

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：23803

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26560400

研究課題名(和文)筋線維特性変化の動脈硬化進展への影響

研究課題名(英文)The effect of skeletal muscle adaptation on the development of aortic atherosclerosis

研究代表者

三浦 進司(Miura, Shinji)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授

研究者番号：10342932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：骨格筋におけるPGC-1 α の発現増加が動脈硬化の進展を抑制するかを明らかにする目的で、動脈硬化易発症性「ApoE KOマウス」と、骨格筋特異的にPGC-1 α を過剰発現させた「PGC-1 α マウス」を交配させ、「ApoE KO/PGC-1 α マウス」を作製した。16～20週齢のマウスより心臓と血液を採取し、大動脈起始部の動脈硬化巣面積と血中リポタンパクプロファイルの解析を行った。その結果、「ApoE KOマウス」と比較し「ApoE KO/PGC-1 α マウス」では、大動脈起始部の動脈硬化巣面積が43%減少し、血中の総コレステロール濃度、VLDLコレステロール濃度は有意に減少した。

研究成果の概要(英文)：To examine whether the overexpression of PGC-1 α in skeletal muscle could prevent the development of aortic atherosclerosis, we created the ApoE knockout mice overexpressing PGC-1 α in the skeletal muscle. ApoE knockout mice without overexpression of PGC-1 α were used as control. Hearts and fasting plasma samples were collected at the age of 16-20 weeks. The HE stained sections of the proximal aorta were evaluated for the cross-sectional area of lesions from the aortic root. Lipoprotein profiles were also measured. The skeletal muscle overexpression of PGC-1 α could decrease by 43% in cross-sectional area of lesion as compared to control ApoE knockout mice. Plasma total cholesterol and VLDL-cholesterol levels were also decreased in ApoE knockout mice overexpressing PGC-1 α .

研究分野：応用健康科学

キーワード：動脈硬化 筋線維の遅筋化 転写調節因子 ApoE KOマウス PGC-1 FOXO1

1. 研究開始当初の背景

持久力向上による冠動脈疾患予防には、中心動脈スティフネス(硬化度)の低下、血中 LDL 濃度の低下と HDL 濃度の増加などが関与すると言われているが、未解明な部分も多く残されている。最近、筋収縮に伴い骨格筋からホルモン様ペプチド(マイオカイン)が分泌されることが報告され、骨格筋が内分泌臓器としての役割も果たすことが示唆された(*Nat Rev Endocrinol* 2012)。また、Boström らは骨格筋の遅筋化を促進する転写共役因子 peroxisome proliferators-activated receptor- γ co-activator-1 α (PGC-1 α) が Irisin と呼ばれるマイオカインの産生量を増加させることを明らかにし、筋線維特性の変化がマイオカインを介して他臓器機能に影響を及ぼすという新概念を提唱している(*Nature* 2012)。マイオカインには炎症関連因子も含まれることから、単球由来マクロファージ、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞などによる炎症反応を基盤とする動脈硬化性疾患にマイオカインが何らかの影響を及ぼすことが想定される。すなわち、全身持久力向上(筋線維特性変化)に伴って産生されるマイオカインはこれら細胞における炎症関連因子産生に影響して冠動脈疾患を予防する可能性がある。申請者らはこれまでに、PGC-1 α を骨格筋特異的に過剰発現させた「筋 PGC-1 α マウス」を作製し、骨格筋の遅筋化と持久力の向上を認めており(*J Biol Chem* 2003, *Am J Pathol* 2006, *PLoS ONE* 2011)、Irisin を始めとする様々なマイオカインの発現変化も確認済みである(未発表)。一方、申請者らは不活動により骨格筋での発現量が増加するフォークヘッド型転写因子

FOXO1 を骨格筋特異的に過剰発現させた「筋 FOXO1 マウス」において、遅筋特性喪失を認めており(*FEBS Lett* 2003, *J Biol Chem* 2004)、本マウス骨格筋で産生されるマイオカインは「筋 PGC-1 α マウス」で産生されるものとは種類や量が異なっている可能性がある。以上により、遅筋特性を獲得した「筋 PGC-1 α マウス」と、遅筋特性が喪失した「筋 FOXO1 マウス」における筋線維特性変化が動脈硬化進展にどのように影響するのかを解析することにより、関連するマイオカインの同定ならびに持久力向上による冠動脈疾患予防機序を解明できる。さらに末梢白血球における炎症関連因子の遺伝子発現量変化が、動脈硬化の臨床指標となるか否かも明らかにできる。

2. 研究の目的

「筋 PGC-1 α マウス」、「筋 FOXO1 マウス」、動脈硬化易発症モデルマウスを用いて、持久力トレーニングや不活動による骨格筋の筋線維特性変化が動脈硬化進展にどのように影響するか解析する。

