

令和元年6月17日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05157

研究課題名(和文) 新規二元的ミトコンドリア制御系によるサルコペニアの病態研究

研究課題名(英文) Involvement of Synoviolin in Muscle metabolism via two distinct pathways

研究代表者

中島 利博 (Nakajima, Toshihiro)

東京医科大学・医学部・教授

研究者番号：90260752

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では脂肪、肝臓とともに代表的エネルギー代謝器官である骨格筋におけるシノビオリンの役割に着目し、その役割を明らかとした。筋特異的シノビオリンノックアウトマウスを解析したところ、遅くとも生後6週齢にはすでに筋量の低下が明らかとなり、12週齢までには遅筋有意のヒラメ筋などではごく軽度な筋量の減少であったにも拘わらず、速筋優位の長趾伸筋などでは顕著な筋量の減少を認めた。さらに病理学的及び運動生理学的解析により、この筋萎縮が主として速筋線維で生じ、筋力も低下していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会を迎えた日本では運動器の障害により日常生活に支援や介護が必要となる方が増加している。平均余命が延びている分だけ、運動器の健康を長く保つ必要があり、サルコペニアの病態研究は国民にとって喫緊の最重要課題の一つである(「健康日本21」より)。しかし、「加齢」という生命現象自体が未だ謎の点が多く、期間、その他の要因など問題がある。本研究によりこれらを解決した迅速に得られる新規筋萎縮モデルを提供でき、本分野の研究の発展に寄与できよう。

研究成果の概要(英文)：We have been studying the role of synoviolin in several energy metabolism organs including white adipose tissue and liver. In this study, we focused on the role of synoviolin in skeletal muscle which is one of the representative energy metabolizing organs. The muscle-specific synoviolin knockout mice showed the severe muscle atrophy at 6 weeks of birth. In addition, pathological and physiological analyses demonstrated that the muscle atrophy mainly occurred in fast muscle fibers and muscle strength was also reduced. These results reinforce our previous finding that synoviolin plays a pivotal key regulator of energy metabolism. Taken together, this study could provide the new model to investigate muscle atrophy including sarcopenia.

研究分野：病態生理学、分子細胞生物学、リウマチ学、タンパク質分解、遺伝子発現、遺伝子改変動物

キーワード：サルコペニア 遺伝子改変動物 タンパク質分解 シノビオリン ユビキチン化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

正常な細胞では、ミトコンドリアが酸化的リン酸化反応を介して ATP 産生の大部分を担い、細胞内エネルギー代謝の中心となることが良く知られている。最近、ミトコンドリアによる炎症やアポトーシスの制御など新しい機能が明らかになり、ミトコンドリア病だけでなく老化、肥満・糖尿病、慢性炎症、サルコペニアなど多岐にわたる疾患の発症と進展に深くかかわっていることが広く認められつつある。ミトコンドリアの biogenesis と機能制御に関しては PPAR、NRF2、ER などの個々の転写因子とそれらに対する転写統合装置 (PGC family) による転写レベルでの調整が重要であることが知られている。したがって、これらのシグナル伝達系の理解によるミトコンドリアの人為的制御法の確立ができれば、現代社会が直面する、これら難治性疾患の革新的治療法の開発につながることは明白であろう。

研究代表者はリウマチの研究 (JCI 1991&1993 など) の後に、米国にて 1990 年代の転写研究のパラダイムシフトである「転写統合装置」という概念の提唱と、その実証に関する先駆的研究を行った (Nature 1995, Cell 1996, 1997, Genes Dev 1996)。この概念は複数のシグナル伝達を核内で制御し、転写開始の最終段階で集積回路 IC のように疎通させるという概念であり、この概念を拠り所として国内外の研究グループと協力し、転写統合装置の分子解剖を行い、各ドメインが司るシグナルネットワークの変調が生体機能の表現型として乳がん、神経変性症、自己免疫疾患などの病態の一端を捉えることに成功した (Nature Genetics 1998&2000, M. C. B. 2001, 2003, J. B. C. 2001, 2002 など 30 を超える原著論文)。

