

ユビキチンリガーゼ制御による 廃用性筋萎縮の抑制

永野克人 村松 憲

Targeting the ubiquitin ligases to treat disuse muscle atrophy

HISANO Katsuhito, MURAMATSU Ken

抄 録

廃用性筋萎縮は、長期臥床などの身体的不活動によって起こり、筋重量および筋線維サイズが減少する。筋萎縮の原因は、筋への力学的負荷が低下することにより、筋タンパク質合成低下と分解が亢進し、相対的に筋タンパク質分解が合成を上回るため、筋萎縮が引き起こるとされている。ユビキチン-プロテアソーム系は、筋タンパク質分解で主要な役割を担っているとされているが、筋萎縮におけるその分子メカニズムの詳細については十分に解明されていない。

近年、ユビキチンリガーゼである腫瘍壊死因子受容体関連因子6、MAFbx/atrogen-1、MuRF-1、Nedd4 および Cbl-b の発現が筋萎縮にて増加し、また、それらのノックアウトマウスやインヒビターにより、筋萎縮が軽減されることが明らかにされた。そこで、本稿は、廃用性筋萎縮での各ユビキチンリガーゼの役割とその筋萎縮抑制メカニズムについて、最新の知見を基に概説する。

キーワード：腫瘍壊死因子受容体関連因子6

MAFbx/atrogen-1

MuRF-1

Nedd4

Cbl-b

1. はじめに

廃用性筋萎縮に対するリハビリテーションは、身体活動が著しく制約されている期間に、それを予防する有効な方法がなく、骨格筋が廃用性に萎縮した後に、筋力トレーニングなどの運動療法にて回復が図られていることが多い。従って、廃用性筋萎縮を予防するためには、身体的運動が困難な時期に筋萎縮を予防する非力学的な治療法の開発が必要である。ユビキチン-プロテアソーム系は、筋萎縮のメカニズムに深く関わっており、この系を制御することは、筋萎縮を予防するために必要不可欠である。ユビキチンリガーゼは、数多くの種類が存在し、それらは、各々の標的タンパク質を特異的に認識し分解へと誘導し、アナボリックなシグナル伝達に抑制的に介在する。その特異的なユビキチンリガーゼの機能を制御することができれば、筋萎縮抑制のみを目的とした選択的な治療が可能となる。

本稿は、廃用性筋萎縮とユビキチンリガーゼの歴史的研究経緯について、そして、近年、筋萎縮時に発現が増加し、その抑制により、筋萎縮が軽減されることが示された各ユビキチンリガーゼの筋萎縮抑制効果の分子メカニズムについて、最新の知見を基に概説する。

2. 廃用性筋萎縮とユビキチン-プロテアソーム系の研究経緯

廃用性筋萎縮は、長期臥床、神経切除、ギプス固定、無荷重、飢餓、熱傷および微小重力環境で起こり、筋横断面、筋線維横断面、筋総タンパク質量、筋総RNA量および筋核数の減少、筋線維タイプ構成比率の変化および筋力の低下を特徴とする筋萎縮である。

骨格筋の萎縮については、古くは古代ギリシアのヒポクラテスによって、すでに記述されており、さらに、1776年にHunterと1860年にSequardが、関節炎に伴う筋萎縮について記している¹⁾。また、1890年にRaymondは²⁾、動物実験で脊髄後根を切除することによって、筋萎縮の予防を試み、1897年にSulzerは、強直が1関節または2関節に及ぶ場合と比較し、2関節に跨る強直の方が筋萎縮の程度が少ないことを観察している¹⁾。廃用性筋萎縮に関する記録は、紀元前から今日に至るまで長い歴史を鑑みることができるが、現在もなお不明な点が多く存在している。

