

先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実施状況報告書(平成 24 年度)

本様式の内容は一般に公表されません

研究課題名	筋収縮によって骨格筋から分泌される生理活性因子の探索と運動調節性筋内分泌の概念の確立
研究機関・ 部局・職名	首都大学東京・人間健康科学研究科ヘルスプロモーションサイエンス学域・教授
氏名	藤井 宣晴

1. 当該年度の研究目的

課題 1；「骨格筋から分泌される生理活性因子の探索(継続)」これまでプロテオームおよび DNA マイクロアレイのアプローチで、少なくとも 18 種類の分泌様タンパク質が骨格筋に発現していることを確認した。これら方法の精度を高め、新たな手法を組み合わせるさらなる探索を行う。**課題 2**；「筋収縮が分泌促進(あるいは抑制)のトリガーになっているかどうかの確認」運動の健康効果が、骨格筋から分泌される生理活性因子によって生じるのであれば、筋収縮が分泌促進(あるいは抑制)を調節している可能性がある。そこで、これまでに同定した分泌様タンパク質にタグを付加して、培養細胞あるいはマウスの下肢骨格筋に発現させ、電気的強制収縮でそれらが培養上清中あるいは血液中に検出されるかどうかを検討する。**課題 3**；「ショウジョウバエを用いた筋分泌蛋白質の機能スクリーニング」標的蛋白質の発現を骨格筋特異的に抑制した遺伝子組み換えショウジョウバエを作製し、寿命の変化等から生理的重要性を評価する。

2. 研究の実施状況

課題 1；これまでに発見していた分泌様タンパク質分子に加えて、本年度は新たに 22 個の分子が骨格筋に発現していることが明らかになった。これらの中で、すでに骨格筋から分泌されると報告されているものは 5 分子のみで、残りは他の臓器・組織からの分泌は報告されているものの、骨格筋との関連は見出されていない新規のものであった。さらに新規の分泌タンパク質を発見することを目的に、次世代高速シーケンスに供するためのヒト骨格筋サンプルを 3 名の男性から筋生検で得た。**課題 2**；本研究で見出した分泌様タンパク質のほとんど全てにおいて、筋損傷が生じない程度のマイルドな収縮では調節性分泌は観察されなかった。逆に、筋損傷のマーカである乳酸脱水素酵素(LDH)が上昇する収縮ではほとんど全ての分子において分泌が認められた。この結果は筋損傷自体が分泌の促進機序になっている可能性を示唆する(ヒトが中程度の走運動を行うと LDH は上昇する)。しかしこの点についてはさらなる慎重な解析を重ねなければ結論を導くことができず、引き続き検討を継続する。**課題 3**；骨格筋特異的に同定した分子の遺伝子発現をノックダウンしたショウジョウバエを 16 系統樹立した(16 分子のノックダウンが完了した)。それぞれについて 100 匹の寿命を測定したところ、対象群(父方と母方の 2 種類あり)では 50-60 日で全ての個体が死滅したのに対して、平均寿命が短縮したノックダウン・ハエが 2 系統(2 分子)、延長したハエが 1 系統(分子)観察された。これらの結果は、この 3 つの分泌様タンパク質が何らかの重要な生理機能を担っていることを示唆しており、今後は遺伝子組み換えマウスの作製によって詳細な機能解析に供されるべきと評価される。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 9 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 4 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Akihito Tanaka, Knut Woltjen, Katsuya Miyake, Akitsu Hotta, Makoto Ikeya, Takuya Yamamoto, Tokiko Nishino, Emi Shoji, Atsuko Sehara-Fujisawa, Yasuko Manabe, <u>Nobuharu Fujii</u>, Kazunori Hanaoka, Takumi Era, Satoshi Yamashita, Ken-ichi Isobe, En Kimura, Hidetoshi Sakurai, Efficient and Reproducible Myogenic Differentiation from Human iPS Cells: Prospects for Modeling Miyoshi Myopathy In Vitro. PLoS ONE, 8(4): e61540. 2012, ISSN: 1932-6203, http://www.plosone.org/ 2. Yasuko Manabe, Shouta Miyatake, Mayumi Takagi, Mio Nakamura, Ai Okeda, Taemi Nakano, Michael F. Hirshman, Laurie J. Goodyear, <u>Nobuharu L. Fujii</u>, Characterization of an Acute Muscle Contraction Model using Cultured C2C12 Myotubes. PLoS ONE,7(12):e52592, 2012, ISSN: 1932-6203, http://www.plosone.org/ 3. Naoko Goto-Inoue, Yasuko Manabe, Shouta Miyatake, Sinya Ogino, Ai Morishita, Takahiro Hayasaka, Noritaka Masaki, Mitsutoshi Setou, <u>Nobuharu L Fujii</u>. Visualization of dynamic change in contraction-induced lipid composition in mouse skeletal muscle by matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry. Analytical and Bioanalytical Chemistry 2012, ISSN: 1618-2642 http://www.springer.com/chemistry/analytical+chemistry/journal/216 4. Henstridge DC, Bruce CR, Pang CP, Lancaster GI, Allen TL, Estevez E, Gardner T, Weir JM, Meikle PJ, Lam KS, Xu A, <u>Fujii N</u>, Goodyear LJ, Febbraio MA. Skeletal muscle-specific overproduction of constitutively activated c-Jun N-terminal kinase (JNK) induces insulin resistance in mice. Diabetologia. 55(10):2769-2778. 2012, ISSN: 0012-186X, http://www.diabetologia-journal.org/ <p>(掲載済み一査読無し) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.. 眞鍋康子、藤井宣晴; 筋収縮が糖尿病を予防・改善することの分子スポーツ医学的考察. 医学のあゆみ, 243(10), 918-922, 2012, ISSN: ISSN: 0039-2359, http://www.ishiyaku.co.jp/magazines/ayumi/ 2. Goto-Inoue N, Setou M, <u>Fujii NL</u>. Visualization of metabolite change in skeletal muscle by contraction using imaging mass spectrometry. J.Phys.Fit.Sport.Med., 1(2): 347-350. 2012. <p>(未掲載) 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Yasuko Manabe, Katja S. C. Gollisch, Laura Holton, Young-Bum Kim, Josef Brandauer, <u>Nobuharu L. Fujii</u>, Michael F. Hirshman, Laurie J. Goodyear. Exercise training-induced adaptations associated with increases in skeletal muscle glycogen content. FEBS Journal., 2013, in press, ISSN: 1742-4658, http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/ 2. Miho Tsuchiya, Yasuko Manabe, Kenichiro Yamada, Yasuro Furuichi, Masahiro Hosaka, <u>Nobuharu L. Fujii</u>. Chronic exercise enhances insulin secretion ability of pancreatic islets without change in insulin content in non-diabetic rats. Biochemical and Biophysical Research Communications., 2013, in press, ISSN: 0006-291X, http://www.journals.elsevier.com/biochemical-and-biophysical-research-communications 3. 眞鍋康子、藤井宣晴; 糖尿病における運動とマイオカイン. Diabetes Frontier, in press, 2013, ISSN: 0915-6593, http://www.m-review.co.jp/magazine/id/2
<p>会議発表 計 5 件</p>	<p>専門家向け 計 5 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Fujii NL</u>, Manabe Y, Miyatake S, Goto-Inoue N, Takagi M, Morishita A. アカデミックフォーラム「Muscle contraction models useful for analysis of contraction-induced intracellular signaling」 BIO tech 2012 -国際バイオテクノロジー展/技術会議- 平成 24 年 5 月 8 日-10 日 東京ビッグサイト 2. 藤井宣晴、眞鍋康子、井上菜穂子、高木麻由美; ベーシックサイエンス「高齢者で認められる糖代謝異常とその予防法」第 12 回日本抗加齢医学会総会 平成 24 年 6 月 24 日 パシフィコ横浜 会議センター 3. 藤井宣晴; 教育講演「筋収縮が有する生物学的役割の再考」第 20 回日本運動生理学会 平成 24 年 7 月 28 日 筑波大学 4. Kitamura K, Takamura Y, Iwamoto T, Ikoma K, Nomura M, Sugioka H, Kobayashi T, Komada T, Manabe Y, Iwasaki H, Ohdera M, <u>Fujii NL</u>, Fushiki T; Panaxatriol Activates Insulin Signaling Pathway in Skeletal Muscle and Improves Insulin Resistance in KKAy Mice. Poster Presentation, 72th Scientific Sessions American Diabetes Association, Orland, (Jun 10 2012). 5. 眞鍋康子、田岡万悟、坂井貴臣、磯辺俊明、藤井宣晴; マイオカイン探索システムの構築とバイオマーカーへの応用. 第 2 回 TOBIRA 研究交流フォーラム 平成 25 年 2 月 5 日 東京工業大学キャンパスイノベーションセンター <p>一般向け 計 0 件</p>

