

令和元年5月31日現在

機関番号：12601
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2016～2018
 課題番号：16K09230
 研究課題名(和文) 筋蛋白質分解経路と合成経路のクロストーク解明による新規サルコペニア治療法の創成

研究課題名(英文) Analysis of functional crosstalk between anabolic and catabolic pathway in skeletal muscle for the development of novel therapeutic strategies against sarcopenia

研究代表者
 吉川 賢忠 (YOSHIKAWA, NORITADA)
 東京大学・医科学研究所・講師

研究者番号：70396878
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、「骨格筋量を個体レベルで規定するセットポイントが萎縮側にリセットされた状態といえる“サルコペニア”」の病態に関し、グルココルチコイドレセプター(GR)とmTORを基軸とした筋蛋白質分解経路と合成経路のクロストークの変容とその調節機構の解析から明らかにし、その成果を新規サルコペニア治療法創成に展開することを目的とした。GR-mTOR軸を中心とした筋蛋白質分解系と合成系のクロストーク調節の中心分子およびその下流でセットポイントを規定する遺伝子候補をマルチオミクス解析により同定した。これらの候補分子は高齢者におけるサルコペニア治療の分子標的となる可能性があり、現在詳細な解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、筋肥大と筋萎縮という機能的に拮抗する生体制御系が相互に関連しつつ筋量を制御する骨格筋固有の機構を解明し、サルコペニア治療法開発へ展開する挑戦的研究である。本研究成果は、サルコペニアの新規治療法開発のみならず、ステロイド-GR制御系のさらなる理解に基づくステロイド筋症治療法、また、糖尿病、慢性腎不全、慢性閉塞性肺疾患などの慢性疾患、癌悪液質、飢餓、を原因とする筋萎縮治療にも斬新な方法論を提供することが予想される。さらに、骨格筋の生理的役割の理解を進展させ、骨格筋を起点とする多臓器連関による高次生体制御機構解明のブレークスルーともなると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We hypothesized that sarcopenia is caused by resetting the set point defining the skeletal muscle mass and in which glucocorticoid receptor (GR) and mTOR play a critical role for the functional crosstalk between anabolic and catabolic pathway. In this line, for the development of novel therapeutic strategies against sarcopenia, we analyzed such a hypothesis by using skeletal muscle-specific GR KO mice, specific stimulators and inhibitors for the GR and mTOR, and multi-omics analysis.

We identified several molecular candidates which regulated the functional crosstalk between anabolic and catabolic pathway under the control of the GR and mTOR in skeletal muscle. We, thus, speculate that such molecules could be molecular targets for mitigating the development of sarcopenia and continue further analysis.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：サルコペニア 加齢 骨格筋 筋萎縮 グルココルチコイド受容体 mTOR 蛋白質合成 蛋白質異化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

サルコペニアは加齢を要因とする骨格筋萎縮であり、運動器不全症や様々な内科的合併症の発症リスクを高める。したがって、超高齢化社会に突入した我が国において、その克服は喫緊の医学的課題といえるが、その病態は未だ不明であり、有効な薬物療法もない。サルコペニアの原因には、加齢による活動性や栄養状態の変化に加え、臓器不全・慢性炎症・悪性疾患など様々な疾患も関与する。その分子メカニズムとして、オートファジー機能異常、ミトコンドリア機能異常、筋サテライト細胞異常、などが想定されているが決定的なものではなく、むしろ多くのプロセスの帰結であるとされている。すなわち、サルコペニアは加齢に伴う多種多様な内的環境の変容によって「骨格筋量を個体レベルで規定するセットポイント」が萎縮側にリセットされた状態と総合的に理解可能であり、そのセットポイント調節システムの実態解明がサルコペニア克服のカギとなりうる。

ここで、骨格筋量を調節する骨格筋の「萎縮」と「肥大」の経路に関する研究は、各々独自に進展し、その細胞内シグナル経路が徐々に明らかになりつつある。筋萎縮に関しては、ユビキチン-プロテアソーム系、オートファジー系を介した蛋白質分解経路が重要である。一方、筋肥大に関しては、mTOR/p70S6K 経路による蛋白質合成系の活性化が重要である。成体においては、骨格筋量は通常これら分解と合成経路のバランスによって規定されるが、各々の経路別の解析に比較し、両者のクロストークや、蛋白質分解と合成のバランスを制御し、様々な状況下における個体にとって最適な骨格筋量を規定する因子などは明らかになっていない。

