

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H04064

研究課題名(和文) 骨格筋の代謝の可塑性に基づくサルコペニアの病態解明と応用

研究課題名(英文) Elucidation of pathogenesis of sarcopenia based on the plasticity of metabolism of skeletal muscle

研究代表者

重本 和宏 (Shigemoto, Kazuhiro)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・副所長

研究者番号：40284400

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：サルコペニアに伴う筋力および運動機能の低下の原因として、老化による筋の質的变化が予想されるが、未だ明確に病理学的に定義されていない。病理学的エビデンスを基にしたサルコペニアのメカニズムの解明は、科学的根拠に基づいた早期診断法及び評価法の開発に必要である。申請者が開発した MusColor™マウスの老化マウスを使い、特徴的な筋線維タイプ変化を発見した。また、MusColor™筋細胞株を樹立して新しい研究手法を確立した。本研究により、老化に伴う筋のミトコンドリアの形態変化と機能低下およびそのメカニズムの結果と合わせてサルコペニアの早期の質的变化についての病理学的に定義を提案した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、要支援・要介護の原因となるサルコペニアの診断基準が改訂され、筋量減少よりも早期から筋力および運動機能の低下を計測して早期介入を行うことが必要であると発表された。筋力および運動機能の低下は、老化に伴う筋の質的变化を伴うことが予想されるが、未だ明確に病理学的に定義されていない。本研究では、まずサルコペニアの病理学的エビデンスを明らかにして、それを指標としたサルコペニアのメカニズムを解明する新技術の開発とメカニズムの解明を行った。本研究の成果を基にして、科学的根拠に基づいた早期診断法及び評価法の開発が今後期待される。

研究成果の概要(英文)：The loss of muscle strength and motor function associated with sarcopenia is expected to be accompanied by qualitative changes in muscle due to aging but has not yet been clearly defined pathologically. Elucidation of the mechanism of sarcopenia based on pathological evidence is necessary for the development of scientifically based early diagnosis and assessment methods. Using aging MusColor™ mice developed by the applicant, we found characteristic myofiber type changes. We also established a new research method by establishing the MusColor™ muscle cell line. This study successfully defined the pathology of early qualitative changes in sarcopenia in combination with the results of the morphological changes and functional decline of muscle mitochondria and their mechanisms during aging.

研究分野：基礎老化 老年医学 神経学

キーワード：サルコペニア 筋線維タイプ 代謝機能 ミトコンドリア 酸化ストレス イメージング技術 ハイブリッドファイバー 遺伝子改変マウス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、日本および欧州においてサルコペニアの診断基準が改訂され、筋量減少よりも早期から発見される筋力および運動機能の低下を計測して、サルコペニアの可能性があれば早期介入すべきであると発表した。筋力および運動機能の低下は、老化に伴う筋の質的变化を伴うことが予想されるが、未だ明確に病理学的に定義されていない。要支援・要介護の原因とつながるサルコペニア・フレイルの有効な予防対策を確立するため、病理学的エビデンスに基づく研究でサルコペニアのメカニズムを解明して科学的根拠に基づいた早期診断法及び評価法の開発が必要とされている。骨格筋は、代謝と収縮特性の違いによって酸化系代謝が優位の遅筋線維や解糖系代謝が優位の速筋線維および中間筋などマウスでは4種類(ヒトは3種類)の筋線維タイプで構成され、運動により筋線維タイプと代謝特性が可塑的に変化する。いっぽう老化筋では速筋線維が減少して遅筋線維の割合が増加することから、サルコペニアでは早期に筋力低下と共に代謝変換の可塑性が低下するという新概念を我々は提唱している。しかしながら、筋線維タイプ変化と代謝特性のリプログラミングの可塑性喪失のメカニズムはわかっていない。申請者は、マウスの4種全ての筋線維タイプ(MyHC I型, IIa型, IIx型, IIb型)を生きたまま、in vivoとin vitroの両方で識別観察できる遺伝子改変マウス(MusColor™マウス)を作成して世界でオンリーワンの新技術の開発に成功しており、それを用いて本研究を開始した。

2. 研究の目的

(1) 生きた状態でマウス個体の骨格筋およびマウス由来の培養筋細胞の4種の筋線維タイプ変化を蛍光色で識別イメージングすることができるMusColorマウス™を使い、これまで同定した筋線維タイプ変化を誘導因子による、代謝変換のメカニズムを明らかにする。また、4種の筋線維タイプの蛍光を1匹のマウスで観察可能な老化マウスを実験に使用することが可能になったのでそれを使い老化筋の筋線維タイプ変化を解析する。

