

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03360

研究課題名（和文）マイオカインによる老化進展制御機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism by which myokines regulate aging progress

研究代表者

絹川 真太郎（Kinugawa, Shintaro）

九州大学・医学研究院・准教授

研究者番号：60399871

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：骨格筋から分泌されたタンパクを質量分析法で解析し、マイオカインライブラリーを作成した。また、加齢マウスの血液の質量分析結果と比較することにより、加齢によって変化するマイオカインを同定（加齢マイオカインプロファイリング）した。マイオカインである脳由来神経栄養因子は加齢とともに分泌が低下し、ミトコンドリア機能や運動能力と密接に関連することを明らかにした。共焦点顕微鏡を用いてリアルタイムに脳由来神経栄養因子の分泌動態を観察することに成功した。Rabタンパクの網羅的解析の結果、C2C12細胞からのマイオカインの分泌において2種類のRabタンパクが関わっている可能性が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢によるマイオカイン分泌の全体像を捉えることはこれまでになかった独自の研究であり、本研究の学術的意義は極めて高い。加齢によって特異的に変化するマイオカインおよびそれらの分泌機構を明らかにすることによって、マイオカインによる新規薬物治療法の開発研究へ発展する。このことは、老化の共通基盤である骨格筋の量的・質的变化を予防・治療することにつながり、今後の健康長寿社会の実現に大きく寄与すると考えられ、社会的意義は高い。

研究成果の概要（英文）：A myokine library was created by analyzing proteins secreted from skeletal muscle using mass spectrometry. In addition, by comparing the results of mass spectrometry analysis of blood from aging mice, we identified myokines that change with age (aging myokine profiling). We revealed that the secretion of brain-derived neurotrophic factor, a myokine, was decreased with age and was closely related to mitochondrial function and exercise capacity. We succeeded in observing the secretion dynamics of brain-derived neurotrophic factor in real time using a confocal microscope. As a result of comprehensive analysis of Rab proteins, it became clear that two types of Rab proteins may be involved in the secretion of myokines from C2C12 cells.

研究分野：栄養学および健康科学関連

キーワード：マイオカイン 骨格筋 老化 サルコペニア プロテオーム解析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 我が国をはじめ多くの国が長寿社会をむかえているが、社会の健全発展のために『健康長寿』が要請される。加齢に伴う個体の種々の臓器機能障害、老化進展の共通基盤として、ミトコンドリア異常とそれによる活性酸素産生が深く関わっており、老化における酸化ストレス仮説が提唱されている (Nature 408:239, 2000)。しかしながら、ヒトを含む高等動物においては、加齢と老化は単純な線形関係にはなく、個体の遺伝的・環境的要因によって老化の進展速度は大きく異なる。

(2) サルコペニア・フレイルと密接に関連する加齢による骨格筋の質的・量的異常は、老化進展に中心的な役割を果たしており、その分子基盤の解明および予防法の確立は重要な課題である。骨格筋は運動器としての役割だけでなく、種々のマイオカインを産生・分泌し、骨格筋および遠隔臓器の機能に影響を及ぼすと考えられている。我々は、マイオカインの一つである脳由来神経栄養因子 (BDNF) がミトコンドリア生合成や機能に重要であること、骨格筋 BDNF 産生は加齢により著しく低下することを見出した (Circulation 138; 2064, 2018, Circ Heart Fail, 14; e005890, 2021)。

(3) これまでに複数のマイオカインが報告されているが、多くの未知のマイオカインがあり、それらのネットワークの総和として、老化進展に重要な役割を果たしていると考えられる。このような知見から、核心をなす学術的「問い」は、「加齢によるマイオカインの産生・分泌の変化が老化進展、骨格筋機能障害の要因ではないか？」であり、この仮説を検証する。

### 2. 研究の目的

(1) 骨格筋から分泌されるタンパクを解析し、マイオカインライブラリーを作成すること

(2) 加齢によって変化するマイオカインを同定すること

(3) マイオカインの分泌動態を明らかにし、その分子機構を解明すること

### 3. 研究の方法

(1) マイオカインライブラリーの作成

C2C12 骨格筋培養細胞および C57BL/6J マウスの骨格筋初代培養を用いて、カフェイン刺激を行い、培養上清中に分泌するタンパクを、質量分析法を用いて解析し、『マイオカインライブラリー』を作成した。