一方、筋萎縮のメカニズムに深く関わっているとされるユビキチン-プロテアソーム系の歴史は、WatsonとCrickにより、DNA二重らせん構造が提唱された同年の1953年に、Simpsonら³⁾によって、肝細胞のタンパク質代謝が非常に速い代謝回転であること、そして、タンパク質分解に代謝エネルギーが必要であることが見出された頃まで遡ることができる。1975年にGoldsteinら⁴⁾は、ウシ胸腺から単離した分子量8.6 kDaのポリペプチドが、あらゆる細胞に普遍的に存在することを発見し、UBIP (ubiquitous immunopoeitic polypeptide)と名付け、その後間もなくして発表した論文でUBIPを「ユビキチン」と記載し、科学史にユビキチンが登場した⁵⁾。1978年に Ciechanoverら⁶⁾は、網状赤血球の抽出物から熱安定性で分子量の小さいATP依存性プロテアーゼの精製に成功し、APF-1 (ATP-dependent

proteolytic factor 1) と名付け、この APF-1 は、分解される前に、他のタンパク質と結合することを発見した。1980年に Wilkinson ら⁷⁾ は、APF-1 が Goldstein らによって、すでに発見されていたユビキチンと同一のものであることを初めて同定し、1982年とその翌年に、Ciechanover と Hershko ら^{8,9)} は、タンパク質分解の基質にユビキチン分子が繰り返し連結する反応に関与する3つの酵素、すなわち E1 (ubiquitin activating enzyme)、E2 (ubiquitin conjugating enzyme) と E3 (ubiquitin ligase) を見出した。また、ユビキチン化タンパク質を分解する 26S プロテアソームは、活性中心をもつ 20SCP (20S core particle) と活性を制御する 19SRP (19S regulatory particle) が会合した複合体であり、1988年に、Arrigo と Tanaka らによって命名された¹⁰⁾。

廃用性筋萎縮とユビキチンとの関連性についての研究は、1991年に Medina ら¹¹⁾ が、絶食や神経切除によるヒラメ筋と前脛骨筋の筋萎縮でポリユビキチン mRNA およびユビキチン化タンパク質が増加することを報告した頃より始まり、以後、廃用性筋萎縮のメカニズムにユビキチン-プロテアソーム系が関わるとの報告がされるようになった。

3. 筋萎縮を促進するユビキチンリガーゼ (図1)

ユビキチン-プロテアソーム系は、76個のアミノ酸からなる低分子のユビキチンが、ユビキチン活性化酵素である E1、ユビキチン結合酵素である E2 とユビキチンリガーゼの E3 による複合酵素反応により、基質タンパク質に共有結合し、ポリユビキチン鎖が形成され

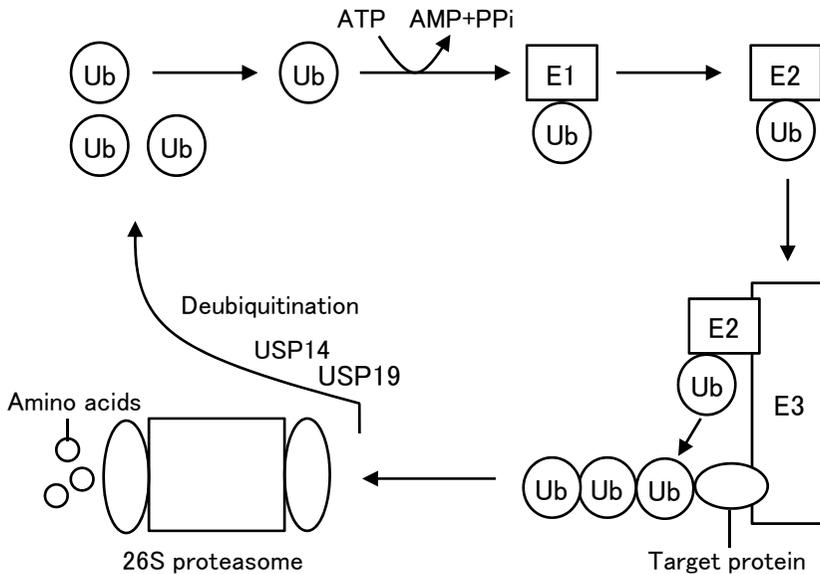


図1 ユビキチン-プロテアソーム系

Ub: Ubiquitin, E1: ユビキチン活性化酵素, E2: ユビキチン結合酵素, E3: ユビキチンリガーゼ, USP14: Ubiquitin-specific protease 14, USP19: Ubiquitin-specific protease 19.