我々は骨格筋萎縮の分子機構解明に際し、臨床的にアンメットニーズであるグルココルチコイド(以下ステロイド)誘発性筋萎縮-ステロイド筋症に焦点を当てた。その理由は、ステロイド服用患者の高齢化に伴い筋萎縮は今後さらに重要な医学的課題となり、敗血症、癌悪液質、飢餓、糖尿病、慢性腎不全など多様な原疾患に伴う筋萎縮にステロイドとその受容体であるグルココルチコイドレセプター(GR)が共通の分子基盤である可能性が指摘されているからである。近年、サルコペニアにおいてもステロイドの関与を示唆する証左が蓄積しはじめた。そこで我々は、これまでの膨大なステロイド-GR 制御系の分子機構解明に関する成果を基盤に、ステロイド筋症の病態解明に取り組んだ。その結果、ステロイド-GR 制御系が転写レベルで蛋白質分解系と合成系に関与する多くの遺伝子の発現を制御していることが明らかとなった。さらに、GR とその下流の標的遺伝子産物はユビキチン-プロテアソーム系、オートファジー系を介した筋蛋白質異化を協調的にドライブするとともに、同化のカギ分子である mTOR を分岐鎖アミノ酸の分解促進や Rheb の阻害を介して抑制すること、そして、GR と mTOR は互いに排他的に相互作用することを見出し、同化と異化のクロストークを世界で初めて実証した。そして分岐鎖アミノ酸などによる mTOR の薬理的活性化により GR 機能を抑制することによってステロイド筋症が治療可能であることを示し、さらに、骨格筋特異的 GR 破壊マウスの解析から、かかる仕組みが骨格筋量制御のみならず、骨格筋-肝臓-脂肪連関を介してエネルギー代謝制御にも本質的役割を担うことを見いだした。

2. 研究の目的

上記背景より、我々は GR-mTOR 軸を基軸とした骨格筋の蛋白質分解系と合成系のクロストークは、筋量制御のみならず全身の代謝をも制御する生理的にきわめて重要な生命システム維持の制御機構であると推論するに至った。現時点でその詳細が明確にされている筋蛋白質分解系と合成系のクロストークは GR-mTOR 軸のみである。そこで、この GR-mTOR 軸を基軸としたクロストークが「骨格筋量を個体レベルで規定するセットポイント」を規定する主要なシステムと捉え、様々な生理的病的状態におけるクロストークの変容をその調節因子の同定や調節機構の解析から明らかにし、その成果を新たなサルコペニア治療法創成に展開することを目的とした。

3. 研究の方法

野生型および骨格筋特異的 GR 破壊マウス (GRmKO) を用い、様々な内的・外的要因により骨格筋の萎縮や肥大を呈する複数のモデルマウスを比較解析することで、セットポイントの調節因子を絞り込む。すなわち、「個体の活動状態の変化により肥大あるいは萎縮を生じた骨格筋」、「栄養状態を著しく変動させた個体における骨格筋」、「個体の疾病状態により萎縮を生じた骨格筋」を採取して、オミクス比較解析を行い、GR-mTOR 軸を中心とした筋蛋白質分解系と合成系経路のクロストークの変容を詳細に解析する。その結果から「骨格筋量を個体レベルで規定するセットポイント」の実態とその調節因子を明らかにして、新規サルコペニア治療法創成へ展開する。

4. 研究成果

以下に記す実験系を確立し、10 から 20 週齢および 60 週齢以降の野生型、GRmKO マウスごとにマウス骨格筋を採取した。

- (1) 個体の活動状態の変化により肥大あるいは萎縮を生じた骨格筋の解析
「後肢懸垂による脱負荷モデル」, 「除神経モデル」により作出した萎縮筋
「後肢懸垂後再負荷モデル」, 「協働筋切除モデル」, 「トレッドミルランニング運動負荷モデル」により作出した肥大筋
- (2) 栄養状態を著しく変動させた個体における骨格筋の解析
「高脂肪食を摂取させた肥満モデル」, 「24時間絶食モデル」由来の筋
- (3) 個体の疾病状態により萎縮を生じた骨格筋の解析
「担癌悪液質モデル」, 「糖尿病モデル」により作出した萎縮筋

