

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08973

研究課題名(和文) 骨格筋グルココルチコイド作用と体組成・エネルギー代謝制御に関する研究

研究課題名(英文) A study of the relationships between glucocorticoids action in the skeletal muscle and the regulation of the body composition and energy metabolism

研究代表者

吉川 賢忠 (Yoshikawa, Noritada)

東京大学・医科学研究所・特任准教授

研究者番号：70396878

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)：本研究は、骨格筋肥大と脂肪萎縮というエネルギー貯蔵の空間的変容をきたす骨格筋特異的グルココルチコイド受容体欠損マウス(GRmKO)を様々な条件下で飼育してマルチオミクス解析を駆使し、多臓器連関による個体レベルのエネルギー代謝制御機構を骨格筋グルココルチコイド作用との関連性から明らかにすることを目的とした。野生型マウスとGRmKOマウスでは代謝ネットワークに差異が認められる一方、エネルギー貯蔵変容(体組成変化)に関わらず堅固に保たれる代謝ネットワークが存在する可能性が示された。また、これらの代謝ネットワークやその鍵分子は加齢や性による影響を受ける可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、骨格筋グルココルチコイド作用に着目して、エネルギーフローの揺らぎを有するモデル動物と数理科学的手法を駆使してその解明を目指すものであり、エネルギー代謝システム・代謝可塑性の包括的理解、肥満や糖尿病、サルコペニア(加齢性筋萎縮)などの代謝関連疾患の合理的な予測・予防法および治療戦略の創成基盤の構築につながる。また、性差や生命予後のバイオマーカーとなる因子の発見も期待される。個人のゲノム情報などとの結合によって代謝疾患の合理的な個別化医療の確立に繋がる可能性も大である。

研究成果の概要(英文)：In this study, skeletal muscle-specific glucocorticoid receptor-knockout mice (GRmKO), which cause spatial changes in energy storage such as skeletal muscle hypertrophy and fat atrophy, were bred under various conditions and studied by multi-omics approaches. The purpose of this study is to clarify the mechanism of such whole-body energy metabolism, especially its relationship with glucocorticoid action in the skeletal muscle. While differences in metabolic networks were observed between wild-type and GRmKO mice, it was shown that there may be a metabolic network that is firmly maintained regardless of energy storage changes (changes in body composition). It has also been shown that these metabolic networks and their key molecules may be affected by aging and sex.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：グルココルチコイド グルココルチコイド受容体 骨格筋代謝 エネルギー代謝 多臓器連関 性差 加齢

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、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

個体は栄養状態や身体活動状況など様々な変化に応じてエネルギー代謝を柔軟に変化させて恒常性を維持しており(代謝可塑性)その解明は恒常性維持機構の本質的理解に必須である(*Cell Metab* 2017;25:1027)。代謝可塑性の根底には、「内外の多様な環境変化に応じて、エネルギー貯蔵・利用の振り分けを合理的に制御する仕組み」があると考えられる。ここで、体内で代謝によってエネルギーに変換できる物質は、主に脂質として脂肪組織に、タンパク質として骨格筋に貯蔵され、血中グルコースは2-30 kcal 程度しか存在しない。したがって、生命活動に要するグルコースの安定供給と過剰供給防止のためには、合理的エネルギー代謝制御を可能とする体組成構築機構が必要である。たとえば、ヒトでは過剰なエネルギーが骨格筋などに蛋白質として貯蔵される(肥大する)ことはなく、その大部分は脂質として脂肪組織に蓄積され、体組成は肥満に傾く。この臓器別エネルギー貯蔵や体組成の制御機構は、したがって、生活習慣病などの分子基盤を構成することは自明であるが、その詳細は未解明であり、医学生物学における重要な「問い」である。

エネルギー代謝に関する数理科学研究は、質量分析技術、遺伝子解析技術の革新により、近年活発化している。代謝産物時系列データに基づく代謝反応ネットワーク推定や(*PLoS One*. 2013;8:e51212, *Nucleic Acids Res.* 2016;44:W205)、プロテオームの絶対定量にかかるオミクス解析技術の開発と疾患応用(*Nat Methods*. 2017;14:251)、インスリンシグナルのリン酸化プロテオミクスとメタボロミクスのトランスオミクス解析(*Cell Rep.* 2014;8:1171)や、ヒト肥満時の血清メタボローム・マイクロバイオーム解析(*Nat Med.* 2017;23:859)など、測定法および解析法の発展とともに生命のシステム理解が進んできた。しかし、いずれも、病態に即したモデルがないこと、データ階層が限定的なこと、などのため医学的意義の確立には至っていない。既存のデータベースを用いた骨格筋-肝臓-脂肪組織の連関のシミュレーションや(*BMC Syst Biol.* 2011;5:180)、多臓器の潜在的な連関とその仲介産物の推定の試みもあるが(*PLoS One.* 2014;9:e100963)、多くはシングルオミクス解析である。

