

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07879

研究課題名(和文) RAGEを介したグルコルチコイド/炎症による筋萎縮機序の解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of RAGE-Mediated Glucocorticoid / Inflammation-Driven Muscle Atrophy Mechanisms and Development of Novel Therapies.

研究代表者

庄司 拓仁 (Shoji, Takuhito)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：40624044

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、終末糖化産物受容体(RAGE)が、骨格筋の萎縮に関与するという仮説を提唱し、その機序を含めてRAGEの意義を解析する。8週齢のマウスに4週間、Dexamethasone (DEX)負荷を行い、腓腹筋筋量/体重比を比較した。野生型マウス(WT)では、DEX負荷によりWTコントロールと比較して腓腹筋筋量/体重比は有意な低値を示したが、RAGE欠失マウス(KO)へのDEX負荷ではKOコントロールと比較してむしろ高値を示した。DEX負荷後の骨格筋遺伝子発現解析では、ステロイド筋萎縮に関わるKlf15・REDD1の関与が示唆され、RAGEを介した骨格筋萎縮がこの経路を介することが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会を迎えた日本において、筋萎縮・サルコペニアの克服は、高齢者のQOLを格段に向上させるのみならず、日本社会全体へ利益をもたらす。筋萎縮・サルコペニアに関する研究は、筋タンパクの異化/同化バランスの異化側へのシフト、筋修復能の低下、慢性炎症の持続などを中心に重要な知見が集積されつつある。近年増加している糖尿病や肥満は慢性炎症や酸化ストレス・AGE蓄積を通して筋肉量低下や筋萎縮に影響する。一方、グルコルチコイドによる筋萎縮の病態解明も進んできているが、解明には至っておらず、我々の進めるRAGEによる筋萎縮の機序解明が、筋萎縮・サルコペニアの全体的な機序解明につながる一歩になる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the involvement of receptor for advanced glycation end products (RAGE) in skeletal muscle atrophy induced by glucocorticoid.

In vivo, 8 week-old mice were challenged with dexamethasone (DEX) for 4 weeks and compared the gastrocnemius muscle mass / body weight ratio between wild-type mice (WT) and RAGE-deficient mice (KO). In WT mice, DEX loading resulted in a significantly lower gastrocnemius muscle mass / body weight ratio compared to WT control, whereas DEX loading of KO mice resulted in a rather higher value compared to KO control. Skeletal muscle gene expression analysis after DEX loading suggested the involvement of Klf15 and REDD1, which are involved in steroid muscle atrophy, and RAGE-mediated skeletal muscle atrophy was considered to be mediated by these pathways.

研究分野：医学

キーワード：RAGE 骨格筋 ステロイド 筋萎縮 グルコルチコイド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)内因性のグルココルチコイドは、慢性的な感染症・悪液質・糖尿病においても、筋萎縮を来し、患者の QOL や予後を悪化させるため、その理解は治療ターゲットを確立するために極めて重要である。

(2)骨格筋はグルココルチコイド標的臓器のひとつである。薬理量のグルココルチコイド使用によるステロイド筋症は代表的副作用であるが、その機序には不明な点が多い。

2. 研究の目的

近年骨格筋萎縮やサルコペニアといった概念が確立されたこともあり、ステロイド筋症が注目されてきている。この作用機序として骨格筋ではグルココルチコイドレセプターと mTORC1 のクロストークによって異化と同化のバランスが生理的な状態では維持されているが、ステロイド筋症ではこのバランスが崩れることで発症すると報告されている。しかし、現在まで終末糖化産物受容体(Receptor for Advanced Glycation End-products (RAGE))が関与するとして報告は全くない。本研究では RAGE がステロイド筋症に関与するという仮説を提唱し、その機序を検討する。

3. 研究の方法

Dexamethasone (DEX) 負荷による骨格筋萎縮マウスモデル確立と RAGE の関与
DEX 負荷に対する骨格筋組織学的解析

DEX 負荷に対する骨格筋の遺伝子発現からみた RAGE による骨格筋萎縮調節機構の解明の3点に関し、in vivo マウス実験系 (RAGE 野生型マウスと RAGE 欠失マウス) として DEX 負荷マウスモデルでの検討を行った。

4. 研究成果

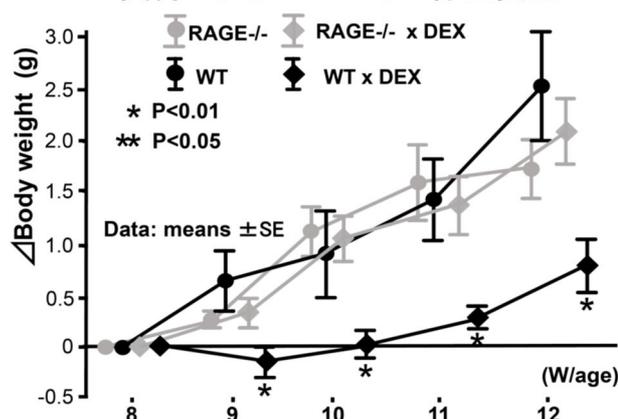
(1) RAGE 野生型マウスへの DEX 負荷では体重増加が有意に乏しいが、この現象は RAGE 欠失マウスでは認められなかった。

