイン）である可能性が示唆される。これは、運動による生活習慣病改善等の臓器間相互作用の効果を説明する新たな機序であるかもしれない。

#### Chapter 4: A DNA methyltransferase Dnmt3a suppresses the regeneration of aged muscle (DNA メチル化酵素 Dnmt3a は加齢の骨格筋における筋再生を抑制する)

加齢によりゲノム DNA メチル化が大きく変わることが知られている。DNA メチル化は主にゲノム DNA 中の CpG サイト (5' - CG - 3') のシトシンで起こり、遺伝子発現制御、特に、プロモーター領域の DNA メチル化は転写を抑制することが知られている。申請者は、加齢を含む様々な筋萎縮時に骨格筋で Dnmt3a (DNA メチル化酵素 3a) の発現が低下することを見出し、骨格筋特異的 Dnmt3a 欠損マウス (Dnmt3a-KO マウス) を作製し、筋再生能が低下していることを見出した。そのため、このマウスは老化による筋再生能低下のモデルになり得ると考え、解析を行った。申請者は筋再生時に活性化し、新しい筋線維を作る未分化の骨格筋幹細胞である筋サテライト細胞に着目した。Dnmt3a-KO マウスにおいて筋サテライト細胞で Dnmt3a 発現低下が観察された。また、Gdf5 (成長分化因子 5) 遺伝子のプロモーター領域の DNA メチル化が減少し、発現が増加し、筋サテライト細胞の分化を抑制することを見出した。すなわち、加齢時の筋再生能低下のメカニズムを DNA メチル化で説明する新しい仮説を提唱した。

#### Chapter 5: General discussion and Conclusion (総括と結論)

本研究論文の Chapter 2 では網羅的遺伝子発現の変化、Chapter 3 では網羅的代謝産物の変化に着目し、運動時の骨格筋における代謝変化を転写調節因子 PGC-1 $\alpha$  に焦点を当てて研究を行い、PGC-1 $\alpha$  が BCAA を含むアミノ酸などの様々な基質を利用して TCA 回路を活性化し、運動時のエネルギー源としている可能性を見出した。また、Chapter 4 では筋萎縮時の骨格筋における代謝変化を調べるために、DNA メチル化酵素に焦点をおき、加齢により DNA メチル化を介して筋再生能が低下するという新しい仮説を提唱した。これらの結果は、今後、運動模倣、筋萎縮抑制食品・医薬品の開発に繋がる可能性がある。