

<研究題目>

筋萎縮の予防・改善に役立つ植物由来脂溶性成分の作用機序解析

(I) FOXO1 に関する解析

骨格筋は体重の 40%を占める人体最大の組織であり、運動やエネルギー代謝、糖取り込みに重要である。加齢や寝たきり、がんなどの疾患に骨格筋は萎縮し、生活の質の低下や健康寿命の短縮を招く。また、運動は筋萎縮抑制に有効とされるが、筋萎縮が起きる高齢期や病的な状態では困難であることが多い。故に食べ物からの筋萎縮抑制が期待される。当研究室ではこれまで、転写因子 Forkhead box protein-O1 (FOXO1) が筋萎縮時に骨格筋で発現増加し、筋萎縮を引き起こす重要な因子であることを明らかにした。そこで、本研究では米ぬかに含まれる脂溶性成分及び脂溶性ビタミンと FOXO1 との相互作用に着目し、これら脂溶性成分が筋萎縮抑制に有用である可能性を検証した。

米ぬかから抽出した脂溶性成分をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画した。作製した分画及び脂溶性ビタミンを *in vitro* での FOXO1 転写アッセイ系 (ルシフェラーゼアッセイ) に供し、FOXO1 転写活性への効果を調べた。さらに、FOXO1 のアイソフォームであり、筋萎縮を引き起こす重要な因子である FOXO3a 転写活性への効果も調べた。また、デキサメタゾンを添加して筋萎縮を誘導したマウス骨格筋由来の細胞に脂溶性成分を添加し、リアルタイム PCR で FOXO1 及び FOXO3a 標的遺伝子の発現への影響を調べた。加えて、筋細胞にビタミン D を添加したサンプルを用いて、マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を実施した。

ルシフェラーゼアッセイの結果、脂溶性ビタミンであるビタミン A 及びビタミン D の添加により、FOXO1 及び FOXO3a の転写活性が有意に抑制された。一方、米ぬか抽出物による有意な FOXO1 転写活性の抑制は見られなかった。遺伝子発現解析の結果、デキサメタゾン添加により誘導された FOXO1 及び FOXO3a 標的遺伝子の発現増加が、脂溶性ビタミンの添加により抑制された。また、筋肥大への関与が報告されている Transglutaminase 2 (Tg2) の発現が、ビタミン D の添加により増加した。さらに、筋萎縮時における branched-chain aminotransferase

2 (Bcat2) (分岐鎖アミノ酸代謝酵素) の発現増加が、ビタミン D の添加により抑制された。本研究により見出した脂溶性成分は、運動以外の筋萎縮へのアプローチとして、筋萎縮のリスク軽減効果を持つ機能性食品の開発に利用されることが期待される。

(II) PGC1 α に関する解析

運動神経と骨格筋の間に形成される神経筋接合部は加齢などによって変性し、機能低下することが知られている。そのため、神経筋接合部の機能維持は健康寿命の延伸に重要である。転写共役因子 PPAR γ Coactivator 1 α (PGC1 α) は、運動・カロリー制限によって骨格筋で発現が増加し、食品成分 (大豆イソフラボン、レスベラトロール等) で活性化される。また加齢による神経筋接合部の形成悪化を運動が改善することが知られている。本研究では、骨格筋特異的 PGC1 α 欠損 (mKO) あるいは過剰発現 (mTG) マウスの骨格筋を用いて、神経筋接合部の形成を PGC1 α が制御するか否かを遺伝子発現解析及び神経筋接合部の構造解析により検討した。加えて、運動や大豆イソフラボン摂取による神経筋接合部への影響を遺伝子発現解析により検討した。

PGC1 α -mKO マウスの腓腹筋で網羅的な遺伝子発現解析を行ったところ、神経筋接合部の形成に必須である Dok-7 の発現が減少していた。一方、PGC1 α -mTG マウスの腓腹筋において、Dok-7 の発現が増加した。また神経筋接合部の構造を解析したところ、野生型マウスと比較して、PGC1 α -mTG マウスの方が大きくなっており、神経伝達が円滑になっていると考えられた。運動させたマウス (生理的に PGC1 α が増加する条件) の腓腹筋においても Dok-7 の発現は増加した。加えて、運動したヒトの骨格筋におけるメタ解析においても、PGC1 α と Dok-7 の発現増加が確認された。さらに大豆イソフラボンを摂取したマウスにおいても Dok-7 の発現は増加した。本研究により、これまで不明であった運動が神経筋接合部の形成を亢進する作用経路として、PGC1 α が Dok-7 の発現を正に制御することを明らかにした。また大豆イソフラボンによる PGC1 α の活性化は神経筋接合部の形成を亢進し、健康寿命の延伸につながることが期待された。

T. Sugimoto, C. Sakamaki, T. Kimura, T. Eguchi, S. Miura, Y. Kamei. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α regulates downstream of tyrosine kinase-7 (Dok-7) expression important for neuromuscular junction formation. **Scientific Reports** 14(1):1780 (2024)