

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19754

研究課題名（和文）O結合グリコシル化制御に基づくサルコペニアの新規治療法開発

研究課題名（英文）Development of a new treatment for sarcopenia based on the regulation of O-linked glycosylation

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） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：C57BL/6Jマウスは加齢とともに、骨格筋萎縮（骨格筋重量減少、骨格筋細胞径縮小）が観察され、タンパク合成系と分解系タンパクのバランスが破綻した。骨格筋タンパクのO-GlcNAc化は、全体としては増加する傾向があったが、分子量毎に増減に違いがあった。ヘキソサミン合成経路律速酵素である骨格筋におけるGFAT1が増加し、O-GlcNAcを除去するOGAが減少した。加齢マウスへGFAT抑制薬である6-Diazo-5-oxo-L-norleucine (DON)を3か月間投与したところ、vehicleを投与した群と比較して、骨格筋重量の低下および細胞径の縮小が軽減する傾向が観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サルコペニア患者に対する有効な予防・治療法はなく、筋力トレーニングを併用した運動療法を継続するしかないが、その効果は不十分であり、継続が困難な場合も多い。本研究では、これまで注目されていなかったO-GlcNAc化修飾に注目して、加齢における骨格筋萎縮にO-GlcNAc化修飾が重要な役割を果たしていることを明らかにした点で学術的意義が高い。骨格筋萎縮に対するO-GlcNAc化修飾制御という我々独自のパラダイムに基づく予防・治療法の基礎的基盤を築くことができれば、サルコペニアの新規予防・治療法の臨床応用の実現性は高く、健康寿命の実現に大きく寄与すると考えられ、社会的意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：Skeletal muscle atrophy (decreased skeletal muscle weight, decreased skeletal muscle cell diameter) was observed in C57BL/6J mice as they aged, and the balance between protein synthesis and protein degradation was disrupted. O-GlcNAcylation of skeletal muscle proteins tended to increase overall, but there were differences in increases and decreases depending on the molecular weight. GFAT1, a rate-limiting enzyme in the hexosamine biosynthesis pathway, was increased in skeletal muscle, and OGA, which removes O-GlcNAc, was decreased. When 6-Diazo-5-oxo-L-norleucine (DON), a GFAT inhibitor, was administered to aging mice for 3 months, a decrease in skeletal muscle weight and a decrease in cell diameter were attenuated compared to the vehicle-administered group.

研究分野：栄養学および健康科学関連

キーワード：サルコペニア 翻訳後修飾 O結合グリコシル化 健康寿命

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 高齢化が進む本邦において、平均寿命と健康寿命のギャップが大きいことが報告されており、健康寿命の延伸は喫緊の課題である。健康寿命と密接に関連するのが、筋萎縮、筋力低下、活動性低下で診断される加齢性サルコペニアである。この原因は、身体不活動、低栄養、慢性炎症などが考えられているが、詳細な機序は不明であり、有効な治療法もない。

(2) サルコペニアの中心病態である骨格筋萎縮はタンパク合成と分解のバランスの破綻によってもたらされる (Kinugawa et al. Int Heart J 2015;56:475-484)。タンパク合成は、Akt、mTOR、p70S6K のリン酸化によって制御される。一方、タンパク分解は、E3 ユビキチンリガーゼである Atrogin-1 および MuRF1 発現増加、ユビキチンプロテオソーム系の活性化によって制御される。Akt リン酸化は FoxO リン酸化を抑制し、E3 ユビキチンリガーゼの発現を抑制する。Akt はタンパク合成・分解の両者に重要な役割を果たしており、その制御方法を明らかにすることがサルコペニアの治療法の開発につながると考えられる。

(3) 骨格筋は、主に脂肪酸と糖をエネルギー基質として用いる。加齢では、骨格筋の代謝シフト、すなわち脂肪酸酸化が障害され、解糖系に依存したエネルギー産生の割合が高くなっている。解糖系の副経路にヘキソサミン生合成経路があり、ウリニジンニリン酸化-N-アセチルグルコサミン (UDP-GlcNAc) が産生される。UDP-GlcNAc を基質として、種々のタンパクのセリンおよびスレオニン残基の O-結合グリコシル (O-GlcNAc) 化修飾が起こる。O-GlcNAc 化はタンパク翻訳後修飾の一つであり、熱ショック、低酸素、栄養欠乏などの細胞ストレスに対して、タンパクの機能を変化させる (Nature 2007;446:1017-1022)。面白いことに O-GlcNAc 化とリン酸化の修飾部位は同じ場所もしくは近傍で起こるため、タンパクリン酸化の制御に重要な役割を果たしていると考えられる。しかしながら、骨格筋萎縮における O-GlcNAc 化の役割は全く明らかにされていない。

(4) 本研究では、『加齢における骨格筋萎縮の進展にタンパク合成や分解に関わる種々のタンパクの O-GlcNAc 化修飾が重要な役割を果たしている』という仮説を検証し、O-GlcNAc 化の制御による骨格筋萎縮の予防・治療法を開発することを目指す。