また、研究代表者は帰国後、リウマチの病因・病態の解明のため、リウマチ滑膜に強発現する分子として E3 コピキチン化酵素を発見し、シノビオリン (Synoviolin: SYVN1) と命名した (Genes Dev 2003)。同遺伝子のトランスジェニックマウスは関節炎を発症し、かつノックアウト (KO) マウスは関節炎モデルに抵抗性であることを報告した (Nat. Rev Rheum 2008 など)。他のグループより、同分子が抗 TNF $\alpha$  製剤の抵抗性を決定するバイオマーカーであること (Toh ML ら, A & R 2006)、慢性炎症の key factor であるとの報告 (Gao ら, A.R.T. 2006, Toh ML ら, PLoS One 2010, Klaasen R ら, Ann Rheum Dis 2012) もなされた。最近、シノビオリンがリウマチのみならず、脂肪際においては、転写統合装置 PGC-1 $\beta$  を、肝細胞においては転写因子 NRF2 がそれぞれ分子標的であり、それらの機能を負に制御することで、とくに脂肪細胞においては、ミトコンドリアの biogenesis とエネルギー代謝を調節するという新規経路を発見した (EMBO J 2015, Genes Dev 2014)。

### 2. 研究の目的

本研究では脂肪、肝臓とともに代表的エネルギー代謝器官である骨格筋におけるシノビオリンの役割に着目し、その筋委縮における役割を明らかとする。筋特異的 muscle creatine kinase (MCK) プロモーターによりドライブされる Cre 発現マウス (Tg(Ckmm-cre)) を、すでに報告したシノビオリン floxed マウス (Syvnfl/fl) と二回交配し、筋肉特異的シノビオリン KO マウス (MCK-cre Syvnfl/fl) を作製し、その解析を行う。

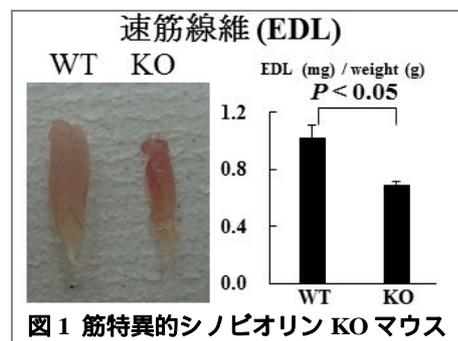
### 3. 研究の方法

シノビオリンによるエネルギー代謝機構の骨格筋における意義を解析するため、上述した筋特異的 KO と各責任領域の変異体を活用する。細胞レベルでは各責任領域の変異体によるミトコンドリアの数、機能、DNA 量の変化を解析する。個体レベルでは筋特異的 KO マウスの生理的条件化と懸垂モデルによる病的条件下での骨格筋のミトコンドリアの数、機能、DNA 量、筋の病理学的解析、筋肉量などの解析を行う。さらに、得られた結果に基づき各シノビオリン機能調整剤の検討を行う。

本計画では、その根源的仮説である「シノビオリンによる筋細胞におけるエネルギー代謝調節の可能性」を、最も直截的な実験系として筋特異的シノビオリン KO マウスにて検証する。その後、各シノビオリン変異体を用い細胞レベルと個体レベルで詳細な二元的シグナル伝達の解析を行う。

### 4. 研究成果

シノビオリンの筋特異的 KO マウスでは遅くとも生後 6 週齢にはすでに筋量の低下が明らかとなり、12 週齢までには遅筋有意のヒラメ筋などではごく軽度な筋量の減少であったにも拘わらず、速筋優位の長趾伸筋 (以下、EDL) などでは顕著な筋量の減少を認めた (図 1) (論文準備中)。さらに病理学的及び運動生理学的解析により、この筋萎縮が主として速筋線維で生じ、筋力も低下していた (図 2 次頁)。これらの結果より、筋特異的 Syvn KO マウスは**世界初の単一因子による 型筋萎縮のモデル**であることが示唆された。



