

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09316

研究課題名(和文)腎機能低下におけるサルコペニアの検討 -骨ミネラル代謝の観点から-

研究課題名(英文) Sarcopenia in kidney dysfunction

研究代表者

大矢 昌樹(OHYA, Masaki)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：90550301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ラット骨格筋の筋芽細胞株(L6)を用いて、腎機能低下に伴うミネラルバランスの破綻が、骨格筋萎縮にどのような影響を及ぼすのかを検討した。L6は筋管細胞へと分化した状態で使用し、10日間の培養期間後、コントロールと比較して高リン条件では、骨格筋収縮タンパクで、骨格筋マーカーであるミオシン重鎖(MHC)が有意に減少していた。また、同化マーカーとして測定したphospho-p70S6Kの割合は高リンで減少しており、異化マーカーとして測定したcleaved-caspase-3の割合は増加していた。以上より高リン状態は、骨格筋の同化作用を減弱し、分解作用を促進することで筋萎縮を引き起こすことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会になる我が国において、Quality Of Life (QOL)を低下させるサルコペニアは一大問題として考えられており、近年の学術的なトピックとして様々な研究が活発に行われてきている。慢性腎臓病(CKD)患者において、ステージに依存してサルコペニア合併の頻度が高く、また、CKD患者での低骨格筋量は生命予後不良と関連しているという疫学的な研究結果が報告されている。したがって、CKDとサルコペニアのより生理学的な機序を明らかにすることは、予防・治療戦略を考える意味で重要であると考えられているが、まだまだ明らかにされていないのが現状である。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to determine the effect of hyperphosphatemia on skeletal muscle. Differentiated rat myoblast cells (L6) were used in this study. Cells were exposed to normal(CON), medium(MPi) and high (HPi) phosphate conditions for 10 days. We measured the protein levels of myosin heavy chain (MHC) and myostatin and determined the ratio of phosphorylated p70S6K and cleaved caspase-3 by western blot. The expression levels of the myogenic transcriptional regulators MyoD and myogenin were measured by qPCR. The levels of MHC were gradually downregulated depending on the phosphate concentration. Myostatin in HPi was about 20 times higher than in CON (P<0.001). In myotubes cultured in HPi, protein synthesis was significantly lower, and degradation was significantly higher than in CON (P<0.01). The mRNA expression of MyoD in HPi was significantly lower than in CON. This study showed that hyperphosphatemia strongly induced muscle atrophy with the accumulation of myostatin.

研究分野：慢性腎臓病に伴う骨ミネラル代謝異常

キーワード：サルコペニア 骨ミネラル代謝異常 慢性腎臓病 高リン血症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

慢性腎臓病(CKD)における動脈硬化は特異的であり、主たる血管病変は、血管中膜石灰化である。血管石灰化は CKD における生命予後、心血管予後規定因子としてカルシウム(Ca)、リン(P)、副甲状腺ホルモン(PTH)、ビタミン D、抗老化ホルモン(Klotho)、リン利尿因子(FGF-23)など、骨ミネラル代謝異常(CKD-MBD)に関わる因子の関与が知られており、腎機能低下状態が老化促進状態としてとらえられつつある。CKD におけるサルコペニアも生命予後悪化との関連から問題視されているが、CKD-MBD との関連は不明である。本研究において、腎機能低下とサルコペニアの機序を明らかにすることで老化とサルコペニアの機序を明らかにする。

## 2. 研究の目的

ラット骨格筋の筋芽細胞株(L6)を用いて、腎機能低下に伴う高リン状態が、骨格筋萎縮にどのような影響を及ぼすのかを検討する。

## 3. 研究の方法

### 1) 細胞培養

ラット L6 (the Japanese Collection of Research Bioresources (JCRB) Cell Bank (JCRB9081, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, Osaka, Japan))を、Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Thermo Fisher Scientific, Inc., Tokyo, Japan) 10% fetal bovine serum 添加, 1% streptomycin, and penicillin 添加の培養液を用いて培養を行った。筋管細胞に分化後、培養液中のリン濃度を正常リン濃度(CON: 0.9mM)、中間リン濃度(MPi: 2.5mM)、高リン濃度(HPi: 3.8 mM)に調整し 10 日間培養を行った。

