

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09840

研究課題名(和文)サルコペニア/フレイルにおける脳KATPチャネルの関与と治療基盤の確立

研究課題名(英文) Involvement of brain KATP channel with pathology of sarcopenia and frailty

研究代表者

下村 健寿 (Shimomura, Kenj)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：90636226

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)：骨格筋培養細胞に機能不全を伴う変異型KATPチャネルを発現しその状態と機能を調べたところ形態や成長には影響がないものの膜電位は低下していることが確認できました。この膜電位の低下は筋肉の機能に影響を及ぼす可能性が指摘され、KATPチャネルの阻害剤を用いることで是正することが出来ました。このことから高齢者において確認される筋肉の疾患であるサルコペニア・フレイルはKATPチャネルを治療標的となる可能性が指摘されました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨格筋においてKATPチャネルがいかなる生理学的機能を有しているかについては議論がわかれる部分があったが、本研究では膜電位の適正な維持に貢献している可能性が指摘された。また変異型KATPチャネルの発現が膜電位の低下を促したことから、正常な骨格筋機能の維持にはKATPチャネルを通じた改善の可能性が考えられた。KATPチャネルの阻害剤がその膜電位を正常に戻す機能が確認できたことから、筋の疾患であるサルコペニア・フレイルに対してKATPチャネルが治療標的となり得る可能性が指摘された。

研究成果の概要(英文)：By using cultured skeletal muscle cell line, C2C12 cells, KATP channel with gain-of-function mutation was expressed. Although its morphology and developments were not affected by this expression of mutated channel, its membrane potential was found to be more hyperpolarized in transfected cells. These hyperpolarization may cause functional difference. Therefore, KATP channel may act as an important factor that regulates physiological function of the skeletal muscle. This hyperpolarization of cell was found to be reversed by the use of KATP channel blocker.

研究分野：電気生理学

キーワード：KATPチャネル サルコペニア・フレイル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢者の QOL を著しく低下する要因として近年注目を集めているのが骨格筋の減少による「サルコペニア」と生理的予備能の低下、「フレイル」である。「フレイル」は歩行速度低下、易疲労感などを主体とした身体活動レベルの低下を指標としており、日本老年医学会は「高齢者はフレイルの段階を経て要介護状態にいたる」とし早期発見と治療の重要性を指摘している。近年、これらサルコペニアとフレイルが罹病期間の長い高齢糖尿病患者に多く認められることが明らかとなったが、その病態機序に関しては不明であり、決定的な治療法も存在しない。日本では高齢者における糖尿病患者数も増加の一途をたどっており糖尿病に伴うサルコペニアとフレイルの病態機序の解明と治療法の確立が急がれる。

円滑な運動(活動)の制御を行っている脳部位として中脳の黒質が挙げられる。中脳黒質は振戦や固縮、無動といった症状を呈するパーキンソン病の原因部位であり K_{ATP} チャンネルが多く発現している。

本研究では脳黒質ならびに骨格筋における K_{ATP} チャンネルの生理的意義ならびに機能獲得変異型 K_{ATP} チャンネルの発現によりサルコペニア・フレイルの基盤となる筋力などに K_{ATP} チャンネルが与える影響を明確にし、 K_{ATP} チャンネルのサルコペニア・フレイルに対する治療標的としての可能性を検討した。

2. 研究の目的

ウィルスベクターによる変異型 K_{ATP} チャンネル発現細胞で K_{ATP} チャンネルがサルコペニア/フレイルの発症および全身状態に与える影響を検討する。 K_{ATP} チャンネルの薬理的制御によって変異型 K_{ATP} チャンネルを発現したモデル動物ならびに細胞系において病態を改善できるかの検討を行い、サルコペニア/フレイルの治療を目指したデータを得ることを目標とする。

3. 研究の方法

糖尿病や高脂血症状態において K_{ATP} チャンネルは開口状態に傾くという報告があること、さらに糖尿病などの生活習慣病患者におけるサルコペニア・フレイルの発症が高頻度であるとの報告を反映させるために K_{ATP} チャンネルが開口状態に傾く機能獲得型 K_{ATP} チャンネル発現系を用いて検討した。この際に筋力などサルコペニア・フレイルの発現に関連のある脳と骨格筋に対して機能獲得型 K_{ATP} チャンネルを発現させる実験系による検討を行った。

(1) ラットの脳黒質に対して機能獲得型変異を有する K_{ATP} チャンネル(Kir6.2-R50P/SUR1)をウィルスベクターの局所注入によってモデルラットの作成を行い、その機能解析を行った。

(2) 電気生理学的手法を用いて骨格筋培養細胞 C2C12 にウィルスベクターを用いて Kir6.2-R50P を発現させ、細胞内因性の SUR サブユニット(SUR2A)の組み合わせによる K_{ATP} チャンネルを発現させ、その機能的・形態的解析を行った。

4. 研究成果

(1) ウィルスベクターの局所注入によって作成されたモデルラット/マウスでは脳黒質に対して変異型 K_{ATP} チャンネルが発現していることは確認できた。しかし表現型として検討を行ったところ変異型 K_{ATP} チャンネル発現ニューロンの発火頻度ならびにパターンはコントロールに比して変化は認められなかった。また筋力の測定も行ったが、これに関してもコントロールとの差は認められず、筋力に関してはパーキンソン氏病の原因となる脳黒質において K_{ATP} チャンネルが果たしている役割は低いと考えられた。