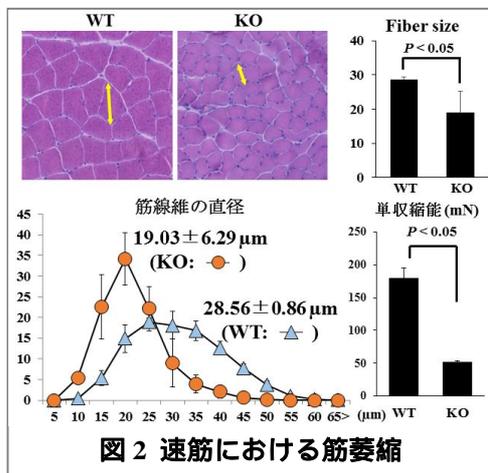


図2 速筋における筋萎縮

読有 DOI:10.3892 / mmr.2018.9175

3. Maeda T, Fujita Y, 7 名省略 9 番目 Nakajima T. An E3 Ubiquitin Ligase, Synoviolin, Is Involved in the Degradation of Homocysteine-Inducible Endoplasmic Reticulum Protein. *Biol. Pharm. Bull.* 41(6): 915-919, 2018 査読有 DOI:10.1248 / bpb.b18-00015
4. Fujita H, Aratani S, Yagishita N, Nishioka K, Nakajima T. Identification of the inhibitory activity of E3 ligase Syvn1 in walnut extract. *Mol. Med. Rep.* 8(6): 5701-5708, 2018 査読有 DOI:10.3892 / mmr.2018.9576
5. Matsubara T, Inoue H, Nakajima T, 11 名省略 Abatacept in combination with methotrexate in Japanese biologic-naive patients with active rheumatoid arthritis: a randomised placebo-controlled phase IV study. *RMD Open.* 4:4(2), 2018 査読有 DOI:10.1136 / rmdopen-2018-000813
6. 荒谷 聡子、中島 利博. 線維筋痛症の病態・病因. *日本臨牀* 76(11):1921-1926, 2018 査読無  
[http://mol.medicalonline.jp/library/search/result?from=form\\_simple&query=%C0%FE%B0%DD%B6%DA%C4%CB%BE%C9%A4%CE%C9%C2%C2%D6%A1%A6%C9%C2%B0%F8&num=20&x=33&y=13&serID=210.137.139.190](http://mol.medicalonline.jp/library/search/result?from=form_simple&query=%C0%FE%B0%DD%B6%DA%C4%CB%BE%C9%A4%CE%C9%C2%C2%D6%A1%A6%C9%C2%B0%F8&num=20&x=33&y=13&serID=210.137.139.190)
7. Sato T, Ariella L.G. Coler-Reilly, Yagishita N, 9 名省略 Mogamulizumab (Anti-CCR4) in HTLV-1-Associated Myelopathy. *N Engl J Med.* 378(6): 529-538, 2018 査読有 DOI: 10.1056/NEJMoa1704827
8. Sato T, Yagishita N, 11 名省略 Proposal of Classification Criteria for HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis Disease Activity. *Front Microbiol.* 25(9): 1651, 2018 査読有 DOI:10.3389/fmicb.2018.01651
9. Nakajima T. Rheumatic heart disease in Central Asia. *Translating Reserch To Impact.* 3: 27-29, 2018 査読無
10. 八木下尚子、中島 利博. 「アレルギーの臨床」に寄せる-885- 「関節リウマチ発症因子シノビオリン」. *アレルギーの臨床* 37(9):72-78, 2018 査読無  
[http://www.hokuryukan-ns.co.jp/magazines/03allergy/a2017\\_09.html](http://www.hokuryukan-ns.co.jp/magazines/03allergy/a2017_09.html)
11. Coler-Reilly Ariella L.G., Sato T, 9 名省略 10 番目 Yagishita N. Effectiveness of Daily Prednisolone to Slow Progression of Human T-Lymphotropic Virus Type 1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis: A Multicenter Retrospective Cohort Study. *Neurotherapeutics.* 14: 1084-1094, 2017 査読有 DOI:10.1007/s13311-017-0533-z
12. Aratani S, Fujita H, Yagishita N, Yamano Y, Okubo Y, Nishioka K, Nakajima T. Inhibitory effects of ubiquitination of synoviolin by PADI4. *Mol. Med. Rep.* 16(6): 9203-9209, 2017 査読有 DOI:10.3892/mmr.2017.7764
13. Yukio S, Mabuchi Y, 10 名省略 9 番目 Nakajima T. Notch2 signaling regulates the proliferation of murine bone marrow-derived mesenchymal stem/stromal cells via c-Myc expression. *PLOS ONE.* 11(11): 165946, 2016 査読有 DOI:10.1371/journal.pone.0165946
14. Nakajima F, Aratani S, Fujita H, Nakatani K, Makita K, Nakajima T. A case of fibromyalgia involving pain throughout the body treated with sitespecific targeted pain control. *Springerplus.* 5: 1027, 2016 査読有 DOI:10.1186/s40064-016-2572-z
15. Fujita H, Aratani S, Fujii R, Yamano Y, Yagishita N, 5 名省略 11 番目 Nakajima T. Mitochondrial ubiquitin ligase activator of NF- B regulates NF- B signaling in cells subjected to ER stress. *Int J Mol Med.* 37:1611-1618, 2016 査読有 DOI:10.3892/ijmm.2016.2566
16. Maeda T, Tanabe-Fujimura C, 7 名省略 9 番目 Nakajima T. NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 inhibits the proteasomal degradation of homocysteine-inducible endoplasmic reticulum protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 473(4):1276-1280, 2016 査読有

