

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03193

研究課題名(和文)健康長寿社会の実現に向けた骨格筋可塑性の分子メカニズム解明とその応用

研究課題名(英文)Elucidating molecular mechanisms that control muscle plasticity for healthy longevity

研究代表者

小野 悠介(Ono, Yusuke)

熊本大学・発生医学研究所・准教授

研究者番号：60601119

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：超高齢化社会を迎えた我が国では、平均寿命は延びる一方、健康で介護を必要としない期間である健康寿命は延び悩んでいる。その要因に加齢にともなうサルコペニアが挙げられる。加齢にともない骨格筋の可塑性は低下することが知られており、若齢者と比較すると同程度の筋力トレーニング負荷では高齢者の筋肥大反応は著しく減弱している。この可塑性低下の原因は不明であるが、サルコペニア発症の素地をつくると考えられている。本研究結果から、骨格筋における細胞極性因子Scribの発現低下は加齢にともなう筋可塑性低下に關与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、骨格筋における細胞極性因子Scribの発現低下は、加齢にともなう筋可塑性低下の分子基盤になる可能性が示された。Scribは筋肥大応答に必要であり、骨格筋のScrib発現量を保持することは、生涯を通して筋量を維持する上で重要であると考えられる。本成果は、将来、健康寿命延伸に向けたサルコペニア予防改善において、新たな運動・栄養介入の確立や創薬開発への応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：The average life expectancy in Japan raises, whereas there is a big gap between the life span and "healthy" life span. Age-related sarcopenia is known to be associated with decreasing physical activity and healthy life span. Skeletal muscle plasticity is impaired with aging: Muscle hypertrophic response to overload training is markedly attenuated in the elderly compared with that of young. The mechanism of reduced muscle hypertrophic response is largely unknown but it may relate to the susceptibility to sarcopenia. In this study, we showed that the expression levels of the cell polarity protein Scrib are decreased in muscle of aged mice, which involved in a decline in hypertrophic response to overloading stimulation.

研究分野：骨格筋生物学

キーワード：筋可塑性 筋萎縮 筋肥大 サルコペニア 加齢

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎えた我が国では、平均寿命は延びる一方、健康で介護を必要としない期間である健康寿命は延び悩んでいる。その要因に加齢にともなう筋力・筋量の低下（サルコペニア）が挙げられる。骨格筋は筋力トレーニングにより筋量・筋力を増加させる可塑性に富んだ組織である。しかし、加齢にともない可塑性は低下し、若齢者と比較すると同程度の筋力トレーニング負荷では高齢者の筋肥大反応は著しく減弱している (Raue *et al.*, *J Appl Physiol* 2009; Durham *et al.*, *FASEB J* 2010; Bickel *et al.*, *Med Sci Sports Exerc* 2011; Rivas *et al.*, *FASEB J* 2014)。この可塑性低下の原因は不明であるが、サルコペニア発症の素地をつくると考えられている。

細胞極性因子は進化的に保存されており、その代表的な極性因子である Scrib は、シヨウジョウバエの上皮組織の構造維持に欠かせない。しかし哺乳類での Scrib の役割はほとんどわかっていない。我々は、筋再生に必須の役割を担う骨格筋幹細胞（サテライト細胞）に Scrib が発現し、Scrib はサテライト細胞の増殖刺激応答に重要であることを報告した (Ono *et al.*, *Cell Reports* 2015)。Scrib はサテライト細胞のみならず筋線維にも豊富に発現していること、さらに、Scrib 遺伝子およびタンパク質の発現量は加齢にともなって顕著に減少することを見出した（未発表）。したがって、Scrib の低下は加齢にともなう筋可塑性低下に関与する可能性が考えられる。

2. 研究の目的

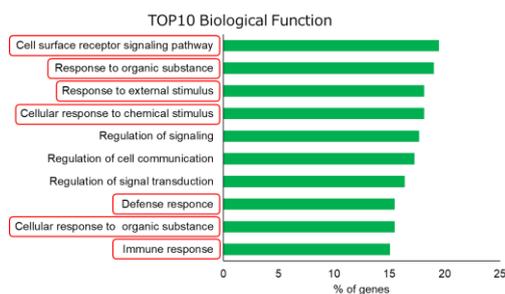
本研究では、骨格筋における Scrib の機能を調べ、筋可塑性の制御メカニズムの一端を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、加齢による筋可塑性低下のメカニズムを解明するために、筋線維特異的に Scrib 遺伝子を欠損する遺伝子改変マウスを用いた。次世代シーケンサーによる RNA シーケンス解析を実施し、Scrib 欠損マウス骨格筋の遺伝子発現プロファイルを得た。Scrib と結合するタンパク質を同定するために質量分析解析を行った。協働筋切除による代償性筋肥大の効果について、Scrib 遺伝子欠損マウスを用いて検証した。初代培養系にて Scrib の肥大応答ドメインを決定した。