In vivo 実験では、8週齢のマウスに4週間、DEX (1mg/kg・BW、隔日投与、腹腔内投与) 負荷を行い体重の変化および腓腹筋筋量/体重比を比較した。

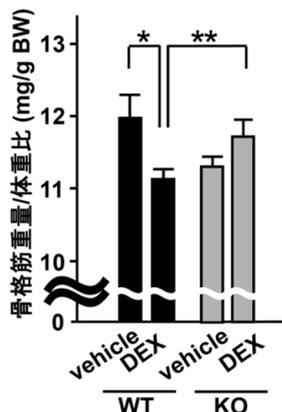
RAGE 野生型マウスコントロール群と比較して RAGE 野生型マウスへの DEX 負荷群では体重増加が有意に乏しい。一方で、RAGE 欠失マウスコントロール群と比較して RAGE 欠失マウスへの DEX 負荷群では体重増加の有意な減少は認めない。

BW (g)
RAGE WT Control 群: 2.50±0.53
RAGE WT DEX 群: 0.77±0.26
RAGE KO Control 群: 1.72±0.28
RAGE KO DEX 群: 2.08±0.32

DEX負荷によるRAGEマウス体重変化



RAGE 野生型マウスでは DEX 負荷によりそのコントロール群と比較して腓腹筋筋量/体重比が有意な低値を示した。RAGE 欠失マウスでは DEX 負荷によりそのコントロール群と比較して腓腹筋筋量/体重比が高値である傾向を示した。

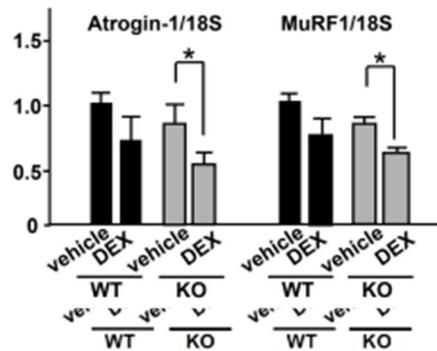


腓腹筋筋量/体重比 (mg/g BW)
RAGE WT Control 群: 12.03±0.21
RAGE WT DEX 群: 11.15±0.13
RAGE KO Control 群: 11.31±0.08
RAGE KO DEX 群: 11.71±0.22

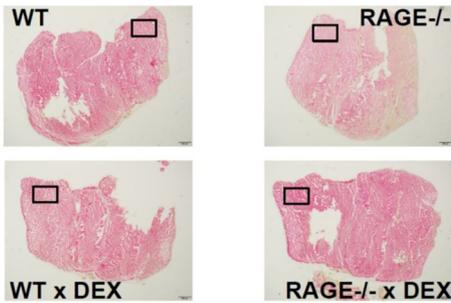
(2) DEX 負荷によるマウスモデルがグルココルチコイド過剰疾患モデル動物となっているかどうかの確認

RAGE 野生型マウス・RAGE 欠失マウスともに DEX 負荷によりそれぞれのコントロール群と比較して脂肪組織の有意な増加を認めた。また RAGE 野生型マウスへの DEX 負荷により腓腹筋筋量/体重比が有意に低下することから、グルココルチコイド過剰疾患モデル動物であることが確認された。

RAGE 骨格筋遺伝子発現 (Real time-PCR)

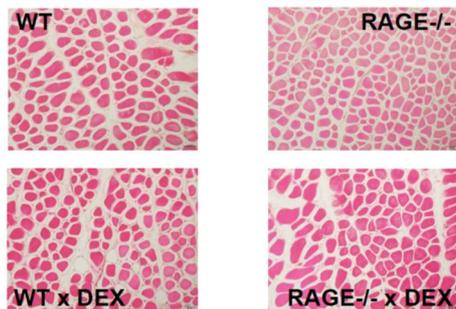


結果 (RAGEマウス腓腹筋, HE弱拡)



(3) RAGE 野生型マウスへの DEX 負荷ではコントロール群と比較して筋繊維径が低値だったが、この現象は RAGE 欠失マウスでは認められなかった。

結果 (RAGEマウス腓腹筋, HE強拡)



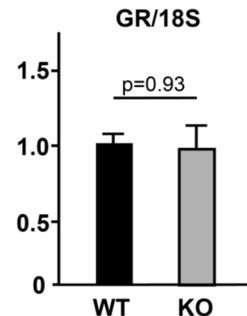
RAGE 野生型マウスコントロール群と比較して RAGE 野生型マウスへの DEX 負荷では筋繊維径が低値を示した。一方で、RAGE 欠失マウスコントロール群と比較して RAGE 欠失マウスへの DEX 負荷では筋繊維径低値は認めず、むしろ高値である傾向を示した。