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 16 件)

1. Furusawa Y, Yamaguchi I, Yagishita N, Tanzawa K, Matsuda F, Yamano Y. RADDAR-J Research and Developmental Group National platform for Rare Diseases Data Registry of Japan. *Learning Health Systems.* e10080, 2019. 査読有 DOI:10.1002/lrh2.10080
2. Ishida Y, Fujita H, Aratani S, 7 名省略 11 番目 Nakajima T. The NRF2-PGC-1 pathway activates kynurenine aminotransferase 4 via attenuation of an E3 ubiquitin ligase, Synoviolin, in a cecal ligation/perforation-induced septic mouse model. *Mol. Med. Rep.* 18(2): 2467-2475, 2018 査

〔学会発表〕(計 25 件)

1. Nakajima T. What Rheumatoid synovial cells tell us: apoptosis. APLAR 'S EXTENSIVE COURSE ON RHEUMATOLOGY. 2018
2. 藤田 英俊. 慢性炎症疾患を司るシノビオリンの分子・細胞内小器官・臓器・個体レベルでのエネルギー調節機構. 第 19 回運動器科学研究会 2018
3. 藤田 英俊、石田 裕介、荒谷 聡子、横田 真穂、内野 博之、中島 利博. 脳内炎症に関わるキヌレニンの代謝機構の解明. 日本線維筋痛症学会第 10 回学術集会 2018
4. 薦田 昭宏、橋本 聡子、河野 麻衣、手島 議起、澤田 純、中谷 孝、中島 利博. 線維筋痛症の栄養状態と痛み関連障害について. 日本線維筋痛症学会第 10 回学術集会 2018
5. 石川 洋世、北川 中行、中谷 孝、中島 利博. だいいちりハビリテーション病院における精神科診療 - 精神科医の役割は. 日本線維筋痛症学会第 10 回学術集会 2018
6. 西森 美佐子、中平 律子、山口 結花、梅原 由加里、荒谷 聡子、中島 若巳、北川 中行、中谷 孝、中島 利博. 線維筋痛症における当院での関節超音波検査の取り組み. 日本線維筋痛症学会第 10 回学術集会 2018
7. 中島 利博. ユビキチン化酵素シノビオリンの発見から臨床応用. 第 13 回日本臨床プロテオーム研究会 2017
8. 藤田 英俊. シノビオリンノックアウトマウスにおけるメタボローム解析. 第 18 回運動器科学研究会 2017
9. Nakajima T. Synoviolin as a novel factor for Rheumatoid Arthritis, chronic inflammation and metabolic disorders. 18th Myanmar Internal Medicine Conference 2017 (in conjunction with 4th AFIM congress and 4th ACP Southeast Asian Chapter Meeting) 2017
10. 西森美佐子、中平 律子、山口 結花、梅原由加里、荒谷 聡子、中島 若巳、北川 中行、中谷 孝、中島 利博. 線維筋痛症における関節超音波検査の活用法. 日本線維筋痛症学会第 9 回学術集会 2017
11. 薦田 昭宏、橋本 聡子、手島 郁恵、河野 麻衣、渡邊 彩花、中島 若巳、中谷 孝、中島 利博. 当院における線維筋痛症の短期入院の痛み関連障害について. 日本線維筋痛症学会 第 9 回学術集会 2017
12. Fujita H, Aratani S, Yokota M and Nakajima T. Development of novel regulatory methods of mitochondrial functions. The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16) 2017
13. 八木下尚子、佐藤 知雄、長谷川大輔、新谷奈津美、井上 永介、高田 礼子、山野 嘉久. HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の新たな運動障害重症度評価指標の提案. 日本 HTLV-1 学会 2017
14. Nakajima T. Synoviolin, as a new stellar factor for understanding chronic inflammation. MOSCOW INTERNATIONAL FORUM OF BONES AND JOINTS DISORDERS/THE INTERNATIONAL SCHOOL CONFERENCE (ISC) 2016
