

平成30年 5月14日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18699

研究課題名(和文)胆汁酸シグナルによる骨格筋機能向上の分子機構解析

研究課題名(英文) Analysis of Molecular mechanism underlying improvement of skeletal muscle functions by bile acid.

研究代表者

佐々木 崇 (Sasaki, Takashi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任助教

研究者番号：90771676

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、胆汁酸が骨格筋機能に及ぼす影響を分子レベルで解析した。その結果、骨格筋に発現する胆汁酸受容体TGR5は骨格筋の肥大化や筋細胞分化を亢進することを明らかにした。TGR5を欠損するマウスにおいては、骨格筋の萎縮が確認された。したがって、骨格筋TGR5は加齢に伴う筋萎縮(サルコペニア)等の予防に向けた有力なターゲットになると考えられる。我々はすでにTGR5活性化能を持つ食品成分として、柑橘成分であるノミリンやオバクノンなど複数見出ししており、TGR5との結合様式の解明に成功している。こういった機能性食品成分を活用することで、活力のある高齢社会の実現が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed the molecular mechanism underlying improvement of skeletal muscle functions by bile acid. We revealed that bile acid receptor TGR5 promotes muscle hypertrophy and muscle cell differentiation. Furthermore, TGR5 KO mice exhibited muscular atrophy and weakness. Therefore, TGR5 may be a feasible target for maintaining muscle function in the elderly.

We have already found several food compounds that can activate TGR5. These functional food compounds could contribute to improving the muscle function of elderly people.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：胆汁酸 骨格筋 サルコペニア TGR5 機能性食品成分 筋肥大 GPCR 筋細胞分化

1. 研究開始当初の背景

かつて胆汁酸の役割は、食物中に含まれる脂質や脂溶性ビタミンなどの消化、吸収を促進することのみにあると考えられていた。ところが近年、胆汁酸が核内受容体 FXR や Gタンパク質共役型受容体 TGR5 の内因性リガンドとして働くことが明らかにされ、現在はシグナル分子としての重要性も認知されるに至る。FXR は肝臓や小腸に発現が集中しており、主に胆汁酸代謝を調節するのに対し、TGR5 は褐色脂肪組織や小腸、肝臓、骨格筋などに広く発現が認められ、褐色脂肪組織で熱産生を亢進することで肥満を抑制したり、小腸においてグルカゴン様ペプチド 1 (GLP-1) の分泌を促し、膵臓からのインスリン分泌能を増強したりすることで、肥満に伴う糖代謝異常を改善することが報告されている(Nature, 439, 484-489, 2006, Cell metab. 10, 167-177, 2009.)。さらに 2018 年には TGR5 が白色脂肪細胞をベージュ細胞にリモデリングし熱産生を亢進することが報告され、TGR5 は非常に多様な機能を持つことが明らかになりつつある(Nat Commun. 16, 245, 2018.)。しかしその全体像は明らかになっておらず、さらなる解析が望まれていた。

2. 研究の目的

我々は TGR5 が骨格筋にも発現することに着目し、自ら樹立した骨格筋特異的 TGR5 トランスジェニック (Tg) マウスを用いてその機能を解析したところ、骨格筋量および筋力の増大を確認した。本研究ではこの分子メカニズムを明らかにすることにより、高齢社会で問題となる加齢性筋萎縮や、種々の生活習慣病の予防・治療法確立に向けた新たなアプローチを提案することを目指した。

3. 研究の方法

TGR5 を介した筋機能改善効果の詳細を明らかにするため、以下の実験を行った。

(1) TGR5 が筋細胞分化に及ぼす影響の解析: 培養骨格筋細胞 C2C12 において TGR5 を過剰発現し、TGR5 リガンドの有無により筋細胞分化がどのような影響を受けるかを明らかにする。

(2) TGR5 による筋肥大効果の分子メカニズム解析: TGR5 Tg マウス骨格筋に TGR5 リガンドを投与し、どのような遺伝子発現変動を示すかを解析する。