ここで、副腎皮質ホルモンであるグルココルチコイド(GC)は生体の恒常性維持に必須のホルモンであるが、とくに、その骨格筋蛋白質異化作用の生理的意義をはじめ詳細は明らかではない。報告者らは、GC過剰によるクッシング症候群が骨格筋萎縮と肥満という、いわば体組成の攪乱をきたした状態であることに着目した。さらに、報告者らが開発した骨格筋特異的にGC受容体(GR)を欠損させたマウスでは野生型に比して骨格筋量は増大し脂肪量は減少していたことから(*Nat Commun.* 2015;6:6693)、骨格筋GRを介したGC作用がクッシング症候群のみならず健常な状態においても体組成を制御している可能性が示唆された。これらの成果は、エネルギー貯蔵変容が人為的に操作可能であることを示し、クッシング症候群やGCの副作用を克服する糸口となるとも言える。報告者らは、さらにエネルギー貯蔵変容機構の解明を進め、骨格筋が肝臓を介して脂肪組織と連関すること、その臓器連関に血中アラニンやFGF21などが関わること、生命活動に重要な血中のグルコース量は堅固に維持されること、を見出した(*Nat Commun.* 2015;6:6693)。すなわち、報告者らは、骨格筋におけるGC作用に焦点をあててエネルギー貯蔵変容モデルを確立し、臓器連関とそれを担う因子を発見してエネルギー代謝の自発的秩序形成に思い至り、エネルギー代謝制御機構を数理科学的に解明できる可能性を見出した。

## 2 . 研究の目的

以上のような背景より、本研究は、自家開発した動物モデルを用いた骨格筋 GC 作用に関する独自の研究成果を基盤に、骨格筋と骨格筋 GR に焦点をあて、臓器別エネルギー貯蔵・体組成構築機構を明らかにして多臓器連関による個体レベルのエネルギー代謝制御機構を解明し、代謝可塑性の本質的理解に迫ることを目的とする。

## 3 . 研究の方法

本研究の骨格は、GC 作用に関するこれまでのトランスクリプトーム解析中心の研究を飛躍的に発展させ、多臓器のマルチ~トランスオミクス解析によって GC によるエネルギー代謝システムを包括的に理解することである。

具体的には、野生型マウスと、GRmKO マウスについて、様々な条件（雌雄、週齢、栄養負荷）のもとで、体組成や各種代謝指標、骨格筋、脂肪組織、肝臓それぞれについてメタボローム、トランスクリプトーム、血液のメタボロームを採取する。得られたデータについてトランスオミクス解析を行い、関連解析、数理モデル構築やシミュレーションを通して、体組成変容に伴う構成的なネットワーク変容と、過食肥満誘導に対して発動される代謝の適応システム（鍵となる因子やネットワーク）を明らかにする。数理解析で見出された候補因子・ネットワークについて、関連臓器の蛋白発現や遺伝子発現などを分子生物学的手法（ノックアウトマウスの作成を含む）で検証する。

上記の検討から、骨格筋における GC 作用によるエネルギー貯蔵制御を担う重要分子・ネットワークを同定し、エネルギー過剰など種々の変動への適応基盤となる機構を解明する。疾患応用についても、エネルギー代謝関連疾患の疾病形成過程において介入可能な機序を検証し、治療戦略創成につなげる。性差や生命予後のバイオマーカーとなる因子（あるいはその組み合わせ）の発見も行う。

## 4 . 研究成果

### (A) 各種飼育条件における GRmKO マウスのオミクスデータ取得

過食負荷、GC 負荷、飢餓条件下、通常飼育下の若年および高齢の雌雄コントロールマウスと GRmKO マウスについて、摂餌量、体組成、臓器重量、組織学的評価、血液・尿生化学、エネルギー消費量、運動耐容能の基本的データを取得し、マルチオミクスデータを収集した。すなわち、血液よりメタボローム、また、骨格筋、肝臓、脂肪組織よりトランスクリプトーム、メタボロームデータを得た。なお、若年オスマウスでは、過食肥満モデル（ob/ob マウスとの交配）において GRmKO の耐糖能改善効果を見出したため、当該マウスは過栄養に対する代謝適応の解析に有意義と考えられ、同様にオミクスデータを採取した。耐糖能の評価に際しては、各種負荷試験（糖負荷、インスリン負荷、ピルビン酸負荷）もあわせて行った。メタボロームは CE-TOFMS と LC-TOFMS によりイオン性・脂質代謝物質の双方の網羅的データを得た。トランスクリプトームは RNAseq で解析した。