上記サンプルの解析により、以下の成果を得た。

クロストーク調節の中心分子およびその下流でセットポイントを規定する分子を同定するため、得られた各骨格筋における mRNA 発現を DNA マイクロアレイ、RNA-seq 法により解析した。

筋重量増加へとセットポイントが変動している肥大筋、および筋重量減少へとセットポイントが変動している萎縮筋、肥満モデルマウス由来筋、および絶食操作を行ったマウス由来の筋で共通して変動し、かつ筋量増加・減少両群における発現が逆相関している遺伝子群を抽出した。

また、得られた各骨格筋における蛋白質発現をプロテオミクスおよびリン酸化プロテオミクスにより解析し、と同様の手法で候補蛋白質を抽出した。

上記の結果を統合し、筋量制御を規定する遺伝子、蛋白質を絞り込み、特に GRmKO でその働きが消失/増幅するものを中心に、候補分子・シグナル経路を同定した。

上記で得られた候補分子・シグナル経路の loss/gain of function 実験から、候補分子・シグナル経路のセットポイント規定機能を検証した。

野生型および GRmKO の老齢マウスにおいて、上記で得られた候補分子、その周辺分子、シグナル経路の挙動、GR-mTOR 軸の変容を明確にし、以降の解析に繋げる絞込みを行った。

以上により、GR-mTOR 軸を中心とした筋蛋白質分解系と合成系経路のクロストーク調節の中心分子およびその下流でセットポイントを規定する遺伝子候補、蛋白質候補を同定した。これら候補分子の loss/gain of function 実験により、セットポイント規定分子としての妥当性を確認した。老齢マウスにおいて、これらの候補分子、その周辺分子、シグナル経路の挙動、GR-mTOR 軸の変容が若年マウスと異なること、これらの変容には雌雄差が存在すること、も示された。したがって、これらの候補分子は高齢者におけるサルコペニア治療の分子標的となる可能性があり、今後も詳細な解析を進める必要性があると考えられた。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

Tomohiro Matsushashi, Jin Endo, Yoshinori Katsumata, Tsunehisa Yamamoto, Noriaki Shimizu, Noritada Yoshikawa, Masaharu Kataoka, Sarasa Isobe, Hidenori Moriyama, Shinichi Goto, Keiichi Fukuda, Hirotohi Tanaka, Motoaki Sano. Pressure overload inhibits glucocorticoid receptor transcriptional activity in cardiomyocytes and promotes pathological cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol.* 2019 May 130:122-130. doi: 10.1016/j.yjmcc.2019.03.019. 査読有り

Hirotohi Tanaka, Noriaki Shimizu, Noritada Yoshikawa. Role of skeletal muscle glucocorticoid receptor in systemic energy homeostasis. *Exp Cell Res.* 2017 Nov 1;360(1):24-26. doi:10.1016/j.yexcr.2017.03.049. 査読有り

Toshiki Eri, Kimito Kawahata, Takeyuki Kanzaki, Mitsuru Imamura, Kazuya Michishita, Lisa Akahira, Ei Bannai, Noritada Yoshikawa, Yasumasa Kimura, Takeshi Satoh, Satoshi Uematsu, Hirotohi Tanaka, and Kazuhiko Yamamoto. Intestinal microbiota link lymphopenia to murine autoimmunity via PD-1+CXCR5-/dim B-helper T cell induction. *Sci Rep.* 2017;7:46037. doi:10.1038/srep46037. 査読有り

Erika Matsubara, Noritada Yoshikawa, Osamu Hosono, Hiroyuki Baba, Toshiki Eri, Masaaki Uehara, Aya Oda, Chieko Sekita, Atsuo Taniguchi, Hirotohi Tanaka. A rheumatoid arthritis patient complicated with adenine phosphoribosyltransferase deficiency and unilateral renal agenesis: a first case report. *Mod Rheumatol Case Rep.* 2017 Jan;1:1. 15-19. doi:10.1080/24725625.2016.1266729. 査読有り

Noritada Yoshikawa, Noriaki Shimizu, Masaaki Uehara, Aya Oda, Ryou Matsumiya, Erika Matsubara, Hiroshi Kobayashi, Osamu Hosono, Akiko Kuribara-Souta, Hiroyuki Baba, Fumitaka Nagamura, Shigeru Kiryu, Hirotohi Tanaka. The effects of bolus supplementation of branched-chain amino acids on skeletal muscle mass, strength, and function in patients with rheumatic disorders during glucocorticoid treatment.