(2) 加齢マイオカインプロファイリングの作成

質量分析装置を用いて、24 か月齢 C57BL/6J マウスの血中のプロテオーム解析を行い、加齢によって変動するマイオカインを同定した。

(3) 加齢マウスの表現型の評価

24 か月齢までの C57BL/6J マウスの身体活動量、有酸素運動能力、筋力、骨格筋重量、骨格筋組織学的解析 (細胞径、間質線維化)、ミトコンドリア機能解析、ミトコンドリア形態解析、活

性酸素種産生を測定した。また、骨格筋のプロテオーム解析を行った。加齢マウスで変化するマイオカインと各種フェノタイプの関連を解析した。

#### (4) 運動マイオカインプロファイリングの作成

6 か月間の水泳トレーニングを行ったマウスの血中のプロテオーム解析を行い、運動によって変動するマイオカインを同定した。

#### (5) マイオカイン分泌制の可視化と分泌制御因子の解明

リアルタイム共焦点顕微鏡を用いて、開口分泌反応を直接可視化解析する。マイオカインの一つである BDNF の蛍光タンパク質プローブを作成した。C2C12 骨格筋培養細胞を電気刺激し、マイオカインの分泌動態を可視化した。C2C12 培養細胞のプロテオーム解析を行い、分泌過程の主な制御因子である Rab-GTPases に関して網羅的解析を行った。BDNF 分泌に関連する Rab を同定した。

### 4. 研究成果

(1) カフェイン刺激によって C2C12 培養細胞から多くのタンパクが分泌されることが明らかとなり、マイオカインライブラリーを作成した。

(2) 加齢マウスの血液のプロテオーム解析を行い、加齢によって経時的に変化するタンパクを同定した。これらの検出されたタンパクをマイオカインライブラリーと比較することにより、加齢によって変化するマイオカインを同定(加齢マイオカインプロファイリング)した。加齢によって分泌が減少するマイオカインとして脳由来神経栄養因子などが同定された。

(3) 加齢マウス(C57BL6/J、3、6、9、12、15、18、21、24 か月齢)の表現型の評価を行った。15 か月齢を超えると、マウスの骨格筋重量の低下、活性酸素種産生増大、ミトコンドリア形態異常が観察されるとともに運動能力が低下した。一方、12 か月齢の時点において、骨格筋のミトコンドリア呼吸能は障害されていた。骨格筋のプロテオーム解析では、ミトコンドリア機能、特にエネルギー代謝関連タンパクやタンパク合成と関連するタンパクが減少し、タンパク分解、細胞死、線維化と関連するタンパクが増加していた。これらのタンパクの変化は骨格筋の表現型が出現する前から起こっていた。さらに、加齢に伴って減少するマイオカインである BDNF とこれらの骨格筋のタンパクの変化、ミトコンドリア機能、運動能力が密接に関連することが明らかとなった。

(4) 有酸素運動(水泳トレーニング6 か月)を行ったマウスの骨格筋および血中のマイオカインを同定(運動マイオカインプロファイリング)した。加齢によるマイオカインの変化と拮抗する複数のマイオカインが同定された。特に、BDNF は有酸素運動によって増加することを見出した。

(5) BDNF の蛍光タンパク質プローブを作成し、C2C12 骨格筋培養細胞をカフェインで刺激した際の分泌状態を観察した。共焦点顕微鏡を用いてリアルタイムに分泌動態を観察することに成功した。分泌過程の一般的な制御因子である Rab タンパクの網羅的解析を行った。プロテオーム解析の結果、C2C12 細胞において2種類の Rab タンパクが関わっている可能性が明らかとなった。

