

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21766

研究課題名（和文）免疫抑制補助シグナルによる新たな筋萎縮抑制機構の解明

研究課題名（英文）Role of immunosuppressive signaling pathway in the protection of muscle atrophy

研究代表者

奥津 光晴（Okutsu, Mitsuharu）

名古屋市立大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：80409755

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：免疫抑制シグナルは、免疫細胞の他、様々な臓器に構築されていることが知られている。しかしながら、骨格筋にも発現するか、また発現する場合、筋量の維持に対する役割や運動により発現が変動するかは明らかではない。これを解明するため申請者らは研究を推進し、1)マウス骨格筋に免疫抑制シグナルが存在すること、2)運動などの筋収縮刺激で増加すること、3)この発現を筋特異的に欠損しても筋量に影響を及ぼさないことを立証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌、心不全や糖尿病などの慢性疾患や加齢は筋萎縮を引き起こす。筋萎縮はフレイルやロコモティブ症候群を発症することから、筋量を維持する分子メカニズムを解明し予防や治療に応用することは、健康寿命の延伸や医療費削減の観点から重要な課題である。定期的な運動は骨格筋の形態や機能を改善することで筋萎縮を抑制する。運動が筋萎縮を抑制する分子メカニズムは、未だ不明な点が多い。本研究では、新たな筋量維持機構として免疫抑制シグナルが関与するかを検討しており、学術的な意義のある研究である。

研究成果の概要（英文）：Immunosuppressive signaling are known to express in immune cells and other type of cells and organs. However, the functional role of immunosuppressive signaling in skeletal muscle remains poorly understood. Here we found that 1) immunosuppressive signals express in mice skeletal muscle, 2) immunosuppressive signals are regulated by regular exercise, and 3) muscle-specific knockout of immunosuppressive signals does not affect to muscle mass and function.

研究分野：スポーツ科学、応用健康科学

キーワード：筋萎縮 免疫抑制補助シグナル

### 1. 研究開始当初の背景

癌、心不全や糖尿病などの慢性疾患や加齢は骨格筋量の減少（筋萎縮）を引き起こす。筋萎縮はフレイルやロコモティブ症候群を発症することから、筋量を維持する分子メカニズムを解明し予防や治療に応用することは、健康寿命の延伸や医療費削減の観点から重要な課題である。定期的な運動は骨格筋の形態や機能を改善することで筋萎縮を抑制する。運動が筋萎縮を抑制する分子メカニズムは、転写補助因子やリン酸基転移酵素などの活性化による筋タンパク質の合成と分解、ミトコンドリアの量や毛細血管密度などの適正化が要因である。しかしながら、近年のバイオインフォマティクスや遺伝子組換え技術を用いた報告を統合すると、運動による筋萎縮の抑制機構には未知の因子が関与する可能性が高い。

そこで申請者は、免疫抑制補助シグナルに着目した。免疫抑制補助シグナルはT細胞などの免疫細胞に主に発現しており、細胞死誘導時に発現が増強する遺伝子として知られている。一方、近年では一部の免疫抑制補助シグナルは骨格筋、心臓や肺などの様々な臓器に発現することが報告されている。しかしながら、骨格筋における免疫抑制補助シグナルの役割を解明した報告はない。

### 2. 研究の目的

そこで本研究では、骨格筋の免疫抑制補助シグナルの役割を評価するため、免疫抑制補助シグナルを筋特異的に欠損したマウスを作製し、筋量の制御に対する役割と、筋萎縮を抑制する定期的な運動トレーニングに対する免疫抑制補助シグナルの変動と筋萎縮の抑制に対する役割を立証することを目的とする。

### 3. 研究の方法

免疫抑制補助シグナル A と B を筋特異的に欠損したマウスを作製した。作製には Mlc1f Cre マウスと免疫抑制補助シグナル A および B の Loxp マウスを使用し、免疫抑制補助シグナル A や B が筋のみで消失したマウスを作製した。作製した各欠損マウスと野生型同腹子マウスは 8 週齢まで通常飼育し、筋力測定を実施した後に骨格筋を採取し筋重量を測定した。また、作製したマウスには癌細胞を皮下投与した癌カヘキシーによる筋萎縮を誘導した。癌細胞には Lewis lung carcinoma (LLC) 細胞を使用し、皮下移植 4 週間後に筋力の測定と解剖後に筋重量を測定した。筋力と筋重量の評価は、筋重量は採取直後に微量重量計にて測定し、筋力は動物用筋力測定機器にて測定した。さらに、運動に対する免疫抑制補助シグナル A と B の変動と筋萎縮抑制に対する役割を立証するため、骨格筋培養細胞に対する力学的伸展刺激とマウスに対する運動を実施、免疫抑制補助シグナルの変動を評価した。培養細胞に対する力学的伸展刺激は 1、3、6、12 および 24 時間実施した後、細胞を回収して免疫抑制補助シグナルの発現の変動をリアルタイム PCR で評価した。マウスに対する運動は自発走行運動を 4 週間実施し、運動期間終了 24 時間後に骨格筋を採取した。