ることによって、最終的に、タンパク質分解酵素の複合体である 26S プロテアソームで認識され、ATP 依存的にユビキチン化標識タンパク質を分解する。それらの酵素のうち E1 は、真核生物では 1 種類のみ存在するが、E2 は数十種類、E3 は数百種類存在し、カスケードの下流に存在するユビキチンリガーゼは E1 や E2 よりも種類が多く、個々の標的タンパク質を特異的に認識し、選択的な分解に導くという重要な役割を担っている。ユビキチンリガーゼは、大きく分けると HECT (homologous to E6AP carboxy terminus) 型、単量体 RING (really interesting new gene) 型と多量体 RING 型に分類される¹²⁾。

タンパク質分解の経路は、リソソーム系、カルパイン系およびユビキチン-プロテアソーム系が存在するが、廃用性筋萎縮では、主にユビキチン-プロテアソーム活性が上昇し、筋タンパク質分解が亢進することが明らかにされており、また、筋特異的に発現する幾つかのユビキチンリガーゼが報告されている¹³⁾。

Skp-1 (S-phase kinase-associated protein 1) と Cull1 (Cullin 1) と共に SCF 複合体 (Skp1/Cullin 1/F-box protein complex) を形成する多量体 RING 型の F-box タンパク質である MAFbx (muscle atrophy F-box protein-1) /Atrogin-1 や単量体 RING 型の RING フィンガータンパク質である MuRF1 (muscle RING finger protein-1) は、骨格筋および心筋に特異的に発現し、坐骨神経切断等の筋萎縮で発現が上昇する。また、それらのノックアウトマウスやインヒビターの投与は、筋萎縮耐性を示すことから、筋特異的ユビキチンリガーゼは、筋萎縮のメカニズムで重要な役割を担っていると考えられている¹⁴⁻¹⁶⁾。

インスリン様成長因子 1 (IGF-1: insulin-like growth factor-1) は、骨格筋の成長、肥大や再生を強力に促進し、そのカスケードの下流に存在するセリン-スレオニンキナーゼの Akt (serine threonine protein kinase) がリン酸化され活性化すると、70 kDa リボソームタンパク S6 キナーゼ (p70S6K: 70 kDa ribosomal protein S6 kinase) によりタンパク質合成が上昇するとともに、フォークヘッド転写因子 (FoxO: forkhead box O) がリン酸化される。リン酸化された FoxO は、核内への移行が阻止されるため、FoxO の標的遺伝子である MAFbx/atrogin-1 と MuRF-1 の発現が抑制される。廃用性筋萎縮では、IGF-1 発現の低下を引き金に Akt-1 のリン酸化抑制と FoxO の脱リン酸化による核内への移行が起こり、MAFbx/atrogin-1 と MuRF-1 の発現が上昇し、筋タンパク質分解が促進される¹⁷⁾。また、RING 型ユビキチンリガーゼである腫瘍壊死因子受容体関連因子 6 (TRAF6: tumor necrosis factor receptor-associated factor)、RING 型ユビキチンリガーゼである Cbl-b (casitas B-cell lymphoma-b) および RING 型 Nedd4-1 (neuronal precursor cell-expressed developmentally down-regulated 4-1) もまた MAFbx/atrogin-1 と MuRF-1 と同様に筋萎縮時に活性が上昇し、筋萎縮を促進させることが明らかにされている¹⁸⁾。以上のように、ユビキチンリガーゼは、筋線維タンパク質を標的として認識するのみでなく、アナボリックなシグナル伝達に介在し、筋萎縮を制御する役割を担っていると考えられている。

4. ユビキチンリガーゼノックアウトマウスによる筋萎縮の抑制(図2)

実験動物に対して、廃用性筋萎縮を惹起させるには、後肢が床に触れないように懸垂する後肢懸垂法、坐骨神経を切除する除神経法、後肢の関節を不動化するギブス固定法、合成グルココルチコステロイドであるデキサメタゾンを投与する薬物法および飢餓状態で飼育する絶食法などがある。

絶食による筋萎縮に対して、TRAF6のノックアウトマウスは、筋萎縮制御因子であるMAFbx/atrogen-1とMuRF-1、ユビキチン結合タンパク質のp62、オートファゴソーム膜結合タンパク質のLC3B(microtubule-associated protein 1 light chain 3 beta)、オートファジータンパク質のBeclin1、ユビキチン様タンパク質のAtg12 (autophagy-related gene 12) およびFn14 (fibroblast growth factor-inducible 14) の発現が抑制され、前脛骨筋の筋線維横断面面積減少が軽減される。また、筋萎縮時には、AktおよびFoxO3aのリン酸化が減少するが、TRAF6ノックアウトでは、リン酸化が維持される¹⁹⁾。食事制限をしたマウスやそれと同様な状態を想定した無血清培地で処置したC2C12筋芽細胞では、FoxO1およびFoxO3からのシグナル伝達により、ミトコンドリアE3ユビキチンタンパク質リガーゼ1 (Mull1: mitochondrial E3 ubiquitin protein ligase 1)が増加し、ミトコンドリアのオートファジーが引き起こされるが、Mull1の発現を抑制することによって、そのオートファジーが抑制され、筋萎縮が軽減される²⁰⁾。それらのことから、TRAF6は、ユビキチン-プロテアソームの活

