

令和元年6月14日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10881

研究課題名(和文) Pro-IGF-IIシグナルを利用した安全性の高い老化筋再生促進治療法の開発

研究課題名(英文) Amelioration in the regenerative capacity of aged skeletal muscle by pro-IGF-II signal

研究代表者

上住 円(池本円)(UEZUMI, MADOKA)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：70435866

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：高齢者において転倒等に伴う筋損傷からの回復の遅れは、要介護への進行原因となり解決すべき重要課題である。我々はこれまでに、pro-IGF-IIの補充が老化筋の再生能力を改善することを見出しているが、pro-IGF-IIには癌細胞増殖促進作用があるため、臨床応用にはより安全で特異的な治療法が求められる。本研究では、pro-IGF-IIの作用細胞である間葉系前駆細胞においてpro-IGF-IIシグナルの解析を行い、脂肪分化を抑制し、癌細胞増殖促進作用をキャンセルできる可能性のある因子を同定した。この因子の投与は高齢者の筋再生能力改善のためのより安全な治療法となる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者において転倒や骨折に伴う筋損傷からの回復の遅れは、要介護への進行原因となり、健康寿命延伸のために解決すべき重要課題である。しかしながら、現在、老化筋の再生能力を改善する方法はない。本研究では、我々が老化筋の再生能力改善効果を見出したpro-IGF-IIに着目し、そのシグナルパスウェイ解析から、より安全で特異的な治療のための候補因子を同定した。この因子の投与は高齢者の筋再生能力改善のためのより安全な治療法となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Sarcopenia, age-related muscle weakness, increases the frequency of falls and fractures in elderly people, which can trigger severe muscle injury. Rapid and successful recovery from muscle injury is essential not to cause further frailty and loss of independence. We previously reported that supplementation of pro-insulin-like growth factor-II (pro-IGF-II) ameliorates age-related inefficient regenerative response. However, it is expected to develop a more safety and specific therapeutic strategy for clinical application due to the tumor promoting activity of pro-IGF-II. In this study, we analyzed pro-IGF-II signal in mesenchymal progenitors and found the candidate factors that suppress adipogenic differentiation and do not have tumor promoting activity. Administration of the candidate factors could be the effective therapeutic strategy for muscle injury in elderly people.

研究分野：筋生物学

キーワード：老化 骨格筋 再生

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

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎えた我が国は世界屈指の長寿大国であるが、平均寿命と健康寿命の間には約10年の乖離があり、健康的に老いることの必要性が高まっている。加齢に伴い筋肉量や筋機能は低下し、それをサルコペニアという。骨格筋は運動や身体活動を司る臓器であり、その機能低下はQOL (quality of life) やADL (activities of daily living) の低下に直結する。サルコペニア自体を予防することはもちろん重要であるが、サルコペニアにより誘発された転倒などによる筋損傷からの回復を促進することもまた同様に重要である。それは、高齢者において、不十分な再生や回復の遅延は、さらなる虚弱(フレイル)や寝たきりへと心身の状態を加速度的に悪化させるリスクファクターとなるからである。

骨格筋は本来優れた再生能力を有しているが、加齢に伴いその能力は低下する。我々はこれまでに、老化再生筋における pro-insulin-like growth factor-II (pro-IGF-II) の発現低下が筋再生能力低下の一因であり、pro-IGF-II の補充は骨格筋幹細胞の増殖促進や間葉系前駆細胞の脂肪分化抑制を介して、老化マウスの筋再生能力を改善することを見出した (Ikemoto-Uezumi M. et al. Stem Cells. 2015)。よって、pro-IGF-II シグナルは高齢者の筋再生能力を改善し得る最も重要なパスウェイの一つと言える。臨床応用を考えた場合、pro-IGF-II そのものを治療物質として利用することも有効であるかもしれないが、pro-IGF-II は非膵島腫瘍で発現し、癌細胞の増殖促進や低血糖を惹起すると考えられているため、より安全で特異的な治療法が求められる。そこで本研究では、骨格筋幹細胞の増殖促進、および、間葉系前駆細胞の脂肪分化抑制効果の発揮に特化した pro-IGF-II シグナルの探索を行い、高齢者の筋再生能力改善に有効な標的分子・パスウェイを明らかにする。

