

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：27102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24152

研究課題名(和文) Targeting Transcription in Sarcopenia and Muscle-wasting Diseases

研究課題名(英文) Targeting Transcription in Sarcopenia and Muscle-wasting Diseases

研究代表者

Addison William (Addison, William)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：40845046

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：サテライト細胞の生理に必須である転写コファクターZfp423の機能には依然として不明な点が多い。そこで本研究では、FLAG-Zfp423を恒常的に発現するC2C12細胞を作製し、RNA-seq解析と抗FLAG抗体を使用したChIP-Seq解析を施行した。得られた結果に対してオントロジー解析を行った。するとZfp423は、核酸結合、シグナル伝達、トランスポーター活性、増殖および発生を含む機能への重要な関連がわかった。また、合計749個のZfp423結合領域を特定した。内訳として約65%がプロモーター領域、15%はイントロン領域内であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢に伴う骨格筋の量と機能の低下はサルコペニアと呼ばれ、高齢化が加速している先進国が直面している主要な健康問題となっています。さらにサルコペニアは、死亡率、種々の疾患、QOLに重大な影響を及ぼし、医療費を圧迫している原因となっています。今回の研究からサテライト細胞による骨格筋再生を担うZfp423の遺伝子発現制御メカニズムの一端を明らかにすることができました。現在のところ、サルコペニアを予防・治療する薬剤は存在しません。よって、今後の研究を進展させることにより筋再生を促す手法を確立することができれば、大いに高齢社会の先進国の人々の健康に貢献することが期待されます。

研究成果の概要(英文)：In order to identify Zfp423 targets we performed ChIP-Seq using anti-FLAG antibody in C2C12 cells stably expressing FLAG-Zfp423. A total of 749 Zfp423 bound regions were identified. Approximately 65% of peaks were found at promoters. Another 15% of peaks were within intronic regions. Motif discovery at Zfp423 peaks produced two unique motifs enriched at a majority of Zfp423 peaks. Gene ontology analysis of Zfp423-associated genes revealed significant association to functions involving nucleic acid binding, signal transduction, transporter activity, proliferation and development. These findings provide additional new evidence of a role of Zfp423 in muscle cell function. We demonstrate that Zfp423 binds to proximal regulatory elements of target genes and mediates transcription-level events. Further functional characterization of Zfp423 will improve our understanding of the molecular mechanisms regulating muscle homeostasis.

研究分野：口腔科学

キーワード：骨格筋 転写コファクター サルコペニア

1. 研究開始当初の背景

骨格筋再生能力の減弱は、骨格筋消耗性疾患の特徴の1つです。加齢に伴う骨格筋の量と機能の低下はサルコペニアと呼ばれ、高齢化が加速している先進国が直面している主要な健康問題となっています。日本は諸外国に比較して、筋肉量の低下している高齢者の割合が比較的高いと考えられています (図1)。

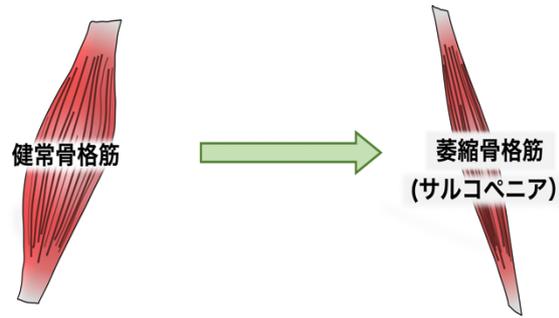


図1: サルコペニアの概念

サルコペニアは、死亡率、種々の疾患、QOLに重大な影響を及ぼし、医療費を圧迫している原因となっています。現在、サルコペニアを予防したり治療したりする薬剤はありません。骨格筋の成長と修復は、骨格筋の組織幹細胞であるサテライト細胞が担っています。

最近申請者らは筋肉再生中のサテライト細胞に必要な転写コファクターZfp423を見出しました。すなわち、Zfp423は静止期のサテライト細胞では検出されませんが、活性化したサテライト細胞に発現しました。さらに、サテライト細胞が筋管細胞へ分化するにつれて、次第にZfp423の発現は低下していきます。また、サテライト細胞特異的Zfp423ノックアウトマウスでは、CTXによる筋損傷後の再生が著しく損なわれていることを示しました。しかしながら、zfp423がサテライト細胞の挙動ならびに筋再生を制御する分子メカニズムの解明まで至っていませんでした。