2. 研究の目的

(1) 加齢による骨格筋萎縮において、O-GlcNAc 化が変化しているか？O-GlcNAc 化修飾を受けているタンパクを探索する。

(2) 骨格筋細胞において O-GlcNAc 化修飾はどのように制御されているか？特に加齢においてヘキソサミン生合成経路が変化しているか？

(3) O-GlcNAc 化修飾制御によって、骨格筋萎縮が改善するか？骨格筋機能が改善するか？

3. 研究の方法

(1) 骨格筋萎縮におけるタンパク O-GlcNAc 化の解析
3-24 か月齢マウス (C57BL6/J) から骨格筋を取り出し、重量測定、組織評価 (細胞径、線維化、

細胞数、アポトーシス、線維型)、エネルギー代謝評価(ミトコンドリア呼吸能測定、代謝関連タンパクのウエスタンブロット)、タンパク合成・分解系シグナル評価(Akt、mTORなどのリン酸化評価)を行うとともに、O-GlcNAc化を評価する(ウエスタンブロット)。さらに、骨格筋抽出タンパクをO-GlcNAc化抗体で免疫沈降し、O-GlcNAc修飾を受けたタンパクを質量分析装置で同定する

(2) O-GlcNAc化制御機構の決定

加齢マウスの骨格筋におけるヘキソサミン生合成経路を評価する。C2C12培養骨格筋細胞を用いて、アンジオテンシンII、過酸化水素、デキサメタゾン刺激することにより、萎縮細胞モデルを作成する。タンパク合成・分解シグナル、O-GlcNAc化、ヘキソサミン生合成経路を評価する。また、ヘキソサミン生合成経路の鍵タンパク(GFAT1を想定)のsiRNAを導入し、O-GlcNAc化、タンパク合成・分解シグナルに及ぼす影響を検証する。

(3) O-GlcNAc化制御による骨格筋萎縮に対する効果の検証

12か月齢マウスへGFAT(ヘキソサミン生合成経路の律速酵素)抑制薬である6-Diazo-5-oxo-L-norleucin(DON)を3か月間投与する。また、OGAの抑制薬であるO-(2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranosylidene)amino-N-phenylcarbamate(PUGNAc)を3か月間投与する。これらの薬剤の骨格筋に対する作用を検証する。さらに、GFAT1(骨格筋におけるサブタイプ)欠損マウスを24か月まで飼育し、骨格筋の変化を形態学的、組織学的、生化学的解析で評価する。

4. 研究成果

(1) C57BL/6Jマウスの12か月齢より、骨格筋萎縮(骨格筋重量減少、骨格筋細胞径縮小)が観察され、24か月齢では有意に骨格筋萎縮が起こった。タンパク合成系の鍵分子であるAktのリン酸化が低下し、分解系のユビキチンリガーゼであるAtroginやMurfタンパクは増加した。

(2) 骨格筋抽出タンパクのO-GlcNAc化は、全体としては増加する傾向があったが、分子量毎に増減に違いがあった。現在、O-GlcNAc化修飾に変化のあったタンパクを質量分析法で解析し、O-GlcNAc化が変化したタンパクを同定中である。ヘキソサミン生合成経路の律速酵素である骨格筋におけるGFAT1が増加し、O-GlcNAcを除去するOGAが減少したが、この結果は骨格筋抽出タンパク全体でのO-GlcNAc化増加と一致した。

(3) C2C12骨格筋培養細胞を用いて、骨格筋萎縮とO-GlcNAc化修飾との関連を検討した。デキサメタゾンをC2C12培養細胞に添加したところ、細胞径の縮小が観察された。また、GFATが増加し、O-GlcNAc化は増加する傾向があった。この時、Aktのリン酸化は低下し、Atroginタンパクは増加した。C2C12培養細胞に、GFAT1に対するsiRNAを導入し、デキサメタゾン刺激を行ったところ、O-GlcNAc化は減少し、Aktリン酸化の減少やAtroginの増加は軽減した。

(4) 12か月齢マウスへGFAT抑制薬である6-Diazo-5-oxo-L-norleucin(DON)を3か月間投与したところ、vehicleを投与した群と比較して、骨格筋重量の低下および細胞径の縮小が軽減する傾向が観察された。現在、GFAT1欠損マウスでの実験を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

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 1-8
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 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 1-5
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, 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 1-9
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 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 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 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 -

1. 著者名 Ikeda Shota, Sakamoto Kazuo, Sugawara Masafumi, Yakabe Daisuke, Nagaoka Kazuhiro, Kowase Shinya, Inoue Shujiro, Morishige Kunio, Mukai Yasushi, Tsutsui Hiroyuki, Kinugawa Shintaro	4. 巻 35
2. 論文標題 Paced QRS morphology mimicking complete left bundle branch block induced by right ventricular pacing is associated with pacing induced cardiomyopathy	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Cardiovascular Electrophysiology	6. 最初と最後の頁 906 ~ 915
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jce.16229	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5件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件）

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 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、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	松島 将士 (Matsushima Shouji) (80552869)	九州大学・医学研究院・助教 (17102)	

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