2. 研究の目的

高齢者において転倒や骨折に伴う筋損傷からの回復の遅れは、要介護状態への進行の主要原因であり、健康寿命延長のために解決すべき重要課題である。しかしながら、現在、老化筋の再生能力を改善する方法はない。そこで、本研究では、我々がこれまでに、老化筋において筋再生能力改善効果を見出した pro-IGF-II に着目し、そのシグナル解析を行うことにより、癌細胞の増殖促進や低血糖を惹起することなく、筋再生に有効な機能を発揮する標的分子・pro-IGF-II シグナルパスウェイの探索を行う。

3. 研究の方法

(1) ヒト骨格筋幹細胞に対する pro-IGF-II 効果の検討

pro-IGF-II のヒトへの応用を視野に入れ、初代培養ヒト骨格筋幹細胞を用いて、増殖・分化における pro-IGF-II の影響を調べた。

CD56 陽性ヒト骨格筋幹細胞の増殖培地中に、recombinant pro-IGF-II 及び mature IGF-II を 0, 10, 100, 1000 ng/ml 濃度で添加した。

3日間培養後、増殖アッセイ (WST-8) を行い、それらの効果を定量した。

ヒト骨格筋幹細胞を増殖させ、コンフルエントになった時点で、pro-IGF-II 及び mature IGF-II を 0, 10, 100, 1000 ng/ml 濃度で添加した分化培地に交換した。

4日後に、4%パラホルムアルデヒドで固定し、抗 myosin heavy chain 抗体で染色し、分化または筋管融合能に及ぼす効果を定量した。

(2) ヒト間葉系前駆細胞に対する pro-IGF-II 効果の検討

PDGFR α 陽性ヒト間葉系前駆細胞の脂肪分化誘導および維持培地中に、recombinant pro-IGF-II 及び mature IGF-II を 0, 10, 100, 1000 ng/ml 濃度で添加した。

7 日間培養後、4%パラホルムアルデヒドで固定し、抗 PPAR γ 及び抗 FABP4 抗体で染色し、脂肪分化に及ぼす効果を定量した。

(3) 間葉系前駆細胞における pro-IGF-II 制御因子の探索

脂肪分化抑制阻害剤を投与したマウスと野生型マウスの骨格筋から、FACS を用いて間葉系前駆細胞を単離した。

RNA を抽出し、RNA-seq 解析を行い、脂肪分化抑制阻害剤を投与したマウスにおいて発現低下する因子を同定した。

4 . 研究成果

マウスにおいて、pro-IGF-II の補充は骨格筋幹細胞の増殖促進や間葉系前駆細胞の脂肪分化抑制を介して、老化筋の再生能力を改善することを報告している (Ikemoto-Uezumi M. et al. Stem Cells. 2015)。本研究では、pro-IGF-II のヒトへの応用を視野に入れ、初代培養ヒト骨格筋幹細胞や間葉系前駆細胞を用いて、pro-IGF-II の効果がマウスと同様に見られるか否か調べた。まず、ヒト骨格筋幹細胞の増殖・分化に対する pro-IGF-II 及び mature IGF-II の効果を検討した。その結果、マウスと同様、ヒトにおいても pro-IGF-II は濃度依存的に骨格筋幹細胞の増殖を促進し、分化条件下でも分化を阻害することなく、増殖を促進することが明らかとなった。骨格筋幹細胞に対し、pro-IGF-II と mature IGF-II は同様の効果を示した。続いて、ヒト間葉系前駆細胞の脂肪分化に対する pro-IGF-II 及び mature IGF-II の効果を検証した。pro-IGF-II は濃度依存的に脂肪分化を抑制し、その効果は mature IGF-II では全く見られず、pro-IGF-II に特異的な効果であることを見出した (図 1)。また、マウスにおいては、高濃度の pro-IGF-II を添加した場合にのみ脂肪分化抑制効果が認められたが、ヒト細胞では、10 ng/ml 濃度から有意な抑制効果が認められた (図 1)。