た。実際に BDNF とこれらの Rab タンパクは共局在を示し、マイオカインの分泌に関連することが示された。これらの( 1 )から( 5 )の過程で明らかとなった複数のマイオカインに関して BDNF と同様に解析し、総体的なマイオカインのネットワークを現在解析中である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 Takada Shingo, Kinugawa Shintaro, Handa Haruka, Yokota Takashi, Sabe Hisataka	4. 巻 12
2. 論文標題 Cross-disease communication between cancer and heart failure provides a rational approach to prevention and treatment of both diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 1006322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2022.1006322	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 Takada Shingo, Fumoto Yoshizuki, Kinugawa Shintaro	4. 巻 4
2. 論文標題 Ergogenic effects of caffeine are mediated by myokines	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Sports and Active Living	6. 最初と最後の頁 969623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fspor.2022.969623	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 Tokuyama Takeshi, Uosaki Hideki, Sugiura Ayumu, Nishitai Gen, Takeda Keisuke, Nagashima Shun, Shiiba Isshin, Ito Naoki, Amo Taku, Mohri Satoshi, Nishimura Akiyuki, Nishida Motohiro, Konno Ayumu, Hirai Hirokazu, Ishido Satoshi, Yoshizawa Takahiro, Shindo Takayuki, Takada Shingo, Kinugawa Shintaro, et al	4. 巻 25
2. 論文標題 Protective roles of MITOL against myocardial senescence and ischemic injury partly via Drp1 regulation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104582 ~ 104582
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104582	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 Takada Shingo, Maekawa Satoshi, Furihata Takaaki, Kakutani Naoya, Setoyama Daiki, Ueda Koji, Nambu Hideo, Hagiwara Hikaru, Handa Haruka, Fumoto Yoshizuki, Hata Soichiro, Masunaga Tomoka, Fukushima Arata, Yokota Takashi, Kang Dongchon, Kinugawa Shintaro, Sabe Hisataka	4. 巻 119
2. 論文標題 Succinyl-CoA-based energy metabolism dysfunction in chronic heart failure	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2203628119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2203628119	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 Shirakawa Ryosuke, Nakajima Takayuki, Yoshimura Aya, Kawahara Yukako, Orito Chieko, Yamane Miwako, Handa Haruka, Takada Shingo, Furihata Takaaki, Fukushima Arata, Ishimori Naoki, Nakagawa Masao, Yokota Isao, Sabe Hisataka, Hashino Satoshi, Kinugawa Shintaro, Yokota Takashi	4. 巻 13
2. 論文標題 Enhanced mitochondrial oxidative metabolism in peripheral blood mononuclear cells is associated with fatty liver in obese young adults	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-32549-w	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 Nambu H, Takada S, Maekawa S, Matsumoto J, Kakutani N, Furihata T, Shirakawa R, Katayama T, Nakajima T, Yamanashi K, Obata Y, Nakano I, Tsuda M, Saito A, Fukushima A, Yokota T, Nio-Kobayashi J, Yasui H, Higashikawa K, Kuge Y, Anzai T, Sabe H, Kinugawa S	4. 巻 117
2. 論文標題 Inhibition of xanthine oxidase in the acute phase of myocardial infarction prevents skeletal muscle abnormalities and exercise intolerance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cardiovasc Res	6. 最初と最後の頁 805-819
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Matsumoto J, Takada S, Furihata T, Nambu H, Kakutani N, Maekawa S, Mizushima W, Nakano I, Fukushima A, Yokota T, Tanaka S, Handa H, Sabe H, Kinugawa S	4. 巻 14
2. 論文標題 Brain-derived neurotrophic factor improves impaired fatty acid oxidation via the activation of AMPK -PGC1 signaling in skeletal muscle of mice with heart failure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Circ Heart Fail	6. 最初と最後の頁 e005890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Furihata T, Takada S, Kakutani N, Maekawa S, Tsuda M, Matsumoto J, Mizushima W, Fukushima A, Yokota T, Enzan N, Matsushima S, Handa H, Fumoto Y, Nio-Kobayashi J, Iwanaga T, Tanaka S, Tsutsui H, Sabe H, Kinugawa S	4. 巻 4
2. 論文標題 Cardiac-specific loss of mitoNEET expression is linked with age-related heart failure	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Commun Biol	6. 最初と最後の頁 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Yokota T, Kinugawa S, Hirabayashi K, Yamato M, Takada S, Suga T, Nakano I, Fukushima A, Matsushima S, Okita K, Tsutsui H	4. 巻 11
2. 論文標題 Systemic oxidative stress is associated with lower aerobic capacity and impaired skeletal muscle energy metabolism in heart failure patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 2272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Furihata T, Maekawa S, Takada S, Kakutani N, Nambu H, Shirakawa R, Yokota T, Kinugawa S	4. 巻 22
