

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07396

研究課題名（和文）サルコペニア病態におけるサテライト細胞の加齢性変化の寄与

研究課題名（英文）Analysis of the contribution of satellite cells to sarcopenia

研究代表者

松崎 京子（有本京子）（Matsuzaki, Kyoko）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：90568932

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、サルコペニア治療の新しい標的として骨格筋組織幹細胞＝サテライト細胞の加齢性変化に着目した。独自に作製したヒト早老症を模倣したモデルマウス＝HGPSマウスからサテライト細胞を単離し、解析することで、サテライト細胞は加齢に伴って幹細胞性を喪失し、増殖能が低下することを明らかにした。

更にそのメカニズムとしてMycシグナルの低下が原因の一つであることを突き止めた。また、サルコペニアの予防、治療の方法としてサテライト細胞の増殖能を回復させることが重要であると考え、低分子化合物ライブラリーを用いてスクリーニングを行い、サテライト細胞の増殖能を促進する候補化合物を数種類同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サルコペニアは高齢者が要介護になる主要な背景病態の一つであり、少子高齢化が進み、労働人口が減少する日本にとってサルコペニア対策は重要な政策課題である。サルコペニアを予防、治療するためには病態機構の解析が必須であるが、その詳細には不明な点が多く効果的な薬剤は未だ開発されていない。

本研究では、サテライト細胞が加齢に伴い質的に変化することを見出し、サテライト細胞がサルコペニアの発症に強く関わっていることを示唆した。したがって、サテライト細胞がサルコペニア治療の有望なターゲットになると期待され、その社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：In this study, I focused on age-related changes in skeletal muscle tissue stem cells (satellite cells) as a new target for the treatment of sarcopenia. By isolating satellite cells from HGPS mice, a mouse model that mimics human progeria, it was clarified that satellite cells lose stemness and proliferative ability with aging. Furthermore, I found that the decrease of Myc signal is one of the causes of diminished proliferative capacity. In addition, considering that it is important to restore the proliferative ability of satellite cells as a method of preventing and treating sarcopenia, I screened a library of low-molecular-weight compounds and identified several candidate compounds that promote the proliferative ability of satellite cells.

研究分野：細胞生物学

キーワード：サテライト細胞 サルコペニア 老化

1. 研究開始当初の背景

世界有数の長寿国として知られている日本においても、自立して日常生活を支障なく過ごせる期間 = 健康寿命は平均寿命よりも 10 年ほど短く、多くの人が高齢になるにつれて要介護状態になる。高齢者が要介護になる背景病態として、認知症、脳血管障害と並んで加齢に伴う筋萎縮 = サルコペニアが大きな原因となっている。したがって少子高齢化が進み、労働人口が減少する日本にとってサルコペニア対策は重要な政策課題である。

高齢者はサルコペニアに陥ると、歩行スピードが遅延し、杖や手すりが必要になるなど身体機能が著しく低下する。その結果、転倒、骨折のリスクが高まり、伏床時間が延長し(寝たきり状態)運動機会がますます減少するという悪循環が生じ、サルコペニアが進行する。ヒトの骨格筋量は 30 歳代から減少し始め、80 歳では 20 歳代と比較して約 30% もの筋肉が失われると言われている。そのため、従来加齢に伴う骨格筋量の減少は、白髪やシワなどと同じように生理的な現象と捉えられてきた。しかしながら、一定量以上に骨格筋量が減少した場合には、生理的老化現象とは区別すべきであるという考えが徐々に浸透し、サルコペニアは 2016 年に国際疾病分類 ICD-10 に登録され、独立した“疾患”として認められた。その結果、サルコペニアの予防、治療を目指した研究が世界中で活発に行われるようになってきている。

サルコペニアを効果的に予防、治療するためには、病態機構の解析が必須である。これまでの研究から、サルコペニアは骨格筋組成の変化、ホルモンの不均等、タンパク質恒常性の喪失、運動ニューロンの喪失、骨格筋組織幹細胞 = サテライト細胞の加齢性変化、炎症、ミトコンドリア機能の低下など、さまざまな原因によって引き起こされることが報告されている。サルコペニア治療薬として、これまでにタンパク質同化の促進、タンパク質異化の抑制を目指す薬剤の開発が試みられてきたが、未だ実用化には至っておらず、新しいタイプの薬剤の開発が期待されている。

