

令和 3 年 6 月 20 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17953

研究課題名（和文）加齢によるリソソーム機能破綻が骨格筋に及ぼす影響の解明とその制御法の開発

研究課題名（英文）Elucidation of the effect of age-related lysosomal functional disruption on skeletal muscle and development of its control method

研究代表者

水之江 雄平（Mizunoe, Yuhei）

筑波大学・医学医療系・研究員

研究者番号：80803569

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：代表者らは、代謝性疾患や老化モデルマウスの脂肪組織でリソソーム機能異常が見られること、それに伴うオートファジー分解低下により異常ミトコンドリアが蓄積することを見出している。本研究では、骨格筋に着目し、代謝性疾患や老化モデルを用いて、リソソーム・オートファジー機能、さらには骨格筋機能に与える影響を解析した。その結果、これらマウスではリソソーム機能に異常がみられることを明らかとした。今後はこれら異常の骨格筋に与える影響を解析する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

代表者らは、老化や各種病態時に、リソソーム機能低下を起因としたオートファジー制御異常が骨格筋機能に影響を与えていると考えた。これまでリソソームという視点から着目した報告は少なく、メカニズム解明により加齢による骨格筋萎縮（サルコペニア）の予防・早期介入法開発につながる。代謝機能の可塑性低下とオートファジー機能の関係を明らかにして老年病のメカニズムを解明することを目的とし、食事・運動療法のエビデンス獲得・治療への応用の端緒とすることを目標とした。

研究成果の概要（英文）：We have found that lysosomal dysfunction is observed in the adipose tissue of metabolic diseases and aging model mice, and that abnormal mitochondria accumulate due to the accompanying decrease in autophagy degradation. In this study, we focused on skeletal muscle and analyzed the effects on lysosomal autophagy function and skeletal muscle function using metabolic diseases and aging models. As a result, it was clarified that these mice had abnormal lysosomal functions. In the future, we plan to analyze the effects of these abnormalities on skeletal muscle.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：骨格筋 リソソーム オートファジー 代謝性疾患

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

オートファジーは異常なたんぱく質や細胞内小器官を分解することで細胞の恒常性を維持する機構で、その分解機構の中心に『リソソーム』が存在する。代表者らは、代謝性疾患や老化でリソソーム内加水分解酵素カテプシンL (CTSL) の機能異常が見られること、それに伴うオートファジー分解低下により異常ミトコンドリアが蓄積することを見出した。以上から、『CTSL 低下によるリソソーム機能異常が代謝性疾患・老化の病態発症起点となっている』という仮説に至った。本研究では、骨格筋に着目し CTSL を遺伝子操作した細胞及び動物、さらに老化モデルを用いてこの仮説を立証した上で、CTSL の代謝性疾患への寄与を確認する。本研究提案は、新たな代謝性疾患・抗老化治療開発につながる事が期待される。

2. 研究の目的

老年病症候群(サルコペニア・フレイル、生活習慣病、認知症等)は高齢者の死亡率・介護リスクと密接な因果関係がある。多くの疫学研究で食事・運動療法が老年病症候群に対して有効であると示されているが、機構は殆ど不明である。全身の代謝機能の維持・調節は骨格筋や脂肪組織が中心的な役割を果たしており、その機能維持にはオートファジーが重要である (Science, 330:1344-8, 2010)。オートファジー機構の破綻はがん、神経変性疾患、代謝性疾患の発症に寄与する。オートファジー研究はその分子機構を中心に解析が進んだが、病態とオートファジーの関連は未だ不明な点が多い。代表者らは、オートファジーの中でもこれまで解析が進んでいなかったリソソーム機能に着目し、代謝臓器である脂肪組織 (WAT: White Adipose Tissue) で栄養異常(肥満による過栄養状態)によりリソソーム機能異常を起因としたオートファジー制御破綻が生じていることを見出した (Mizunoe et al. Autophagy.13:642-653, 2017)。リソソーム機能異常はタンパク質分解酵素であるカテプシンL (CTSL) の機能低下に起因し、細胞内に機能異常を示すミトコンドリアが蓄積、代謝機能が低下する。代謝の可塑性低下は老年病態発症と重要な因果関係があり、脂肪組織と並ぶ重要な代謝臓器である骨格筋においてもオートファジー機能が影響を及ぼすことは十分に予想される。また、オートファジー関連因子をノックアウトしたマウスの解析からもオートファジー異常が様々な病態発症に寄与することが明らかとなっている。

