

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年5月22日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00879

研究課題名(和文) 遺伝子欠損動物を基盤に展開する「栄養因子・ABC輸送体・運動器の相互関連解析」

研究課題名(英文) Study on the relationship among nutrients, ABC transporters and locomotive system

研究代表者

中川 大 (NAKAGAWA, Hiroshi)

中部大学・応用生物学部・准教授

研究者番号：40397039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本申請課題では、6、12、24、48週齢のAbcb4遺伝子欠損マウスおよびAbcc5遺伝子欠損マウスを対象にして、骨・筋肉・脂肪に対するAbcb4遺伝子およびAbcc5遺伝子の影響を評価した。そして、Abcb4遺伝子欠損マウスの性別を問わず、Abcb4遺伝子の欠損によって骨体積と骨塩量が有意に増加し、一方で骨密度が低下することを見出した。また、Abcc5遺伝子欠損マウスについては、性別を問わず、Abcc5遺伝子の欠損によって体重が減少することを見出した。また、メスマウスにおいては、Abcc5遺伝子の欠損によって骨体積と骨塩量が低下することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本申請課題において得られた成果は、「ABC輸送体依存性歩行障害」という新たな疾患にたいする食事・栄養補助療法の考案へと我々を導くと共に、当該疾患の個人差予測につながる臨床上の価値のみならず、不明な点が多い「栄養因子・ABC輸送体・運動器の相互関連」の解明といった基礎研究においても大きな重要性・発展性を持つ。つまり、歩行障害の予防・リスク診断の実現に新たな切り口から臨む学術・臨床重要な研究に繋がる成果が本申請課題の実施によって得られた。

研究成果の概要(英文)：In the present study, the effects of the Abcb4 gene and the Abcc5 gene on bone, muscle and fat were evaluated for 6, 12 and 24 weeks old Abcb4 gene deficient mice and Abcc5 gene deficient mice. And, regardless of the gender of the Abcb4 gene-deficient mouse, it was found that the bone volume and bone mineral content increased significantly due to the Abcb4 gene deletion, while the bone density decreased. In addition, with regard to Abcc5 gene-deficient mice, regardless of gender, it was found that the body weight was reduced due to Abcc5 gene deficiency. Furthermore, in female mice, it was found that the bone volume and bone mineral content are reduced due to Abcc5 gene deficiency.

研究分野：ABC輸送体学、細胞工学

キーワード：ABC輸送体 骨 骨格筋

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

1. 研究開始当初の背景

(1)本研究の背景 1: 2060年には現役世代 1.3人で1人の高齢者を支える必要がある

我が国の高齢化は、世界に例をみない速度で進行している(図1)。総人口にたいする高齢者の割合は、2060年には39.9%になると推計されており、1人の高齢者を支える現役世代は1.3人と推計されている(平成26年版高齢社会白書)。日常生活に制限のない期間と寿命との間に8~9年の要支援・要介護・寝たきりの期間が存在する(WHO, 平成26年簡易生命表の概況)ことを考えると、要支援・要介護・寝たきりを予防する方策の立案が焦眉の急である。特に、支援・介護が必要になった原因第一位(21%)「運動器の障害」(平成22年国民生活基礎調査)への対策は不可欠である。

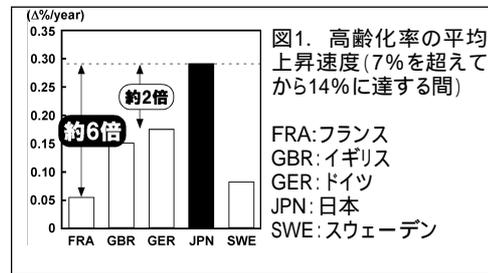


図1. 高齢化率の平均上昇速度(7%を超えてから14%に達する間)

FRA: フランス
GBR: イギリス
GER: ドイツ
JPN: 日本
SWE: スウェーデン

(2)本研究の背景 2: ABC 輸送体が骨・筋肉・脂肪の量を制御する可能性を示す知見の発見・蓄積

人類は、体外方向への物質輸送を担う「ABC 輸送体」を生体膜上に48種類備えており、イオンや脂質、尿酸、ポルフィリン代謝の恒常性を維持している(Gastroenterology, 120, 1203-11, 2001.; Nature, 440, 477-83, 2006.; Nature, 443, 586-9, 2006; Sci. Transl. Med., 1, 5ra11, 2009.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 106, 16263-8, 2009.).

骨の溶解に関わる破骨細胞と同じ分化系譜をたどるマクロファージおよび樹状細胞の機能・分化は、ABC 輸送体によって制御される(Science, 265, 237-41, 1994; Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 101, 9774-9, 2004; Cell, 103, 757-8, 2000.).