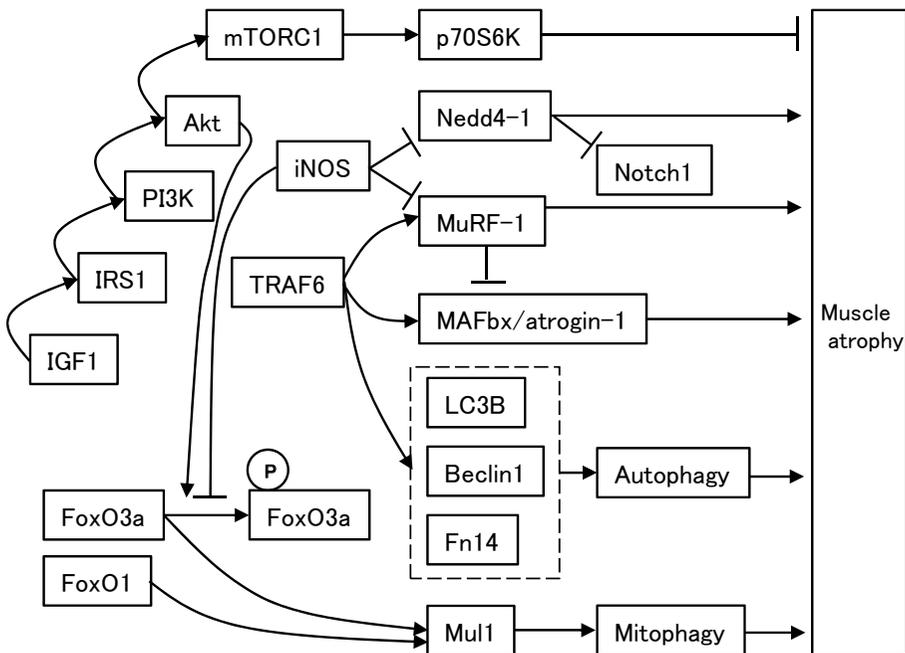


図2 ユビキチンリガーゼによる筋萎縮メカニズム

性を促進するだけでなく、オートファジーの抑制やホスファチジルイノシトール-3 キナーゼ (PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase) /Akt/ 哺乳類ラパマイシン標的タンパク質 (mTOR:mammalian target of rapamycin) 経路からのアナボリックなシグナル伝達に対し、抑制的に介在していると考えられる。

骨格筋および心筋特異的に発現するユビキチンリガーゼである MuRF-1 は、筋萎縮にて発現が増加し、また、MuRF-1 のノックアウトマウスでは、筋萎縮が軽減されることが報告されており、MuRF-1 は、筋タンパク質分解系において重要な役割を担っている²¹⁾。坐骨神経切除による筋萎縮では、20S および 26S プロテアソームの活性は 14 日後に上昇するが、興味深いことに、MuRF-1 ノックアウトマウスは、野生型より上昇する。また、MAFbx/atrogen-1 の発現は、野生型では除神経 14 日後に減少しているが、MuRF-1 ノックアウトでは減少せず、それでもなお除神経による筋萎縮が軽減される²²⁾。MuRF-1 は、標的タンパク質を認識するだけでなく、MAFbx/atrogen-1 の発現と 20S および 26S プロテアソームの活性化にも影響を与えていると推察されている。

骨格筋増殖抑制因子であるミオスタチンは、MyoD の発現を抑制することにより、筋形成を抑制しているが、MAFbx/atrogen-1 遺伝子欠損の C2C12 筋芽細胞は、ミオスタチン存在下にもかかわらず MyoD の発現が増加し、MAFbx/atrogen-1 の不活性化は、ミオスタチンによる成長抑制から C2C12 筋芽細胞を分化させる²⁰⁾。MAFbx/atrogen-1 は、ミオスタチンシグナルを制御し、C2C12 筋芽細胞の分化誘導に関わっていることが示唆されている。