〔学会発表〕(計 8 件)

- 上原 昌晃、吉川 賢忠、山崎 広貴、福山 聡、河岡 義裕、田中 廣壽
クッシング症候群の体組成構築とエネルギー代謝における骨格筋-肝臓-脂肪連関
第 26 回日本ステロイドホルモン学会学術集会、2018 年 11 月 17 日、幕張メッセ国際会議場、千葉県千葉市
- 上原 昌晃、山崎 広貴、清水 宣明、吉川 賢忠、福山 聡、河岡 義裕、田中 廣壽
骨格筋をノードとした全身のエネルギー代謝制御機構の解明 - グルココルチコイド作用をモデルに
第 18 回東京大学生命科学シンポジウム、2018 年 6 月 9 日、東京大学 21Komcee、東京都目黒区
- 上原 昌晃、清水 宣明、吉川 賢忠、江里 俊樹、山崎 広貴、福山 聡、河岡 義裕、田中 廣壽
クッシング症候群モデルマウスを用いた骨格筋-肝臓-脂肪組織の連関の解析
第 91 回日本内分泌学会学術総会、2018 年 4 月 26 日、フェニックス・シーガイア・リゾート、宮崎県宮崎市
- 清水 宣明、丸山 崇子、栗原 明子、吉川 賢忠、田中 廣壽
「耐糖能異常を伴う肥満における骨格筋と脂肪組織の機能連携に関する解析」
第 25 回 日本ステロイドホルモン学会学術集会 2017 年 11 月 18 日、一橋大学一橋講堂、東京都千代田区
- 上原 昌晃、清水 宣明、吉川 賢忠、江里 俊樹、山崎 広貴、福山 聡、河岡 義裕、田中 廣壽
「骨格筋-肝臓-脂肪の連関を介したエネルギーフロー制御の研究 -クッシング症候群モデルマウスを用いた解析-」
第 25 回 日本ステロイドホルモン学会学術集会 2017 年 11 月 18 日、一橋大学一橋講堂、東京都千代田区
- 小田 彩、清水 宣明、栗原 明子、丸山 崇子、吉川 賢忠、田中 廣壽
「脂肪組織量調節におけるグルココルチコイドとエストロゲンの役割の解明」
第 3 回 日本筋学会学術集会、2017 年 8 月 4 日、国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター、東京都小平市
- 吉川 賢忠、上原 昌晃、小田 彩、松原 絵里佳、馬場 洋行、江里 俊樹、細野 治、田中 廣壽
「リウマチ膠原病患者のステロイド筋症に対する分岐鎖アミノ酸大量投与の効果 - 筋群、筋質別の効果の解析」
第 61 回 日本リウマチ学会総会・学術集会 2017 年 4 月 20 日、福岡サンパレス・福岡国際会議場・福岡国際センター、福岡県福岡市
- 吉川 賢忠、上原 昌晃、小田 彩、松原 絵里佳、清水 宣明、栗原 明子、馬場 洋行、江里 俊樹、桐生 茂、田中 廣壽
「ステロイド治療中リウマチ膠原病患者の筋力および大腿筋/大腿屈筋・伸筋別筋断面積に与える分岐鎖アミノ酸大量投与の効果の検討」
第 90 回 日本内分泌学会学術総会 2017 年 4 月 20 日、ロームシアター京都、京都市勧業館みやこめっせ、京都府京都市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/Rheumatol/allergy/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：田中廣壽
ローマ字氏名：TANAKA, Hirotoshi
研究協力者氏名：清水宣明
ローマ字氏名：SHIMIZU, Noriaki
研究協力者氏名：山崎広貴
ローマ字氏名：YAMAZAKI, Hiroki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。