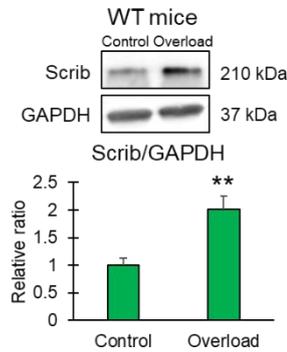
4. 研究成果

RNA シーケンス解析を実施し、Scrib 欠損マウスの骨格筋で変動する遺伝子を調べた結果、細胞刺激応答性の遺伝子群が大きく変動していることがわかった（下図）。



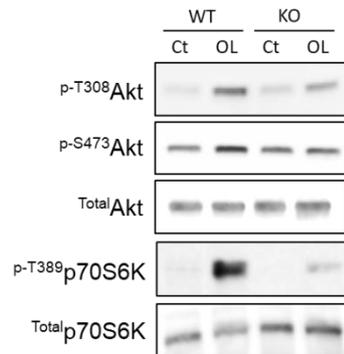
Scrib 欠損筋で変動する遺伝子の GO 解析

そこで、協働筋切除による代償性筋肥大モデルを用いて検証した。定量 PCR およびウエスタンブロッティング解析により、代償性肥大刺激は骨格筋組織の Scrib 遺伝子およびタンパク質の発現を増加させることがわかった（下図）。



Scrib タンパク質は代償性肥大刺激で増加する

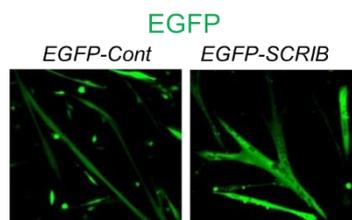
Scrib は代償性筋肥大に重要である可能性が示されたことから、Scrib 欠損マウスを用いて検討した。筋重量測定や組織学的解析から、Scrib 欠損マウスは筋肥大応答に抵抗性を示すことがわかった。ウエスタンブロッティング解析により、筋肥大シグナル経路であるリン酸化 Akt, リン酸化 S6K タンパク質が Scrib 欠損筋で低下していた（下図）。したがって、筋線維に発現する Scrib は、筋肥大に応答するための重要な分子であり、加齢により Scrib の発現量が減少することで筋肥大応答が低下する可能性が示唆された。



筋肥大刺激 (Overload: OL) に対する Scrib 欠損筋内のシグナル異常

Scrib はスキャフォールドタンパク質として細胞内の様々なタンパク質と相互作用することが知られている。そこで Scrib 抗体を用いた免疫沈降により IP-MS 解析を行い、Scrib と結合する細胞内分子を網羅的に調べた。その結果、筋収縮関連タンパク質を同定した。

さらに、マウス筋組織から単離、培養、誘導した筋管細胞を用いて Scrib の過剰発現によって筋肥大が起きるか否かを検証した。その結果、Scrib を過剰発現はコントロールと比較し筋管の直径が顕著に増加することがわかった（下図）。