HECT 型ユビキチンリガーゼである Nedd4 は、無荷重や除神経により増加し、Notch1 (Notch homolog 1) の発現が減少するが、荷重により Nedd4 は減少し、Notch1 は増加する。Nedd4 のコンディショナルノックアウトマウスは、除神経による筋萎縮に対し、腓腹筋のタイプ II 筋線維横断面積の減少が、やや軽減される傾向がある。また、Nedd4 ドミナントネガティブの過剰発現は、Notch1 を増加させ、Nedd4 のコンディショナル過剰発現は、Notch1 のユビキチン化を引き起こす²³⁾。Nedd4-1 ノックアウトマウスに除神経を行うとイノシトールリン脂質フォスファターゼのミオチューブラリン関連蛋白質 4 (MTMR4 : myotubularin-related protein 4) および線維芽細胞増殖因子受容体 1 (FGFR1 : fibroblast growth factor receptor 1) が減少し、Notch1 の発現が増加するが、同様な反応はコントロールに対する除神経でも起こるため、MTMR4 と FGFR1 の発現は、Nedd4 と関連性が低いと考えられている²⁴⁾。

ユビキチンリガーゼの機能は、他のユビキチンリガーゼの発現やプロテアソームの活性化と相互作用しており、また、ユビキチン - プロテアソーム系以外においてもオートファゴソームの形成、IP3K/Akt/mTOR 経路の活性化やミオスタチンシグナルなどを制御することで筋萎縮を誘導していると考えられている。

5. ノックアウトマウスおよびユビキチンリガーゼインヒビターによる筋萎縮の抑制 (図3)

後肢ギブス固定による筋萎縮は、Akt のリン酸化、mTOR および 70 kDa リボソームタンパク S6 キナーゼ (p70S6K : 70 kDa ribosomal protein S6 kinase) とリン酸化 FoxO1 が減少し、MuRF-1 と MAFbx/atrogen-1 の発現が増加する。しかし、誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS : inducible nitric oxide synthase) ノックアウトマウスでは、リン酸化 FoxO1 の減少が抑えられ、MAFbx/atrogen-1 と MuRF-1 の増加が抑制される²⁵⁾。

生薬の一種であるテトラメチルピラジン (tetramethylpyrazin) は、脳虚血時に脳血流を改善し脳神経細胞を保護することで知られており、その効果は、フリーラジカルスカベンジャーの活性化によって、低酸素誘導因子 α (HIF- α : hypoxia inducible factor)、腫瘍壊死因子 α (TNF- α : tumor necrosis factor α) を抑制しアポトーシスを防ぐためと考えられている²⁶⁾。テトラメチルピラジンを除神経ラットに投与すると FoxO3a、MAFbx/atrogen-1 と MuRF-1 の発現が抑制され、腓腹筋筋湿重量の減少が軽減される²⁷⁾。また、除