2. 研究の目的

本研究では、サルコペニア治療の新しい標的としてサテライト細胞の加齢性変化に着目する。先行研究の中には、サテライト細胞は骨格筋が激しく損傷された場合の修復時には重要だが、一般的な骨格筋の恒常性維持には重要でないとする報告も存在する。したがって、本研究ではまず、サルコペニア病態の成立にサテライト細胞の加齢性変化が寄与しているか否かを明らかにする。次に、サテライト細胞の加齢性変化を詳細に解析し、サルコペニア治療の標的を探索する。

3. 研究の方法

申請者はこれまでに、ヒトの代表的な早老症として知られる Hutchinson-Gilford-Progeria Syndrome (HGPS) を模倣したモデルマウスを作製した。HGPS は核膜蛋白 LMNA の変異により異常蛋白質である Progerin が発現し、gain-of-function で起こると考えられている。LMNA は機械刺激のセンサーとしての機能を持つため、HGPS では機械的刺激を受けやすい骨格筋、皮膚、血管、心臓に主として病変が生じる。最近の研究から、正常細胞においても紫外線暴露に伴い細胞内に progerin が発現すること、健常高齢者の細胞内にも progerin の発現が見られるようになることが明らかになり、HGPS は生体の生理的老化を加速した状態であると考えられる。

そこで本研究では、作製した HGPS モデルマウスの骨格筋に着目し、HGPS モデルマウスからサテライト細胞を単離し、若齢マウスから単離したサテライト細胞と比較解析することで、サテライト細胞の加齢性変化を明らかにし、サルコペニア治療の標的を探索する。

4. 研究成果

1. HGPS マウスの基礎解析

ヒト HGPS 患者においては、*Lmna* 遺伝子にヘテロに点変異を持つことから、点変異をヘテロに持つマウスを HGPS モデルマウス (15~20 週齢) として利用した。HGPS モデルマウスは寿命が平均 10 ヶ月で、野生型マウスと比較して体重も顕著に少なかった。

HGPS マウス骨格筋の筋力を評価するため、ハンドグリップテストにより握力を測定した結果、HGPS マウスでは、筋力が低下していることがわかった。また、下肢骨格筋から腓腹筋 (Gas) および前脛骨筋 (TA) を単離した結果、HGPS では筋重量が低下していた。更にそれぞれの筋肉の断面積を比較した結果、HGPS において断面積の縮小、すなわち筋萎縮が観察された (図 1)。

次に、サテライト細胞に着目した。静止状態のサテライト細胞のマーカーである Pax7 を特異的に認識する抗体を用いてサテライト細胞を染色した結果、断

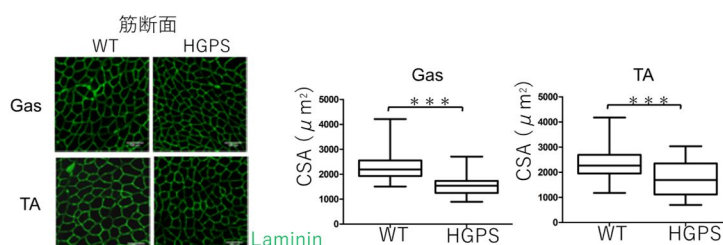


図1

面積の組織染色、単離した筋繊維上での染色のどちらにおいても、HGPS ではサテライト細胞の個数の減少が見られた (図2)。

2. サテライト細胞の単離と解析

マウス下肢から長趾伸筋を抽出し、付着しているサテライト細胞を単離、培養した。その結果野生型マウスから単離したサテライト細胞と比較して、HGPS 由来サテライト細胞では、増殖能が著しく低下していることがわかった。一方、分化を誘導した際の分化能には大きな違いは認められなかった。

更に、HGPS 由来のサテライト細胞は、増殖培地で培養した場合にも分化の亢進が見られた。そこで、HGPS 由来サテライト細胞では幹細胞性が低下しているのではないかと予想し、各種幹細胞マーカーの発現を比較した。その結果、代表的な幹細胞マーカーの全てで発現低下が認められた (図3)。

次に、サテライト細胞が活性化あるいは分化する各ステージで発現することが知られるいくつかのマーカーに関して、その発現レベルを検証した結果、静止期のマーカーである CD34 や Myf5 が HGPS 由来サテライト細胞で低下しているのに対し、活性化サテライト細胞マーカーである Myogenin や分化した筋組織で発現が見られる Atrogin1 や Murf1 の発現は上昇していることがわかった。以上の結果から、HGPS 由来サテライト細胞は幹細胞性が低下し、分化傾向を示すことが示唆された。