### 4. 研究成果

骨格筋の免疫抑制補助シグナルの役割を検討するために筋特異的に免疫抑制補助シグナルの A と B を欠損したマウスを作製した。作製には Cre/Loxp システムを使用した。その結果、目的としたマウスは正常に作製できた (図 1)。

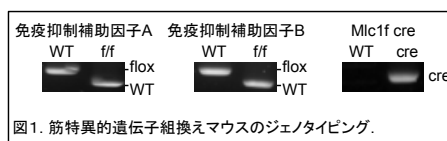


図1. 筋特異的遺伝子組換えマウスのジェノタイプング。

免疫抑制補助シグナル A を筋特異的に欠損したマウスの筋重量は遅筋優位なヒラメ筋、速筋優位な腓腹筋、遅筋と速筋が混在した腓腹筋ともに野生型との間に違いはなかった。ハンドグリップテストによる最大筋力も筋特異的に免疫抑制補助シグナル A を欠損したマウスと野生型マウスの間に違いはなかった (図 2)。また、骨格筋の筋線維タイプ、ミトコンドリアタンパク量や毛細血管密度にも現段階では両マウスの間に違いは観察されていない。

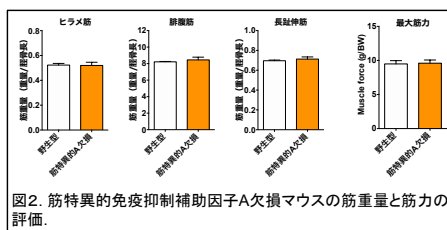


図2. 筋特異的免疫抑制補助因子A欠損マウスの筋重量と筋力の評価。

免疫抑制補助シグナルBを筋特異的に欠損したマウスの筋重量は遅筋優位なヒラメ筋、速筋優位な腓腹筋、遅筋と速筋が混在した腓腹筋ともに野生型との間に違いはなかった。ハンドグリップテストによる最大筋力も筋特異的に免疫抑制補助シグナルBを欠損したマウスと野生型マウスの間に違いはなかった(図3)。また、骨格筋の筋線維タイプ、ミトコンドリアタンパク量や毛細血管密度にも現段階では両マウスの間に違いは観察されていない。

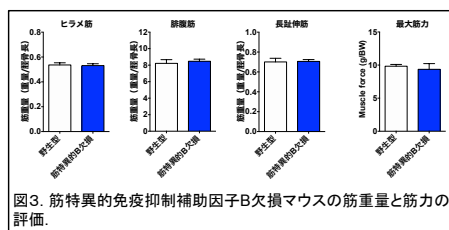


図3. 筋特異的免疫抑制補助因子B欠損マウスの筋重量と筋力の評価.

免疫抑制補助シグナルAおよびBを筋特異的に欠損したマウスに Lewis lung carcinoma 細胞を皮下移植し、癌悪液質による筋萎縮に対する骨格筋の免疫抑制補助シグナルAおよびBの役割を立証した。その結果、癌悪液質は筋重量とハンドグリップテストによる最大筋力を低下した。また、免疫抑制補助シグナルAおよびBの発現を欠損すると、筋重量と最大筋力ともに野生型マウスに比べて低下する傾向を示した(図4、5)。癌悪液質による骨格筋の筋線維タイプ、ミトコンドリアタンパク量や毛細血管密度の変動は、現段階では両マウスの間に違いは観察されていない。これらの結果は検体数が少ないため、今後検体数を増加し詳細に検証が必要である。

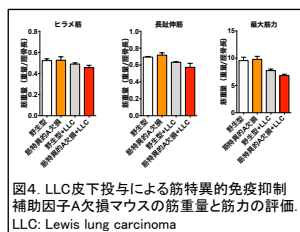


図4. LLC皮下投与による筋特異的免疫抑制補助因子A欠損マウスの筋重量と筋力の評価. LLC: Lewis lung carcinoma

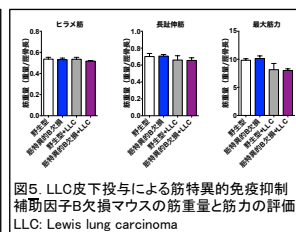


図5. LLC皮下投与による筋特異的免疫抑制補助因子B欠損マウスの筋重量と筋力の評価. LLC: Lewis lung carcinoma

培養細胞に対する力学的伸展刺激とマウスに対する運動トレーニングによる免疫抑制補助シグナルAおよびBの発現の変動は、力学的伸展刺激や運動トレーニングにより変動はするものの、現段階では両実験から一致した結果が得られていないためここでは詳細を報告しない。今後、さらに慎重に検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
研究分担者	岩田 全広  (Iwata Masahiro)  (60448264)	日本福祉大学・健康科学部・教授    (33918)	

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			
米国	University of Iowa			