(2) マウスの筋のミトコンドリアの形態と代謝機能の加齢変化を明らかにする。加齢に伴う筋ミトコンドリア変化の病理学的エビデンスとそのメカニズムの解明することで、サルコペニア筋の質的变化の定義を明確にする。

3. 研究の方法

(1) MusColorマウス™の骨格筋から筋幹細胞をFACSで採取・作成した筋芽細胞株(MusColor筋芽胞™)の分化誘導の実験系を使用する。その系を用いて、申請者らが同定した筋線維タイプ変化をin vitroで誘導する因子を使い、筋線維タイプ変化に伴う代謝変換の機構を、細胞外フラックスアナライザーで代謝変換の解析を行なう。

4種類のMHC(蛍光タンパク)を同時に発現する老化マウスと若年マウスの筋線維タイプ変化を解析する。

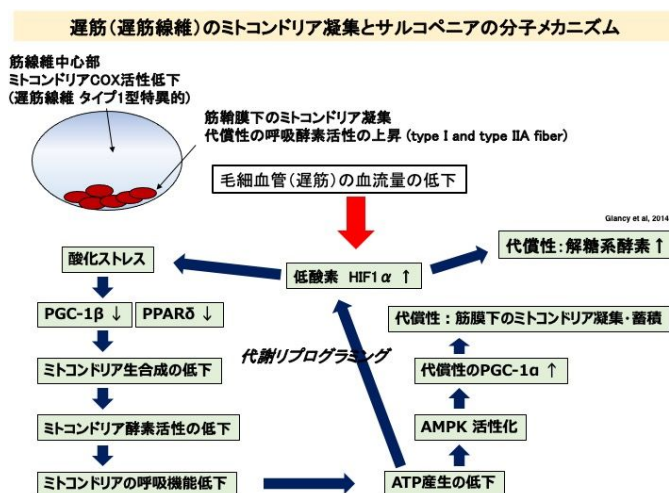
(2) 若齢群(6-8ヶ月齢)、中齢群(19-20ヶ月齢)、老齢群(29-32ヶ月齢)のC57BL/6NJcl雌マウスを用いて、遅筋優位筋(type IとA線維)のひらめ筋と速筋優位筋(type XとB線維)からなる長趾伸筋の組織学的変化とミトコンドリアの呼吸機能を比較検討した。ミトコンドリア関連遺伝子と酸化ストレス関連遺伝子発現の加齢変化もあわせて解析した。

4. 研究成果

(1) MusColor マウス™ の4種の筋線維タイプはそれぞれ、MyHC I型(YFP), IIa型(Sirius), IIx型(Cerulean), IIb型(mCherry)の4色で生細胞の状態でも識別イメージングが可能である。MusColor 筋芽胞™ の分化誘導時にラパマイシンおよびT3(トリヨードサイロニン)を添加することで、MyHC I型(YFP)もしくはIIb型(mCherry)を優位に in vitro で誘導することを申請者は発見している。細胞外フラックスアナライザーを用いて筋線維タイプ変化に伴う糖代謝および脂肪酸の代謝特性について解析した。興味深いことに、ラパマイシンによる MyHC I型筋線維の誘導とT3によるIIb型線維の誘導に伴う代謝特性の変化は予想と全く異なる結果を得た。その代謝特性の変化は基質に特異的であった。

筋線維タイプは、生理的にはミオシン重鎖 I型 IIa型 IIdx IIbの順番で可逆的に変化するとされるが、老化に伴い速筋線維の割合が不可逆的に増加する。申請者らは複数の筋線維タイプを同時に有するハイブリッドファイバーが加齢により変化することを、MusColor マウス™ を使い発見した。ハイブリッドファイバーの定量解析は、従来から使われている各ミオシン重鎖に対する抗体を使った免疫染色法や ATP 活性の差で識別する組織化学的解析では全く解析することができない。

