

令和 3 年 10 月 12 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05368

研究課題名（和文）健康寿命の延伸に寄与する骨格筋由来分泌因子の同定・機能解析とその応用

研究課題名（英文）Role of skeletal muscle in the regulation of systemic homeostasis

研究代表者

小野 悠介 (ONO, Yusuke)

長崎大学・医歯薬学総合研究科（歯学系）・准教授

研究者番号：60601119

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 18,100,000円

研究成果の概要（和文）：近年、骨格筋は生体恒常性に影響を与える生理活性因子を分泌する内分泌臓器としての機能が注目されている。本研究は、骨格筋の量や質を規定する新規のメカニズムを解明するとともに、全身性の恒常性維持における骨格筋の機能を明らかにすることを目的とした。解析の結果、骨格筋に発現する Zmynd17, Crym, Notch 遺伝子は骨格筋の機能と全身性の代謝恒常性に関連することが示唆された。

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我が国では、平均寿命は延びる一方、介護を必要としない健康で自立する期間である健康寿命は伸び悩んでいる。身体活動の増加により、生活習慣病、認知症、がんの発症リスクを減らすという多くの生物学的・疫学的なエビデンスの蓄積からも、身体活動は、様々な臓器において全身的効能をもたらすことは周知の事実となった。しかし、その作用機序は極めて複雑であり、不明な点が多い。骨格筋の量や質を維持することは健康寿命および個体寿命の双方の延長につながると考えられる。本研究で行った骨格筋の遺伝子機能解析により、骨格筋と全身性の代謝恒常性との関連性を分子レベルで明らかにすることができた。

研究成果の概要（英文）：Skeletal muscle is the largest tissue in the human body and is a highly plastic tissue that readily adapts its contractile and metabolic properties and muscle sizes in response to physical activity. Recent evidence suggests that skeletal muscle produces myokines that play a role in maintaining systemic homeostasis. In this study, we aimed to understand how skeletal muscle influences systemic homeostasis using transgenic mouse lines, and found that Zmynd17, Crym, and Notch proteins expressed in muscle control muscle function and systemic metabolism.

研究分野：筋生物学

キーワード：骨格筋 Zmynd17 Notch Crym 筋萎縮 筋脆弱症 サルコペニア

## 1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎えた我が国では、平均寿命は延びる一方、介護を必要としない健康で自立する期間である健康寿命は伸び悩んでいる。身体活動の増加により、生活習慣病、認知症、がんの発症リスクを減らすという多くの生物学的・疫学的なエビデンスの蓄積からも、身体活動は、様々な臓器において全身的効能をもたらすことは周知の事実となった。しかし、その作用機序は極めて複雑であり、不明な点が多い。興味深いことに、近年の疫学データから、骨格筋量と健康寿命には正の相関があることが示された。すなわち、生体恒常性維持にとって骨格筋が何らかの機能をもっており、運動の健康効果を介在している可能性がある。すなわち骨格筋の量や質を維持することは健康寿命および個体寿命の双方の延長につながると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、遺伝子改変マウスを用いて、骨格筋の量や質を規定する新規のメカニズムを明らかにするとともに、骨格筋異常が全身性の恒常性維持に与える影響を明らかにすることであった。

## 3. 研究の方法

Zmynd17 遺伝子の機能を解析するために Zmynd17 欠損マウスを作成した。Cystallin- $\mu$  (Crym) の機能解析に Crym 欠損マウスを用いた。筋特異的かつ恒常的に Notch シグナルを活性化させるため、骨格筋特異的に NICD 過剰発現 (NICD-mTG) マウスを用いた。筋線維における Notch 機能阻害の影響をみるために筋特異的 Notch1/Notch2 欠損マウスを用いた。

## 4. 研究成果

探索研究から見出した骨格筋特異的遺伝子 Zmynd17 について、Zmynd17 欠損マウスを作成して機能解析を行った。Zmynd17 遺伝子は高脂肪食負荷や筋萎縮刺激によって発現が増大した。Zmynd17 欠損マウスの骨格筋の組織学的解析から Zmynd17 は速筋における筋ミトコンドリアの品質管理に重要であることがわかった。Zmynd17 欠損マウスは、高脂肪食負荷や加齢にともない全身性の代謝異常を示した。Zmynd17 欠損マウスに高脂肪食を与えると、脂肪組織重量の増加程度は野生型と同等であったが、肝臓の組織重量は野生型より有意に増大しており、著しい脂肪肝を認めた。以上の結果は、Zmynd17 欠損は肝臓に影響を与えることを示唆しており、骨格筋は Zmynd17 を介して全身性の代謝恒常性を制御している可能性が考えられた。現在、Zmynd17 欠損マウスで変化する筋由来分泌因子の同定を進めている。

