

課題番号	LS102
------	-------

**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 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

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

2 つのアプローチの組み合わせで、筋収縮をトリガーとして骨格筋から分泌されるタンパク質分子の探索を行う。一つ目は、培養筋細胞が収縮中に分泌するタンパク質の探索で、プロテオーム解析を用いる。二つ目は、培養骨格筋細胞が収縮を反復すること(培養細胞に課した運動トレーニング)によって発現が変化する遺伝子群の中から、分泌蛋白をコードするものを同定する探索である。遺伝子発現量の変化は DNA マイクロアレイで検出する。検出された遺伝子がコードするアミノ酸情報からシグナルペプチドおよび膜貫通領域(疎水性領域・ α フェリックス構造)の有無を推定し、分泌タンパク質を予測する。各アプローチの特長を活かし、より多くの分泌蛋白(候補)を同定することを目的とする。

2. 研究の実施状況

1. プロテオーム解析を用いた分泌タンパク質の探索

報告者らが構築した培養骨格筋細胞の収縮装置を用いて、3 時間収縮させた際の培養液を回収し、SDS ページで展開後に酵素処理してプロテオーム解析に供した。その結果、少なくとも 5 種類の分泌タンパク質を検出した。そのうち 4 つは、小胞体やゴルジ体を経ずに分泌される新タイプの分泌(unconventional secretion)タンパク質に分類されるものであった。

1. DNA アレイ解析を用いた分泌タンパク質の探索

培養骨格筋細胞を 3 時間収縮させ、その直後と 12 時間後に mRNA を回収し DNA アレイ解析に供した(それぞれ n = 2)。2 つのアレイ全てにおいて発現量の変化方向(増加か減少)が一致し、かつ変化率がいずれも 30% 以上のものを選出した。それらについて小胞体・ゴルジ体を経て分泌される(conventional secretion)タンパク質かどうかをコンピュータで予測した。その中で、これまで骨格筋における発現・分泌の報告はないが、他の臓器からは分泌されることが分かっているタンパク質が、少なくとも 10 種類あった。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件 1. Taro Toyoda, Ding An, Carol A. Witzczak, Ho-Jin Koh, Michael F. Hirshman, Nobuharu Fujii, Laurie J. Goodyear, Myo1c regulates glucose uptake in mouse skeletal muscle. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286(6):4133-40. ISSN: 0021-9258 http://www.jbc.org/ 2. 眞鍋康子、井上菜穂子、高木麻由美、藤井宣晴; 真核細胞のエネルギー・センサー「AMP キナーゼ」比較生理生化学 2012 29(2) 70-75. ISSN: 0916-3786 http://jscpb.org/ja/archive/ (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 1 件 1. Naoko Goto-Inoue, Yasuko Manabe, Shouta Miyatake, Sinya Ogino, Ai Morishita, Takahiro Hayasaka, Noritaka Masaki, Mitsutoshi Setou, Nobuharu L Fujii. 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 in press ISSN: 1618-2642</p>
<p>会議発表 計 4 件</p>	<p>専門家向け 計 3 件 藤井宣晴; セミナー「骨格筋の新生物学～「動作を生む」以外の生物学的役割」スポーツ健康科学部特別セミナー(サロン・ド・アプレミディ) H23年11月1日 立命館大学スポーツ健康科学部 藤井宣晴; 講演「筋収縮がインスリン非依存的に骨格筋への糖輸送を促進する機序」第37回福岡大学グローバルFUプログラムセミナー H24年2月2日 福岡大学 医学部. 藤井宣晴; セミナー「運動と骨格筋の分子生物学」身体活動研究所セミナー H24年2月2日 福岡大学 基盤研究機関 身体活動研究所 一般向け 計 1 件 藤井宣晴、眞鍋康子、井上菜穂子、高木麻由美; ポスター発表「糖尿病を予防・改善する骨格筋内分泌物質の探索システムおよびデータベースの構築」東京バイオマーカー・イノベーション技術研究組合 第1回研究交流フォーラム H24年3月8日 KOKUYO Multipurpose Hall (品川)</p>
<p>図書 計 1 件</p>	<p>藤井宣晴 (Section IV 付録 D pp323-376 担当) 運動処方指針 ー運動負荷試験と運動プログラムー 原著第8版 American College of Sports Medicine. 日本体力医学会体力医学編集委員会 監訳 2011</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/index.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「骨格筋の新生物学」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～ H24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_2011huyu/index.html#9</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計 0 件</p>	<p></p>
<p>その他</p>	<p></p>

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

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	0	72,900,000	0
間接経費	35,400,000	13,530,000	0	21,870,000	0
合計	153,400,000	58,630,000	0	94,770,000	0

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	43,971,250	0	0	43,971,250	43,735,433	235,817	210,000
間接経費	13,530,000	0	0	13,530,000	12,662,640	867,360	0
合計	57,501,250	0	0	57,501,250	56,398,073	1,103,177	210,000

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	35,252,686	マウス・実験試薬・実験用品等
旅費	229,430	浜松医科大学(細胞生物学研究室)・立命館大学
謝金・人件費等	7,270,930	特任助教・特任研究員・アルバイトの雇用
その他	982,387	遺伝子解析・製氷機修理・超純水装置修理等
直接経費計	43,735,433	
間接経費計	12,662,640	
合計	56,398,073	

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
実体顕微鏡	M165C	1	1,079,400	1,079,400	2011/7/13	首都大学東京
8CH電気刺激装置 システム	内田電子(株)	1	2,189,250	2,189,250	2011/8/29	首都大学東京
マルチプレートリー ダー	パーキンエル マー社	1	6,282,150	6,282,150	2011/11/29	首都大学東京