### (B) オミクスデータ解析および数理モデル構築とシミュレーション

基本的な代謝に関わるデータとともに、オミクスデータ(骨格筋、肝臓、脂肪組織、血液)に関してトランスオミクス解析を行った。骨格筋、肝臓、脂肪組織は血液を介して連結されたモデルを考慮し、代謝フラックスのシミュレーションを行った。

その結果、コントロールマウスと GRmKO マウスを比較し、各飼育条件毎に差異のある代謝ネットワーク候補ならびに、エネルギー貯蔵変容(肥満・筋萎縮などの体組成変化)に関わらず堅固に保たれる代謝ネットワーク候補が抽出された。すなわち、固体のエネルギー状態や骨格筋 GC 作用によって変動する代謝ネットワークとそれらに影響を受けない代謝ネットワークが存在し、栄養環境・代謝環境に影響を受けるホメオスタシス制御が骨格筋 GC 作用と連動しつつダイナミックに変容していることが示された。さらに、各種数理モデルの構築・シミュレーションを通して、その連関に重要な因子・ネットワークの絞り込みを行った。以上の解析に主成分分析、クラスター分析、パスウェイ解析を適用し、体組成変容に伴う構成的なネットワーク変容、さらに過食肥満によって発動される代謝の適応システム、高齢マウスの性差、に関連する代謝ネットワーク候補およびそれらのシステムの鍵となる候補因子を同定した。エネルギー代謝調節障害/肥満においては、インスリンシグナル系が骨格筋 GR 依存性転写制御系と密接にクロストークしていることが明らかとなった。また、これらの代謝ネットワークやその鍵分子、またその相互作用は加齢や性による影響を受ける可能性が示された。

#### (C) 見出された候補因子やシグナル、ネットワークに着目した検証実験

候補因子について、関連臓器の蛋白発現や遺伝子発現などを分子生物学的手法で解析した。まず培養細胞系において、補充・阻害、ノックイン・ノックダウン系を用いて、トランスクリプトーム、メタボロームデータを取得し、エネルギー貯蔵、エネルギー代謝関連の表現形、生命予後への影響を解析した。さらに、マウスにおいて候補因子の補充・阻害、ノックイン・ノックダウン系を用いて、トランスクリプトーム、メタボロームデータを取得した。

上記の検討から、骨格筋 GC 作用と精緻に連動しつつエネルギー貯蔵制御を担う重要分子・ネットワーク候補が同定され、エネルギー過剰など種々の外的内的変動への適応メカニズム解明の基盤となる結果と考えられた。これらは個体レベルでのより包括的なマルチオミクス解析のためのエピゲノムやプロテオーム、リン酸化プロテオーム解析の基盤ともなる結果と考えられた。

かかるモデルはエネルギー代謝を調節する重要な要素・因子を発見する戦略的ツールとしても貢献し、生活習慣病やサルコペニア(加齢性筋萎縮)などの疾病への介入・バイオマーカー開発による予測法確立に繋がることも期待される。また、個人のゲノム情報などとの結合によって代謝疾患の合理的な個別化医療の確立に繋がる可能性も大である。