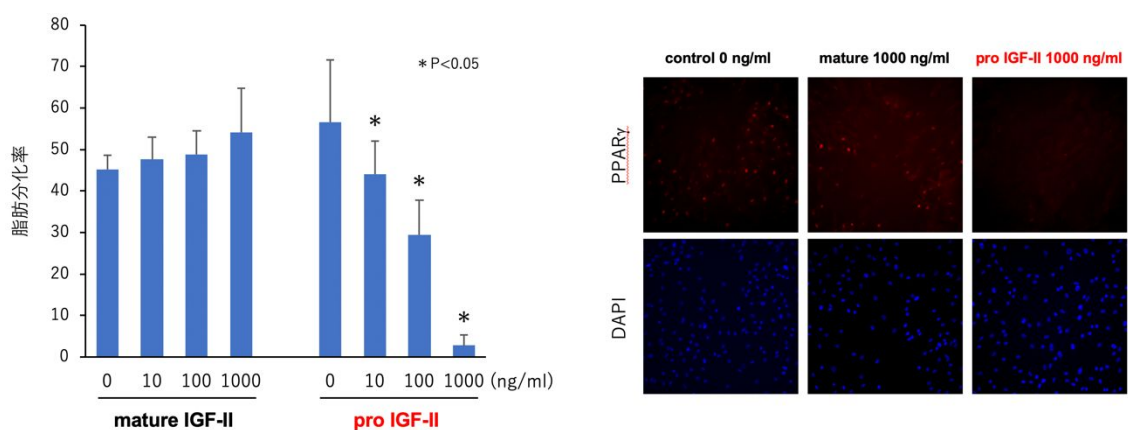


図1 ヒト間葉系前駆細胞におけるpro-IGF-II特異的な脂肪分化抑制効果

さらに、間葉系前駆細胞における pro-IGF-II 制御因子を探索するため、脂肪分化抑制阻害剤を投与したマウスと野生型マウスの骨格筋から間葉系前駆細胞を単離し、RNA-seq 解析を行った。脂肪分化抑制阻害剤を投与したマウスにおいて発現低下する因子を抽出した結果、その中に pro-IGF-II が含まれることがわかった。このことは、我々がこれまでに見出している脂肪分

化抑制シグナルが、直接的または間接的に pro-IGF-II の発現を制御する可能性を示唆している。また、pro-IGF-II シグナルパスウェイの解析を行い、脂肪分化を抑制し、癌細胞増殖促進作用を示さない可能性のある因子を同定した。今後、さらにヒト細胞を用いてその作用を詳細に検証していく必要があるが、この因子の投与は高齢者の筋再生能力改善のためのより安全な治療法となる可能性がある。

<引用文献>

Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Tsuchida K, Fukada S, Yamamoto H, Yamamoto N, Shiomi K, Hashimoto N. Pro-insulin-like growth factor-II ameliorates age-related inefficient regenerative response by orchestrating self-reinforcement mechanism of muscle regeneration. *Stem Cells*. 33(8): 2456-68, 2015.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A. et al. Reduced expression of calcitonin receptor is closely associated with age-related loss of the muscle stem cell pool. *JCSM Rapid Commun*. 2(1):e00081, 2019, 査読有り

<https://jcsm-rapid-communications.info/index.php/jcsm-rc/article/view/81>

Ikemoto-Uezumi M, Matsui Y. et al. Disuse Atrophy Accompanied by Intramuscular Ectopic Adipogenesis in Vastus Medialis Muscle of Advanced Osteoarthritis Patients. *The American Journal of Pathology*. 187:2674-2685, 2017, 査読有り

DOI: 10.1016/j.ajpath.2017.08.009

Uezumi A, Nakatani M, Ikemoto-Uezumi M. et al. Cell surface protein profiling identifies distinctive markers of progenitor cells in human skeletal muscle. *Stem Cell Reports*. 7(2):263-278, 2016, 査読有り

DOI: 10.1016/j.stemcr.2016.07.004

〔学会発表〕(計11件)

上住 円, 血管・神経筋接合部の加齢変化から解き明かすサルコペニアの発症機序, 日本筋学会第4回学術集会, 2018年

Ikemoto-Uezumi M, Effects of aberrant accumulation of MFG-E8 at neuromuscular junction on skeletal muscle aging. International Conference of Muscle Wasting, 2018年

Ikemoto-Uezumi M, MFG-E8 aberrantly accumulates at the arteries and the neuromuscular junction with age. Keystone Symposia, 2017年

Ikemoto-Uezumi M, Two aspects of skeletal muscle aging -primary sarcopenia and aged muscle regeneration-. Symposium at Stem Cell Institute in University of Minnesota Medical School “Cardiac and Skeletal Muscle Stem Cell and Regeneration”, 2016年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。