申請者は、仮説「ABC 輸送体は、骨代謝を制御する」の下、ABC 輸送体遺伝子欠損マウスの骨構造を解析し、ABC 輸送体が骨代謝に影響を及ぼすことを見出した(研究課題番号: 19791361, 22791786)。

申請者は、野生型マウスとABC 輸送体遺伝子欠損マウスの体重を比較し、ABC 輸送体がマウスの体重に影響を及ぼすことを見出した。これは、ABC 輸送体が骨・筋肉・脂肪の量に影響を及ぼす可能性を意味する。

(3)本研究の背景 3: 仮説の提唱および研究課題の立案

「飽食の時代」にある我が国は、栄養因子の過剰摂取に起因する疾患が発症しやすい環境にある。したがって、栄養指導は疾患の予防に不可欠である。また、疾患の発症に関連する遺伝的要因を理解することも予防に欠かせない。つまり、疾患の環境要因と遺伝的要因を理解することができれば、疾患の予防策を考案できる。申請者は、前述した学術的背景と自身の研究結果に基づいて、次の仮説を提唱した。

「ABC 輸送体は、疾患の環境要因を体内で調節する」

ABC 輸送体は、体の外側に向けた物質輸送を担う。したがって、ABC 輸送体の機能を上回った量の栄養因子が摂取されると、栄養因子あるいはその代謝物が慢性的に体内に滞留することが考えられる。事実、ABC 輸送体 ABCG2 の機能が低いヒトは尿酸が体内に滞留しやすく、痛風の発症リスクが上昇する(Sci. Transl. Med., 1, 5ra11, 2009.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 106, 10338-42, 2009.). したがって、図2に示す「ABC 輸送体依存性歩行障害」の存在が考えられる。申請者は、研究期間内(H28-30)に次の3つの課題の解決を目指した。

課題1: 骨・筋肉・脂肪の質と量を制御するABC輸送体を同定する

課題2: ABC輸送体が制御する「骨・筋肉・脂肪の質と量」に影響を及ぼす栄養因子を同定する

課題3: 骨・筋肉・脂肪の質と量の制御における栄養因子とABC輸送体との連関を解明する

2. 研究の目的

本申請課題では、要支援・要介護・寝たきりのリスク要因の一つ「歩行障害」に関わる「骨・筋肉・脂肪の質と量」を制御するABC 輸送体の同定および関連する栄養因子の同定、その背景にある分子基盤の解明を目指す。人類は、ABC 輸送体を生体膜上に配置し、代謝物を細胞の内側から外側に排出しているにも関わらず、ABC 輸送体と代謝経路との関係について十分に理解していない。申請者は、遺伝子欠損マウスの表現型解析を実施して、「ABC 輸送体は、歩行障害の発症に関わる」と考えた。本申請課題の完遂は、「ABC 輸送体依存性歩行障害」という新たな疾患にたいする食事・栄養補助療法の考案へと我々を導くと共に、当該疾患の個人差予測につながる臨床上の価値のみならず、不明な点が多い「栄養因子・ABC 輸送体・運動器の相互連関」

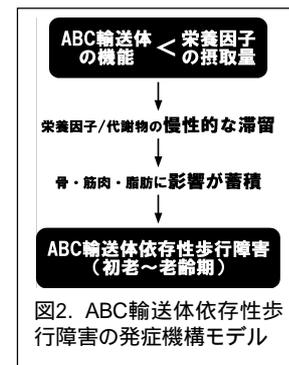


図2. ABC輸送体依存性歩行障害の発症機構モデル

の解明といった基礎研究においても大きな重要性・発展性を持つ。

3. 研究の方法

Abcb4 遺伝子欠損マウスと *Abcc5* 遺伝子欠損マウスを対象にして、(1)～(3)の解析を行った。なお、遺伝子欠損マウスは、当該遺伝子ヘテロ欠損マウス同士を交配させて調達した。また、解析は、6, 12, 24, 48 週齢の野生型マウスと遺伝子欠損マウスを対象にして行った。

(1)ABC 輸送体が骨の質と量に及ぼす影響の解析

マウスの後肢から脛骨、大腿骨を採取し、骨構造と骨形態を観察・解析した。骨構造の解析は、研究協力者・萩原らの方法 (Cytotechnology, 67, 357-65, 2015.) に従い、実験動物用 X 線 CT を用いて行った。