(2) 上記(1)の結果を受けて骨格筋そのものに発現している K_{ATP} チャンネルが筋肉の機能に果たしている役割について検討を行った。この際に骨格筋培養細胞である C2C12 細胞に対してウィルスベクターを用いて機能獲得型 K_{ATP} チャンネルを発現させて検討を行った。

骨格筋細胞の増殖能、糖の取り込み能、形態について評価を行ったが機能獲得型 K_{ATP} チャンネル発現細胞においてコントロールと比較して有意の差は認められなかった。

しかしパッチクランプ法によって膜電位の測定を行ったところ、機能獲得型 K_{ATP} チャンネルを発現した細胞においてのみ有意に膜電位の低下が確認できた。

骨格筋細胞における膜電位の低下は刺激に基づく膜電位の上昇率に影響を与えることが考えられ、筋収縮反応の減弱を引き起こす可能性が指摘できる。

本研究ではこの膜電位の低下に対して K_{ATP} チャンネル阻害剤であるSU剤(グリベンクラミド)を添加したところ、膜電位が上昇することを確認できた。

以上の結果から脳における K_{ATP} チャンネルが筋肉ならびにサルコペニア・フレイルに与える影響は少なくとも黒質由来ではない可能性が指摘された。

さらに骨格筋そのものの膜電位の調整に K_{ATP} チャンネルが機能を発揮している可能性が指摘でき、高齢者における筋力の低下に K_{ATP} チャンネル開口に基づく膜電位の低下がかかわっている可能性が指摘された。またその膜電位の低下は K_{ATP} チャンネル阻害剤によって是正が可能であることから筋力低下やサルコペニア・フレイルの治療標的となりえる可能性があることが考えられた。

今後、さらに本研究を発展させていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10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 Otsuka Ayano, Jinguji Ayana, Maejima Yuko, Kasahara Yoshiyuki, Shimomura Kenju, Hidema Shizu, Nishimori Katsuhiko	4. 巻 27
2. 論文標題 LGR4 is essential for R-spondin1-mediated suppression of food intake via pro-opiomelanocortin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1591266	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 Aso Yoshimasa, Kato Kanako, Sakurai Shintaro, Kishi Haruka, Shimizu Masanori, Jojima Teruo, Iijima Toshie, Maejima Yuko, Shimomura Kenju, Usui Isao	4. 巻 27
2. 論文標題 Impact of dapagliflozin, an SGLT2 inhibitor, on serum levels of soluble dipeptidyl peptidase 4 in patients with type 2 diabetes and non alcoholic fatty liver disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Practice	6. 最初と最後の頁 e13335 ~ e13335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ijcp.13335	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 Imai Ryota, Yokota Shoko, Horita Shoichiro, Ueta Yoichi, Maejima Yuko, Shimomura Kenju	4. 巻 83
2. 論文標題 Excitability of oxytocin neurons in paraventricular nucleus is regulated by voltage-gated potassium channels Kv4.2 and Kv4.3	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 202 ~ 211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2018.1537773	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 Maejima Yuko, Yokota Shoko, O'Hashi Rie, Aoyama Masato, Shimomura Kenju	4. 巻 68
2. 論文標題 The effect of avertin anesthesia and a mixture of three types of anesthetic agents on food intake and body weight in high fat-induced obese male and female mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 57 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.17-0145	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 Imai Ryota, Misaka Shingen, Horita Shoichiro, Yokota Shoko, O'hashi Rie, Maejima Yuko, Shimomura Kenju	4. 巻 11
2. 論文標題 Memantine has no effect on KATP channels in pancreatic cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Research Notes	6. 最初と最後の頁 614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13104-018-3715-9	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 Kato Shigeki, Fukabori Ryoji, Nishizawa Kayo, Okada Kana, Yoshioka Nozomu, Sugawara Masateru, Maejima Yuko, Shimomura Kenju, Okamoto Masahiro, Eifuku Satoshi, Kobayashi Kazuto	4. 巻 22
2. 論文標題 Action Selection and Flexible Switching Controlled by the Intralaminar Thalamic Neurons	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2370 ~ 2382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.02.016	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 Maejima Y, Yokota S, Nishimori K, Shimomura K	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 The anorexigenic neural pathways of oxytocin and clinical implication	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroendocrinology	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) 10.1159/000489263.	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 Kato S, Fukabori R, Nishizawa K, Okada K, Yoshioka N, Sunagawa M, Maejima Y, Shimomura K, Okamoto M, Eifuku S, Kobayashi K	4. 巻 22
2. 論文標題 Action selection and flexible switching controlled by the intralaminar thalamic neurons	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2370 2382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.02.016.	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 Shimomura K, Maejima Y	4. 巻 56
2. 論文標題 KATP channel mutations and neonatal diabetes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 2387 2393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.8454-16	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 Maejima Y, Aoyama M, Sakamoto K, Jojima T, Aso Y, Takasu K, Takenoshita S, Shimomura K	4. 巻 7
2. 論文標題 Impact of sex, fat distribution and initial body weight on oxytocin's body weight regulation.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-09318-7	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 Maejima Y, Horita S, Kobayashi D, Aoki M, O'hashi R, Imai R, Sakamoto K, Mori M, Takasu K, Ogawa K, Takenoshita S, Zhao S, Hazama A, Shimomura K	4. 巻 95
2. 論文標題 Nesfatin-1 inhibits voltage gated K-channels in pancreatic beta cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 10 15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2017.07.001	査読の有無 無
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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----