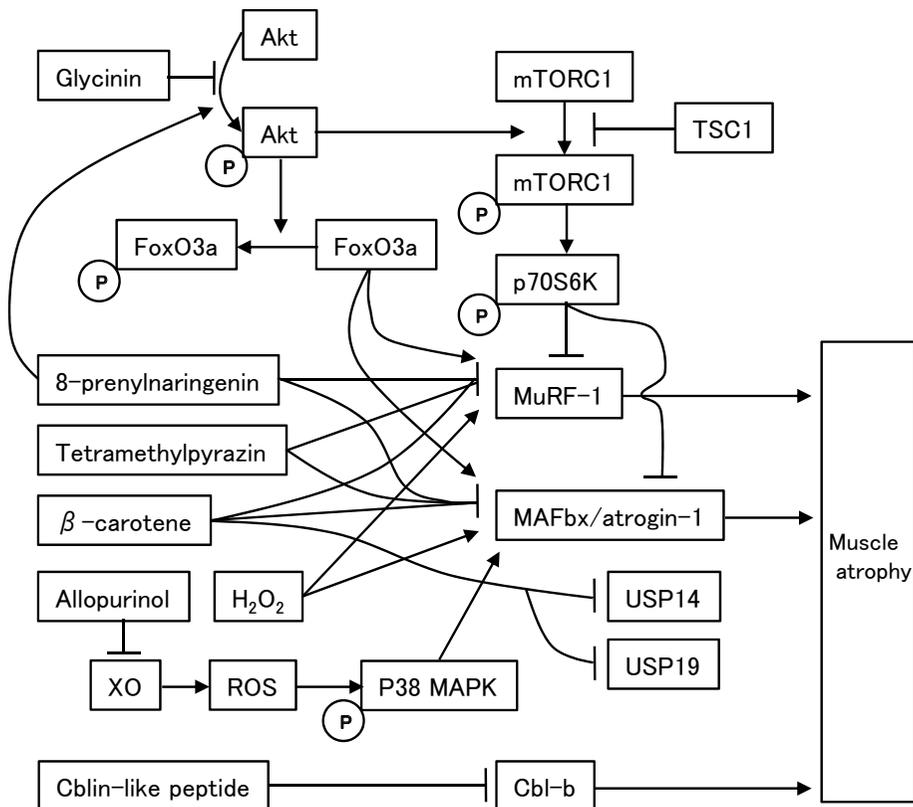


図3 インヒビターによる筋萎縮抑制メカニズム

神経マウスにプレニル化フラボノイドである8-プレニルナリゲンニン(8-prenylnaringenin)を摂取させると、リン酸化Aktの減少とMAFbx/atrogen-1の増加が軽減され、腓腹筋の筋萎縮が軽減されることが報告されている²⁸⁾。

酸化ストレスへの関与として、H₂O₂を添加したC2C12筋芽細胞または除神経マウスでは、MAFbx/atrogen-1およびMuRF-1が増加するが、βカロテン(β-carotene)の投与により、MAFbx/atrogen-1およびMuRF-1の発現と脱ユビキチン化酵素であるUSP(ubiquitin-specific protease)14およびUSP19の発現が短期的に抑制される²⁹⁾。また、尿酸産生抑制薬であるキサンチンオキシダーゼ阻害薬アロプリノール(allopurinol)は、キサンチンオキシダーゼ活性、P38 MAPK(mitogen activated protein kinase)のリン酸化とMAFbx/atrogen-1の発現を抑制し、p38 MAPKからMAFbx/atrogen-1経路へのシグナル伝達を抑制するため、筋萎縮が軽減されることが明らかにされている³⁰⁾。

筋タンパク質合成に影響を与える因子に関しては、mTORC1のインヒビターである結節性硬化症複合体(TSC:tuberous sclerosis complex)のノックダウンによるmTORC1の短期的な活性化が、ヒラメ筋と前脛骨筋の筋線維肥大および除神経による筋萎縮に耐性を示すことが報告されている。一方、TSC1のノックダウンによる持続的なmTORの活性は、mTORによるフィードバック抑制からAktリン酸化の抑制とそれに引き続くMuRF1とMAFbx/atrogen-1の増加により前脛骨筋は萎縮するが、ヒラメ筋では、MuRF-1とMAFbx/atrogen-1は増加せず筋萎縮に耐性を示す。また、mTORC1の構成因子であるRaptor(regulatory associated protein of mTOR)のノックダウンマウスは、TSCノックダウンマウスより筋萎縮が進行する。さらに、TSCノックダウンマウスに対する除神経は、前脛骨筋とヒラメ筋のリン酸化Aktが減少するが、興味深いことに、PI3K-Akt-mTOR経路の下流に位置するS6 kinase(70 kDa ribosomal protein S6 kinase)のリン酸化は増加する。両筋で同様な反応を示す一方で、前脛骨筋ではMuRF1とMAFbx/atrogen-1が増加するが、ヒラメ筋ではコントロールよりもそれらは減少し、カスケードの下流で両筋の反応が相違する結果が示されている³¹⁾。

除神経マウスに大豆タンパク質のグリシニンを投与すると、Aktのリン酸化によると推定されるインスリン受容体基質1(IRS-1:insulin receptor substrate-1)シグナルのユビキチン化と分解の抑制により、MAFbx/atrogen-1およびMuRF-1の発現が抑制され、筋萎縮が軽減される。また、Cblin様ペプチドの投与は、RING型ユビキチンリガーゼであるCbl-bの発現を抑制し、IRS-1シグナルのユビキチン化と分解を防ぐことが明らかにされている³²⁾。

ユビキチンリガーゼとプロテアソームは、間接的にオートファジー-リソソーム系の活性化に関与し、各タンパク質分解経路が相互作用し連鎖的に筋萎縮が惹起されていると推測されている。

