

Curcumin Treatment Regulated Mitochondrial Biogenesis by Increasing Cyclic Adenosine Monophosphate(cAMP)Level in Rat Skeletal Muscle

| | |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: eng |
| | 出版者: |
| | 公開日: 2017-10-05 |
| | キーワード (Ja): |
| | キーワード (En): |
| | 作成者: |
| | メールアドレス: |
| | 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/2297/43853 |

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



2015 Ph.D Dissertation

ABSTRACT

Curcumin Treatment Regulated Mitochondrial
Biogenesis by Increasing Cyclic Adenosine
Monophosphate (cAMP) Level in
Rat Skeletal Muscle

Graduate School of Natural Science and Technology
Division of Life Sciences
Kanazawa University

1223032010
Hamidie Ronald Daniel Ray

Chief advisor: Prof. Kazumi MASUDA, Ph.D

2015 博 士 論 文

抽象

クルクミン処理は環状アデノシンーリン酸（cAMP）の増加によって
ラット骨格筋のミトコンドリア生合成を制御している

金沢大学大学院自然科学研究科

生命科学専攻

動態生理学講座

学 籍 番 号 1223032010

氏 名 ハミディ ロナルド ダニエル レイ

主任指導教員名 増田 和実

【背景】

生理学的ストレスにに応じて、骨格筋は筋の健康を促進するためミトコンドリア生合成やミトコンドリアダメージの除去のような多様な適応反応を引き起こす可能性を有する。ポリフェノール類であるクルクミン (*Curcuma longa* L. 根茎由来) は様々な薬理的活性および治療学的性質を示す天然の抗酸化力を有する。しかしながら、クルクミンが骨格筋ミトコンドリア生合成の制御に及ぼす影響は未だ明らかとなっていない。本研究の目的は、持久的運動トレーニング (eTR) およびクルクミン処置がラット骨格筋における AMPK、SIRT1 および PGC-1 α 発現や OXPHOS サブユニットおよびミトコンドリア DNA コピー数、そして CS 活性に及ぼす影響を検証することである。さらに、本研究は運動やクルクミン処置が cAMP および PKA の下流標的 (リン酸化した LKB-1、CREB、AMPK や、アセチル化した PGC-1 α 、そして COX-IV) レベルに及ぼす影響も検証した。

【方法】

10 週齢の雄性 Wistar 系ラットを無作為に non-eTR 群および eTR 群に振り分けた。ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した少量のクルクミン (50 mg/kg-BW/day) および多量のクルクミン (100 mg/kg-BW/day) を 28 日間全てのラットの腹腔内に注射し、クルクミンのみの影響またはクルクミンと運動トレーニングによる影響を検証した。1 日に 2 時間の水泳運動を 24 日行い、クルクミンと持久的運動トレーニングによる影響を測定した。ウェスタンブロッティング (WB) および免疫沈降法 (IP) を存在するタンパク質の特定のため行った。さらに、NAD⁺/NADH 分析キットおよび cAMP 分析キットを各々ラット骨格筋における NAD⁺/NADH 比および cAMP レベルの測定に用いた。

【結果】

本研究結果はクルクミン処置と eTR が腓腹筋 (Gas) およびヒラメ筋 (Sol) における COX-IV や OXPHOS サブユニットの発現、ミトコンドリア DNA コピー数および CS 活性を亢進させたことを示した。加えて、この組み合わせは AMPK のリン酸化、NAD⁺/NADH 比、SIRT1 発現、および PGC-1 α の脱アセチル化を増加させた。さらに、クルクミン処置は運動と同様に cAMP および骨格筋におけるミトコンドリア生合成の制御に関連する PKA の下流標的 (リン酸化した LKB-1、CREB、AMPK レベルや脱アセチル化した PGC-1 α 、そして COX-IV) を増加させた。

【結論】

総括して、これらの結果はクルクミン処置と eTR は cAMP の増加を介して骨格筋におけるミトコンドリア生合成を亢進させる可能性を有することを示した。

【キーワード】：cAMP、持久的（有酸素的）運動トレーニング、ミトコンドリア、ポリフェノール、骨格筋

Background

In response to physiologic stressors, skeletal muscle has the potential to elicit wide variety of adaptive responses, such as biogenesis of mitochondria and clearance of damaged mitochondria to promote healthy muscle. The polyphenol curcumin, derived from the rhizome *Curcuma longa* L., is a natural antioxidant that exhibits various pharmacological activities and therapeutic properties. However, the effect of curcumin on the regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle remains unknown. The present study aimed to examine the effects of combination of endurance training (eTR) and curcumin treatment on the expression of AMPK, SIRT1, PGC-1 α , and OXPHOS subunits, mitochondrial DNA copy number, and CS activity in rat skeletal muscle. Furthermore, the present study also examined the effect of exercise and curcumin treatment on the levels of cAMP and downstream targets of PKA including phosphorylated LKB-1, CREB, AMPK, acetylation of PGC-1 α and COX-IV expression.