## 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 3件）

1. 著者名 Yamamoto Motohisa, Nojima Masanori, Kamekura Ryuta, Kuribara-Souta Akiko, Uehara Masaaki, Yamazaki Hiroki, Yoshikawa Noritada, et al.	4. 巻 24
2. 論文標題 The differential diagnosis of IgG4-related disease based on machine learning	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arthritis Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 71
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13075-022-02752-7	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 Yoshikawa Noritada, Oda Aya, Yamazaki Hiroki, Yamamoto Motohisa, Kuribara-Souta Akiko, Uehara Masaaki, Tanaka Hirotochi	4. 巻 46
2. 論文標題 The Influence of Glucocorticoid Receptor on Sex Differences of Gene Expression Profile in Skeletal Muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrine Research	6. 最初と最後の頁 1~15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/07435800.2021.1884874	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamazaki Hiroki, Nishimura Mayu, Uehara Masaaki, Kuribara-Souta Akiko, Yamamoto Motohisa, Yoshikawa Noritada, Morohashi Ken-Ichirou, Tanaka Hirotochi	4. 巻 320
2. 論文標題 Eicosapentaenoic acid changes muscle transcriptome and intervenes in aging-related fiber type transition in male mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 E346~E358
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpendo.00184.2020	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 YOSHIKAWA Noritada, YAMAMOTO Motohisa, KURIBARA-SOUTA Akiko, UEHARA Masaaki, YAMAZAKI Hiroki, TANAKA Hirotochi	4. 巻 67
2. 論文標題 Amino Acid Profile in 18 Patients with Rheumatic Diseases Treated with Glucocorticoids and BCAAs	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 180~188
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3177/jnsv.67.180	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Furuhata Ryogo, Kabe Yasuaki, Kanai Ayaka, Sugiura Yuki, Tsugawa Hitoshi, Sugiyama Eiji, Hirai Miwa, Yamamoto Takehiro, Koike Ikko, Yoshikawa Noritada, Tanaka Hirotooshi, Koseki Masahiro, Nakae Jun, Matsumoto Morio, Nakamura Masaya, Suematsu Makoto	4. 巻 3
2. 論文標題 Progesterone receptor membrane associated component 1 enhances obesity progression in mice by facilitating lipid accumulation in adipocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-01202-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uehara Masaaki, Yamazaki Hiroki, Yoshikawa Noritada, Kuribara-Souta Akiko, Tanaka Hirotooshi	4. 巻 67
2. 論文標題 Correlation among body composition and metabolic regulation in a male mouse model of Cushing's syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 21 ~ 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ19-0205	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 Matsuhashi Tomohiro, Endo Jin, Katsumata Yoshinori, Yamamoto Tsunehisa, Shimizu Noriaki, Yoshikawa Noritada, Kataoka Masaharu, Isobe Sarasa, Moriyama Hidenori, Goto Shinichi, Fukuda Keiichi, Tanaka Hirotooshi, Sano Motoaki	4. 巻 130
2. 論文標題 Pressure overload inhibits glucocorticoid receptor transcriptional activity in cardiomyocytes and promotes pathological cardiac hypertrophy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Molecular and Cellular Cardiology	6. 最初と最後の頁 122 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yjmcc.2019.03.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 上原 昌晃, 山崎 広貴, 吉川 賢忠, 山本 元久, 栗原 明子, 田中 廣壽
2. 発表標題 グルココルチコイドは骨格筋を通じて加齢に伴う体組成変化とエネルギー代謝異常を制御する
3. 学会等名 第49回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本 元久, 上原 昌晃, 山崎 広貴, 吉川 賢忠, 水島 伊知郎, 庄田 宏文, 吉藤 元, 川野 充弘, 高橋 裕樹, 藤尾 圭志, 田中 廣壽
2. 発表標題 機械学習に基づくIgG4関連疾患の診断支援の試み
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎 広貴, 栗原 明子, 上原 昌晃, 西村 茉優, 山本 元久, 吉川 賢忠, 田中 廣壽
2. 発表標題 ob/obマウスの代謝異常における骨格筋グルコシルコリチコイド受容体の意義の解析
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉川 賢忠, 小田 彩, 上原 昌晃, 西村 茉優, 山崎 広貴, 山本 元久, 松原 絵里佳, 栗原 明子, 田中 廣壽
2. 発表標題 骨格筋遺伝子発現に与える性とグルコシルコリチコイド受容体の影響の解析
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 元久, 山崎 広貴, 松原 絵里佳, 上原 昌晃, 吉川 賢忠, 青地 翠己, 鈴木 知佐子, 水島 伊知郎, 川野 充弘, 高橋 裕樹, 田中 廣壽
2. 発表標題 機械学習に基づくIgG4関連疾患の他臓器病変予測診断支援の試み
3. 学会等名 第64回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉川賢忠、小田 彩、上原昌晃、西村茉優、山崎広貴、山本元久、松原絵里佳、栗原明子、田中廣壽
2. 発表標題 骨格筋におけるグルココルチコイド受容体標的遺伝子とその性差の解明
3. 学会等名 第27回日本ステロイドホルモン学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上原 昌晃, 山崎 広貴, 吉川 賢忠, 山本 元久, 田中 廣壽
2. 発表標題 加齢に伴う体組成とエネルギー代謝の変容における骨格筋-肝臓-脂肪連関
3. 学会等名 第27回日本ステロイドホルモン学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎 広貴, 上原 昌晃, 栗原 明子, 西村 茉優, 小田 彩, 山本 元久, 吉川 賢忠, 田中 廣壽
2. 発表標題 骨格筋および骨格筋へのグルココルチコイド作用に関する条件依存的変容の解析
3. 学会等名 第27回日本ステロイドホルモン学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川賢忠、小田彩、上原昌晃、西村茉優、山崎広貴、山本元久、松原絵里佳、栗原明子、田中廣壽
2. 発表標題 骨格筋遺伝子発現の性差と骨格筋グルココルチコイド受容体（GR）の影響の解析
3. 学会等名 日本筋学会第5回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎 広貴, 栗原 明子[宗田], 吉川 賢忠, 上原 昌晃, 西村 茉優, 山本 元久, 田中 廣壽
2. 発表標題 肥満に伴う代謝異常と骨格筋トランスクリプトームとの関連の解析
3. 学会等名 日本筋学会第5回学術集会
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
---------	---------