

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：37303

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21271

研究課題名（和文）新規細胞死機構に着目した画期的サルコペニア治療法の開発

研究課題名（英文）Development of therapies for sarcopenia focusing on novel cell death mechanisms

研究代表者

江島 弘晃（Eshima, Hiroaki）

長崎国際大学・人間社会学部・講師

研究者番号：80759259

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、新規細胞死機構のフェロトーシスに着目し、サルコペニアとの関連性を明らかにすることを目的とした。まず、加齢動物モデルの骨格筋ではフェロトーシスの関連分子であるグルタチオン還元酵素（Gpx4）が若年動物モデルと比較してタンパク質レベルで有意に減少することを明らかにした。つぎに、Gpx4の全身過剰発現モデルを用いて加齢時の筋量・筋力を測定したところ、Gpx4過剰発現マウスや過酸化脂質を抑制するペプチドを投与したモデルでは骨格筋量と筋力は野生型や通常加齢動物モデルと比べて高値を示した。以上の結果から、フェロトーシスがサルコペニアの一因であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会をむかえたわが国では、加齢による筋量・筋力の減少（サルコペニア）を予防することが健康寿命に直結する。本研究はサルコペニアの原因となる活性酸素の新たな中枢機構を見出し、サルコペニアの新規治療法となる機構を発見した。

研究成果の概要（英文）：This study investigated whether ferroptosis, a novel cell death mechanism, is associated with sarcopenia. We first found that glutathione reductase 4 (Gpx4), a ferroptosis-related molecule, was significantly decreased at the protein level in skeletal muscle of aged mice compared to young mice. We also found Gpx4 overexpressed muscle significantly higher muscle mass and muscle strength during aging. Therefore, we clarified that ferroptosis is a novel mechanism for sarcopenia.

研究分野：運動生理学

キーワード：骨格筋 活性酸素 サルコペニア 筋力 過酸化脂質

### 1. 研究開始当初の背景

加齢による骨格筋の筋量・筋力の減少は高齢者の健康寿命短縮の原因に挙げられており、これを「サルコペニア」と定義されている。サルコペニアが発症すると日常生活動作が困難になり、その後の転倒骨折が多発するため、多くの要介護者を生む一因と推察されている。そのため、サルコペニアの要因が明らかに出来れば、健康寿命短縮の解決の糸口となるが、現在サルコペニアに対する薬剤は開発されておらず、有効な治療法も確立されていない。これまで、サルコペニア発症の要因に活性酸素種に由来した酸化ストレスが関係していることが報告されている (Calvani et al. *Biol Chem (Review)*. 2013)。しかし、活性酸素はラジカル分子の集合体を指し、どのシグナル分子が寄与しているのかは不明である。活性酸素種の 1 種である過酸化脂質は、脂質分子種の酸化によって様々な疾患の発症に関係していると推察されている。最近、過酸化脂質に起因した新たな細胞死機構の「フェルトーシス」が同定され、創薬のターゲットとして注目されている (Dixon et al. *Cell*. 2012)。これまでに骨格筋とフェルトーシスの関係性は全くの不明であったため、申請者は骨格筋萎縮機構におけるフェルトーシスの関与を推察した。申請者は、フェルトーシス機構が骨格筋にも存在すること、身体不活動化に伴う廃用性筋萎縮時にフェルトーシスが発生し、反対にフェルトーシスを抑制するジペプチド成分が筋萎縮を防止することを明らかにした。つまり、骨格筋の萎縮時にフェルトーシスが関係していることを突き止め、筋萎縮の新たな分子機構となる可能性を示した。一方、我々が着目しているフェルトーシス機構がサルコペニア発症に関連性があるのか否か、これを証明した研究成果は現状見当たらない。本研究の学術的な問いは、「骨格筋フェルトーシスとサルコペニア発症に関連性があるのか？もしあるなら、フェルトーシスを評価指標としてサルコペニアを防止することが出来るのか？」である。

### 2. 研究の目的

本研究は、サルコペニア発症におけるフェルトーシスの意義を明らかにし、骨格筋フェルトーシスの阻害がサルコペニアの防止に関与しているか否かを検証した。さらにフェルトーシスを感知する分子マーカーの同定またはフェルトーシスを阻害する化合物の有用性を検証することで骨格筋機能に及ぼす影響を検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

加齢動物モデルの骨格筋からフェルトーシスの関連分子を若年動物モデルと比較測定することでフェルトーシス機構の発生の有無を検証した。また、骨格筋フェルトーシス阻害がサルコペニアの防止に関与しているか明らかにするために、遺伝子レベルでの検証や過酸化脂質を抑制するペプチドを加齢動物モデルに投与し、筋量の減少が緩和できるか検証した。