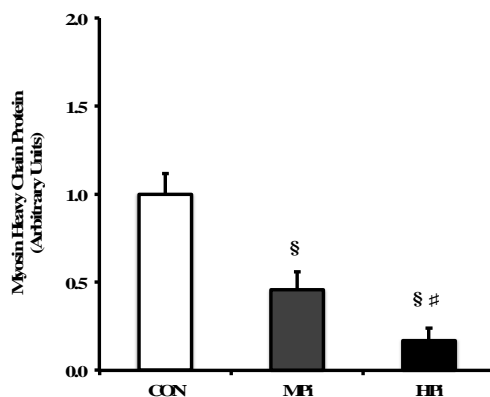
### 2) 骨格筋マーカー、筋萎縮、合成因子発現量の検討

培養細胞は western-blotting 法および qPCR により、骨格筋マーカーおよび筋萎縮、合成因子の発現量を測定した。

## 4. 研究成果

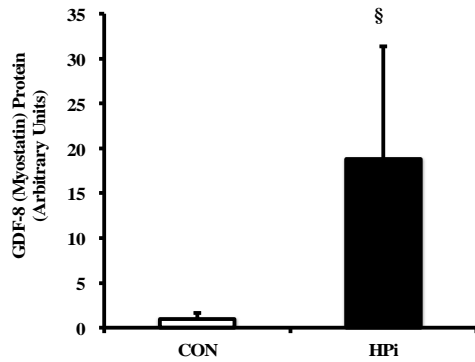
10 日間の培養後、コントロールと比較して高リン条件では、骨格筋収縮タンパクで、骨格筋マーカーであるミオシン重鎖(MHC)が有意に減少しており、筋萎縮が生じていた(図 1)。

(図 1)

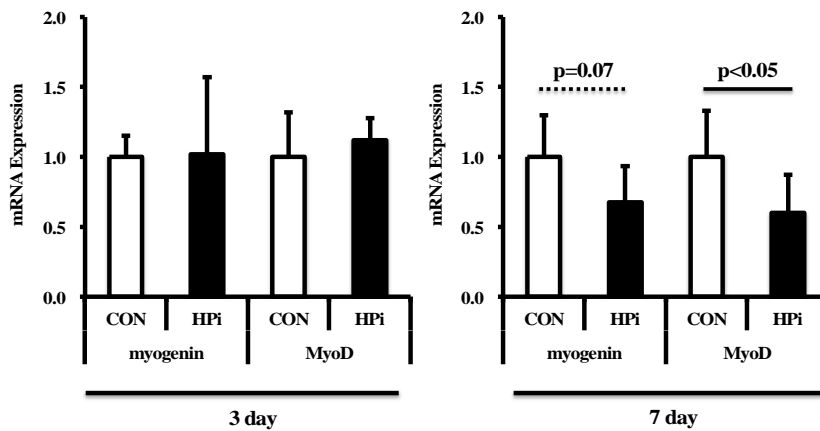


さらに CKD 患者で高値を示し筋萎縮関連タンパクであることが知られているミオスタチンの発現量は、高リン条件で有意に増加した(図 2)。

(図 2)

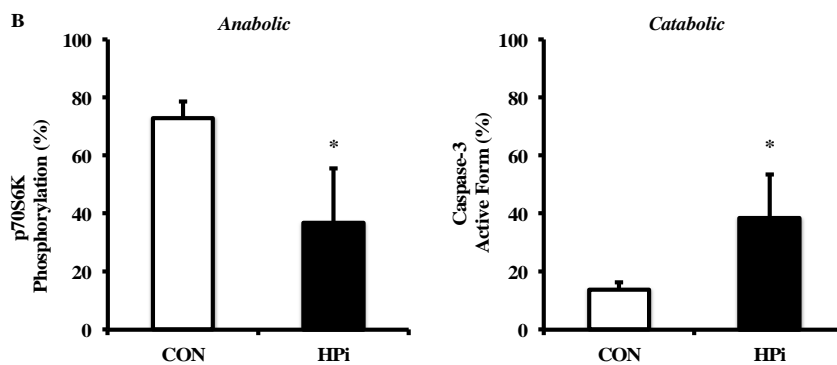


(図 3)



同化マーカーとして測定した phospho-p70S6K の割合は高リンで減少しており、異化マーカーとして測定した cleaved-caspase-3 の割合は高リンで増加していた(図 4)。

(図 4)



以上の結果から、高リン状態は、骨格筋の同化作用を減弱させ、分解作用を促進することで筋萎縮を引き起こし、その機序としてミオスタチンの発現量の増加が関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 園生智広 大矢昌樹 重松隆
2. 発表標題 高リン条件下での筋萎縮因子発現の検討
3. 学会等名 第64回日本透析医学会学術集会
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
研究分担者	重松 隆  (Shigematsu Takashi)  (30187348)	和歌山県立医科大学・医学部・教授   (24701)	
研究分担者	園生 智広  (Sonou Tomohiro)  (70614866)	和歌山県立医科大学・医学部・博士研究員   (24701)	