Methods

Ten-week-old male Wistar rats were randomly divided into non-eTR and eTR groups. Low doses (50 mg/kg-BW/day) or high doses (100 mg/kg-BW/day) of curcumin dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) were injected intraperitoneally in all animals for 28 days to investigate the effect of curcumin alone and the combined effect of curcumin with eTR. Swimming exercise 2 hours/day for 24 days used to determine effect of curcumin treatment combine with endurance exercise. Western blotting (WB) and immunoprecipitation (IP)

were performed to detect the presence of proteins. Furthermore NAD⁺/NADH assay kit and cAMP assay kits were used to examine NAD⁺/NADH ratio and cAMP level in rat skeletal muscle respectively.

Results

Our results demonstrated that combination of curcumin treatment and eTR increased the expression of COX-IV, OXPHOS subunits, mitochondrial DNA copy number and CS activity in the gastrocnemius (Gas) and soleus (Sol) muscles. In addition, this combination increased AMPK phosphorylation, NAD⁺/NADH ratio, SIRT1 expression, and PGC-1 α deacetylation. Furthermore, curcumin treatment as well as exercise also increased levels of cAMP and downstream target of PKA included phosphorylation LKB-1, CREB, AMPK, increase deacetylation of PGC-1 α and COX-IV which are involved in the regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle.

Conclusion

Taken together, these results suggest that the combination of curcumin treatment and eTR has the potential to accelerate mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by increasing cAMP levels.

Keywords: cAMP, endurance training, mitochondria, polyphenol, skeletal muscle.

学位論文審査報告書（甲）

1. 学位論文題目（外国語の場合は和訳を付けること。）

Curcumin Treatment Regulated Mitochondrial Biogenesis by Increasing Cyclic Adenosine Monophosphate (cAMP) Level in Rat Skeletal Muscle （クルクミン処理は環状アデノシン一リン酸（cAMP）の増加によってラット骨格筋のミトコンドリア生合成を制御している）

2. 論文提出者 (1) 所 属 生命科学 専攻

(2) 氏 名 ふりがな ハミディ ロナルド ダニエル レイ
Hamidie Ronald Daniel Ray

3. 審査結果の要旨（600～650 字）

ポリフェノール類であるクルクミン (*Curcuma longa* L.) は様々な薬理的活性を示す天然抗酸化化合物である。しかしながら、クルクミンが骨格筋ミトコンドリア生合成の制御に及ぼす影響は明らかにされていなかった。本論文ではクルクミンによる骨格筋のミトコンドリア生合成の機序を明らかにするために、ラットを対象にしてクルクミン投与と運動トレーニング (eTR) を実施し、ミトコンドリアの生合成に関わるシグナルタンパク質の変化を検証した。実験の結果、クルクミン処理と eTR が腓腹筋やヒラメ筋における COX-IV や OXPHOS サブユニットの発現やミトコンドリア DNA コピー数等を亢進させた。その背景としてクルクミン処理は運動と同様に cAMP の細胞内濃度を上昇させ、ミトコンドリア生合成の制御に関連する PKA の下流標的タンパク質群を活性化させていた (eg. LKB-1 や CREB、AMPK のリン酸化状態の亢進、 NAD^+/NADH や SIRT1 発現の上昇、脱アセチル化 PGC-1 α の上昇)。また、これら 2 つの組み合わせは上記タンパク質に加算的な変化を生じさせた。加えて、PKA の活性抑制はクルクミンによって引き起こされうる下流タンパク質の変化を消失させた。以上のように本論文では、クルクミンがミトコンドリア生合成を調節する因子の一つであることを示し、その成果の一部は専門誌; *Metabolism* に受理された。

以上のことから、審査委員会は本論文が博士（学術）に値すると判断した。

4. 審査結果 (1) 判 定 (いずれかに○印) ☒ 合 格 ・ 不合格

(2) 授与学位 博 士 (学 術)