

---

**トピックス**

---

**アピゲニンによる骨格筋量の調節機構****Regulatory mechanism of skeletal muscle mass by apigenin****はじめに**

筋線維から構成される骨格筋は、運動や姿勢保持のような物理的機能を担う組織である。骨格筋量は、寝たきり、糖尿病、加齢あるいは絶食によって減少する。骨格筋量が減少するときは、筋線維サイズの減少を特徴とする筋萎縮が主な表現型として観察される。筋萎縮が起こると筋力の低下とともに運動機能が低下し、また基礎代謝量が低下するため、肥満や糖尿病に罹患するリスクが高まる。さらに、萎縮の程度が重篤になると介護を必要とする状態になる可能性が高まる。骨格筋量は筋線維におけるタンパク質の合成と分解のバランスによって調節されている。運動すると骨格筋から insulin-like growth factor-1 (IGF-1) が分泌され、IGF-1 はオートクライン機構によって筋線維表面で発現している IGF-1 受容体に作用する。IGF-1 受容体が活性化すると、phosphoinositide 3-kinase /protein kinase B (Akt) (PI3K/Akt) シグナル経路が活性化され、mechanistic target of rapamycin (mTOR) が活性化する。mTOR の活性化は、下流の 70-KDa ribosomal protein S6 kinase (S6K1) や eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1 (4E-BP1) のリン酸化を誘発し、翻訳開始複合体の形成や cap 依存性の翻訳が促進される。したがって、mTOR 経路の活性化はタンパク質合成を促進し、筋線維を肥大させる。一方で、骨格筋が萎縮する主な原因として酸化ストレスが挙げられる<sup>1)2)</sup>。ミトコンドリアが損傷を受けた場合やミトコンドリアの機能が低下した場合には、ミトコンドリアから活性酸素種 (ROS) が産生され、nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) 経路や Forkhead box O (FoxO) 経路が活性化する。その結果、筋萎縮関連遺伝子と呼ばれ、ユビキチン-プロテアソーム経の主要な役割を果たす E3 ユビキチンリガーゼである atrogen-1 や MuRF-1 の発現が上昇する<sup>3)5)</sup>。これらの背景から抗酸化作用を有する物質が骨格筋萎縮の予防・改善に有効であることを示す研究成果が報告されている<sup>6)</sup>。

アピゲニン (4',5,7-trihydroxyflavone) はパセリ、セロ

リなどに豊富に含まれる天然のフラボンであり、抗酸化作用だけでなく、抗炎症作用も有する<sup>7)9)</sup>。最近、Jang ら<sup>10)</sup> はアピゲニンが骨格筋に対して肥大大促進効果を示すことを報告している。一方で、tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) や interleukin-6 (IL-6) などの炎症性サイトカインの浸潤が慢性化すると、E3 ユビキチンリガーゼである atrogen-1 や MuRF-1 の発現が上昇し、骨格筋萎縮が誘発されるが<sup>11)12)</sup>、Shiota ら<sup>13)</sup> はマウス由来の C2C12 筋管細胞においてリポ多糖刺激によって誘発された atrogen-1 の発現の増加と筋管サイズの萎縮をアピゲニンが抑制すると報告している。そこで本稿では、アピゲニンの筋肥大大促進効果と筋萎縮抑制効果について紹介する。

**アピゲニンと骨格筋肥大**

Jang ら<sup>10)</sup> は 6 週齢の C57BL/6 マウスにアピゲニンを 0.2% (Api-L 群) または 0.4% (Api-H 群) 含む AIN-76 を 7 週間摂取させたところ、アピゲニン非投与群と比較して Api-L 群と Api-H 群の大腿四頭筋が肥大し、筋重量が増加することを見いだした。骨格筋肥大を誘発するタンパク質をコードする遺伝子として、peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1- $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) の選択的スプライシングバリエーションである PGC-1 $\alpha$ 4 が注目されている。PGC-1 $\alpha$ 4 は運動によって発現が上昇し、IGF-1 発現の誘導と myostatin 発現の抑制を通して筋肥大を誘発する<sup>14)</sup>。また PGC-1 $\alpha$ 4 によって発現が上昇する可能性を持つ候補遺伝子が遺伝子発現アレイ解析によって検討され、接着型 G タンパク質共役型受容体 (GPCR) に分類される GPR56 が PGC-1 $\alpha$ 4 によって誘導されることが見いだされた<sup>15)</sup>。さらに、GPR56 は G $\alpha_{12/13}$  を介して mTORC1 経路を活性化し、筋肥大を誘発することが証明された。GPR56 の下流に関しては、初代マウス由来筋管細胞で PGC-1 $\alpha$ 4 を高発現させたときに GPR56 をノックダウンすると IGF-1 mRNA の発現が低下し、また GPR56 を高発現させると IGF-1 mRNA の発現が増加したことから、GPR56 の下流に