膜貫通型受容体 Notch は、細胞間相互作用に

よる幹細胞運命決定のシグナル伝達機構として重要である。我々は骨格筋幹細胞 (サテライト細胞) において Notch1 および Notch2 は、サテライト細胞の休止期・未分化維持に欠かせないことを明らかにした。また、マウス単一筋線維を用いた解析により、サテライト細胞の最終分化形態である筋線維においても Notch 受容体が発現することを見出した。この筋線維に発現する Notch シグナルは老齢マウスの筋線維において亢進していることを観察した。そこで、骨格筋特異的 Notch1 および Notch2 の二重欠損マウスを作成し、骨格筋および全身性への影響を検証した。実験当初、Cre マウスのプロモーター活性が強力に筋組織に加え真皮等の非筋組織においても Notch1/2 遺伝子欠損が誘導された。この非特異性には、Mlc-Cre を用いることで解決した。Notch1/Notch2 二重欠損マウスは、骨格筋成長には影響を与えなかったが、糖尿病性筋萎縮に対して萎縮抵抗性を示した。続いて、骨格筋特異的に Notch を活性化させる (NICD-mTG) マウスを作成した。NICD-mTG マウスは、筋線維タイプが速筋型から遅筋型にシフトしていた。マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行ったところ、NICD-mTG マウスの骨格筋において、分泌型サイトカインの TGF  $\beta$ ファミリーに属する growth differentiation factor 11 (GDF11) 遺伝子が顕著に増加していることを見出した。GDF11 は筋萎縮を誘導しフレイルと関連することが報告されている。我々は GDF11 で処理した筋管は遅筋化をともなう萎縮が誘導されることを確認した。したがって、筋線維における Notch シグナルは GDF11 の発現制御を介し健康寿命に影響を及ぼす可能性が考えられる。

続いて、Notch シグナルと関連が報告されている  $\mu$ -クリスタリン (Crym) 遺伝子に着目して解析を進めた。Crym タンパク質は顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー患者の骨格筋で異常発現していることが指摘されているが、その機能は詳しく分かっていない。我々は Crym 欠損マウスを用いて骨格筋における Crym の機能解析を行った。Crym 欠損マウスは、握力および走運動能の増加がみられたことから、Crym は骨格筋の機能に対して抑制的に機能していることが考えられた。また Crym はケチミンを代謝するケチミンレダクターゼとしての機能も知られている (Hallen et al., J Neurochem 2011)。ケチミンは抗酸化作用をもつアミノ酸で、脳の保護作用が確認されている。我々もケチミンが強力な抗酸化能を発揮することを確認した。以上を踏まえると、Crym 欠損マウスにおける運動機能の増強には、ケチミンが増大し、全身性の抗酸化能が改善したことが関連したのかもしれない。今後、ケチミンが Crym 欠損マウスで実際に増大してマイオカイ

ンとして働くのか,また,ケチミンが健康寿命の延伸に関わるのか否かを検討する。

#### 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 8件)

1. Fujita R, Yoshioka K<sup>#</sup>, Seko D<sup>#</sup>, Suematsu T, Mitsuhashi S, Senoo N, Miura S, Nishino I, and Ono Y\*. “Zmynd17 controls muscle mitochondrial quality and whole-body metabolism” FASEB Journal 2018 in press \*Corresponding author. (査読有)
2. Fujimaki S, Seko D, Y Kitajima, K Yoshioka, Tsuchiya Y, Masuda S, Ono Y\*. Notch1 and Notch2 coordinately regulate muscle stem cell function in the quiescent and activated state. Stem Cells. 2018 Feb;36(2):278-285. doi: 10.1002/stem.2743. Epub 2017 Nov 26. \*Corresponding author. (査読有)
3. Kitajima Y, Ogawa S, Egusa S, Ono Y\*, Soy milk improves muscle weakness in young ovariectomized female mice. Nutrients 2017 Aug 4;9(8). pii: E834. \*Corresponding author. (査読有)
4. 吉岡潔志, 小野悠介 「がん悪液質における身体部位特異的な筋応答」基礎老化研究. 巻: 41 (3) 41-43, 2017. (査読有)
5. 北島百合子, 江草信太郎, 小野悠介 「女性アスリートの三主徴とエストロゲン欠乏が骨格筋に与える影響」日本スポーツ栄養学会誌. (10) 83-90, 2017. (査読有)
6. Kitajima Y and Ono Y\*. Estrogens maintain skeletal muscle and satellite cell functions. J Endocrinol 2016 Jun. 229, 267-275. \*Corresponding author. (査読有)
7. Kitajima Y, Ogawa S and Ono Y\*. Visualizing the functional heterogeneity in muscle stem cells. Methods Mol Biol. 2016 1516:183-93. \*Corresponding author. (査読有)
8. Seko D, Ogawa S, Li TS, Taimura A, Ono Y\*,  $\mu$ -Crystallin controls muscle function through thyroid hormone action. FASEB Journal. 2016 May;30(5):1733-40. \*Corresponding author. (査読有)