左上図の部分を拡大したものが、左下図となる。

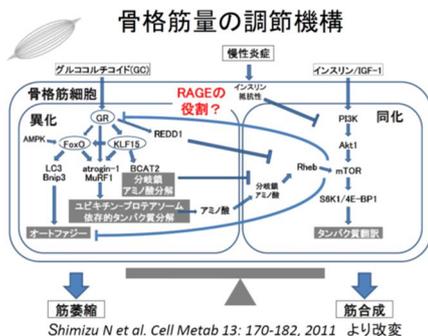
(4) RAGE 野生型マウス・RAGE 欠失マウスへの DEX 負荷によるタンパク異化にかかわる遺伝子発現

前提条件として、RAGE 野生型マウス・RAGE 欠失マウスの腓腹筋 RNA を用いた Real time-PCR では、グルココルチコイドシグナルに関わる GR 発現には有意差を認めなかった。

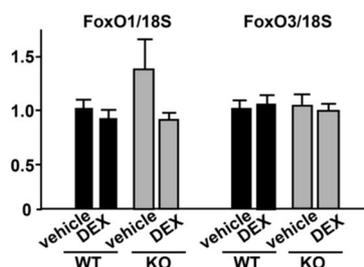
RAGE 骨格筋 GR 発現 (Real time-PCR)



主にタンパク異化にかかわる FoxO, Atrogin-1, MuRF-1, KLF15, REDD1 の mRNA 発現の確認を行った。



RAGE 骨格筋遺伝子発現 (Real time-PCR)

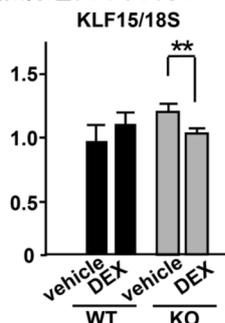


オートファジー系によるタンパク異化は FoxO により正に制御されているが、RAGE 野生型マウス・RAGE 欠失マウスへの DEX 負荷による骨格筋遺伝子の有意な mRNA の変化は認めなかった。

ユビキチン プロテアソーム系によるタンパク異化は Atrogin-1, MuRF1 により正に制御

されているが、RAGE 野生型マウス・RAGE 欠失マウスへの DEX 負荷により、RAGE 欠失マウスのみコントロール群と比較して骨格筋遺伝子の有意な mRNA の低下を認めた。

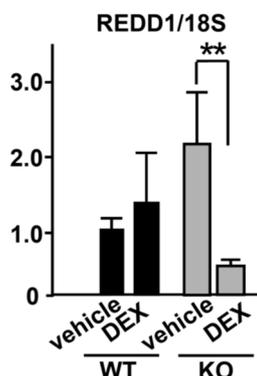
RAGE骨格筋遺伝子発現 (Real time-PCR)



転写因子 KLF15 も、FoxO や MuRF1 と並ぶ GR の標的遺伝子であり、骨格筋の異化亢進に寄与するとされている。RAGE 野生型マウス・RAGE 欠失マウスへの DEX 負荷では、RAGE 欠失マウスのみコントロール群と比較して骨格筋遺伝子の有意な mRNA の低下を認めた。

REDD1 も GR 標的遺伝子であり、REDD1 タンパクは mTORC1 抑制制御因子である TSC 複合体を活性化す

RAGE骨格筋遺伝子発現 (Real time-PCR)



ることによって mTORC1 を抑制しタンパク合成を抑制するとされている。RAGE 野生型マウス・RAGE 欠失マウスへの DEX 負荷では、RAGE 欠失マウスのみコントロール群と比較して骨格筋遺伝子の有意な mRNA の低下を認めた。

(5)ここまでの結論

DEX 負荷による骨格筋萎縮マウスモデルは確立された。骨格筋萎縮への RAGE の関与に関して、骨格筋組織学的解析結果および骨格筋の遺伝子発現から RAGE による骨格筋萎縮調節機構としては、Atrogin-1, MuRF1, KLF15 などタンパク異化による経路と、GR 標的遺伝子の一つである REDD1 による栄養センサー mTORC1 を介するタンパク合成経路への関与が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 庄司 拓仁
2. 発表標題 終末糖化産物受容体(RAGE)はグルコシルチコイドによる骨格筋委縮に關与する
3. 学会等名 第94回日本内分沁学会学術總會
4. 発表年 2021年

〔圖書〕 計0件

〔産業財産權〕

〔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
研究協力者	叶 大森 (YE Dasen)	兵庫医科大学	
研究協力者	牛谷 友栄 (USHITANI Tomoe)	兵庫医科大学	

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. 本研究に關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
---------	---------