(2) ヒラメ筋においては加齢に伴い、I型線維特異的にミトコンドリア呼吸酵素活性(complex I, complex IV)の低下、I型およびIIA型線維の筋細胞膜下の領域に局在したミトコンドリア蓄積の顕著な増加を認めた。一方で、ミトコンドリアミオパチーで観察される病理所見の ragged-red fibers (RRFs) とは全く異なる病理所見であることがわかった。これらのミトコンドリアの病態変化は、筋重量の減少に先行して顕在化して筋線維の萎縮との明確な相関が無いことから、加齢に伴う筋の質的变化の早期の病理学的特徴であり、また機能低下に関与すると考えられる。実際、ヒラメ筋のミトコンドリア呼吸機能を、フラックスアナライザーを使い解析したところ、筋萎縮が観察される前の段階で筋細胞膜下のミトコンドリア凝集が観察される middle-age マウスで既にミトコンドリア機能低下がおきるが、ミトコンドリアの形態変化がない middle-age マウスの長趾伸筋では呼吸機能の低下は認めなかった。遅筋で発見したミトコンドリアの機能と形態変化の分子メカニズムを解析するために、ミトコンドリア病態変化が顕在化した middle-aged マウスの筋のミトコンドリア生合成関連遺伝子、酸化ストレス関連遺伝子の mRNA 発現変動を解析した。その結果、加齢筋の遅筋線維の低酸素状態と酸化ス



トレスは血流減少が関与しており、ヒラメ筋で観察されたミトコンドリアの形態変化と機能低下と因果関係があると予想された(図参照)。本研究により、筋線維タイプ変化とミトコンドリア研究の結果と合わせてサルコペニアの早期の質的变化を病理学的に定義することに成功した。参考文献: Fukunaga et al. BBRC (540) p116-122, 2021.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hotta Harumi, Iimura Kaori, Watanabe Nobuhiro, Shigemoto Kazuhiro	4. 巻 71
2. 論文標題 Maintenance of contractile force of the hind limb muscles by the somato-lumbar sympathetic reflexes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Physiological Sciences	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12576-021-00799-w	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 Fukunaga T, Mori S, Omura T, Noda Y, Fujita Y, Ohsawa I, Shigemoto K.	4. 巻 540
2. 論文標題 Muscle fiber type specific alterations of mitochondrial respiratory function and morphology in aged female mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun .	6. 最初と最後の頁 116-122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.11.071	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 Omura T, Motoyama R, Tamura Y, Nonaka K, Tanei Z, Shigemoto K, Tokumaru A, Murayama S, Arai T, Araki A.	4. 巻 20
2. 論文標題 Meningoencephalitis due to masked mastoiditis diagnosed during follow-up in an old adult with diabetes mellitus: an autopsy case report.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Geriatr Gerontol Int.	6. 最初と最後の頁 500-501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggi.13904	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 Omura T, Araki A, Shigemoto K, Toba K.	4. 巻 20
2. 論文標題 Geriatric practice during and after the COVID-19 pandemic.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Geriatr Gerontol Int.	6. 最初と最後の頁 735-737
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggi.13958	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 Miyazaki T., Zhao Z., Ichihara Y., Yoshino D., Imamura T., Sawada K., Hayano S., Kamioka H., Mori S., Hirata H., Araki K., Kawauchi K., Shigemoto K., Tanaka S., Bonewald L. F., Honda H., Shinohara M., Nagao M., Ogata T., Harada I., Sawada Y.	4. 巻 5
2. 論文標題 Mechanical regulation of bone homeostasis through p130Cas-mediated alleviation of NF- B activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 7802 ~ 7802
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aau7802	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 Motohashi Norio, Uezumi Akiyoshi, Asakura Atsushi, Ikemoto-Uezumi Madoka, Mori Shuuichi, Mizunoe Yuhei, Takashima Rumi, Miyagoe-Suzuki Yuko, Takeda Shin'ichi, Shigemoto Kazuhiro	4. 巻 26
2. 論文標題 Tbx1 regulates inherited metabolic and myogenic abilities of progenitor cells derived from slow- and fast-type muscle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Death & Differentiation	6. 最初と最後の頁 1024 ~ 1036
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41418-018-0186-4	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 該当する

