

令和 3 年 5 月 11 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K11067

研究課題名(和文)加齢性筋萎縮のメカニズム解明及び予防・治療法開発

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanisms of age-related muscle atrophy and development of novel therapies for sarcopenia

研究代表者

本橋 紀夫 (Motohashi, Norio)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 遺伝子疾患治療研究部・室長

研究者番号：50532727

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：骨格筋は肥大・萎縮をする可塑性を有すると共に、筋線維タイプ(遅筋・速筋)とそれに伴う代謝変換(酸化系・解糖系)能を有する。加齢時に認められる筋線維タイプ変換の誘導因子は、加齢性筋萎縮(サルコペニア)の誘導因子と共通すると考えられる。本研究では、筋線維タイプ変換を引き起こす生体内因子CCL19を同定し、サルコペニアの原因となる可能性を示した。さらにCCL19誘導性のシグナル経路を解明し、その経路を抑制する事がサルコペニア予防・治療に繋がる事を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本は長寿大国である一方、平均寿命と健康寿命の間に10年の隔りがあるため、世界屈指の「寝たきり」大国と呼ばれる。骨格筋は運動や身体活動に必須であり、代謝性臓器としても機能している事から、健康的な骨格筋維持が健康寿命延伸の鍵となる。本研究で同定した筋線維タイプ変換誘導因子は筋代謝制御に関与し、加齢や寝たきりによる筋萎縮の原因解明に直結すると考えられる為、予防・治療法開発に繋がる科学的根拠を提供すると考えられる。本研究で得られた成果は、分子生物学のみならず、老年医学・リハビリテーション医学及び健康科学など多方面の研究分野において発展可能性があり、大きな意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Skeletal muscles are composed of two types of muscle fibers, and these fibers can be switched between fast and slow under several circumstances. However, it is unclear how muscle fiber type transitions are regulated. In this study, we have developed transgenic mice, which allow distinguishing each muscle fiber type by fluorescent proteins. Using cultured myotubes derived from these mice, we have identified several factors that could influence slow-to-fast or fast-to-slow fiber type transition. One of them, CCL19, C-C motif chemokine ligand 19, could induce fast-to-slow type fiber transition and reduced the basal respiration in vitro, and the phenotypes were validated in vivo. Additionally, several experiments using knockout mice have revealed that muscle fiber transition induced by CCL19 was mediated through Rgs4-Sirt1 signaling pathway. Our results were proposed the novel pathway that induced muscle fiber type transitions.

研究分野：筋生理学

キーワード：骨格筋 筋線維タイプ 筋代謝 老化 筋萎縮 筋幹細胞 筋疾患

1. 研究開始当初の背景

体内最大の臓器である骨格筋は可塑性を有し、各種運動によって肥大する一方、加齢や各種病態・不活動によって萎縮する。骨格筋を形成する筋線維は遅筋線維と速筋線維から成り立つが、運動等により可逆的な筋線維タイプの変化(遅筋・速筋)が生じ、代謝変換(酸化系・解糖系)を伴う。筋肥大時においては、瞬発系トレーニングやドーピング薬の Clenbutenol 投与によってタイプ II 型速筋線維が亢進されるのに対し、持久性トレーニング等によって遅筋化が進む。一方筋萎縮時において、サルコペニア(加齢性筋肉減少性)ではタイプ I 型の遅筋化が進む一方で、ギプス固定や寝たきりによる廃用性筋萎縮では速筋線維が増加する。つまり筋肥大・萎縮に伴う筋線維タイプ変化は、原因によって異なる。加えて、筋肥大・萎縮を誘導する因子は、筋線維タイプ変換誘導因子と共通するものが含まれる可能性がある。しかし筋線維タイプ変換の詳細な機構は未解明な部分が多く、筋線維タイプと骨格筋可塑性との関連も不明である。

これまでに、全ての筋線維タイプを蛍光蛋白で識別できる遺伝子改変マウスを作製し、そのマウス由来筋管細胞を用いた筋線維タイプ変換誘導因子の網羅的探索を行ってきた。生体内因子・薬剤等を用いたスクリーニングを行った結果、遅筋線維、あるいは速筋線維を誘導する複数の新規因子を同定する事ができた。特に、その因子の1つである C-C motif chemokine ligand (CCL) 19 は培養条件下で速筋線維から遅筋線維に誘導し、且つ代謝機能を低下させる事を見出した、さらに予備的検討から血清中 CCL19 濃度は加齢に伴い上昇することから、加齢性筋萎縮との関連も予想された。近年、超高齢化社会が進行する日本において、健康的な生活を維持する為のサルコペニア克服が最大の課題となっているが、本研究における筋線維タイプ変換に基づく筋萎縮メカニズム解明は、サルコペニアの原因究明に直結し、その予防・治療法開発に繋がると考えられた。