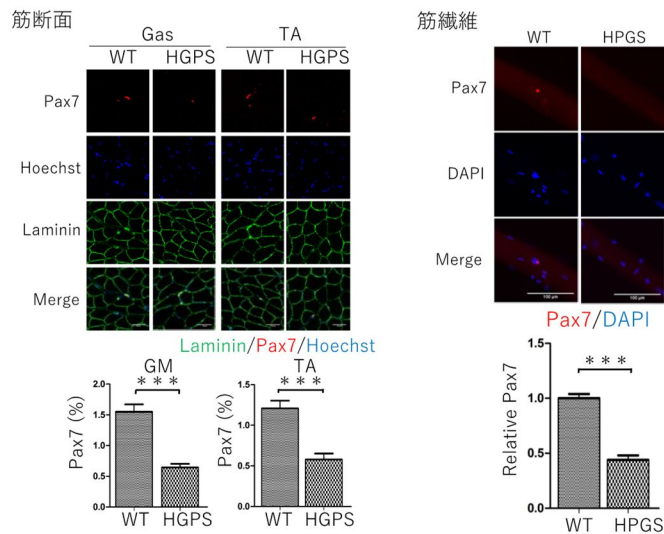


図2

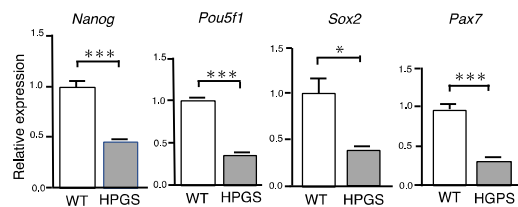


図3

3. HGPS 由来サテライト細胞における遺伝子発現変化

HGPS 由来サテライト細胞における幹細胞性低下の分子機構を解析するため、RNAseq による遺伝子発現解析を行なった。その結果、HGPS 由来サテライト細胞では Myc シグナル関連因子の発現が大きく低下していることがわかった。そこで野生型サテライト細胞において Myc をノックダウンした時の影響を検証したところ、細胞増殖の抑制が見られ、HGPS サテライト細胞と同様に、増殖条件下で培養しても分化の亢進が見られた。反対に、サテライト細胞に Myc を過剰発現させると、細胞増殖が促進されることも確認した。

以上の結果から、HGPS 由来サテライト細胞において、幹細胞性が低下し分化傾向を示す原因の一つとして Myc シグナルの低下が示唆された。更に、生理的老化マウスから単離したサテライト細胞においても、Myc シグナルの低下を確認した。

4. サテライト細胞の増殖を促進する化合物の探索

これまでの結果から、サテライト細胞は加齢に伴い Myc シグナルが低下し、増殖能が低下することが示唆された。一方、Myc はがん遺伝子としても知られているため、Myc を直接過剰発現させ細胞増殖を亢進させる方法は、サルコペニアの治療として現実的ではない。そこで、低分子化合物ライブラリーを用いて、サテライト細胞の増殖を促進する薬剤候補のスクリーニングを行なった。その結果、約 1600 個の化合物の中から、サテライト細胞の増殖を促進する化合物として7種類の化合物を同定した。中でも最も増殖促進効果の高かった化合物 Rolipram に着目して、HGPS 由来サテライト細胞に対する効果と、個体レベルの効果を検証した。その結果、Rolipram はサテライト細胞の増殖を促進し、分化を抑制する傾向が見られたものの、分化への顕著な影響は認められなかった。更に、骨格筋を損傷させ、その回復過程を観察した結果、Rolipram の添加により筋損傷からの回復の促進が見られた

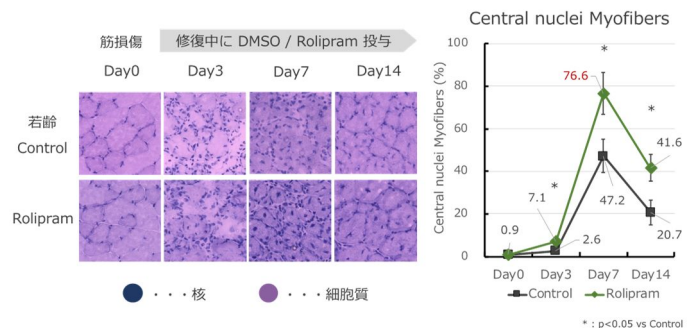


図4

その回復過程を観察した結果、Rolipram の添加により筋損傷からの回復の促進が見られた

(図 4)

