

終末糖化産物によるニワトリ骨格筋量低下の作用機序の解明

愛媛大学大学院農学研究科・特任講師 牧野 良輔

■ 目的

糖尿病のように慢性的な高血糖状態が続くと、動物の体内で余剰の糖および糖の代謝産物が生体内のタンパク質と結合する糖化反応が起きる。糖化反応が起きたタンパク質は、最終的に終末糖化産物(AGEs)と呼ばれる化合物を生成する。過去にニワトリ骨格筋細胞のタンパク質代謝を調べたところ、AGEsがタンパク質分解を亢進することを明らかにした。加えて、AGEsがニワトリ骨格筋細胞の細胞傷害を引き起こすことも見出している。これらの結果から、AGEsはニワトリの骨格筋量を減少させることが示された。そこで本研究では、AGEsがどのようにニワトリの骨格筋タンパク質分解を亢進し、細胞障害を引き起こすのかを明らかにすることを目的として、ニワトリ骨格筋細胞のタンパク質分解制御関連因子および活性酸素種(ROS)発生に対するAGEsの影響を調査した。

■ 方法

孵卵17日目のニワトリ胚の浅胸筋を採取し、骨格筋由来細胞を調製した。細胞播種後4日目にAGEs(CML、MGH1およびPYR)を添加した培地に切り替え、24時間培養した。骨格筋タンパク質の分解の制御機構として、ユビキチン・プロテアソーム系およびカルパイン系に関連する遺伝子のmRNA発現量と、FoxOタンパク質のリン酸化をそれぞれRT-qPCR法およびウェスタンブロット法で評価した。また、細胞障害惹起の要因として知られるROS発生にAGEsが与える影響を検討した。ROSの蛍光プローブと細胞核を蛍光染色するHoechst 33342の蛍光強度を蛍光プレートリーダーを用いて定量した。ROSの蛍光プローブの蛍光強度をHoechst 33342の蛍光強度で除した値をROS発生量とした。

■ 結果および考察

FoxOのリン酸化タンパク質は対照培地と比較してPYR添加培地によって有意に低下した。FoxOタンパク質のリン酸化が減少すると、FoxOは核内で転写調節因子としてユビキチンリガーゼであるAtrogin-1およびMuRF-1の転写を開始しタンパク質分解を促進する。しかしながら、いずれのAGEsもユビキチンリガーゼのmRNA発現には影響を与えなかった。また、ユビキチン・プロテアソーム系と同様に骨格筋のタンパク質分解を制御するカルパイン系のCalpain-1および-2のmRNA発現にもAGEsの影響は認められなかった。過去の研究においてAGEsがニワトリ骨格筋細胞のタンパク質分解を亢進することを明らかにしたが、その機序の一端として、PYRがFoxOの翻訳後修飾であるリン酸化を抑制することによって引き起こされる可能性が示された。AGEsは細胞障害性を示すことが知られており、その要因の一つとして細胞内ROSの関与が知られている。そのため、AGEsがニワトリ骨格筋由来細胞のROS産生に与える影響を調査した。その結果、PYRによって細胞内ROS産生が増加することが示された。このことから、PYRによる細胞障害機序にROSを介している可能性が考えられた。一方、CMLおよびMGH1ではROS産生の増加が認められなかったため、他の制御メカニズムもあると考えられる。

■ 結語

本研究は、AGEsによるニワトリ骨格筋細胞へのタンパク質分解亢進および細胞障害の作用機序としてFoxOリン酸化とROS産生が関与している可能性を見出した。ニワトリは高血糖動物でありながらAGEsに関する知見が乏しく、今回の研究成果はAGEsがニワトリの産肉性に関与しうる代謝物質であることを示しており、今後さらに研究を推進する必要があると考える。