

---

## ニワトリ骨格筋におけるミオスタチン/Smad シグナリングの解明

神戸大学大学院農学研究科・助教 實安 隆興

---

### ■ 目的

ニワトリ骨格筋におけるミオスタチンの生理的役割の一端を明らかにする目的で、ニワトリ胚由来の筋芽細胞を用いた *in vitro* の実験において、ミオスタチンが Smad シグナリング及び atrogen-1 mRNA 量に及ぼす影響を調べた。また、絶食がニワトリ骨格筋における Smad シグナリングに及ぼす影響を調べた。

### ■ 方法

ブロイラー胚(孵卵 14 日)の胸部骨格筋より採取した筋芽細胞を 12 ウェルプレートに播種し、筋管細胞が形成されるまで培養した後、1ng/ml の TGF- $\beta$ 、あるいは 20nM ミオスタチンを培地に添加し、2 時間後に RNA あるいはタンパク質を抽出した。Atrogen-1 mRNA 量をリアルタイム PCR 法により、Smad のリン酸化タンパク質量及びそのリン酸化の割合をウェスタンブロッティング法により解析した。

自由摂食・飲水条件下で飼育した 2 週齢のブロイラー(Ross308、雄)を平均体重が等しくなるように 2 群に分け(n=6)、一方の群は引き続き自由摂食・飲水条件下で飼育し、もう一方は絶食・自由飲水条件下で飼育した。4 時間後にニワトリを安楽死させ、pectoralis major muscle を摘出後、速やかに液体窒素にて凍結し、解析まで -80°C で保存した。骨格筋より RNA あるいはタンパク質を抽出し、上記と同様の方法でミオスタチン及び atrogen-1 の mRNA 量、並びに Smad タンパク質のリン酸化の割合を解析した。

### ■ 結果および考察

ニワトリ胚由来の筋芽細胞を用いた *in vitro* の実験において、陽性コントロールとして用いた TGF- $\beta$  により、リン酸化 Smad2 タンパク質及び Smad2 のリン酸化の割合は有意に増加した。同様に、ミオスタチンにより、リン酸化 Smad2 タンパク質量は有意に増加し、Smad のリン酸化の割合は増加傾向を示した。また、atrogen-1 mRNA 量もミオスタチンにより有意に増加した。これらのことから、少なくとも *in vitro* では、哺乳類と同様にニワトリでもミオスタチンは Smad を介して atrogen-1 の遺伝子発現を上向き調節することが示唆された。

4 時間の絶食によりニワトリ骨格筋中の atrogen-1 mRNA 量は有意に増加したが、ミオスタチン mRNA 量、及び Smad2 のリン酸化の割合に有意な変化は認められなかった。これらのことから、ニワトリ骨格筋におけるタンパク質分解調節に、ミオスタチン/Smad シグナリングは重要ではない可能性が示された。

### ■ 結語

ミオスタチンは Smad2 を介して atrogen-1 の遺伝子発現を上向き調節するものの、絶食による atrogen-1 の発現上昇にミオスタチン/Smad シグナリングは重要ではない可能性が示された。