2. 研究の目的

そこで本研究では、1) CCL19 が加齢性筋萎縮の原因の1つであることを明らかにし、2) CCL19 を介した筋線維タイプの変換シグナル経路を解明する。さらに3)加齢性筋萎縮の予防・治療法を開発する事を目的とした。

3. 研究の方法

まず、筋線維タイプ変換を誘導する生体内因子である CCL19 が加齢性筋萎縮と関連するか否かを確かめる為、各月齢のマウスから血清を採取し、ELISA 法を用いて血中 CCL19 濃度を測定した。また血中 CCL19 濃度と月齢、あるいは筋重量との関連を検証した。次にリコンビナントの CCL19 を野生型マウスに継続投与し、筋重量および筋線維タイプの変化を評価し、同時にミトコンドリア代謝関連遺伝子群の発現も評価した。CCL19 による筋線維タイプ変換シグナル経路を同定する為、筋線維タイプ変換に関与すると考えられた Rgs4 および Sirt-1 が欠損したマウス由来筋管細胞に対し CCL19 を添加し、筋線維タイプおよび筋代謝の変化を評価した。最後に、老齢マウスに対して Sirtuin 活性阻害剤であるニコチンアミド(NAM)を投与し、筋重量および運動機能を評価した。

4. 研究成果

各月齢のマウスから血清を採取し、ELISA 法を用いて血中 CCL19 濃度を測定した結果、若齢（2～4ヶ月齢）に比べ成熟（12ヶ月齢）および老齢マウス（20～24ヶ月齢）で顕著に上昇する事を見出した。また血中 CCL19 濃度と筋重量との関連を調べた結果、血中 CCL19 濃度は筋重量（腓腹筋）との間に相関関係がある事が明らかとなった。

筋線維タイプ変換誘導因子である CCL19 が、加齢性筋萎縮の原因であるか否かを生体内で確認する為、リコンビナント CCL19 を若齢マウスに継続的に投与を行った。その結果、遅筋化および筋萎縮を認め、且つ SDH および NADH 活性の低下、あるいはミトコンドリア代謝関連遺伝子の変化を誘導した。

筋線維タイプ変換に関わるシグナル経路を解明する為、筋線維タイプ変化を誘導すると考えられる Rgs4 および Sirt1 を欠損したマウス筋管細胞に対し CCL19 を添加した結果、筋線維タイプには影響を与えなかった。すなわち CCL19 は Rgs4 および Sirt1 を介して遅筋化および筋萎縮を誘導している事が明らかとなった。また Rgs4 欠損は CCL19 添加による Sirtuin 活性を阻害する事から、Rgs4 は Sirt1 の上流に位置する事も明らかとなり、CCL19-Rgs4-Sirt1 経路の活性が筋線維タイプ変化を誘導する可能性を示した。