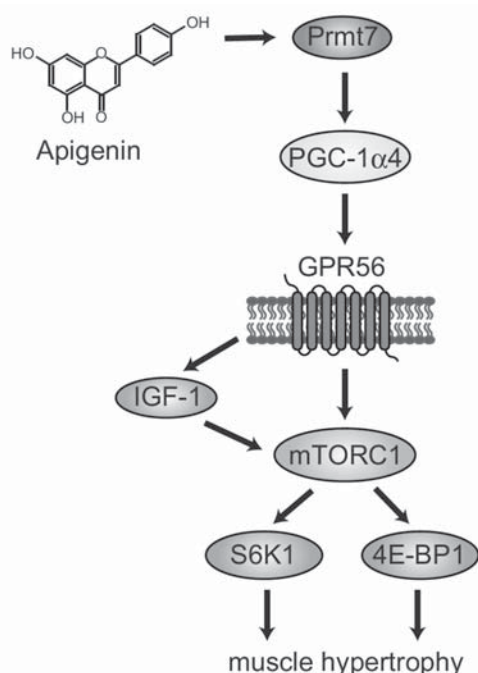


図1 アピゲニンによる筋肥大促進機構

IGF-1が位置すると推測された。Jangら<sup>10)</sup>はアピゲニンの摂取によってこれらの作用を検討した結果、Api-H群の大腿四頭筋においてPGC-1 $\alpha$ 、IGF-1ならびにGPR56の発現レベルが増加すること、さらに、Akt、S6K1、そして4E-BP1のリン酸化を増加することも見いだした。ここで彼らは、PGC-1 $\alpha$ の活性を制御し、骨格筋量の調節に重要な因子であるprotein arginine methyltransferase 7(Prmt7)に注目した。Api-L群とApi-H群の大腿四頭筋においてPrmt7の発現レベルが増加していたので、Prmt7がmTORC1経路に及ぼす影響を*in vitro*実験で検討した。C2C12細胞をアピゲニン存在下で2日間培養したところ、Prmt7の発現レベルは増加し、mTORC1経路が活性化した。一方で、Prmt7をノックダウンすることでmTORC1経路の活性が減弱することを見いだした。また、PGC-1 $\alpha$ とGPR56の発現はPrmt7のノックダウンにより減少した。以上のことから、アピゲニンはPrmt7-PGC-1 $\alpha$ -GPR56シグナル伝達経路を介してmTORC1経路を活性化し、それにより筋肥大を促進していることが示唆された(図1)。

### アピゲニンと骨格筋萎縮

Choiら<sup>16)</sup>は、坐骨神経切除による筋萎縮を誘発させた廃用性筋萎縮モデルマウスにアピゲニンを2週間摂取させ、廃用性筋萎縮に及ぼすアピゲニンの効果を評

価している。アピゲニン摂取は坐骨神経切除による腓腹筋重量の低下を抑制した。このとき、アピゲニン非投与群と比較してアピゲニン投与群において腓腹筋を構成する筋線維の断面積が大きいことから、アピゲニンが筋萎縮を抑制することで筋重量の低下を緩和することが判明した。骨格筋を構成するタンパク質であるミオシン重鎖(MyHC)には4つのアイソフォーム(タイプI、IIa、IIxおよびIIb)が存在し、速筋線維にはタイプIIa、IIbとIIxが多く発現する。主に速筋線維から構成される腓腹筋では、アピゲニン摂取によって総MyHCの発現レベルが増加し、またタイプIIbの発現レベルが増加した。これらのことから、アピゲニンは坐骨神経切除により生じた骨格筋量の減少を回復(筋萎縮を抑制)させ、速筋線維の増加に寄与することが示唆された。また、坐骨神経切除は腓腹筋におけるMuRF-1とatrogin-1の発現を増加するが、アピゲニン摂取はMuRF-1の発現レベルの増加を抑制し、atrogin-1の発現レベルの増加を抑制する傾向を示した。これらのことから、アピゲニンはこれらのE3ユビキチンリガーゼの発現を抑制することで廃用性筋萎縮の予防に有効であると推測された。

