

令和 3 年 6 月 25 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08484

研究課題名(和文) インスリン/IGF-1両受容体阻害による新規サルコペニアモデルの解析

研究課題名(英文) A novel sarcopenia model by insulin / IGF-1 receptor inhibition

研究代表者

富樫 優 (TOGASHI, Yu)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：10710444

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：インスリン受容体(IR)/IGF-1受容体(IGF1R)を阻害するOSI-906投与動物モデルにより、2型糖尿病患者のサルコペニアの機構を解析した。OSI-906を14日間投与後、OSI-906群は高血糖と体重減少、四頭筋、腓腹筋の重量低下を認めた。前脛骨筋の組織では、OSI-906投与後に、oxidative fiber の数および割合が有意に増加していたことから、完全に分化した骨格筋におけるIRおよびIGF1Rの阻害が骨格筋の可塑的な変化を誘導することが示唆された。遺伝子解析では、骨格筋のグルコース取り込み促進、細胞周期の抑制的制御、蛋白分解促進、オートファジー亢進の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者の糖尿病において、骨格筋の量的・質的減少(サルコペニア)はインスリン抵抗性をもたらす。また、骨格筋におけるインスリン/IGF-1作用の低下は、サルコペニアを加速するとも考えられている。しかし、一度サルコペニアに陥った骨格筋が、再び正常状態に回復する機序は不明である。我々は、IRおよびIGF1Rの双方を阻害するOSI-906の投与が一過性のサルコペニアを誘導し、休薬後に回復を認めることを見出した。本研究では、このモデルを用いて、サルコペニアの病態を解析し骨格筋線維の可塑的な変化を明らかにした。サルコペニアの病態および回復の機序の解明は、骨格筋組織の正常化へ向けた治療法につながる。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the mechanism of sarcopenia in patients with type 2 diabetes using an animal model treated with OSI-906, the insulin receptor (IR)/ IGF-1 receptor (IGF1R) inhibitor.

After 14 days of administration of OSI-906, the OSI-906 group showed hyperglycemia, body weight loss, and decreased weight of quadriceps and gastrocnemius muscles. Tissue analysis showed a significant increase in the number and proportion of oxidative fibers in the tibialis anterior muscle after OSI-906 administration, indicating that inhibition of IR and IGF1R induces plastic changes in fully differentiated skeletal muscle. Genetic analysis indicated OSI-906 promotes glucose uptake in skeletal muscle, suppress cell cycle control, promotes proteolysis, and enhances autophagy.

研究分野：糖尿病

キーワード：サルコペニア 2型糖尿病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢者の糖代謝では、膵細胞機能障害によるインスリン分泌能低下に加えて、骨格筋の量的・質的減少(サルコペニア)が重要な役割を担っている。また、骨格筋におけるインスリン/IGF-1作用の低下は、サルコペニアを加速するとも考えられている。しかし、一度サルコペニアに陥った骨格筋が、再び正常状態に回復する機序は不明である。

インスリン受容体(IR)およびIGF-1受容体(IGF1R)を介したシグナル伝達は、下流のインスリンシグナル分子を介して、ほぼ全ての臓器の代謝調節・成長・生存に関与している。また、IRおよびIGF1Rシグナルは、悪性腫瘍の発生および進展とも密接に関与しており、IRおよびIGF1Rシグナルを特異的に遮断するOSI-906(Linsitinib)が経口抗腫瘍薬として開発され、固形癌患者に対しヒトでの臨床試験が実施されている。

我々は、OSI-906を7日間投与することにより、膵細胞量は増大し、さらに内臓脂肪の著明な萎縮および脂肪肝が惹起されることを見出した。また、7日間OSI-906投与後に薬剤を中止すると、インスリン抵抗性は急激に改善し、投薬中止後7日目には、一過性に増加した膵細胞量は再び減少し元の膵細胞量に戻り、脂肪肝および脂肪組織の萎縮もコントロール投与群マウスと同程度まで回復することを報告した(Sci Rep. 7(1):4119, 2017.)

