

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：34406

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06860

研究課題名（和文）小胞体ストレス応答の側面からの筋萎縮の解明

研究課題名（英文）Elucidating muscle Atrophy via endoplasmic reticulum stress

研究代表者

藤田 英俊 (Fujita, Hidetoshi)

大阪工業大学・工学部・准教授

研究者番号：90571802

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：近年、日本では超高齢化に伴って、加齢に伴う筋量や筋力が減少する運動器疾患が問題である。本研究では、筋特異的なシノビオリンノックアウトマウス（KOマウス）を作製・解析した結果、シノビオリンの欠失により筋萎縮を示すことが明らかとなり、筋萎縮の分子基盤を明らかにすることを目的とした。KOマウスの筋を生後、15、30週と経時的にサンプリングを行い、凍結切片を作製し、HE染色などの組織学的解析を行った。また、分子メカニズムを明らかにするために、マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を行った。得られたデータを基に筋萎縮を説明する遺伝子群、および、パスウェイの解析を行い、候補遺伝子群を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、日本人の平均寿命が著しく延び、このような超高齢化に伴って、介護が必要となる高齢者が増え、単に長生きをするだけでなく、いかに健康に生活できる期間（健康寿命）を伸ばすことが大きな課題である。現在、日本では超高齢社会を迎え、加齢に伴う筋量や筋力が減少する運動器疾患が問題になりつつある。しかしながら、加齢性筋萎縮のメカニズムはいまだ不明な点が多い。本研究では、小胞体ストレスの観点から、筋萎縮のメカニズムの解明を試みた。その結果、筋萎縮に関わる分子メカニズムを説明する経路を見出した。今後、詳細な解析を行うことで、筋萎縮が生じるメカニズムの一端が明らかになる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In recent years, diseases of the locomotor system that decrease muscle mass and strength with age have become a problem in Japan. In this study, we generated and analyzed muscle-specific synoviolin knockout mice (KO mice), and found that deletion of synoviolin causes muscle atrophy. We performed histological analyses such as HE staining. In addition, DNA microarray analysis was performed to elucidate the molecular mechanisms. Based on the obtained data, we analyzed the genes and pathways that could explain muscle atrophy, and identified candidate genes.

研究分野：病態医化学

キーワード：筋萎縮 小胞体ストレス 加齢 遺伝子改変マウス

## 1. 研究開始当初の背景

近年、日本人の平均寿命が著しく延び、このような超高齢化に伴って、介護が必要となる高齢者が増え、単に長生きをするだけでなく、いかに健康に生活できる期間（健康寿命）を伸ばすかが大きな課題である。現在、日本では超高齢社会を迎え、加齢に伴う筋量や筋力が減少する運動器疾患が問題である。すなわち、加齢に関連した筋肉量の損失であるサルコペニアが、転倒に関連した傷害のリスクを増大させるなど生活の質に大きな影響を及ぼし、さらに、糖尿病などの加齢関連疾患のリスクを高めることも明らかになってきている。したがって、筋萎縮の病態研究は国民にとって喫緊の重要課題の一つであると考えられる。

研究代表者は、これまで加齢関連疾患の一つである関節リウマチに着目し、リウマチ滑膜細胞の過増殖の分子メカニズムを研究してきた。その結果、シノビオリン遺伝子を同定した。シノビオリンが、関節リウマチ滑膜細胞に過剰発現し、関節リウマチの発症因子となることを、遺伝子改変動物を用いて示し、さらに、シノビオリンが、タンパク質のクオリティーコントロールを行う小胞体ストレス応答遺伝子であることを明らかとした。また、時期特異的なシノビオリン欠失マウスを作製し、解析した結果、成獣におけるシノビオリン遺伝子の欠失が体重や脂肪の減少につながることを、さらに、基礎代謝が亢進することが明らかになった。詳細な解析を行った結果、エネルギー代謝において重要であるミトコンドリア機能が亢進することとその分子メカニズムの一端を示した。また、シノビオリンの阻害剤投与により、同様な結果が得られることがわかり、メタボリックシンドロームの基盤病態である肥満を改善する可能性について報告した。以上のように、小胞体ストレス応答因子が、タンパク質のクオリティーコントロールのみならず、エネルギー代謝など様々な生理的機能を果たすことを明らかにしてきた。

## 2. 研究の目的

これまでの研究において、小胞体ストレス応答と体内のエネルギー代謝組織である筋との関連は不明な点が多かった。そこで、我々は、筋特異的なシノビオリンノックアウトマウスを作製・解析することで、筋組織における小胞体ストレス応答の生理的意義の解明を試みた。その結果、シノビオリンの欠失により筋萎縮を示すことが明らかとなり、このモデルマウスを用いて筋萎縮の分子基盤を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 筋特異的なシノビオリンノックアウトマウスの組織学的解析