1. 著者名 重本 和宏, 福永 大地, 大村 卓也.	4. 巻 59
2. 論文標題 骨格筋の代謝からみた運動	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Geriatric Medicine	6. 最初と最後の頁 963-966
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 重本 和宏, 福永 大地, 大村 卓也.	4. 巻 279
2. 論文標題 サルコペニアにおけるミトコンドリアの役割. 医学の歩み	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 360-363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 重本 和宏, 大村 卓也.	4. 巻 37
2. 論文標題 サルコペニアのバイオマーカー探索.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Practice	6. 最初と最後の頁 745-747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 重本 和宏, 大村 卓也.	4. 巻 274
2. 論文標題 フレイルの病態メカニズム.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 225-230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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19件(うち招待講演 11件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 重本 和宏, 福永 大地, 森 秀一, 大村 卓也, 野田 義博, 藤田 泰典, 大澤 郁朗
2. 発表標題 加齢マウスにおける筋線維タイプ別のミトコンドリア呼吸機能および形態の変化
3. 学会等名 第94回日本生化学大(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大村 卓也, 福永 大地, 森 秀一, 河野 真子, 野田 義博, 藤田 泰典, 大澤 郁朗, 重本 和宏
2. 発表標題 骨格筋におけるミトコンドリアの加齢変化は筋線維タイプ単位に依存する 分子生物学会
3. 学会等名 第44回分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 重本 和宏, 福永 大地, 森 秀一, 大村 卓也, 野田 義博, 藤田 泰典, 大澤 郁朗
2. 発表標題 Muscle fiber type specific alterations of mitochondrial respiratory function and morphology
3. 学会等名 第44回日本基礎老化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shigemoto K.
2. 発表標題 Mechanistic Biomarkers of Sarcopenia and Frailty.
3. 学会等名 The 6th Asian Conference for Frailty & Sarcopenia 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 重本和宏、大村卓也、岸田広美
2. 発表標題 サルコペニア・フレイルのメカニズムと運動および食事との関連性とは？
3. 学会等名 第7回日本サルコペニア・フレイル学会大会シンポジウム2 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福永大地, 重本和宏.
2. 発表標題 老齡マウス骨格筋の筋線維タイプ単位におけるミトコンドリア酵素活性とミトコンドリア形態の加齡変化.
3. 学会等名 7回日本サルコペニア・フレイル学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 重本和宏.
2. 発表標題 サルコペニア・フレイルのメカニズムの解明に向けて.
3. 学会等名 第22回日本骨粗鬆症学会 / 第38回日本骨代謝学会学術集会. (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 重本和宏.
2. 発表標題 重症筋無力症モデル動物の開発と治療法の研究.
3. 学会等名 第38回日本神経治療学会学術集会. (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 重本和宏
2. 発表標題 サルコペニア・フレイルについて.
3. 学会等名 糖尿病血管研究会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Y. Badawi, S. Tungtur, T. Tanaka, R. Soder, R.Barohn, K. Shigemoto and H. Nishimune.
2. 発表標題 Degeneration of ALS mouse neuromuscular junctions analyzed using super resolution microscopy and ameliorated using human mesenchymal stem cells.
3. 学会等名 Neuroscience 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 重本和宏
2. 発表標題 サルコペニア・フレイルのバイオマーカー探索に向けて.
3. 学会等名 第27回日本臨床化学会関東支部総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 重本和宏
2. 発表標題 サルコペニアと認知的フレイルおよび精神・心理的フレイルの因果関係とは?
3. 学会等名 第31回日本老年学会総会 合同シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mori S, Motohashi N, Takashima R, Shigemoto K.
2. 発表標題 Serum protein derived from skeletal muscle is a candidate biomarker for neuromuscular communication.
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 重本和宏
2. 発表標題 サルコペニア・フレイルの病態と機序について.
3. 学会等名 日本サルコペニアフレイル学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森秀一, 本橋紀夫, 重本和宏.
2. 発表標題 MuSKを介した逆行性シグナル伝達機構の解析.
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 重本和宏
2. 発表標題 筋肉の老化と分子メカニズム.
3. 学会等名 日本老年医学サマーセミナー(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mori S, Motohashi N, Takashima R, Shigemoto K.
2. 発表標題 Serum protein derived from skeletal muscle is a candidate biomarker for neuromuscular communication.
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岸 雅彦, 森 秀一, 重本 和宏, 古賀 道明, 高橋 修, 館野 冬樹, 相羽 陽介.
2. 発表標題 Miller Fisher症候群における前シナプス障害-MEPP burst & Paired pulse facilitation.
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 重本和宏
2. 発表標題 サルコペニア・フレイルのバイオマーカー探索に向けて.
3. 学会等名 第27回日本臨床化学会関東支部総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>独立行政法人東京都健康長寿医療センター研究所 https://www.tmgig.jp/research/team/rounenbyotai/undokiigaku/ 地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター研究所老年病態研究チーム運動器医学 https://www.tmgig.jp/research/team/rounenbyotai/undokiigaku/</p>

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	大村 卓也 (Omura Takuya) (40848420)	地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員 (82674)	
研究分担者	金 憲経 (Kim Hunkyung) (20282345)	地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長 (82674)	
研究分担者	森 秀一 (Mori Shuichi) (30508677)	地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員 (82674)	

6. 研究組織（つづき）

	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	本橋 紀夫 (Motohashi Norio) (50532727)	地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員 (82674)	削除：2019年8月7日

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