過剰なエネルギー摂取が2型糖尿病などの代謝性疾患を引き起こし、それらの疾患が骨格筋萎縮を伴うことが報告されている<sup>17)18)</sup>。Choiら<sup>19)</sup>は肥満誘発性筋萎縮モデルマウスにアピゲニンを8週間摂取させ、肥満誘発性筋萎縮に及ぼすアピゲニンの効果を評価している。アピゲニン摂取により腓腹筋を構成する筋線維の断面積がアピゲニン非投与群と比較して増加し、さらにMyHC IIaの発現レベルも増加した。筋線維サイズの増加に伴い、atrogin-1とMuRF-1の発現レベルがアピゲニン非投与群と比較して減少したことから、アピゲニンが肥満誘発性筋萎縮条件下においてもE3ユビキチンリガーゼの発現を抑制することで筋萎縮の緩和に有効であることが推測された。また、骨格筋における過剰な脂肪の蓄積はインスリン抵抗性、ミトコンドリア機能不全などの代謝障害をもたらす可能性がある<sup>20)21)</sup>。Choiら<sup>19)</sup>は肥満誘発性筋萎縮条件下でのミトコンドリア機能に及ぼすアピゲニンの効果も検討しており、その結果、アピゲニン非投与群と比較してアピゲニン投与群の腓腹筋において、酸化的リン酸化に重要な役割を果たすミトコンドリア呼吸鎖複合体IとIIならびにミトコンドリアの代謝に関連するクエン酸シンターゼの活性が増加した。肥満による電子伝達系の活性およびミトコンドリアの代謝能力の低下はミトコンドリアの機能障害と関連しており、ミトコンドリアのサイズが減少することから<sup>22)23)</sup>、Choiら<sup>19)</sup>は、

アピゲニンがミトコンドリアの生合成に及ぼす影響についてさらに検討した。その結果、アピゲニンの摂取によりミトコンドリアの生合成に重要な役割を果たす PGC-1 $\alpha$ 、TFAM、cytochrome *c* などの発現レベルが増加し、ミトコンドリア DNA 量とミトコンドリアサイズも増加することが示された。以上のことから、アピゲニン摂取が肥満マウスでのミトコンドリアの機能不全を改善し、肥満誘発性筋萎縮を抑制することが示された。

### おわりに

本稿ではアピゲニン摂取による筋肥大促進と筋萎縮抑制の分子機構について紹介した。アピゲニンは骨格筋において主要な合成経路である mTOR シグナル経路を活性化して筋肥大を誘発するため、骨格筋量の増加に寄与すると考えられる。一方で、アピゲニンはシスプラチン耐性大腸癌細胞では mTOR シグナル経路の活性を阻害することで、オートファジーならびにアポトーシスを誘導し、抗がん作用を示す<sup>24)</sup>。これらのことから、アピゲニンは組織によって mTOR シグナル経路の活性に相反する作用をもたらすと考えられる。また、アピゲニンは筋肥大促進と筋萎縮抑制の両面を有することから、骨格筋量の維持・増加に寄与する機能性食品成分として期待されているが、分子機構については未だ不明な部分が多く、今後の更なる解明が待たれる。アピゲニンによる分子機構の解明が進めば、アピゲニンをリード化合物として骨格筋萎縮の予防薬の開発にもつながることが期待される。

(2020.04.16 受付)