(2)ABC 輸送体が筋肉の質と量に及ぼす影響の解析

マウスの後肢から前脛骨筋、腓腹筋、ヒラメ筋を採取し、体重当たりの湿重量を算出した。

(3)ABC 輸送体が脂肪の質と量に及ぼす影響の解析

マウスの体重および飼料の摂取量、運動量を 8 週齢の時点から 2 週間毎に測定した。また、解剖時には傍子宮脂肪、腎周囲脂肪、鼠径部皮下脂肪、肩胛骨間脂肪、後腹膜脂肪、副睾丸周囲脂肪、腸管膜脂肪を採取し、体重当たりの湿重量を算出した。

4. 研究成果

(1)ABC 輸送体が骨の質と量に及ぼす影響の解析

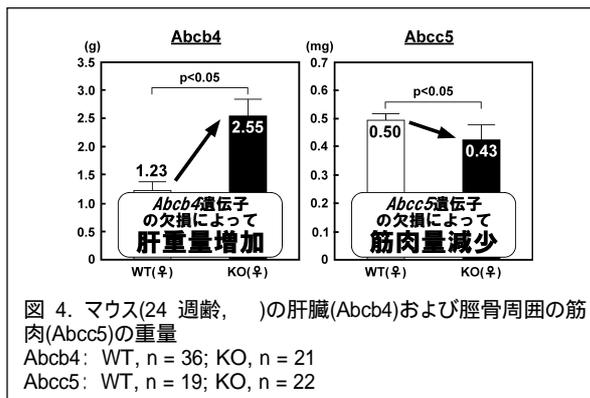
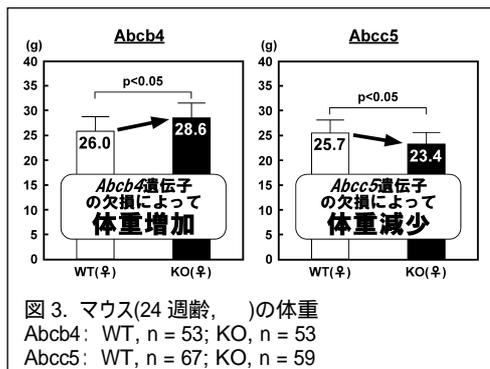
性別を問わず、12 週齢までは、*Abcb4* 遺伝子の欠損によって骨体積と骨塩量が有意に増加し、一方で骨密度が低下することを見出した。また、メスマウスにおいては、6, 12, 24, 48 週齢全ての時点において、*Abcc5* 遺伝子の欠損によって骨体積と骨塩量が低下することを見出した。

(2)ABC 輸送体が筋肉の質と量に及ぼす影響の解析

Abcb4 遺伝子の欠損によって筋肉量に変化は認められなかった。一方、メスマウスにおいて、*Abcc5* 遺伝子の欠損によって脛骨周囲の筋肉量が減少することを見出した (図 4)。

(3)ABC 輸送体が脂肪の質と量に及ぼす影響の解析

性別を問わず、12 週齢までは、*Abcb4* 遺伝子の欠損によって体重が増加することを見出した (図 3)。また、この増加の原因の一つが肝臓重量の増加であることを明らかにした (図 4)。一方、性別を問わず、6, 12, 24, 48 週齢全ての時点において、*Abcc5* 遺伝子の欠損によって体重が減少することを見出した (図 4)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

https://www3.chubu.ac.jp/faculty/nakagawa_hiroshi/

<https://researchmap.jp/read0069650/>

6 . 研究組織

(1)研究協力者

研究協力者氏名：高見 正道

ローマ字氏名：(TAKAMI , masamichi)

研究協力者氏名：水村 和枝

ローマ字氏名：(MIZUMURA , kazue)

研究協力者氏名：山下 均

ローマ字氏名：(YAMASHITA , hitoshi)

研究協力者氏名：横越 英彦

ローマ字氏名：(YOKOGOSHI , hidehiko)

研究協力者氏名：伊藤 秀美

ローマ字氏名：(ITO , hidemi)

研究協力者氏名：林 宣宏

ローマ字氏名：(HAYASHI , nobuhiro)

研究協力者氏名：横山 信治

ローマ字氏名：(YOKOYAMA , Shinji)

研究協力者氏名：今井 律子

ローマ字氏名：(IMAI , Ritsuko)

研究協力者氏名：佐竹 一紘

ローマ字氏名：(SATAKE , Kazuhiro)

研究協力者氏名：塚本 めぐみ

ローマ字氏名：(TSUKAMOTO , Megumi)

研究協力者氏名：西 毅

ローマ字氏名：(NISHI , Tsuyoshi)

研究協力者氏名：萩原 啓実

ローマ字氏名：(HAGIWARA , Hiromi)

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、研究者個人に帰属されます。