6. まとめ

廃用性筋萎縮に、ユビキチン-プロテアソーム系が関わっていることが明らかにされてから約二十年を経て、筋特異的ユビキチンリガーゼは、廃用性筋萎縮の治療ターゲットとして有力な候補となってきた。筋特異的ユビキチンリガーゼは、筋タンパク質の分解に関わるだけでなく、PI3k/Akt/mTOR 経路、オートファジー-リソソーム系および酸化ストレス経路を制御し、筋細胞死や生存シグナルに重要な役割を担っていることが明らかになり、今後、さらにその解明が進展し拡大していくことが期待される。

引用文献

- 1) Ayre WB. Disuse Atrophy of Skeletal Muscle. *Can Med Assoc J* 53 (4) : 352-355, 1945.
- 2) Raymond A. *Revu de Médecine* : 374-392, 1890.
- 3) Simpson MV. The release of labeled amino acids from the proteins of rat liver slices. *J Biol Chem* 201 (1) : 143-154, 1953.
- 4) Goldstein G, Scheid M, et al. Isolation of a polypeptide that has lymphocyte-differentiating properties and is probably represented universally in living cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72 (1) : 11-15, 1975.
- 5) Schlesinger DH, Goldstein G, et al. The complete amino acid sequence of ubiquitin, an adenylate cyclase stimulating polypeptide probably universal in living cells. *Biochemistry* 14 (10) : 2214-2218, 1975.
- 6) Ciechanover A, Hod Y, et al. A heat-stable polypeptide component of an ATP-dependent proteolytic system from reticulocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 81 (4) : 1100-1105, 1978.
- 7) Wilkinson KD, Urban MK, et al. Ubiquitin is the ATP-dependent proteolysis factor I of rabbit reticulocytes. *J Biol Chem* 255 (16) : 7529-7532, 1980.
- 8) Ciechanover A, Elias S, et al. Covalent affinity" purification of ubiquitin-activating enzyme. *J Biol Chem* 257 (5) : 2537-2542, 1982.
- 9) Hershko A, Heller H, et al. Components of ubiquitin-protein ligase system. Resolution, affinity purification, and role in protein breakdown. *J Biol Chem* 258 (13) : 8206-8214, 1983.
- 10) Arrigo AP, Tanaka K, et al. Identity of the 19S 'prosome' particle with the large multifunctional protease complex of mammalian cells (the proteasome) . *Nature* 331 (6152) : 192-194, 1988.
- 11) Medina R, Wing SS, et al. Activation of the ubiquitin-ATP-dependent proteolytic system in skeletal muscle during fasting and denervation atrophy. *Biomed Biochim Acta* 50 (4-6) : 347-356, 1991.
- 12) Murton AJ, Constantin D, et al. The involvement of the ubiquitin proteasome system in human skeletal muscle remodelling and atrophy. *Biochim Biophys Acta* 1782 (12) : 730-743, 2008.
- 13) Bodine SC, Latres E, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 294 : 1704-1708, 2001.
- 14) Skowyra D. F-box proteins are receptors that recruit phosphorylated substrates to the SCF ubiquitin-ligase complex. *Cell* 91 (2) : 209-219, 1997.
- 15) Jogo M, Shiraishi S, et al. Identification of MAFbx as a myogenin-engaged F-box protein in SCF