### 4. 研究成果

20 カ月齢の加齢動物モデルの骨格筋ではフェルトーシスの関連分子であるグルタチオン還元酵素 (Gpx4) が 4 カ月齢の若年動物モデルと比較して遺伝子発現レベルとタンパク質量で有意に減少することを明らかにした。また、抽出した骨格筋内の過酸化脂質の生成反応物である 4-ヒドロキシ-2-ノネナール (4-HNE) およびマロンジアルデヒド (MDA) が高値を示した (図 1)。このことから、加齢は骨格筋の過酸化脂質を増加させること、その機序に Gpx4 の発現低下が関係することが示唆された。したがって、Gpx4 に着目し、つぎに、Gpx4 ヘテロ接合体欠損マウスを用いた検証を実施した。Gpx4 ホモは胚致死が生じるため、生体に必須の遺伝子であることが判明している。したがって、Gpx4 ヘテロ接合体欠損マウスを加齢にさせ、加齢時の筋量・筋力を測定した。筋量は麻酔下で抽出した骨格筋の筋湿重量を測定した。また、後肢懸垂による筋萎縮の誘導時の骨格筋への影響も検証した。その結果、Gpx4 ヘテロ接合体欠損マウスは後肢懸垂による筋量減少が悪化することが判明した (図 2)。つぎに、Gpx4 過剰発現マウスを用いた検証を実施した。正常の状態では若年、加齢ともに Gpx4 過剰発現マウスと野生型マウスの筋量、筋力の差は見られなかったが、後肢懸垂時では骨格筋量と筋力は野生型や通常の若年、加齢動物モデルと比べて高値を示した。これは、後肢懸垂時では 4-HNE のタンパク質量が増加する一方で、Gpx4 過剰発現マウスではその増加が抑制されることを見出し、脂質アルデヒドの生成と一貫するデータが得られた (図 3)。

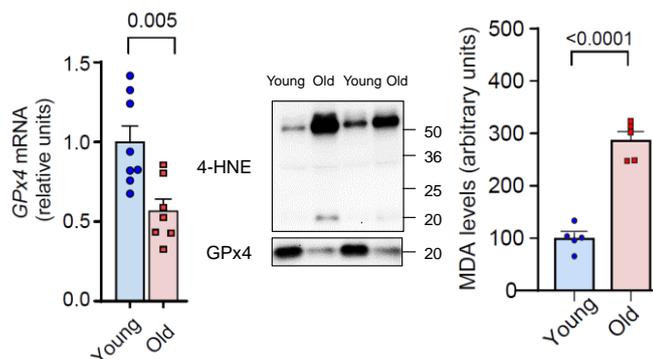


図 1. 加齢は骨格筋における Gpx4 の遺伝子発現、タンパク質量が低下し、脂質アルデヒドを生成する。

最後に、過酸化脂質を抑制するペプチドのN-アセチルカルノシンを飲水投与したモデルの検証を実施した。N-アセチルカルノシンを飲水投与したモデルでは、骨格筋量と筋力は後肢懸垂時の通常の加齢動物モデルと比べて高値を示した(図3)。以上の結果から、Gpx4がサルコペニアや不活動時の筋萎縮過程を制御していることからバイオマーカーとなる可能性が示唆され、栄養処方による過酸化脂質の抑制はサルコペニアの緩和につながる可能性が示唆された。以上の結果から、フェロトーシスの主要経路にはG@x4が関与することからフェロトーシスがサルコペニアの一因であることが明らかとなった。今後、詳細な分子機序やさらなる治療法の創出に向けた新たな処方策の効果検証につなげるのが課題である。