野生型およびノックアウトマウスより、生後6週、15週、30週と経時的に筋組織のサンプリングを行った。筋組織は、凍結切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色、マッソントリクローム染色などの組織学的解析を行うことで、筋肉の壊死・再生線維、線維化、リンパ球浸潤などの解析を行った。

## (2) 遺伝子発現解析

野生型およびノックアウトマウスの筋組織より RNA を精製し、マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を行った。さらに得られたデータを基にノックアウトマウスで特異的に発現が変動している遺伝子群、および、パスウェイの解析を行った。

## (3) 筋萎縮の分子基盤の解析

マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析の結果から、筋萎縮に関わる遺伝子やパスウェイの解析を行い、候補遺伝子群を同定した。これら遺伝子をクローニングし、大腸菌を用いてリコンビナントタンパク質を精製した。同様に、大腸菌で作製したシノビオリンのリコンビナントタンパク質を用いて、シノビオリンと候補因子が相互作用するかどうかの結合実験を行った。

## 4. 研究成果

野生型およびノックアウトマウスより、生後 6 週、15 週、30 週と経時的にサンプリングを行い、筋組織の凍結切片を作製し、組織学的解析を行った。その結果、野生型と比較してノックアウトマウスで筋径が小さいという結果が得られ、さらに、筋組織に異常が認められた。また、遺伝子の発現解析を行った結果、野生型とノックアウトでは、様々な遺伝子の発現において変動が認められ、パスウェイ解析でも、種々のパスウェイにおいて変化が認められた。これらの遺伝子解析をもとに、筋萎縮の原因になりうる標的について、バイオインフォマテイクス解析により候補遺伝子群を同定した。次に、それら因子とシノビオリンが結合するかを生化学的な結合実験を行うため、各遺伝子をクローニング後、大腸菌を用いてタンパク質を産生し、精製した。その後、シノビオリンのリコンビナントタンパク質を用いて、生化学的な結合実験を行った。その結果、候補因子群とシノビオリンとの結合が認められた。今後、これら候補因子がシノビオリンの標的であるかを解析し、さらに、詳細なメカニズムを解明することで筋萎縮の分子基盤を明らかにしていく。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Matsuo Mitsunori, Yuan Jia, Kim Yeon Sun, Dewar Amanda, Fujita Hidetoshi, Dey Sudhansu K, Sun Xiaofei	4. 巻 11
2. 論文標題 Targeted depletion of uterine glandular Foxa2 induces embryonic diapause in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e78277
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.78277	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 該当する
1. 著者名 Kawano Taizo, Kashiwagi Mitsuaki, Kanuka Mika, Chen Chung-Kuan, Yasugaki Shinnosuke, Hatori Sena, Miyazaki Shinichi, Tanaka Kaeko, Fujita Hidetoshi, Nakajima Toshiro, Yanagisawa Masashi, Nakagawa Yoshimi, Hayashi Yu	4. 巻 42
2. 論文標題 ER proteostasis regulators cell-non-autonomously control sleep	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 112267 ~ 112267
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2023.112267	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 該当する
1. 著者名 Kobayashi Takayuki, Uchino Hiroyuki, Elmer Eskil, Ogihara Yukihiko, Fujita Hidetoshi, Sekine Shusuke, Ishida Yusuke, Saiki Iwao, Shibata Shoichiro, Kawachi Aya	4. 巻 23
2. 論文標題 Disease Outcome and Brain Metabolomics of Cyclophilin-D Knockout Mice in Sepsis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 961 ~ 961
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23020961	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 Ma Liqiu, Sakamoto Yoshimitsu, Ando Ken, Fujita Hidetoshi, Takahashi Akihisa, Takeshima Tsuguhide, Otsuka Hiromi, Ebner Daniel K., Kakimi Kazuhiro, Imai Takashi, Shimokawa Takashi	4. 巻 112
2. 論文標題 The Balance-Related Host Genetic Background Affects the Therapeutic Effects of Combining Carbon-Ion Radiation Therapy With Dendritic Cell Immunotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics	6. 最初と最後の頁 780 ~ 789
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijrobp.2021.10.141	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉本稜弥、三浦紗也加、藤田英俊
2. 発表標題 がんにおける小胞体関連分解（ERAD）の抑制効果の解析
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉村萌花、壺井一馬、藤田英俊
2. 発表標題 ZIP kinase は MBD2 の機能を制御する
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤田英俊、荒谷聡子、横田真穂、中島利博
2. 発表標題 リウマチ滑膜細胞の増殖メカニズムの解明
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021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			
中国	China Institute of Atomic Energy			
米国	Cincinnati Children's Hospital			