加齢性筋萎縮では遅筋線維の割合が増加し、同時に代謝機能低下が認められる。そこで Sirtuin 活性阻害剤である NAM を老齢マウスに対して投与した結果、運動機能は優位に改善し、筋重量の増加および SDH・NADH 活性の回復を認め、ニコチンアミドによる CCL19-Sirtuin 経路の抑制が、加齢性筋萎縮に対する予防・治療法の一つになり得る可能性を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Motohashi Norio, Shimizu-Motohashi Yuko, Roberts Thomas C、Aoki Yoshitsugu	4. 巻 8
2. 論文標題 Potential Therapies Using Myogenic Stem Cells Combined with Bio-Engineering Approaches for Treatment of Muscular Dystrophies	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 1066 ~ 1066
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells8091066	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Motohashi Norio, Uezumi Akiyoshi, Asakura Atsushi, Ikemoto-Uezumi Madoka, Mori Shuuichi, Mizunoe Yuhei, Takashima Rumi, Miyagoe-Suzuki Yuko, Takeda Shin'ichi, Shigemoto Kazuhiro	4. 巻 26
2. 論文標題 Tbx1 regulates inherited metabolic and myogenic abilities of progenitor cells derived from slow- and fast-type muscle	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Death & Differentiation	6. 最初と最後の頁 1024 ~ 1036
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41418-018-0186-4	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 該当する
1. 著者名 Oikawa Satoshi, Lee Minjung, Motohashi Norio, Maeda Seiji, Akimoto Takayuki	4. 巻 316
2. 論文標題 An inducible knockout of Dicer in adult mice does not affect endurance exercise-induced muscle adaptation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 C285 ~ C292
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpcell.00278.2018	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 Shimizu-Motohashi Yuko, Komaki Hirofumi, Motohashi Norio, Takeda Shin'ichi, Yokota Toshifumi, Aoki Yoshitsugu	4. 巻 9
2. 論文標題 Restoring Dystrophin Expression in Duchenne Muscular Dystrophy: Current Status of Therapeutic Approaches	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Personalized Medicine	6. 最初と最後の頁 1 ~ 1
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jpm9010001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Hara Yuko, Mizobe Yoshitaka, Inoue Yukiko U., Hashimoto Yasumasa, Motohashi Norio, Masaki Yoshiaki, Seio Kohji, Takeda Shin'ichi, Nagata Tetsuya, Wood Matthew J. A., Inoue Takayoshi, Aoki Yoshitsugu	4. 巻 10
2. 論文標題 Novel EGFP reporter cell and mouse models for sensitive imaging and quantification of exon skipping	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-67077-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 van Westering Tirsa L.E., Johansson Henrik J., Hanson Britt, Coenen-Stass Anna M.L., Lomonosova Yulia, Tanihata Jun, Motohashi Norio, Yokota Toshifumi, Takeda Shin'ichi, Lehti? Janne, Wood Matthew J.A., EL Andaloussi Samir, Aoki Yoshitsugu, Roberts Thomas C.	4. 巻 19
2. 論文標題 Mutation-independent Proteomic Signatures of Pathological Progression in Murine Models of Duchenne Muscular Dystrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular & Cellular Proteomics	6. 最初と最後の頁 2047 ~ 2068
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/mcp.RA120.002345	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 本橋 紀夫
2. 発表標題 筋線維タイプで異なる筋衛星細胞の機能特性
3. 学会等名 第5回日本筋学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本橋 紀夫
2. 発表標題 筋線維タイプで異なる筋衛星細胞の機能特性
3. 学会等名 第7回若手による骨格筋細胞研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本橋 紀夫
2. 発表標題 細胞移植治療を目指した筋幹細胞の基盤研究-筋線維タイプに着目して-
3. 学会等名 第14回筋ジストロフィー研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本橋 紀夫
2. 発表標題 遺伝子治療開発を目的とした骨格筋部位特異的な筋衛星細胞の基盤研究
3. 学会等名 精神・神経疾患研究開発費「ジストロフィン欠損モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法開発」班 研究班会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本橋紀夫
2. 発表標題 筋線維タイプから見る筋衛星細胞の機能
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会シンポジウム「骨格筋の修復・再生システムの分子細胞基盤」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本橋 紀夫, 森 秀一, 高嶋 留美, 重本 和宏
2. 発表標題 筋線維タイプを識別できるMusColorマウスの開発
3. 学会等名 第4回日本筋学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Norio Motohashi, Shuuichi Mori, Rumi Takashima, Kazuhiro Shigemoto
2. 発表標題 Development of screening system for identification of novel factors influencing muscle fiber types
3. 学会等名 Molecular mechanisms of muscle wasting during aging and disease (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 本橋 紀夫, 津元 裕樹, 三浦 ゆり, 峰岸 かつら, 青木 吉嗣
2. 発表標題 部位特異的な筋幹細胞に着目した骨格筋維持機構の解明
3. 学会等名 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィー関連疾患の分子病態解明とそれに基づく診断法・治療法開発」班, 令和2年度班会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 本橋 紀夫, 青木 吉嗣, 溝部 吉高, 宮武 正太, 木村 公一, 原 裕子, Maria K Tsoumpira, 滝澤 歩武
2. 発表標題 マクロファージスカベンジャー受容体 (SR-A1) 欠損による骨格筋・心筋への影響
3. 学会等名 精神・神経疾患研究開発費「疾患モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法開発」班, 令和2年度班会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 本橋 紀夫, 津元 裕樹, 三浦 ゆり, 峰岸 かつら, 青木 吉嗣
2. 発表標題 部位特異的な筋幹細胞に着目した骨格筋維持機構の解明
3. 学会等名 精神・神経疾患研究開発費 筋ジストロフィー研究班合同班会議
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------