

令和 5 年 5 月 11 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K11527

研究課題名(和文) 高コレステロール血症治療薬スタチンは筋肥大を抑制するか？

研究課題名(英文) Do statins for hypercholesterolemia inhibit muscle hypertrophy

研究代表者

川田 茂雄 (KAWADA, Shigeo)

帝京大学・医療技術学部・准教授

研究者番号：20376601

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)：脂質異常症の治療薬としてHMG-CoA還元酵素阻害薬であるスタチン系薬剤(以下、スタチン)が用いられているが、横紋筋融解といった骨格筋に対する副作用が生じる場合もあることが報告されている。本研究では、明らかな細胞毒性を示さない範囲のスタチン量の場合、分子レベルで細胞に対してネガティブな反応が生じていないのかをマウス筋芽細胞由来の細胞株であるC2C12細胞を用いて検討した。本研究では、濃度依存的にスタチンは細胞毒性を示すが、細胞増殖能に対して明らかな細胞毒性を示さない範囲であれば、分子レベルでもコントロール群と比較して有意にネガティブな作用を示さないことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂質異常症の治療薬としてスタチンが広く用いられている。スタチンは血中コレステロール濃度の低下に対して著効であるが、横紋筋融解症や筋痛症といった副作用も報告されている。本研究ではマウス骨格筋の幹細胞であるC2C12細胞を用いて検討したところ、形態的に細胞毒性が現われていない範囲の添加量であれば、分子レベルにおいてもネガティブな影響が出ないことを明らかにした。今後、様々な条件で検討することにより、現在臨床で用いられている範囲内のスタチン量であれば細胞レベルでも安全であることを裏付ける知見が得られるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：Statins, which are HMG-CoA reductase inhibitors, are used for the treatment of dyslipidemia, but it has been reported that they may cause side effects in skeletal muscle, such as rhabdomyolysis and myalgia. In this study, we examined whether statin doses that did not cause obvious cytotoxicity produced negative cellular responses at the molecular level using C2C12 cells, a cell line derived from mouse myoblasts. The study showed that statins are cytotoxic in a concentration-dependent manner, but that statins do not have a significant negative effect on cells at the molecular level compared to the control group, as long as they are in the range that does not show obvious cytotoxicity on cell proliferative capacity.

研究分野：分子生物学

キーワード：骨格筋 メバロンサン経路 筋再生 脂質異常症

1. 研究開始当初の背景

世界の肥満人口は 2013 年には 21 億人に達し(ワシントン大学健康指標評価研究所による報告)、30 年前の約 2.5 倍となっている。肥満者の増加と歩調を合わせるように、脂質異常症患者も増加している。脂質異常症の一つである高コレステロール血症は心血管イベントの発生と密接な関係があることが知られ、その治療として 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル CoA(HMG-CoA)還元酵素阻害薬(スタチン)が用いられている。スタチンには、低頻度ではあるが、横紋筋融解症といった筋障害の副作用が生じる場合もある。これはスタチンがコレステロール合成だけではなく、タンパク質のプレニル化も阻害することが一因と考えられている。タンパク質のプレニル化阻害の程度がある閾値を超えてしまうと細胞形態や機能を正常に維持できないと考えられている。スタチン服用により、たとえ明確な細胞毒性を示さない範囲であっても分子レベルではどのような変化が生じているのかは不明である。そこで、スタチンの安全な服用のためにも、細胞に対して明確な細胞毒性を示さないスタチン量の場合に細胞に対して潜在的にどのような影響が出るのかを明らかにすることが重要であると考えられる。

2. 研究の目的

スタチンには水溶性、脂溶性のものがあることが知られている。スタチンには脂溶性の程度が異なる複数種類の薬剤があり、脂溶性が高いものほど細胞毒性も高いことが報告されている。一方で、脂溶性が高いものほどコレステロール低下作用が高いというわけではないことも報告されている。このことは、スタチンの薬理作用の強弱は単純にスタチンの細胞内蓄積量だけで決まるものではないことを示唆している。そこで、本研究では水溶性、脂溶性のスタチンを用いて、容量依存的に生じると考えられる細胞毒性の違いがあるかを検討すること、また、ネクローシスやアポトーシスといった明確な細胞毒性を示さない範囲のスタチン量であれば細胞増殖能や分化能といった細胞機能に対して影響がないのかを検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)研究材料

本研究では、マウス筋芽細胞由来の細胞株である C2C12 細胞を用いた。

(2)スタチン添加

スタチンには水溶性と脂溶性のものがそれぞれ数種類知られているが、本研究では水溶性と脂溶性の細胞への影響を比較するために、それぞれ 1 種類ずつ用いた(以後、水溶性のものはスタチン A、脂溶性のものはスタチン B とする)。

(3)スタチンの C2C12 細胞への細胞毒性の検討

本研究では、スタチンが細胞毒性を示す濃度の閾値がどの辺りにあるかを明らかにするために、多段階に濃度を振って細胞増殖能や形態の変化について検討した。

(4)スタチンの C2C12 細胞の分化能に対する影響の検討

筋芽細胞は増殖・融合し、筋管細胞へ分化することが知られている。また、この筋管

細胞への分化は筋再生では必須の段階である。そこで、スタチンが筋管細胞への分化に及ぼす影響を検討した。

4. 研究成果

(1)スタチンの C2C12 細胞への細胞毒性の検討

スタチン A、B の両方とも濃度依存的に細胞増殖能を低下させることを確認した。ただし、ある濃度まではスタチンを添加していないコントロール群と比較して有意な差は認められず、スタチンが細胞毒性を示す濃度の閾値があることを確認した。スタチンによる細胞毒性は、究極的には細胞にアポトーシスとネクローシスを引き起こし、ミトコンドリア膜電位も正常値から逸脱することを確認した。また、細胞毒性を示している細胞では細胞のサイズが小さいことに加え、葉状仮足の形成が不十分であることも明らかとなった。

(2) スタチンの C2C12 細胞の分化能に対する影響の検討

スタチン A、B の両方とも細胞増殖能に影響を及ぼさない範囲の濃度であればミトコンドリア膜電位にコントロール群と比べて有意な変化は認めず、また筋管細胞への分化能や分化効率にも有意な影響が認められないことを確認した。一方、細胞毒性を示す範囲であれば、たとえ分化直前の細胞密度をコントロール群と揃えたとしても分化能や分化効率を低下させることが明らかとなった。培養細胞株を用いた *in vitro* の実験結果からは、スタチンは水溶性であっても脂溶性であっても細胞増殖能やミトコンドリア膜電位にコントロール群と比べ有意な差が認められない範囲であれば、分化能を含めた細胞機能にネガティブな影響は認められないことが明らかとなった。ただし、現実社会ではスタチンを服用しながら運動を行うなど、力学的刺激が加わるといったことが考えられる。今後は、力学的刺激を加えた条件でも検討する必要があることと、動物実験といった *in vivo* での影響も検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Misa Horiiike, Yoshiko Ogawa, Shigeo Kawada	4. 巻 321
2. 論文標題 Effects of hyperoxia and hypoxia on the proliferation of C2C12 myoblasts.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	6. 最初と最後の頁 572, 587
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpregu.00269.2020	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0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 川田茂雄	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Book House HD	5. 総ページ数 159
3. 書名 スポーツ医科学トピックス3	

〔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
---------	---------