

令和 3 年 6 月 27 日現在

機関番号：84503

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24306

研究課題名（和文）負荷依存的なCa²⁺シグナルが骨格筋肥大・サルコペニアに与える影響研究課題名（英文）The effects of load-induced Ca²⁺ signaling on muscle hypertrophy and sarcopenia

研究代表者

伊藤 尚基 (Naoki, Ito)

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構・その他部局等・研究員（上席・主任研究員クラス）

研究者番号：50746534

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：近年、加齢に伴って適切な筋量・筋力を維持できなくなるサルコペニアが社会的問題となっている。特に、高齢者では運動やアミノ酸に対する不応答（アナボリックレジスタンス）が生じていることが問題視されている。本研究では、筋細胞内Ca²⁺シグナルに着目し、運動負荷と骨格筋量の増加を繋ぐ分子機構を解析した。さらに、Ca²⁺シグナルの機能破綻がアナボリックレジスタンス・サルコペニアを生じさせるという仮説の元、負荷依存的およびCa²⁺シグナル依存的な遺伝子発現変動を比較解析することで、負荷依存的かつCa²⁺シグナル依存的な筋細胞内遺伝子発現ネットワークを解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アナボリックレジスタンスの原因は大部分が未解明であり、その改善法も確立されていない。その理由として、そもそも、どのようなメカニズムを介して運動または負荷依存的な筋量の増加（タンパク質合成の活性化）が生じるのか、という基本的な問いに対する答えが得られていないことが挙げられる。本研究によって、サルコペニアおよびアナボリックレジスタンスの分子病態の一端が明らかにされることにより、サルコペニアに対する分子標的・創薬技術基盤の構築が期待される。

研究成果の概要（英文）：Sarcopenia, age-related muscle weakness with decreases in muscle strength and mass, has become a social problem. In particular, sarcopenia has been associated with the reduced protein synthesis in response to exercise and/or protein intake, termed anabolic resistance. In this study, we focused on intracellular Ca²⁺ signaling and analyzed the molecular mechanisms that connect mechanical load and the increases in muscle mass. Furthermore, under the hypothesis that the disruption of Ca²⁺ signaling is the cause of anabolic resistance, load-induced and Ca²⁺ signaling-dependent intramuscular signal transduction was analyzed by comparative analysis of load-dependent and Ca²⁺ signaling-dependent gene expression.

研究分野：骨格筋分子生物学

キーワード：骨格筋 筋肥大 筋萎縮 サルコペニア

1. 研究開始当初の背景

骨格筋は、個体の体重や活動量の変化に応じ、生涯を通じてその筋量・筋力を変化させる。これは運動や力学的な負荷といった物理的な刺激に応じて細胞内シグナルが活性化され、筋肥大・筋萎縮を介して適切な筋量・筋力を維持するためである。しかし近年、加齢に伴って適切な筋量・筋力を維持できなくなるサルコペニアが社会的問題となっている。

骨格筋量はタンパク質合成と分解のバランスによって制御される。タンパク質合成は運動やアミノ酸によって活性化するため、サルコペニアに対する介入法として、運動療法やアミノ酸摂取を推奨するガイドラインが整備されつつある。しかし、運動やアミノ酸に対する不応答(アナボリックレジスタンス)が高齢者で生じていることが問題視されている。つまり、高齢者と若齢者が同程度の筋量増加(タンパク質合成の活性化)を得るためには、より高強度・長時間の運動、より多量のアミノ酸摂取が必要とされる。しかしながら、高齢者が一日に行える運動量・食事摂取量に制限があるのは明らかであり、アナボリックレジスタンスはサルコペニアに対する介入法を確立するうえで大きな医学的障壁となっている。

アナボリックレジスタンスの原因は大部分が未解明であり、その改善法も確立されていない。その理由として、そもそも、“どのようなメカニズムを介して運動または負荷依存的な筋量の増加(タンパク質合成の活性化)が生じるのか?”という基本的な問いに対する答えが得られていないことが挙げられる。