5. Rolipram 添加による遺伝子発現パターンの変化

Rolipram による細胞増殖促進効果の作用機序を明らかにするため、Rolipram を添加した時の細胞内遺伝子発現パターンの変化を RNA-seq により解析し、Gene Ontology 解析を行なった。その結果、Rolipram の添加により発現が低下した遺伝子群には、筋分化の促進に参与するものが多く同定された。このことから、Rolipram はサテライト細胞の分化を抑制する方向に作用することで、幹細胞性を維持し、その結果細胞増殖能が促進されと考えられる。実際、造血幹細胞では細胞分化を阻害することで、幹細胞性を維持し、細胞増殖を促進する化合物が報告されている。今後、Rolipram による増殖促進のメカニズムの詳細を明らかにすることで、実際にサルコペニアの予防、治療に効果を示す薬剤として応用可能であるかを検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Sinclair Caleb Kwame, Maruyama Junichi, Nagashima Shunta, Arimoto Matsuzaki Kyoko, Kuleape Joshua Agbemefa, Iwasa Hiroaki, Nishina Hiroshi, Hata Yutaka	4. 巻 113
2. 論文標題 Protein kinase C activation switches YAP1 from TEAD mediated signaling to p73 mediated signaling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1305 ~ 1320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15285	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 Kuleape Joshua Agbemefa, Hossain Shakhawoat, Sinclair Caleb Kwame, Shimizu Takanobu, Iwasa Hiroaki, Maruyama Junichi, Arimoto-Matsuzaki Kyoko, Nishina Hiroshi, Hata Yutaka	4. 巻 42
2. 論文標題 DNA Damage Triggers the Nuclear Accumulation of RASSF6 Tumor Suppressor Protein via CDK9 and BAF53 To Regulate p53 Target Gene Transcription	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MCB.00310-21	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 Morishita Mayu, Arimoto Matsuzaki Kyoko, Kitamura Masami, Niimura Kyohei, Iwasa Hiroaki, Maruyama Junichi, Hiraoka Yuichi, Yamamoto Kohei, Kitagawa Masanobu, Miyamura Norio, Nishina Hiroshi, Hata Yutaka	4. 巻 26
2. 論文標題 Characterization of mouse embryonic fibroblasts derived from <i>Rassf6</i> knockout mice shows the implication of <i>Rassf6</i> in the regulation of NF- κ B signaling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 999 ~ 1013
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12901	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 Nagashima Shunta, Maruyama Junichi, Honda Kaori, Kondoh Yasumitsu, Osada Hiroyuki, Nawa Makiko, Nakahama Ken-ichi, Ishigami-Yuasa Mari, Kagechika Hiroyuki, Sugimura Haruhiko, Iwasa Hiroaki, Arimoto-Matsuzaki Kyoko, Nishina Hiroshi, Hata Yutaka	4. 巻 297
2. 論文標題 CSE1L promotes nuclear accumulation of transcriptional coactivator TAZ and enhances invasiveness of human cancer cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 100803 ~ 100803
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.100803	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4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森下 真由, 松崎 京子, 北村 雅美, 新村 恭平, 岩佐 宏晃, 丸山 順一, 平岡 優一, 山本 浩平, 北川 昌伸, 宮村 憲央, 仁科 博史
2. 発表標題 Rassf6欠損マウスにおいて腫瘍抑制分子Rassf6はNF- Bシグナルの制御に関する
3. 学会等名 第95回 日本生化学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松崎 京子, Lu Dai, 新村 恭平, 森元 悠矢, 平岡 優一, 山本 浩平, 畑 裕
2. 発表標題 早老症モデルマウスを用いた骨格筋幹細胞の加齢性変化の解析
3. 学会等名 第94回 日本生化学大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松崎京子
2. 発表標題 Analysis of satellite cells using aging model mice
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Lu DAI, Kyoko ARIMOTO-MATSUZAKI, Kohei YAMAMOTO, Yuichi HIRAOKA, Yutaka HATA
2. 発表標題 Characterization of Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome mouse as a model to study sarcopenia.
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------