[学会発表](計 16件)

1. 小野悠介 『骨格筋幹細胞の不均一性の分子基盤』第5プロテオサイエンスセンター学術シンポジウム, 愛媛県松山市, 愛媛大学, 2018年.
2. 小野悠介 『筋ミトコンドリア品質管理の破綻と全身性代謝異常(ワークショップ: 骨格筋の代謝・内分泌臓器としての新機能)』, 2017年度生命科学系学会合同年次大会(ConBio2017), 神戸, 2017年.
3. 小野悠介 『骨格筋幹細胞による筋再生の分子制御メカニズム』第35回日本骨代謝学会学術集会, シンポジウム, 2017年.
4. 小野悠介 『骨格筋の機能維持における性差と栄養介入の可能性』第40回日本基礎老化学会, モーニングセミナー, 2017年.
5. Yoshifumi Tsuchiya, Daiki Seko, Yuriko

- Kitajima, Ryo Fujita, Iori Sakakibara, Yuuki Imai, Yusuke Ono “ Estrogen receptor- deficiency in skeletal muscle influences muscle mass and strength in female mice ” Cell Symposia: Exercise Metabolism, 21-23 May 2017, Gothenburg, Sweden.
6. Ryo Fujita, Takashi Suematsu, Kiyoshi Yoshioka, Daiki Seko, Satomi Mitsuhashi, Nanami Senoo Ichizo Nishino, Shinji Miura and Yusuke Ono “ Zmynd17 is necessary for mitochondrial quality control in fast-glycolytic muscle ” Cell Symposia: Exercise Metabolism, 21-23 May 2017, Gothenburg, Sweden.
  7. Yusuke Ono “ Molecular and cellular regulation of skeletal muscle plasticity ” Asian Society for Aging Research. Japan, 2 Mar 2017.
  8. 小野悠介 『放射線生体組織影響の理解に向けた幹細胞生物学』第 59 回放射線影響学会, シンポジウム, 2016 年.
  9. 小野悠介 『骨格筋修復・再生の分子メカニズム～サテライト細胞の運命選択と部位特異性の分子基盤～』第 24 回日本運動生理学会, 2016 年.
  10. 小野悠介 『骨格筋の恒常性維持における豆乳摂取の可能性』第 3 回日本スポーツ栄養学会, ランチョンセミナー, 松山市総合コミュニティセンター, 2016 年.
  11. 小野悠介 『骨格筋幹細胞の運命選択と部位特異性の分子基盤』愛媛大学プロテオサイエンスセミナー, 2016 年.
  12. 小野悠介 『骨格筋可塑性における Notch シグナリングの新たな役割』ワークショップ: 筋生物学の最前線～疾患克服に向けた統合的理解～』, BMB2015( 第 38 回日本分子生物学会年会; 第 89 回日本生化学会大会 ), 2015 年.
  13. Daiki Seko, Tsubasa Hisamatsu, Ryo Fujita, Kiyoshi Yoshioka, Yoshishige Urata, Shinji Goto, Tao-Sheng Li, Akihiro Taimura and Yusuke Ono “ Role of a FSHD-associated protein  $\mu$ -Crystallin in skeletal muscle ” 20th WMS Congress, Brighton, London. U.K. Oct 2015.
  14. Shinya Masuda, Daiki Seko, Ryo Fujita, Tsubasa Hisamatsu, Kiyoshi Yoshioka, Shizuka Ogawa, Yusuke Ono “ Notch signaling governs muscle mass and regeneration ” EMBO Workshop. “ Molecular mechanisms of muscle growth and wasting in health and disease ” Congressi Stefano Franscini, Monte Verità, Ascona, Switzerland. Sep 2015.
  15. 小野悠介 『細胞極性因子による筋サテライト細胞の運命決定制御』第 1 回日本筋学会, 東京, 2015 年.
  16. Yusuke Ono, Yoshishige Urata, Shinji Goto, Tao-Sheng Li. “ The cell polarity protein Scrib controls muscle stem cell fate ” ISSCR2015 Älvsjö, Sweden. Jun 2015.
- 〔図書〕(計 1 件)
1. 吉岡潔志, 小野悠介 「サテライト細胞の

部位特異性と筋の肥大・萎縮(特集 骨格  
筋の肥大・萎縮・再生の不思議をさぐる)』  
体育の科学 66 巻 9 月号 . 659-663, 2016  
年. ( 査読なし )

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 1 件)

名称：筋力低下症および代謝性疾患の治療薬

発明者：小野悠介

権利者：国立大学法人 長崎大学

種類：特許権

番号：W02017043630

取得年月日：令和3年3月9日

国内外の別： 国外

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.de.nagasaki-u.ac.jp/mmb/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小野 悠介 (ONO, Yusuke)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・  
准教授

研究者番号：60601119

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

なし