15. Aratani S, Nakajima T. Synoviolin, as a novel factor for understanding obesity and metabolic disorders based on chronic inflammation. International Conference on Obesity and Chronic Diseases (WCC 2016) 2016
16. Aratani S, Fujita H, Yagishita N, Yokota M, Nishioka K, Nakajima T. E3 Ubiquitin ligase synoviolin inhibitors has effects on obesity. International Conference on Obesity and Chronic Diseases (WCC 2016) 2016
17. 中島 利博. 新規自己炎症症候群モデルマウスの樹立とシノビオリン阻害剤の効果. 第 17 回運動器科学研究会 2016
18. 藤田 英俊. リウマチ発症因子シノビオリンによるエネルギー代謝調節の解明. 第 17 回運動器科学研究会 2016
19. 荒谷 聡子. シノビオリン阻害剤の実用化に向けて. 第 17 回運動器科学研究会 2016
20. 藤田 英俊、荒谷 聡子、西岡久寿樹、中島 利博. シノビオリン阻害剤の探索. 日本線維筋痛症学会第 8 回学術集会 2016
21. 藤田 英俊、荒谷 聡子、西岡久寿樹、中島 利博. マウスモデルを用いたシノビオリン阻害活性を有する天然物の効果の検証. 日本線維筋痛症学会第 8 回学術集会 2016
22. 藤田 英俊、荒谷 聡子、西岡久寿樹、中島 利博. ヒトにおけるシノビオリン阻害剤の効果の検証. 日本線維筋痛症学会第 8 回学術集会 2016
23. 中島 利博. シノビオリンが拓く慢性炎症・関節リウマチの病態メカニズムと新規治療法の開発. 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会 2016
24. 荒谷 聡子、藤田 英俊、八木下尚子、山野 嘉久、西岡久寿樹、中島 利博. 関節リウマチにおける転写後修飾による多重化シグナル調節機構の解析. 第 3 回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス 2016
25. 藤田 英俊、荒谷 聡子、八木下尚子、山野 嘉久、須藤カツ子、内野 博之、西岡久寿

〔図書〕(計 1 件)

1. edited by Lazaros I.Sakkas Yagishita N, Aratani S, Fujita H, Yamano Y, Nishioka K, Nakajima T. INTECH. New Developments in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis Synoviolin is a novel pathogenic factor of arthropathy and chronic inflammation. 2016. 121-135

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: ウォルフラム症候群の治療剤  
発明者: 中島 利博、藤田 英俊、他 5 名  
権利者: 同上  
種類: 特許  
番号: 特願 2019- 61768  
出願年: 2019  
国内外の別: 国内

取得状況(計 1 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等  
東京医科大学医学総合研究所運動器科学研究部門  
<http://toshinakajima2014.wix.com/tokyomed>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 八木下 尚子  
ローマ字氏名: (YAGISHITA, naoko)  
所属研究機関名: 聖マリアンナ医科大学  
部局名: 医学研究科  
職名: 講師  
研究者番号(8桁): 40367389

研究分担者氏名: 荒谷 聡子  
ローマ字氏名: (ARATANI, satoko)  
所属研究機関名: 東京医科大学  
部局名: 医学部  
職名: 講師  
研究者番号(8桁): 40387064

研究分担者氏名: 藤田 英俊  
ローマ字氏名: (FUJITA, hidetoshi)  
所属研究機関名: 東京医科大学  
部局名: 医学部  
職名: 講師  
研究者番号(8桁): 90571802

(2) 研究協力者

研究協力者氏名:  
ローマ字氏名: