

【奨励賞受賞者研究トピックス】

骨格筋および骨格筋幹細胞におけるプロテアソーム機構の役割

北嶋 康雄、小野 悠介
熊本大学 発生医学研究所

Keywords : skeletal muscle, muscle stem cell, muscle atrophy, proteasome, proteolysis.

我が国はまだ他国でも経験がないほどのスピードで高齢化が進んでいる。ますます進行する超高齢社会において、加齢に伴って起こるサルコペニアなどの骨格筋の萎縮は大きな社会問題として広く認識されてきている。具体的には、サルコペニアなどの骨格筋の萎縮により運動機能が低下することで、将来的には多くの要介護者を生み、国の医療費の増大にもつながっていく。そのため、高齢化に伴う筋萎縮予防は喫緊の課題であり、筋萎縮の分子機構の解明が求められている。

骨格筋は、体重の約40%を占める最も大きな臓器である。骨格筋は運動や筋力トレーニングなどにより肥大し、逆にベッドレストや不活動などにより萎縮する。このように骨格筋は可塑性に富んだ臓器であるが、一般的に、骨格筋量はタンパク質の合成と分解のバランスにより決定すると考えられている。生体内の主要なタンパク質分解系としては、ユビキチン-プロテアソーム系が挙げられ、骨格筋萎縮などの事象を調べる際には、現在では必須の解析項目である。本稿では、特に骨格筋と主要なタンパク質分解系であるユビキチン-プロテアソーム系に着目して、我々の知見を踏まえて概説する。

プロテアソームは真核生物の細胞において細胞質および核内のいずれにも分布しており [1]、ATPを必要とするエネルギー依存性のタンパク質分解系である。26Sプロテアソームは、66のサブユニットから構成される巨大な複合体である。26Sプロテアソームはプロテアーゼ活性を有する20Sプロテアソームの両端に19S調節因子(19S regulatory particle)が会合したものである。19Sの基部はRpt1-6とRpn1-2の8つのATPaseサブユニットで構成される [2]。19Sプロテアソームの構成分子であるRpt3の全身欠損では胎生致死になるため [3]、Rpt3分子はプロテアソーム機能に重要な分子と考えられる。そこで我々は、骨格筋でのプロテアソーム機能を調べるために、骨格筋でのみRpt3遺伝子ノックアウトを起こすマウスを作出して解析した。骨格筋特異的プロ

テアソーム機能不全マウスでは、骨格筋は分解系の抑制により筋肥大するのではなく、むしろ筋萎縮を起こした。また、筋力減少および分解系不全による異常タンパク質の蓄積も確認した。これらの結果により、プロテアソームによる適切なタンパク質分解は、筋量維持に必須であることを報告した [4]。興味深いことに、骨格筋特異的な遺伝子欠損であるが、約4週齢程でノックアウトマウスの半分以上が死亡し、正常なプロテアソーム機能が寿命とも関連することが示唆された。

プロテアソーム活性と寿命との関係を示すいくつかの報告がある。プロテアソーム活性は、加齢により、脳 [5]、肝臓 [6, 7]、心臓 [8]、筋肉 [9] により減少することが報告されている。また、酵母および線虫におけるプロテアソームサブユニットの過剰発現は、プロテアソーム活性の増加および寿命の延長をもたらすことが示されている [10, 11]。一方で、ショウジョウバエやマウスにおいてプロテアソーム活性の低下は、寿命が短くなることが報告されている [12, 13]。我々の報告した骨格筋特異的なRpt3ノックアウトマウスにおいても、骨格筋のプロテアソーム活性の低下に伴い、寿命が短くなることを報告した [4]。これらのデータは、プロテアソーム活性は細胞および生体レベルでの老化に密接な関係があることを示唆しており、今後の更なる解析が必要である。

骨格筋を構成するためには、組織幹細胞である骨格筋幹細胞の貢献は欠かせない。そこで、骨格筋幹細胞でのプロテアソーム系の役割を明らかにするために、骨格筋幹細胞特異的にRpt3遺伝子をノックアウトし、骨格筋幹細胞特異的プロテアソーム機能不全マウスを作出した(図1) [14]。作出したマウス由来の筋幹細胞においてプロテアソーム活性を調べたところ、コントロールと比較して有意にプロテアソーム活性が抑制されていた。そこで、骨格筋幹細胞特異的プロテアソーム機能不全マウス由来の筋幹細胞を単離し、増殖能や分化能を調べたところ、コントロールと比べて増殖能や分化能が抑制されていた。先行研究において、プロテアソーム系の抑制は、筋芽細胞の分化を阻害することが報告されている [15, 16]。この知見と一致して、骨格筋幹細胞においてRpt3の欠損によるプロテアソーム機能不全は、筋芽細胞の融合を阻害したことから、筋芽細胞の分化には適切なプロテアソーム機能が必要であることを示唆した。また、骨格筋幹細胞特異的プロテアソーム機能不全マウス由来の

連絡先：北嶋康雄

〒860-0811 熊本県熊本市中央区本荘2丁目2-1

TEL : 096-373-6602

E-mail : kitajima-y@kumamoto-u.ac.jp

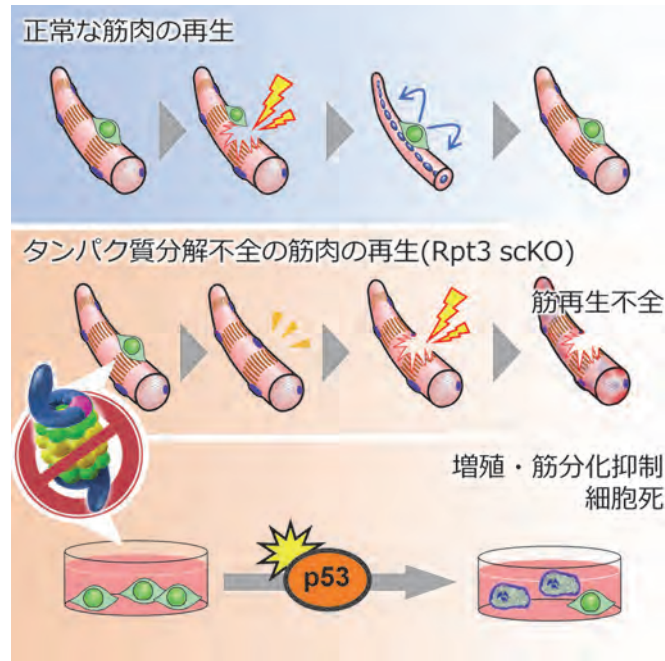


図 1. 骨格筋幹細胞特異的プロテアソーム機能不全マウスの概要
骨格筋幹細胞特異的プロテアソーム機能不全マウスでは、筋幹細胞プールの減少による筋再生不全を示した。また、細胞増殖能・分化能の抑制、細胞死も誘導し、老化関連の p53 の活性化を引き起こした。

筋幹細胞は、p53 タンパク質の活性化を示した。これまでに p53 は筋分化を促進することが報告されている [17-21]。一見矛盾するようであるが、p53 は細胞周期や細胞死、老化など細胞内の多様なイベントに関わっており [22]、筋分化においても最適な p53 の発現レベルがあることを示唆している。

骨格筋幹細胞特異的プロテアソーム機能不全マウスの筋幹細胞は、ロックアウト誘導後の約 2 週間後に幹細胞プールが細胞死により減少した。通常、休止状態の筋幹細胞ではターンオーバーがほとんどなく代謝レベルが非常に低いと考えられている [23]。先行研究において、プロテアソーム系によるタンパク質分解はアミノ酸プールの維持に不可欠であると報告されている [24, 25]。これらのことから骨格筋幹細胞特異的な Rpt3 欠損によるプロテアソーム機能障害は、細胞恒常性維持のための最低限のアミノ酸プールの欠乏から、幹細胞プールの減少につながった可能性が考えられる。これらの知見は、ターンオーバーが少なく代謝レベルが非常に少ないと考えられる休止期の筋幹細胞においても、最低限のタンパク質分解機構の働きが重要であることを示唆している。

上述の通り、骨格筋特異的なプロテアソーム機能不全マウスでは、筋萎縮および若齢致死を示した。この解析モデルでは、胎生期からの遺伝子欠損モデルになっており、成長の因子を取り除いて解析ができていない。本来、成熟した骨格筋ではターンオーバーが少ないと考えられている。そのため、骨格筋におけるタンパク質分解系の役割を示すために、成長後にプロテアソーム機能不全を起こすことができるモデルによる検討が必要であり、現在、解析ツール作出により検討を進めている。筋萎縮予防は超高齢社会を迎えている我が国の大きな課題であ

る。筋萎縮に関して、タンパク質分解系が関わることは、これまでの多岐に亘る研究により明らかにされており、引き続き検討が必要である。

1. Peters JM, Franke WW and Kleinschmidt JA, Distinct 19 S and 20 S subcomplexes of the 26 S proteasome and their distribution in the nucleus and the cytoplasm. *J Biol Chem*, 1994. 269 (10) : p. 7709-18.
2. Glickman MH, Rubin DM, Coux O, *et al.*, A subcomplex of the proteasome regulatory particle required for ubiquitin-conjugate degradation and related to the COP9-signalosome and eIF3. *Cell*, 1998. 94 (5) : p. 615-23.
3. Sakao Y, Kawai T, Takeuchi O, *et al.*, Mouse proteasomal ATPases Psmc3 and Psmc4: Genomic organization and gene targeting. *Genomics*, 2000. 67 (1) : p. 1-7.
4. Kitajima Y, Tashiro Y, Suzuki N, *et al.*, Proteasome dysfunction induces muscle growth defects and protein aggregation. *J Cell Sci*, 2014. 127 (Pt 24) : p. 5204-17.
5. Zeng BY, Medhurst AD, Jackson M, *et al.*, Proteasomal activity in brain differs between species and brain regions and changes with age. *Mech Ageing Dev*, 2005. 126 (6-7) : p. 760-6.
6. Dasuri K, Nguyen A, Zhang L, *et al.*, Comparison of rat liver and brain proteasomes for oxidative stress-induced inactivation: Influence of ageing

- and dietary restriction. *Free Radic Res*, 2009. 43 (1) : p. 28-36.
7. Hayashi T and Goto S, Age-related changes in the 20S and 26S proteasome activities in the liver of male F344 rats. *Mech Ageing Dev*, 1998. 102 (1) : p. 55-66.
 8. Bulteau AL, Szwedda LI and Friguët B, Age-dependent declines in proteasome activity in the heart. *Arch Biochem Biophys*, 2002. 397 (2) : p. 298-304.
 9. Ferrington DA, Husom AD and Thompson LV, Altered proteasome structure, function, and oxidation in aged muscle. *FASEB J*, 2005. 19 (6) : p. 644-6.
 10. Chen Q, Thorpe J, Dohmen JR, *et al.*, Ump1 extends yeast lifespan and enhances viability during oxidative stress: central role for the proteasome? *Free Radic Biol Med*, 2006. 40 (1) : p. 120-6.
 11. Vilchez D, Morantte I, Liu Z, *et al.*, RPN-6 determines *C. elegans* longevity under proteotoxic stress conditions. *Nature*, 2012. 489 (7415) : p. 263-8.
 12. Tomaru U, Takahashi S, Ishizu A, *et al.*, Decreased proteasomal activity causes age-related phenotypes and promotes the development of metabolic abnormalities. *Am J Pathol*, 2012. 180 (3) : p. 963-72.
 13. Tonoki A, Kuranaga E, Tomioka T, *et al.*, Genetic evidence linking age-dependent attenuation of the 26S proteasome with the aging process. *Mol Cell Biol*, 2009. 29 (4) : p. 1095-106.
 14. Kitajima Y, Suzuki N, Nunomiya A, *et al.*, The Ubiquitin-Proteasome System Is Indispensable for the Maintenance of Muscle Stem Cells. *Stem Cell Reports*, 2018. 11 (6) : p. 1523-1538.
 15. Gardrat F, Montel V, Raymond J, *et al.*, Proteasome and myogenesis. *Mol Biol Rep*, 1997. 24 (1-2) : p. 77-81.
 16. Kim SS, Rhee S, Lee KH, *et al.*, Inhibitors of the proteasome block the myogenic differentiation of rat L6 myoblasts. *FEBS Lett*, 1998. 433 (1-2) : p. 47-50.
 17. Halevy O, Novitch BG, Spicer DB, *et al.*, Correlation of terminal cell cycle arrest of skeletal muscle with induction of p21 by MyoD. *Science*, 1995. 267 (5200) : p. 1018-21.
 18. Porrello A, Cerone MA, Coen S, *et al.*, p53 regulates myogenesis by triggering the differentiation activity of pRb. *J Cell Biol*, 2000. 151 (6) : p. 1295-304.
 19. Soddu S, Blandino G, Scardigli R, *et al.*, Interference with p53 protein inhibits hematopoietic and muscle differentiation. *J Cell Biol*, 1996. 134 (1) : p. 193-204.
 20. Tamir Y and Bengali E, p53 protein is activated during muscle differentiation and participates with MyoD in the transcription of muscle creatine kinase gene. *Oncogene*, 1998. 17 (3) : p. 347-56.
 21. Weintraub H, Hauschka S and Tapscott SJ, The MCK enhancer contains a p53 responsive element. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991. 88 (11) : p. 4570-1.
 22. Vousden KH and Prives C, Blinded by the Light: The Growing Complexity of p53. *Cell*, 2009. 137 (3) : p. 413-31.
 23. Lepper C and Fan CM, Inducible Lineage Tracing of Pax7-Descendant Cells Reveals Embryonic Origin of Adult Satellite Cells. *Genesis*, 2010. 48 (7) : p. 424-436.
 24. Suraweera A, Munch C, Hanssum A, *et al.*, Failure of amino acid homeostasis causes cell death following proteasome inhibition. *Mol Cell*, 2012. 48 (2) : p. 242-53.
 25. Vabulas RM and Hartl FU, Protein synthesis upon acute nutrient restriction relies on proteasome function. *Science*, 2005. 310 (5756) : p. 1960-3.