2. 研究の目的

申請者は、負荷によって筋細胞内 Ca^{2+} シグナルが急速に活性化することを発見し、この負荷依存的な Ca^{2+} シグナルの活性化が、筋肥大促進因子 mTOR を活性化することを明らかにしてきた (Ito N *et al.*, *Nat Med.* 2013. Ito N *et al.*, *Channels.* 2013. Ito N *et al.*, *Int J Mol Sci.* 2018.)。本研究では、筋細胞内 Ca^{2+} シグナルに着目し、運動負荷と骨格筋量の増加(タンパク質合成の活性化)を繋ぐ分子機構を解析した。さらに、“ Ca^{2+} シグナルの機能破綻がアナボリックレジスタンス・サルコペニアを生じさせる”という仮説を検証し、サルコペニアに対する分子標的・創薬技術基盤を構築することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、 Ca^{2+} シグナルが活性化される分子機構を薬理的な手法を用いて明らかにした。また、負荷依存的および Ca^{2+} シグナル依存的な遺伝子発現変動を比較解析することで、負荷依存的かつ Ca^{2+} シグナル依存的な筋細胞内遺伝子発現ネットワークを解析した。また、 Ca^{2+} シグナルの上流・下流分子となりうる因子の発現解析を行った。

4. 研究成果

申請者は筋細胞内 Ca^{2+} シグナルを制御する因子、かつ加齢により発現や分子動態が変化する因子として、神経型一酸化窒素合成酵素(neuronal nitric oxide synthase: nNOS)に注目した。過去の研究において、申請者は nNOS が負荷依存的な Ca^{2+} シグナル活性化の上流因子として働くことを示している (Ito N *et al.*, *Nat Med.*)。しかし、nNOS とサルコペニア、およびアナボリックレジスタンスとの関連は明らかになっていない。まず一酸化窒素合成酵素の阻害剤である L-NAME を用いた結果、L-NAME 処理によ

てアゴニスト依存的な細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が抑制されることがわかった。また、加齢依存的な nNOS の発現変化を検討した。その結果、下肢の種々の骨格筋において、nNOS の発現が加齢依存的に変化する筋と、変化しない筋が存在することがわかった。そのため、加齢依存的な nNOS の発現変化は筋の種類に依存することがわかった。このことから、nNOS は負荷依存的な Ca^{2+} シグナル活性化の上流因子として働きうるものの、そのサルコペニア・アナボリックレジスタンスとの関連は筋の種類に依存する可能性が示唆された。

さらに、負荷依存的、かつ Ca^{2+} シグナル依存的に発現が変動し、筋肥大・筋萎縮といった筋可塑性に関わりうる因子を同定するため、負荷依存的および Ca^{2+} シグナル依存的な遺伝子発現変動に対する比較解析を行った。その結果、cyclin 関連因子を始めとするいくつかの遺伝子が、負荷依存的に発現が上昇し、かつ Ca^{2+} シグナルの活性化依存的に発現が上昇することが示唆された。さらに、種々のデータベースを活用した結果、ccnd1 は筋肥大時に発現が上昇し、筋萎縮時に発現が低下することがわかり、筋の可塑性にも関わりうることを示唆された。今後、cyclin 関連因子を過剰発現、あるいは knockdown することにより、筋肥大・筋萎縮への関与、あるいは筋細胞内 Ca^{2+} シグナルとの繋がりを明らかにしていく必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Naoki Ito, Yuko Miyagoe-Suzuki, Shin'ichi Takeda, Akira Kudo	4. 巻 22
2. 論文標題 Periostin Is Required for the Maintenance of Muscle Fibers during Muscle Regeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3627
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22073627.	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 Risa Okada, 他15名, Naoki Ito, Dai Shiba, Masaki Shirakawa, Masafumi Muratani, Takashi Kudo, Satoru Takahashi.	4. 巻 11
2. 論文標題 Transcriptome analysis of gravitational effects on mouse skeletal muscles under microgravity and artificial 1 g onboard environment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 9168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-88392-4	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0件

〔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
---------	---------