- ubiquitin ligase. FEBS Lett 583 (17) : 2715-2719, 2009.
- 16) Bodine SC, Latres E, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. Science 294 (5547) : 1704-1708, 2001.
 - 17) Sandri M, Sandri C, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. Cell 117 : 399-412, 2004.
 - 18) Natanek SA, Riddoch-Contreras J, et al. MuRF-1 and Atrogin-1 Protein Expression and Quadriceps Fiber Size and Muscle Mass in Stable Patients with COPD. COPD 10 (5) : 618-624, 2013.
 - 19) Paul PK, Bhatnagar S, et al. The E3 ubiquitin ligase TRAF6 intercedes in starvation-induced skeletal muscle atrophy through multiple mechanisms. Mol Cell Biol 32 (7) : 1248-1259, 2012.
 - 20) Lokireddy S, Wijesoma IW, et al. The ubiquitin ligase Mull induces mitophagy in skeletal muscle in response to muscle-wasting stimuli. Cell Metab 16 (5) : 613-624, 2012.
 - 21) Hwee DT, Baehr LM, et al. Maintenance of muscle mass and load-induced growth in Muscle RING Finger 1 null mice with age. Aging Cell. 2013. doi : 10.1111/ace1.12150. PMID : 23941502.
 - 22) Gomes AV, Waddell DS, et al. Upregulation of proteasome activity in muscle RING finger 1-null mice following denervation. FASEB J 26 (7) : 2986-2999, 2012.
 - 23) Koncarevic A, Jackman RW, et al. The ubiquitin-protein ligase Nedd4 targets Notch1 in skeletal muscle and distinguishes the subset of atrophies caused by reduced muscle tension. FASEB J 21 (2) : 427-437, 2007.
 - 24) Nagpal P, Plant PJ, et al. The ubiquitin ligase Nedd4-1 participates in denervation-induced skeletal muscle atrophy in mice. PLoS One 7 (10) : 2012. doi : 10.1371/journal.pone.0046427. PMID : 23110050.
 - 25) Bae SK, Cha HN, et al. Deficiency of inducible nitric oxide synthase attenuates immobilization-induced skeletal muscle atrophy in mice. J Appl Physiol 113 (1) : 114-123, 2012.
 - 26) Liao SL, Kao TK, et al. Tetramethylpyrazine reduces ischemic brain injury in rats. Neurosci. Lett 30 : 40-45, 2004.
 - 27) Wang H, Liang B, et al. Effect of Ligustrazine on expressions of FoXO3a, MAFbx, and MuRF1 in denervated skeletal muscle atrophy rats. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi 26 (5) : 597-600, 2012.
 - 28) Mukai R, Horikawa H, et al. Prevention of disuse muscle atrophy by dietary ingestion of 8-prenylnaringenin in denervated mice. PLoS One 7 (9) : 2012. doi : 10.1371/journal.pone.0045048. PMID : 23028754.
 - 29) Ogawa M, Kariya Y, et al. The preventive effect of β -carotene on denervation-induced soleus muscle atrophy in mice. Br J Nutr 109 (8) : 1349-1358, 2013.
 - 30) Derbre F, Ferrando B, et al. Inhibition of xanthine oxidase by allopurinol prevents skeletal muscle atrophy : role of p38 MAPKinase and E3 ubiquitin ligases. PLoS One 7 (10) : 2012. doi : 10.1371/journal.pone.0046668. PMID : 23071610.
 - 31) Bentzinger CF, Lin S, et al. Differential response of skeletal muscles to mTORC1 signaling during atrophy and hypertrophy. Skelet Muscle 3 (1) : 2013. doi : 10.1186/2044-5040-3-6. PMID : 23497627.

- 32) Abe T, Kohno S, et al. Soy Glycinin Contains a Functional Inhibitory Sequence against Muscle-Atrophy-Associated Ubiquitin Ligase Cbl-b. *Int J Endocrinol* : 2013. doi : 10.1155/2013/907565. PMID : 23762056.

Abstract

Disuse muscle atrophy is caused by prolonged skeletal muscle inactivity, associated with rapid decrease in muscle mass and muscle fiber size. It is primarily due to decreased protein synthesis and increased protein degradation. The ubiquitin proteasome system is one of the major pathways involved in regulating muscle protein degradation, playing a central role in controlling muscle mass and fiber size. However, the molecular mechanisms that regulate muscle atrophy through the ubiquitin proteasome system are not fully understood.

Recent studies have demonstrated that the expression and activity of TRAF6, MAFbx/atrogen-1, MuRF-1, Cbl-b, Mullan and Nedd4, which are all E3 ubiquitin ligases, are increased in models of muscle atrophy. Moreover, in their knockout mice, inhibitors such as tetramethylpyrazin, 8-prenylnaringenin, β -carotene, allopurinol, soy glycinin, knockdown of tuberous sclerosis complex, and knockout of inducible nitric oxide synthase can reduce muscle atrophy in response to starvation, denervation or unloading. These recent findings suggest that a new therapeutic method could be developed through inhibiting of ubiquitin ligases activity.

This review article examines the roles and mechanisms of ubiquitin ligases in disuse atrophy based on the latest findings.

Key words : TRAF6

MAFbx/atrogen-1

MuRF-1

Nedd4

Cbl-b