さらに我々は、このモデルにおいて、一過性の骨格筋の萎縮ならびに、休薬後の回復を認めることも見出し、OSI-906投与により薬理的にIRとIGF1Rを阻害したマウスは、新たなサルコペニアの発症および回復のモデルとして有用ではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、可逆的な組織の可塑性変化を誘発するOSI-906投与モデルを用い、萎縮した骨格筋が正常な組織量に回復する機構を明らかにし、組織的にも機能的にも代謝障害に陥ったサルコペニアを再び正常状態へ誘導することによる治療法の創出を目指す。

本研究では、抗癌剤として開発されたIR、IGF-1の双方を阻害するOSI-906により、急速かつ可逆的に骨格筋の組織学変化を惹起するモデルを用い、各組織の正常状態への回復過程に注目したサルコペニアの研究を展開するという、既存の発症予防の概念とは異なる新たな側面を探究する。本モデルの特色としては、遺伝子改変モデルと異なり、野生型マウスにおいて短期間で急速に病態が完成し、かつ可逆的な回復過程が観察できるという利点がある。これにより、高齢でサルコペニアへ病態が既に進行した状態から、各組織を再び正常組織へ回復させる分子基盤を提案し、治療への応用を目的とする。

3. 研究の方法

新規サルコペニア誘導モデルの解析: OSI-906を7日間投与し、サルコペニアを呈したマウスのoxidative fiberとglycolytic fiberの割合を検証するとともに、AMPKやmTORC1のタンパク発現およびリン酸化、IL-6やGLP-1の遺伝子発現について解析し、新規サルコペニアモデルの病態を検証する。さらに下大静脈からインスリン投与後の骨格筋におけるインスリンシグナルの経時的な解析も行う。また、OSI-906投与により、骨格筋において一過性に脂肪滴が蓄積し、休薬後に改善したことから、OSI-906投与後の各骨格筋の中性脂肪含量および脂肪酸トランスporterや脂肪酸合成酵素の発現、および脂肪滴蓄積の改善における分子機構を解析する。野生型マウスに、IRのみ阻害するペプチドアンタゴニストであるS961を持続投与したところ、OSI-906と同様に、著明な高血糖および高インスリン血症を呈するものの骨格筋の萎縮は認めなかった。今後、S961投与マウスとOSI-906投与マウスの骨格筋の遺伝子発現変化を解析することにより、IRとIGF1Rのサルコペニア形成における役割の違いを明らかにする。

4. 研究成果

新規サルコペニア誘導モデルの解析

我々はOSI-906を7日間投与すると、高血糖および著明な高インスリン血症に伴い、一過性の膵細胞増殖の促進、脂肪萎縮、肝の脂肪化を呈することを報告した(Endocrinology. 155(6):2102-1120, 2014, Sci Rep. 7(1):4119, 2017.)。このマウスでは、四頭筋(QUAD)、前脛骨筋(TA)、長趾伸筋(EDL)、ヒラメ筋(SOL)の組織重量およびマイクロCTによる筋肉量が、すべて約20-30%以上有意に低下し、サルコペニアを呈していることを見出した。succinate dehydrogenase(SDH)染色により、筋組織の萎縮も認められた。さらに、OSI-906を7日間投与後の骨格筋において脂肪滴が蓄積していた。

私たちは、より慢性的なIRおよびIGF1R阻害による影響を確認するため、C57BL6Jマウス雄8週齢にOSI-906 25 mg/kgを12時間ごとに経口投与を行い14日後に解析を行った。OSI-906投与群は、有意な高血糖が持続し、14日目の体重は7.3%の減少を認めた。

14日間投与後の下肢筋肉の体積をマイクロCTにより解析したところ、OSI-906投与群で約20%の低下を認めた。筋肉の各部位の重量について解析したところ、QUADおよび腓腹筋(GC)は、OSI-906投与により16-17%の低下を認めた一方、TA、EDL、SOLについては有意な変化を認めな