3. 研究の方法

動脈硬化易発症モデルマウス「ApoE KO マウス」と、PGC-1 α を骨格筋特異的に過剰発現させた「PGC-1 α マウス」を交配させ、「ApoE KO/PGC-1 α マウス」を作出した。特異的プライマーを用いたジェノタイプングによって、マウスの遺伝子型を判定した。マウスは4週齢で離乳し、6週齢から2週間ごと16週齢まで体重測定・採血をし、血中総コレステロール濃度・中性脂肪濃度の推移を測定した。

16 週齢の雄性マウスから心臓、血液を採取し、心臓大動脈弁における動脈肥厚面積を測定した。血液は血中リポタンパクプロファイルを測定した。対照には「ApoE KO マウス」を用いた。

4. 研究成果

特異的プライマーを用いたジェノタイプングによって「ApoE KO/PGC-1 α マウス」の作出に成功したことを確認した。「ApoE KO マウス」と「ApoE KO/PGC-1 α マウス」間で体重、血中総コレステロール濃度、中性脂肪濃度、リポタンパクプロファイルには有意な差がなかった。しかし動脈肥厚面積は「ApoE KO マウス」で $4.6 \times 10^5 \pm 0.9 \times 10^5 \mu\text{m}^2$ (n=4) であり、「ApoE KO/PGC-1 α マウス」では $2.9 \times 10^5 \pm 0.4 \times 10^5 \mu\text{m}^2$ (n=6) (平均値 \pm 標準誤差) であった。「ApoE KO マウス」では動脈肥厚が認められ、動脈硬化が引き起こされていた。しかし、「ApoE KO マウス」に PGC-1 α を骨格筋特異的に発現させると動脈肥厚面積は約 60%に減少した。そのときの危険度は $p=0.099$ であり、有意とは言えないが、減少傾向が認められ、PGC-1 α の骨格筋特異的発現が動脈硬化を抑制する可能性を示すことができた。

動脈硬化易発症モデルマウス「ApoE KO マウス」と、FOXO1 を骨格筋特異的に過剰発現させた「FOXO1 マウス」を交配させた、「ApoE KO/FOXO1 マウス」については現在作出中である。

本研究では、マウスの食殺、不妊などの理由から、「ApoE KO/PGC-1 α マウス」の作出が計画していた期間よりも長くかかってしまった。また、動物飼育施設内の限られたスペ

ースで繁殖を行っているため、「ApoE KO/PGC-1 α マウス」と「ApoE KO/FOXO1 マウス」を同時に作出することができなかった。

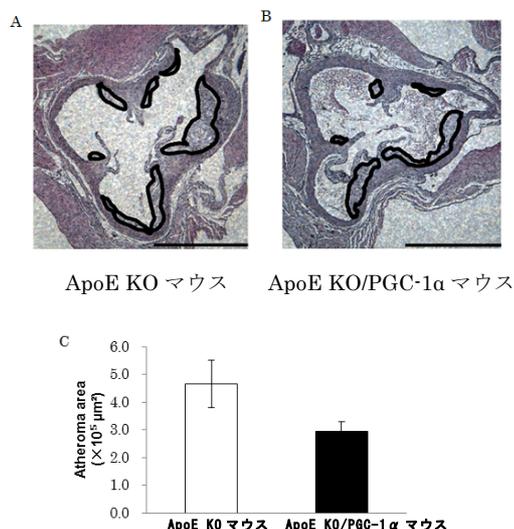


図 骨格筋に PGC-1 α を過剰発現させると動脈硬化が抑制される傾向にあった
(A) 大動脈起始部の典型的な HE 染色像 (太線で囲んだ部分が動脈が肥厚した部分)
(B) 動脈肥厚面積の平均値 \pm 標準誤差

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 2 件)

- ① 榛葉有希、十河華子、妹尾奈波、池田雅彦、守田昭仁、三浦進司: 持久的運動による動脈硬化抑制の機序解明、富士山麓アカデミック&サイエンスフェア 2015、2015 年 12 月 (沼津)
- ② 榛葉有希、十河華子、妹尾奈波、池田雅彦、守田昭仁、三浦進司: 持久的運動による動脈硬化抑制の機序解明、第 71 回日本体力医学会大会、2016 年 9 月 (岩手)、演題登録済み

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三浦 進司 (MIURA, Shinji)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授

研究者番号：10342932

(2) 研究分担者

守田 昭仁 (MORITA, Akihito)

静岡県立大学・食品栄養科学部・助教

研究者番号：40239653

池田 雅彦 (IKEDA, Masahiko)

常葉大学・環境学研究科・教授

研究者番号：20232176

(3) 連携研究者

合田 敏尚 (GODA, Toshinao)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授

研究者番号：70195923

亀井 康富 (KAMEI, Yasutomi)

京都府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：70300829

(4) 研究協力者

榛葉 有希 (SHIMBA, Yuki)

十河 華子 (TOGAWA, Hanako)

妹尾 奈波 (SENOO, Nanami)