(3) TGR5 KO マウスにおける骨格筋機能解析: TGR5 を欠損することにより、骨格筋にどのような変化が生じるのかを明らかにする。

(4) TGR5 が加齢性筋萎縮へ及ぼす影響の解析: TGR5 Tg マウスを長期飼育し、加齢に伴

う筋力低下が TGR5 により抑制されるかどうかを明らかにする。

4. 研究成果

本研究により、以下の成果を得た。番号は「3. 研究の方法」に記した番号に対応する。

(1) 培養骨格筋細胞 C2C12 を用いて TGR5 が筋細胞分化に及ぼす影響を解析した。その結果、TGR5 の活性化により Myogenin や Mef2A などの様々な筋細胞分化マーカー遺伝子の発現が亢進した。また分化誘導から 2 日目の時点で一部の細胞を筋分化マーカータンパク質であるミオシン重鎖 (MyHC) で免疫染色し、分化誘導指数 (MyHC 陽性細胞に含まれる核の数を、核の総数で除した値) を算出したところ、TGR5 活性化により有意に分化が亢進することが示された (図 1)。また、siRNA による遺伝子ノックダウン実験により、TGR5 誘導性分化亢進の少なくとも一部は、Sik1 の発現上昇によることが示された。以上の結果より、TGR5 が筋細胞分化を亢進することが示された。

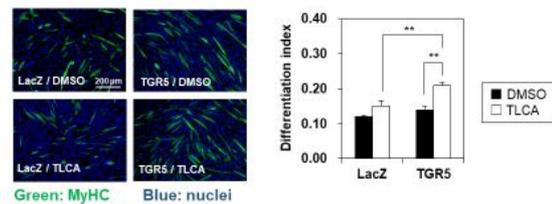


図1. TGR5は筋細胞分化を亢進する

(2) TGR5 Tg マウス骨格筋に対し TGR5 リガンドを筋肉内注射したところ、NR4a1 や PGC-1a4、IGF1 といった筋肥大関連遺伝子の発現増大が確認され、Akt シグナルの活性化が誘導された。一方、Atrogin1 などの筋分解遺伝子に関しては有意な発現低下が確認されている。TGR5 はこれらの遺伝子発現変動を介して、筋肥大を誘導すると考えられる。また同様の結果は、ヒト由来初代培養骨格筋細胞でも認められ、マウスだけでなくヒトにおいても TGR5 が筋肥大効果を発揮する事が予想された。

(3) TGR5 KO マウスを用いて骨格筋における TGR5 の機能解析を行った。その結果、TGR5 Tg マウスで筋肥大が誘導されていたことから予想される通り、TGR5 KO マウスの骨格筋は萎縮し、筋力も低下していた (図 2)。これにより、TGR5 が生理的条件下でも筋量の維持に寄与することが示された。

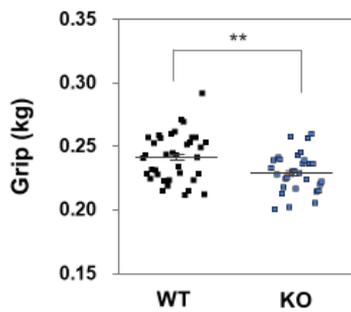


図2.WTマウスおよびTGR5 KOマウスの握力

(4) TGR5 Tg マウスおよび同腹仔野生型マウスを長期飼育し、経時的に握力の測定を行った。握力は9か月齢程度でピークに達し、その後徐々に低下した。TGR5 Tg マウスは握力測定を行った全ての期間(2か月齢から21か月齢まで)において有意な筋力の増大が認められたことから、TGR5 は高齢者の筋機能維持に向けた分子標的となり得ることが示された(図3)。

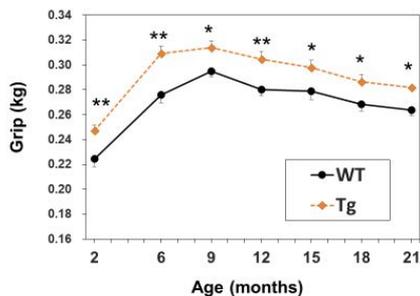


図3. TGR5 Tgマウスは若齢期から高齢期まで筋力が増大

以上のデータより、TGR5 が筋肥大を誘導するメカニズムおよび生体におけるその重要性が明らかとなり、TGR5 の活性化が加齢性筋萎縮の予防にも貢献する可能性が示された。これらの研究成果は、これまで明らかにされていなかった胆汁酸と骨格筋の新たな連関を示した点で学術的な意義は大きく、さらに高齢者の筋機能改善に向けた新たな分子ターゲットを示すことに成功した点において社会的インパクトは大きい。以上の内容は、現在論文投稿中である。