Scrib 過剰発現による筋管肥大

続いて、培養系の結果がマウス個体レベルで再現できるか否かを調べた。*in vivo* エレクトロポレーション法にて Scrib のプラスミドベクターを骨格筋組織に導入した。遺伝子導入後の組織学的解析から、Scrib の過剰発現により筋線維肥大効果を確認した。Scrib 遺伝子導入による肥大効果は、老齢マウスの筋線維においても起こることがわかった。Scrib タンパク質は LRR, LAPSD, PDZ ドメインから構成されるが、各ドメインの変異欠損体を用いて *in vitro* での筋管肥大の責任ドメインを調べた。その結果、LRR ドメインが筋肥大に必須であることが判明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Yoshioka Kiyoshi, Fujita Ryo, Seko Daiki, Suematsu Takashi, Miura Shinji, Ono Yusuke	4. 巻 7
2. 論文標題 Distinct Roles of Zmynd17 and PGC1 in Mitochondrial Quality Control and Biogenesis in Skeletal Muscle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 330
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcell.2019.00330	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kitajima Y and Ono Y	4. 巻 8
2. 論文標題 Visualization of PAX7 protein dynamics in muscle satellite cells in a YFP-knock-in-mouse line	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Skeletal Muscle	6. 最初と最後の頁 26
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13395-018-0174-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yoshioka K, Nagahisa H, Miura F, Araki H, Kamei Y, Kitajima Y, Seko D, Nogami J, Tsuchiya Y, Okazaki N, Yonekura A, Ohba S, Sumita Y, Chiba K, Ito K, Asahina I, Ogawa Y, Ito T, Ohkawa Y, Ono Y	4. 巻 7
2. 論文標題 Hoxa10 mediates positional memory to govern stem cell function in adult skeletal muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabd7924
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abd7924	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yoshioka Kiyoshi, Kitajima Yasuo, Seko Daiki, Tsuchiya Yoshifumi, Ono Yusuke	4. 巻 231
2. 論文標題 The body region specificity in murine models of muscle regeneration and atrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Physiologica	6. 最初と最後の頁 e13553
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/apha.13553	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tsuchiya Yoshifumi、Kitajima Yasuo、Masumoto Hiroshi、Ono Yusuke	4. 巻 15
2. 論文標題 Damaged Myofiber-Derived Metabolic Enzymes Act as Activators of Muscle Satellite Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 926 ~ 940
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2020.08.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Seko Daiki、Fujita Ryo、Kitajima Yuriko、Nakamura Kodai、Imai Yuuki、Ono Yusuke	4. 巻 15
2. 論文標題 Estrogen Receptor Controls Muscle Growth and Regeneration in Young Female Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 577 ~ 586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2020.07.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshioka Kiyoshi、Kitajima Yasuo、Okazaki Narihiro、Chiba Ko、Yonekura Akihiko、Ono Yusuke	4. 巻 8
2. 論文標題 A Modified Pre-plating Method for High-Yield and High-Purity Muscle Stem Cell Isolation From Human/Mouse Skeletal Muscle Tissues	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 793
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2020.00793	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Fujimaki S, Ono Y
2. 発表標題 Scrib is Required for Skeletal Muscle Hypertrophy
3. 学会等名 Cell Symposia Exercise Metabolism (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野悠介
2. 発表標題 ポジショナルメモリーから捉える骨格筋の修復・再生メカニズム
3. 学会等名 第74日本体力医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Ono
2. 発表標題 Positional memory governs satellite cell function in adult muscles
3. 学会等名 Frontiers in Myogenesis Meeting: Skeletal Muscle: Development, Regeneration and Disease. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野悠介
2. 発表標題 骨格筋幹細胞におけるポジショナルメモリー
3. 学会等名 第42回日本基礎老化学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野悠介
2. 発表標題 筋サテライト細胞による骨格筋の修復・再生制御
3. 学会等名 レドックス・ライフィノーション第170委員会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fujimaki S , Daiki S, Zammit S, Ono Y
2. 発表標題 Scrib is Required for Skeletal Muscle Hypertrophy Following Mechanical Overload
3. 学会等名 Integrative Physiology of Exercise Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fujimaki S , Daiki S, Zammit S, Ono Y
2. 発表標題 Scrib is required for hypertrophic growth following mechanical overload in skeletal muscle
3. 学会等名 2018 FASEB Science Research Conferences “ Skeletal Muscle Satellite and Stem Cells ” (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yusuke Ono
2. 発表標題 Molecular characteristics of satellite cell heterogeneity both among and within muscles
3. 学会等名 2018 FASEB Science Research Conferences “ Skeletal Muscle Satellite and Stem Cells ” (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野悠介
2. 発表標題 筋可塑性の分子メカニズムからAnti-Agingを考える
3. 学会等名 第55回日本臨床生理学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野悠介
2. 発表標題 筋再生制御による筋量の調節機構
3. 学会等名 第41回日本肥満学会, 第38回日本肥満症治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野悠介
2. 発表標題 サテライト細胞による骨格筋再生制御とその位置依存性
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野悠介
2. 発表標題 時間・空間的視座からの骨格筋再生治療戦略
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

筋発生再生分野
http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/bunya_top/muscle_development_and_regeneration/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------