様式19 別紙1

<p>図書 計1件</p>	<p>1. 運動療法ガイド 改訂第5版, 井上一、武藤 芳照、福田潤 編集, 日本医事新報社, 2012, 森克人、藤井宣晴(糖尿病 pp187-192 担当)、総ページ数 282</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.comp.tmu.ac.jp/muscle/Kenkyuugaiyou.html</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>藤井宣晴、眞鍋康子「骨格筋の科学」首都大学東京 PRI シリーズ ～学術研究成果を分かりやすく解説～ H25年2月28日 首都大学東京飯田橋キャンパス 一般者対象 聴講者 60名 https://www.ou.tmu.ac.jp/open/digi_p_2012huyu/index.html#9</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	118,000,000	45,100,000	36,000,000	36,900,000	210,000
間接経費	35,400,000	13,530,000	10,800,000	11,070,000	0
合計	153,400,000	58,630,000	46,800,000	47,970,000	210,000

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	235,817	36,000,000	0	36,235,817	36,234,892	925	0
間接経費	867,360	10,800,000	0	11,667,360	8,253,750	3,413,610	0
合計	1,103,177	46,800,000	0	47,903,177	44,488,642	3,414,535	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	22,002,440	実験試薬・マウス・実験用品等
旅費	446,190	学会・浜松医科大学(細胞生物学研究室)
謝金・人件費等	9,621,233	特任助教・特任研究員・アルバイトの雇用
その他	4,165,029	遺伝子解析・筋肉電極改造修理・8CH4CH電極修理
直接経費計	36,234,892	
間接経費計	8,253,750	
合計	44,488,642	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
イメージアナライザ ー式	英国GEヘルスケ ア	1	3,990,000	3,990,000	2012/7/4	首都大学東京
組織培養用ウシ胎 児血清	Bio West(代理店 フナコシ)	1	945,000	945,000	2012/7/9	首都大学東京
マイクロプレート リーダー解析ソフト	バイオ・ラッドラボ ラトリーズ	1	824,250	824,250	2012/10/3	首都大学東京
PikoReal	サーモフィッ シャーサイエン	1	1,464,750	1,464,750	2012/10/17	首都大学東京
骨格筋実験評価装 置	内田電子株式会 社	1	954,450	954,450	2012/10/31	首都大学東京