我々はすでに TGR5 活性化能を持つ食品成分として、柑橘成分ノミリンやオバクノンなど複数見出ししており、TGR5 との結合様式の解明に成功している(PLoS One. 12, e0179226, 2017.)。こういった機能性食品成分を活用することで、活力のある高齢社会の実現が期待される。

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2件)

Kuboyama A*, Sasaki T*, Shimizu M, Inoue J, Sato R. The expression of Transmembrane Protein 100 is regulated by alterations in calcium signaling rather than endoplasmic reticulum stress. Biosci Biotechnol Biochem. In press (査読有)

*: equal contribution

Sasaki T, Mita M, Ikari N, Kuboyama A, Hashimoto S, Kaneko T, Ishiguro M, Shimizu M, Inoue J, Sato R. Identification of key amino acid residues in the hTGR5-nomilin interaction and construction of its binding model. PLoS One. 2017 Jun 8;12(6): e0179226. (査読有)

[学会発表](計10件)

佐々木崇、久保山文音、村田翔太郎、清水誠、井上順、佐藤隆一郎「胆汁酸受容体 TGR5 は骨格筋を肥大化し筋力の増大を誘導する」『2018年度日本農芸化学会大会』、2A23p06、名古屋、2018年3月(口頭発表)

【トピックス賞受賞】

Tzuwen HONG, Takashi SASAKI, Makoto SHIMIZU, Jun INOUE, Ryuichiro SATO 「Study on food factors that regulate bile acid metabolism」『2018年度日本農芸化学会大会』、2B02a08、名古屋、2018年3月(口頭発表)

村田翔太郎、佐々木崇、清水誠、井上順、佐藤隆一郎「マスリン酸による筋肥大効果の解析」『2018年度日本農芸化学会大会』、3A13a03、名古屋、2018年3月(口頭発表)

久保山文音、佐々木崇、清水誠、井上順、佐藤隆一郎「ATF6α および Ca²⁺シグナルによる Tmem100 発現制御機構」『2018年度日本農芸化学会大会』、2A23p07、名古屋、2018年3月(口頭発表)

久保山文音、佐々木崇、清水誠、井上順、佐藤隆一郎「Tmem100 の発現制御機構解析」『2017年度日本農芸化学会大会』、3A01a08、京都、2017年3月(口頭発表)

松木美紗、佐々木崇、清水誠、井上順、佐藤隆一郎「肝臓における胆汁酸受容体 TGR5 の発現制御機構解析」『2017年度日本農芸化学会大会』、3A01a07、京都、2017年3月(口頭発表)

村田翔太郎、佐々木崇、清水誠、井上順、佐藤隆一郎「マスリン酸による筋肥大効果の解析」『2017 年度日本農芸化学会大会』、3A01a06、京都、2017 年 3 月（口頭発表）

佐々木崇、三田萌子、村田翔太郎、久保山文音、清水誠、井上順、佐藤隆一郎「胆汁酸受容体 TGR5 が骨格筋機能に及ぼす影響および発現調節機構の解析」『2017 年度日本農芸化学会大会』、3A01a05、京都、2017 年 3 月（口頭発表）

佐々木崇、三田萌子、清水誠、井上順、佐藤隆一郎「抗肥満効果を持つ G タンパク質共役型受容体 TGR5 の柑橘成分ノミリンによる活性化機構」『第 37 回日本肥満学会』、O-106、東京、2016 年 10 月（口頭発表）
【ビジョナリーアワード受賞】

佐々木崇、三田萌子、清水誠、井上順、佐藤隆一郎「骨格筋における胆汁酸受容体 TGR5 の機能解析」『第 89 回日本生化学会大会』、1T04-03、2P-015、宮城、2016 年 9 月（ポスター発表および口頭発表）
【若手優秀発表賞受賞】

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 崇 (SASAKI, Takashi)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任助教
研究者番号：90771676