**Key words** :apigenin, muscle hypertrophy, muscle atrophy

Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University

Daisuke Maekawa, Naoki Harada, Ryoichi Yamaji

大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻

前川 大輔, 原田 直樹, 山地 亮一

### 文 献

- 1) Powers SK, Smuder AJ, Judge AR (2012) Oxidative stress and disuse muscle atrophy: cause or consequence? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **15**, 240-245
- 2) Powers SK, Kavazis AN, DeRuisseau KC (2005) Mechanisms of disuse muscle atrophy: role of oxidative stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **288**, 337-344
- 3) Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A, Walsh K, Schiaffino S, Lecker SH, Goldberg AL (2004) Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* **117**, 399-412
- 4) Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK, Nunez L, Clarke BA, Poueymirou WT, Panaro FJ, Na E, Dharmarajan K, Pan ZQ, Valenzuela DM, DeChiara TM, Stitt TN, Yancopoulos GD, Glass DJ (2001) Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* **294**, 1704-1708
- 5) Meng SJ, Yu LJ (2010) Oxidative stress, molecular inflammation and sarcopenia. *Int J Mol Sci* **11**, 1509-1526
- 6) Ogawa M, Kariya Y, Kitakaze T, Yamaji R, Harada N, Sakamoto T, Hosotani K, Nakano Y, Inui H (2013) The preventive effect of  $\beta$ -carotene on denervation-induced soleus muscle atrophy in mice. *Br J Nutr* **109**, 1349-1358
- 7) He X, Li C, Wei Z, Wang J, Kou J, Liu W, Shi M, Yang Z, Fu Y (2016) Protective role of apigenin in cisplatin-induced renal injury. *Eur J Pharmacol* **789**, 215-221
- 8) Jeong GS, Lee SH, Jeong SN, Kim YC, Kim EC (2009) Anti-inflammatory effects of apigenin on nicotine-and lipopolysaccharide-stimulated human periodontal ligament cells via heme oxygenase-1. *Int Immunopharmacol* **9**, 1374-1380
- 9) Leyva-López N, Gutierrez-Grijalva EP, Ambriz-Perez DL, Heredia JB (2016) Flavonoids as cytokine modulators: A possible therapy for inflammation-related disease. *Int J Mol Sci* **17**, 921
- 10) Jang YJ, Son HJ, Choi YM, Ahn J, Jung CH, Ha TY (2017) Apigenin enhances skeletal muscle hypertrophy and myoblast differentiation by regulating Prmt7. *Oncotarget* **8**, 78300-78311
- 11) Adams V, Mangner N, Gasch A, Krohne C, Gielen S, Hirner S, Thierse HJ, Witt CC, Linke A, Schuler G, Labeit S (2008) Induction of MuRF1 is essential for TNF- $\alpha$ -induced loss of muscle function in mice. *J Mol Biol* **384**, 48-59
- 12) Baltgalvis KA, Berger FG, Peña MM, Davis JM, White JP, Carson JA (2009) Muscle wasting and interleukin-6-induced atrogin-1 expression in the cachectic Apc (Min/+) mouse. *Pflugers Arch* **457**, 989-1001
- 13) Shiota C, Abe T, Kawai N, Ohno A, Teshima-Kondo S, Mori H, Terao J, Tanaka E, Nikawa T (2015) Flavones inhibit LPS-induced atrogin-1/MAFbx expression in mouse C2C12 skeletal myotubes. *J Nutr Sci Vitaminol* **61**, 188-194
- 14) Ruas JL, White JP, Rao RR, Kleiner S, Brannan KT, Harrison BC, Greene NP, Wu J, Estall JL, Irving BA, Lanza IR, Rasbach KA, Okutsu M, Nair KS, Yan Z, Leinwand LA, Spiegelman BM (2012) PGC-1 $\alpha$  isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. *Cell* **151**, 1319-1331
- 15) White JP, Wrann CD, Rao RR, Nair SK, Jedrychowski MP, You JS, Martinez-Redondo V, Gygi SP, Ruas JL, Hornberger TA, Wu Z, Glass DJ, Piao X, Spiegelman BM (2014) G protein-coupled receptor 56 regulates mechanical overload-induced muscle hyper-

- rophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, 15756-15761
- 16) Choi WH, Jang YJ, Son HJ, Ahn J, Jung CH, Ha TY (2018) Apigenin inhibits sciatic nerve denervation-induced muscle atrophy. *Muscle and Nerve* **58**, 314-318
- 17) Perry BD, Caldwell MK, Brennan-Speranza TC, Sbaraglia M, Jerums G, Garnham A, Wong C, Levinger P, Asrar UI Haq M, Hare DL, Price SR, Levinger I (2016) Muscle atrophy in patients with type 2 diabetes mellitus: roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise. *Exerc Immunol Rev* **22**, 94-109
- 18) Lipina C, Hundal HS (2017) Lipid modulation of skeletal muscle mass and function. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* **8**, 190-201
- 19) Choi WH, Son HJ, Jang YJ, Ahn J, Jung CH, Ha TY (2017) Apigenin ameliorates the obesity-induced skeletal muscle atrophy by attenuating mitochondrial dysfunction in the muscle of obese mice. *Mol Nutr Food Res* **61**, 1700218
- 20) Borén J, Taskinen MR, Olofsson SO, Levin M (2013) Ectopic lipid storage and insulin resistance: a harmful relationship. *J Intern Med* **274**, 25-40
- 21) Tardif N, Salles J, Guillet C, Tordjman J, Reggio S, Landrier JF, Giraudet C, Patrac V, Bertrand-Michel J, Migne C, Collin ML, Chardigny JM, Boirie Y, Walrand S (2014) Muscle ectopic fat deposition contributes to anabolic resistance in obese sarcopenic old rats through eIF2 $\alpha$ . *Aging Cell* **13**, 1001-1011
- 22) Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB (2002) Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* **51**, 2944-2950
- 23) Toledo FG, Watkins S, Kelley DE (2006) Changes induced by physical activity and weight loss in the morphology of intermyofibrillar mitochondria in obese men and women. *J Clin Endocrinol Metab* **91**, 3224-3227
- 24) Chen X, Xu H, Yu X, Wang X, Zhu X, Xu X (2019) Apigenin inhibits *in vitro* and *in vivo* tumorigenesis in cisplatin-resistant colon cancer cells by inducing autophagy, programmed cell death and targeting m-TOR/PI3K/Akt signalling pathway. *J BUON* **24**, 488-493