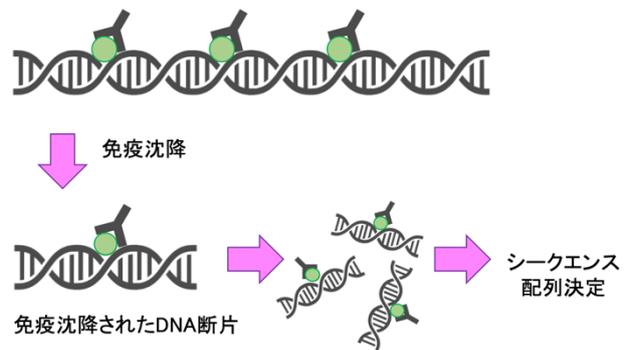


図2: ChIP-seqの方法論

2. 研究の目的

Zfp423がサテライト細胞の機能を調節する分子メカニズムを決定すること。

3. 研究の方法

FLAG-Zfp423を恒常的に発現するC2C12細胞を作製し、RNA-seq解析と抗FLAG抗体を使用してChIP-Seq解析を施行しました。得られた結果に対してオントロジー解析を行いました。

4. 研究成果

Zfp423 関連遺伝子の遺伝子オントロジー分析は、核酸結合、シグナル伝達、トランスポーター活性、増殖および発生を含む機能への重要な関連がわかりました。また、合計 749 個の Zfp423 結合領域が特定されました。内訳として約 65% がプロモーター領域、15% はイントロン領域内にありました。

つまり、Zfp423 は転写レベルで複数のシグナル伝達経路を統合する重要なネットワークの中心であることがわかりました。

これらの発見は、筋細胞機能における Zfp423 の新たな役割の解明におおきな一歩と考えられます。Zfp423 がターゲット遺伝子の転写因子と複合体を形成し、転写レベルのイベントを仲介することを示しています。Zfp423 のさらなる機能的特徴付けは、筋肉の恒常性を調節する分子メカニズムの理解を向上させます。

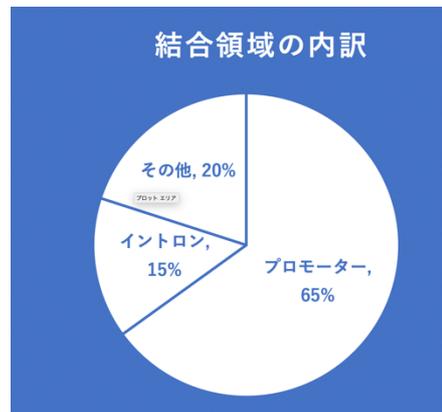


図3: Zfp423 の結合領域

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Matsubara Takuma, Addison William N., Kokabu Shoichiro, Neff Lynn, Horne William, Gori Francesca, Baron Roland	4. 巻 -
2. 論文標題 Characterization of unique functionalities in c-Src domains required for osteoclast podosome belt formation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 100790 ~ 100790
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.100790	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 Hariri Hadla, Addison William N., St-Arnaud Rene	4. 巻 11
2. 論文標題 Ubiquitin specific peptidase Usp53 regulates osteoblast versus adipocyte lineage commitment	5. 発行年 2021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/s41598-021-87608-x	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 Reznikov N., Hoac B., Buss D.J., Addison W.N., Barros N.M.T., McKee M.D.	4. 巻 138
2. 論文標題 Biological stenciling of mineralization in the skeleton: Local enzymatic removal of inhibitors in the extracellular matrix	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 115447 ~ 115447
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2020.115447	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 Matsubara Takuma, Yaginuma Tatsuki, Addison William N., Fujita Yuko, Watanabe Kouji, Yoshioka Izumi, Hikiji Hisako, Maki Kenshi, Baron Roland, Kokabu Shoichiro	4. 巻 132
2. 論文標題 Plectin stabilizes microtubules during osteoclastic bone resorption by acting as a scaffold for Src and Pyk2	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 115209 ~ 115209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2019.115209	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 William Addison, Takuma Matsubara, Shoichiro Kokabu
2. 発表標題 Satb2 and Zfp423 cooperatively integrate Wnt and Bmp signaling to regulate myogenesis
3. 学会等名 Japanese Society for Bone and Mineral Research Annual Meeting
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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		
米国	Harvard University		
カナダ	McGill University		