2. 論文標題 Premedication with pioglitazone is preventable from doxorubicin-induced left ventricular dysfunction in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Pharmacol Toxicol	6. 最初と最後の頁 874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kakutani N, Takada S, Nambu H, Maekawa S, Hagiwara H, Yamanashi K, Obata Y, Nakano I, Fumoto Y, Hata S, Furihata T, Yokota T, Fukushima A, Kinugawa S	4. 巻 106
2. 論文標題 Angiotensin-converting enzyme inhibitor prevents skeletal muscle fibrosis in diabetic mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Exp Physiol	6. 最初と最後の頁 1785-1793
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Enzan Nobuyuki, Matsushima Shouji, Ikeda Soichiro, Okabe Kosuke, Ishikita Akihito, Yamamoto Taishi, Sada Masashi, Miyake Ryo, Tsutsui Yoshitomo, Nishimura Ryohei, Toyohara Takayuki, Ikeda Yuki, Shojima Yoko, Miyamoto Hiroko Deguchi, Tadokoro Tomonori, Ikeda Masataka, Kinugawa Shintaro, et al	4. 巻 132
2. 論文標題 ZBP1 Protects Against mtDNA-Induced Myocardial Inflammation in Failing Hearts	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Circulation Research	6. 最初と最後の頁 1110 ~ 1126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCRESAHA.122.322227	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 Shirakawa Ryosuke, Nakajima Takayuki, Yoshimura Aya, Kawahara Yukako, Orito Chieko, Yamane Miwako, Handa Haruka, Takada Shingo, Furihata Takaaki, Fukushima Arata, Ishimori Naoki, Nakagawa Masao, Yokota Isao, Sabe Hisataka, Hashino Satoshi, Kinugawa Shintaro, Yokota Takashi	4. 巻 13
2. 論文標題 Enhanced mitochondrial oxidative metabolism in peripheral blood mononuclear cells is associated with fatty liver in obese young adults	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-32549-w	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 Watanabe Tatsuya, Tohyama Takeshi, Ikeda Masataka, Fujino Takeo, Hashimoto Toru, Matsushima Shouji, Kishimoto Junji, Todaka Koji, Kinugawa Shintaro, Tsutsui Hiroyuki, Ide Tomomi	4. 巻 31
2. 論文標題 Development of deep-learning models for real-time anaerobic threshold and peak V02 prediction during cardiopulmonary exercise testing	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Preventive Cardiology	6. 最初と最後の頁 448 ~ 457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/eurjpc/zwad375	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 Ikeda Shota, Shinohara Keisuke, Tagawa Koshiro, Tohyama Takeshi, Kishimoto Junji, Kazurayama Masaya, Tanaka Shinji, Yamaizumi Masamitsu, Nagayoshi Hirokazu, Toyama Kensuke, Matsushima Shouji, Tsutsui Hiroyuki, Kinugawa Shintaro	4. 巻 14
2. 論文標題 Association of baseline electrocardiographic left ventricular hypertrophy with future renal function decline in the general population	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-51085-1	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10件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 絹川真太郎
2. 発表標題 Skeletal muscle abnormalities and myokines in heart failure
3. 学会等名 日本循環器学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 絹川真太郎
2. 発表標題 心不全における骨格筋エネルギー代謝異常
3. 学会等名 日本心不全学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 絹川真太郎
2. 発表標題 サルコペニア予防を目指した心不全治療
3. 学会等名 日本心臓リハビリテーション学会北陸地方会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 絹川真太郎
2. 発表標題 心不全と骨格筋の基礎
3. 学会等名 日本心臓リハビリテーション学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高田真吾、絹川真太郎
2. 発表標題 心疾患の超急性期における骨格筋異常発症機序
3. 学会等名 日本心臓リハビリテーション学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 絹川真太郎、高田真吾、佐邊壽孝
2. 発表標題 マイオカインとミトコンドリア：加齢や疾患における摂道
3. 学会等名 日本生化学学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高田真吾、絹川真太郎、佐邊壽孝
2. 発表標題 不全心筋におけるミトコンドリア代謝リプログラミング
3. 学会等名 日本生化学学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 絹川真太郎、高田真吾、麓佳月
2. 発表標題 心不全の骨格筋異常 - マイオカインの役割
3. 学会等名 第29回日本心臓リハビリテーション学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高田真吾、絹川真太郎
2. 発表標題 心不全における栄養療法
3. 学会等名 第29回日本心臓リハビリテーション学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 絹川真太郎、松島将士、篠原啓介、池田翔大
2. 発表標題 心不全における交感神経活性と運動療法
3. 学会等名 第27回日本心不全学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023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
研究分担者	佐邊 壽孝 (Sabe Hisataka)  (40187282)	北海道大学・遺伝子病制御研究所・客員教授  (10101)	
研究分担者	高田 真吾 (Takada Singo)  (60722329)	北翔大学・生涯スポーツ学部・准教授  (30117)	
研究分担者	松島 将士 (Matsushima Shouji)  (80552869)	九州大学・医学研究院・助教  (17102)	
研究分担者	横田 卓 (Yokota Takashi)  (90374321)	北海道大学・大学病院・特任講師  (10101)	

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
---------	---------