かった。SDH 染色により、各筋組織の oxidative fiber と glycolytic fiber の割合を解析したところ、TA において OSI-906 投与後に、oxidative fiber の数および割合が有意に増加していた。これまでに、骨格筋特異的に IR および IGF1R を欠損したマウス (mIGIRKO) において、筋線維の萎縮とともに oxidative fiber の増加を認めたことから、骨格筋の発生、分化に IR および IGF1R を介したシグナルが重要な役割を果たすことが報告されている (Cell Reports. 11(3):1220-1235, 2015) が、今回の結果より、完全に分化した骨格筋における IR および IGF1R の阻害が骨格筋の可塑的な変化を誘導することが示唆された。

次に、筋肉各部位の遺伝子発現を解析した。OSI-906 投与群の筋肉において、骨格筋のグルコーストランスポーターである Glut4 の低下傾向、Glut4 の細胞膜への輸送に関与する Tbc1d1 の低下および Tbc1d4 の上昇を認めた。mIGIRKO の骨格筋では、Tbc1d が低下、Tbc1d4 が上昇し、細胞膜への Glut4 の輸送が促進されることによりグルコース取り込みが増加することが報告されている。今回、OSI-906 投与モデルにおいても、類似した遺伝子発現変化を認めたことから、骨格筋の一時的な IR および IGF1R 阻害が骨格筋へのグルコース取り込みを促進している可能性が示唆された。mIGIRKO で認められる骨格筋萎縮は IR および IGF1R を介したシグナルにより活性が調整されている転写因子 FoxO に依存的であることが報告されている。そこで、FoxO の標的遺伝子の発現について解析を行った。細胞周期抑制因子 Cdkn1b および DNA 損傷により誘導される成長停止遺伝子 Gadd45a の発現は OSI-906 投与により上昇しており、細胞周期が抑制的に制御されていることが示唆された。筋萎縮に関与するライソゾームプロテアーゼ Cathepsin L は OSI-906 投与により発現が上昇しており、OSI-906 によって、蛋白分解の誘導が筋萎縮を引き起こしていることが示唆された。一方、インスリンシグナルや mTOR シグナルにより制御される翻訳開始因子 Eif4e の抑制蛋白である Eif4ebp1 は、OSI-906 投与により変化を認めなかった。オートファジーのマーカー蛋白である Gabarapl1 の遺伝子発現は OSI-906 投与により上昇を認め、オートファジーの亢進が示唆された。IR/IGF1R-FoxO1 の下流で活性化され、筋萎縮のレギュレーターとして知られているユビキチンリガーゼ Atrogin-1 および Trim63 は明らかな変化を認めず、今後はこれらの活性化の変化についてさらに解析が必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Shirakawa Jun, Tajima Kazuki, Okuyama Tomoko, Kyohara Mayu, Togashi Yu, De Jesus Dario F., Basile Giorgio, Kin Tatsuya, Shapiro A. M. James, Kulkarni Rohit N., Terauchi Yasuo	4. 巻 63
2. 論文標題 Luseogliflozin increases beta cell proliferation through humoral factors that activate an insulin receptor- and IGF-1 receptor-independent pathway	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetologia	6. 最初と最後の頁 577 ~ 587
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00125-019-05071-w	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 Kyohara Mayu, Shirakawa Jun, Okuyama Tomoko, Togashi Yu, Inoue Ryota, Li Jinghe, Miyashita Daisuke, Terauchi Yasuo	4. 巻 12
2. 論文標題 Soluble EGFR, a hepatokine, and adiponectin, an adipokine, are biomarkers correlated with distinct aspects of insulin resistance in type 2 diabetes subjects	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetology & Metabolic Syndrome	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） 10.1186/s13098-020-00591-7	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 -

〔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
研究分担者	寺内 康夫 (Terauchi Yasuo) (40359609)	横浜市立大学・医学研究科・教授 (22701)	
研究分担者	白川 純 (Shirakawa Jun) (70625532)	横浜市立大学・医学研究科・客員教授 (22701)	

6. 研究組織（つづき）

	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	奥山 朋子 (Okuyama Tomoko) (90806928)	横浜市立大学・医学部・助教 (22701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関