これらの知見から代表者らは、老化や各種病態時に、リソソーム機能低下を起因としたオートファジー制御異常が骨格筋機能に影響を与えていると考えた。これまでオートファジーという視点から着目した報告はなく、メカニズム解明によりサルコペニアの予防・早期介入法開発につながる。そこで代表者は、代謝機能の可塑性低下とオートファジー機能の関係を明らかにして老年病のメカニズムを解明することを目的とし、食事・運動療法のエビデンス獲得・治療への応用の端緒とすることを目標とした。

3. 研究の方法

(1)代謝性疾患モデルとして、コレステロール合成律速酵素である HMGCoA 還元酵素 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMGCR) を骨格筋特異的にノックアウトとしたマウスを用いて、代謝性疾患とリソソーム異常の解析を行った。コレステロール合成の律速酵素である HMGCR の阻害剤であるスタチンは非常に有効な治療薬である一方で、副作用として筋委縮や横紋筋融解症があり、その詳しい発症メカニズムは未だに明らかとなっていない。代表者の所属する研究室では、スタチンによる横紋筋融解症モデルとして HMGCR 骨格筋特異的ノックアウトマウスを作製し、骨格筋での HMGCR 低下が横紋筋融解症用の所見を示すことを明らかとしている (Osaki BBRC 2015)。

(2) 加齢マウス (25 か月齢) と生体マウス (5 か月齢) を比較することで、ノックアウトマウス同様に解析を行った。

4. 研究成果

(1) 骨格筋特異的 HMGCR ノックアウトにより、横紋筋融解症様の症状がみられること、筋線維内でオートファジー異常が生じることを見出した。オートファジー異常では、オートファゴソームマーカーである LC3-II が蓄積することや、リソソームによる分解マーカーである p62 が増加することを明らかとした。コレステロールおよびその中間代謝産物を測定すると、コレステロール中間代謝産物であるスクアレン量は有意に低下している一方で、コレステロールは顕著に増加している結果となった。またこのコレステロールの蓄積はエンドソーム・リソソーム系に集中していることも明らかとなっている。

(2) 老齢マウスは、若齢マウスと比較して、Hmgcr の mRNA 発現が顕著に低下していること、ノックアウトマウスと同様にコレステロール中間代謝産物が低下し、コレステロールが蓄積していることを見出した。

以上の結果から、HMGCR の発現低下はリソソーム・エンドソームにコレステロールの蓄積を引き起こし、リソソーム・オートファジー障害を誘導し筋委縮を引き起こす可能性が考えられる。

今後は HMGR 低下によるコレステロール蓄積の詳細な分子メカニズム解析を行う。同時に、リソソームにおいてコレステロール異常が生じていることを見出しており、これら変化はリソソーム機能異常を示唆するものであるため、今後はコレステロールとリソソームに着目して解析を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0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 Mizunoe Yuhei, Kobayashi Masaki, Tagawa Ryoma, Nakagawa Yoshimi, Shimano Hitoshi, Higami Yoshikazu	4. 巻 20
2. 論文標題 Association between Lysosomal Dysfunction and Obesity-Related Pathology: A Key Knowledge to Prevent Metabolic Syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3688 ~ 3688
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20153688	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 -

1. 著者名 Mizunoe Yuhei, Kobayashi Masaki, Hoshino Shunsuke, Tagawa Ryoma, Itagawa Rei, Hoshino Ayana, Okita Naoyuki, Sudo Yuka, Nakagawa Yoshimi, Shimano Hitoshi, Higami Yoshikazu	4. 巻 10
2. 論文標題 Cathepsin B overexpression induces degradation of perilipin 1 to cause lipid metabolism dysfunction in adipocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 634 - 634
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-57428-6	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 水之江雄平; 樋上賀一; 小林正樹; 星野駿介; 中川 嘉; 島野 仁
2. 発表標題 リソソーム機能異常が脂肪滴局在タンパク質ペリリピンに及ぼす影響の解析
3. 学会等名 第39回日本肥満学会
4. 発表年 2018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
---------	---------