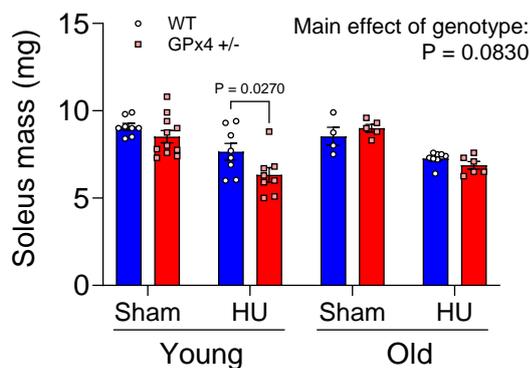


図2. Gpx4ヘテロ接合体欠損マウスは加齢時の後肢懸垂時の筋量減少を悪化させる。

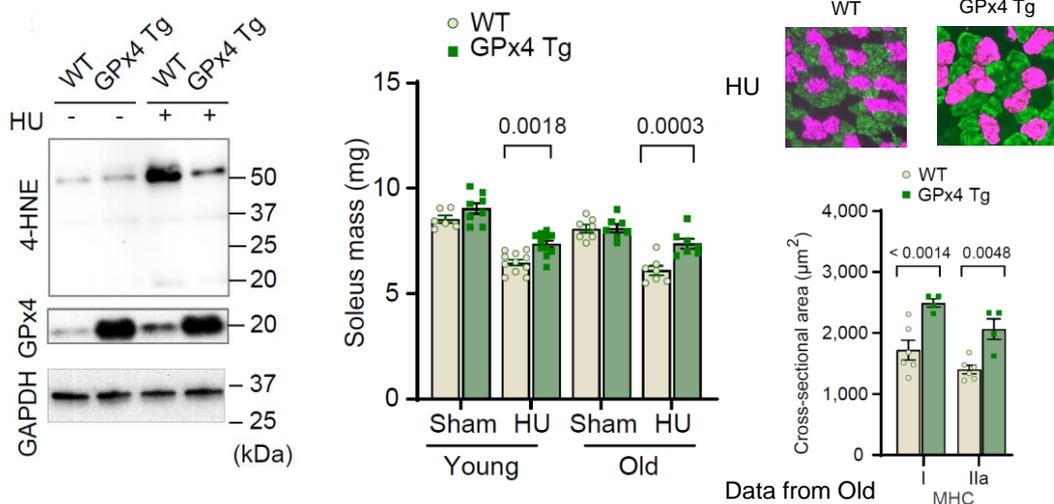


図3. Gpx4過剰発現マウスは加齢時の後肢懸垂時における4-HNEタンパク質量、筋量減少、筋横断面積減少を改善させる。

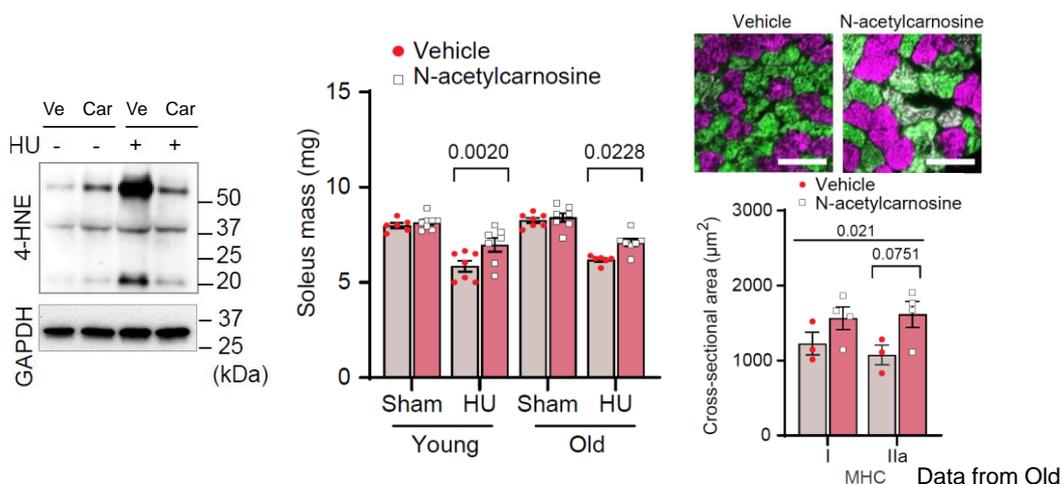


図3. N-アセチルカルノシンを飲水投与したマウスは加齢時の後肢懸垂時における4-HNEタンパク質量、筋量減少、筋横断面積減少を改善させる。

参考文献

Eshima et al. *eLife*. 2023. 12:e85289. doi: 10.7554/eLife.85289.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Petrocelli Jonathan J., Mahmassani Ziad S., Fix Dennis K., Montgomery Jessie A., Reidy Paul T., McKenzie Alec I., Hart Naomi M., Ferrara Patrick J., Kelley Joshua J., Eshima Hiroaki, Funai Katsuhiko, Drummond Micah J.	4. 巻 35
2. 論文標題 Metformin and leucine increase satellite cells and collagen remodeling during disuse and recovery in aged muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 e21862
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.202100883R	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 Ferrara Patrick J., Verkerke Anthony R. P., Maschek J. Alan, Shahtout Justin L., Siripoksup Piyarat, Eshima Hiroaki, Johnson Jordan M., Petrocelli Jonathan J., Mahmassani Ziad S., Green Thomas D., McClung Joseph M., Cox James E., Drummond Micah J., Funai Katsuhiko	4. 巻 35
2. 論文標題 Low lysophosphatidylcholine induces skeletal muscle myopathy that is aggravated by high fat diet feeding	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 e21867
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.202101104R	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 Eshima Hiroaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Influence of Obesity and Type 2 Diabetes on Calcium Handling by Skeletal Muscle: Spotlight on the Sarcoplasmic Reticulum and Mitochondria	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 758316
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphys.2021.758316	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0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

江島研究室  
<http://eshimahiroaki.com/>

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