

論文内容要旨

報告番号	甲栄第 295 号	氏名	足立 雄一郎
題目	<p>All-trans retinoic acid changes muscle fiber type via increasing GADD34 dependent on MAPK signal (全トランスレチノイン酸はMAPKシグナル依存的なGADD34の増加を介して筋繊維タイプを変化させる)</p>		
<p>全トランスレチノイン酸 (All-trans retinoic acid: ATRA) は核内受容体Retinoic acid receptor (RAR) を介した転写制御の他に、Mitogen-activated protein kinase (MAPK) などの細胞内シグナリングを活性化させることが知られており、これらのシグナルを介して筋分化に必須の遺伝子を制御する。またATRAは、分化した白血病由来細胞において小胞体ストレス応答に対する感受性を高めることが分かっている。小胞体ストレス応答の主要な経路であるPKR-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) の下流転写因子もまた筋分化を制御しているが、PERKの下流因子の一つであるgrowth arrest and DNA damage-inducible protein 34 (GADD34) の筋肉における役割や、GADD34発現に対するATRAの効果は明らかではなかった。本研究で我々は、ATRAのPERK経路に対する影響を、様々な臓器、特に筋肉で検討した。その結果、ATRAによるGADD34発減量変化の分子機序と骨格筋の繊維タイプ変化におけるGADD34の役割を明らかにした。</p> <p>C57BL/6JマウスへのATRA腹腔内投与、及びATRA高濃度含有培地における腓腹筋初代培養の結果、腓腹筋で小胞体ストレス応答関連因子GADD34の発現量が有意に増加したが、その主要上流因子であるActivating Transcription Factor 4 (ATF4) は変動しなかった。また、マウス筋芽細胞株C2C12に対するATF4のsiRNAを用いた実験と各種RAR過剰発現プラスミド及びMAPK阻害剤を用いた検討から、ATRAによるMAPKシグナルの活性化を介した筋特異的な新規GADD34制御機構の存在を示唆した。さらに、Luciferase assayとElectrophoresis Mobility Shift Assayの結果、骨格筋特異的な転写因子Six1のGADD34プロモーター結合領域となるMEF3配列を同定し、ATRAはSix1発減量の低下を介した転写コリプレッサーTransducin-like enhancer protein 3 (TLE3) の阻害によりGADD34転写活性を上昇させることを示した。また、これは核内受容体非依存的であり、ERKの活性化を介したものであることを明らかにした。加えて、ATRAはp38の活性化を介したRNA結合タンパク質Tristetraprolin (TTP) の制御によりGADD34 mRNAを安定化させることが分かった。最後に、C2C12にGADD34を過剰発現させると、筋管形成時において筋繊維の速筋タイプを形成するMyosin Heavy Chain 2a (MYHC2a) の発現量が低下した。以上より、骨格筋においてATRAは、ATRA-ERK-Six1-TLE3シグナルを介した転写制御と、ATRA-p38-TTPシグナルを介した転写後制御の2つの新規経路により小胞体ストレス応答関連因子GADD34発現を調節し、筋繊維タイプ変化を誘導することが示唆された。一部の疾患でMYHC2aの減少を伴う筋萎縮が報告されており、本研究はこれにGADD34の関与を示唆するものである。</p>			

報告番号	甲 栄 第 295 号	氏名	足立 雄一郎
審査委員	主査 阪上 浩 副査 酒井 徹 副査 赤川 貢		
<p> 題目 All-trans retinoic acid changes muscle fiber type via increasing GADD34 dependent on MAPK signal (全トランスレチノイン酸はMAPKシグナル依存的なGADD34の増加を介して筋繊維タイプを変化させる) </p> <p> 著者 <u>Yuichiro Adachi</u>, Masashi Masuda, Iori Sakakibara, Takayuki Uchida, Yuki Niida, Yuki Mori, Yuki Kamei, Yosuke Okumura, Hirokazu Ohminami, Kohta Ohnishi, Hisami Yamanaka-Okumura, Takeshi Nikawa, Yutaka Taketani </p> <p style="text-align: center;"> 令和 4 年 7 月発行 Life Science Alliance誌 第5巻 第7号 e202101345 に発表済 </p> <p> 要旨 本論文では、全トランスレチノイン酸 (ATRA) がgrowth arrest and DNA damage-inducible protein 34 (GADD34) の発現増加を介して骨格筋の筋繊維タイプを変化させることを明らかにしている。慢性腎臓病に伴う筋萎縮発症には、骨格筋で増大する小胞体ストレスが関与している。また慢性腎臓病の早い段階から血中ATRA濃度が上昇することやATRAが小胞体ストレスの応答性に影響を与えることが知られているが、小胞体ストレスに対するATRAの影響は組織によって異なり、ATRAの骨格筋への影響は明らかとされていない。今回、マウスの腓腹筋やマウス筋芽細胞株C2C12細胞を用いて、ATRAによる小胞体ストレス応答PKR-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) 経路の下流因子であるGADD34の発現制御機構および骨格筋への影響を明らかにすることを目的とした。 </p> <p> C57BL/6JマウスへのATRA腹腔内投与24時間後の腓腹筋において、PERK経路の転写因子であるactivating transcription factor (ATF)4遺伝子発現には変化を認められなかったが、ATF4の標的因子として知られているGADD34の発現量は有意に増加した。骨格筋特異的な転写因子sine oculis homeobox homolog 1はGADD34遺伝子の転写活性を低下させるが、C2C12細胞において、この反応をATRAがMAPキナーゼ (MAPK) シグナルの一つであるextracellular signal-regulated kinase (ERK) のリン酸化を介して抑制することを示した。またRNA結合タンパク質tristetraprolinはGADD34のmRNAの安定性を低下させるが、この反応もATRAがMAPKシグナルであるp38 MAPKのリン酸化を介して抑制することを示した。一方、C2C12細胞にGADD34を過剰発現させると、筋管形成時に筋繊維の速筋タイプを形成するmyosin heavy chain 2Aの発現が低下した。 </p> <p> 以上の結果から、骨格筋においてATRAはERKやp38 MAPKなどのMAPKシグナルの活性化によりGADD34発現量を増加させることで筋繊維タイプ変化を誘導することが示唆された。この筋繊維タイプ変化は慢性腎臓病での筋萎縮で生じる変化と類似していることから、ATRAによる筋繊維タイプ変化の誘導機序を理解することは筋萎縮の全容解明の糸口となり得ると考えられた。 </p> <p> 本研究は、ATRAが筋繊維タイプ変化を引き起こす機序を提案し、慢性腎臓病に伴う筋萎縮の予防や治療法を確立するための重要な知見となるため、博士 (栄養学) の学位授与に値すると判定した。 </p>			