

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K07907

研究課題名(和文) 甲状腺ホルモン活性化を介しサルコペニアを改善する新規骨格筋G蛋白共役受容体の同定

研究課題名(英文) Identification of novel skeletal muscle G protein-coupled receptors that improve sarcopenia through thyroid hormone activation

研究代表者

荒木 修 (Araki, Osamu)

群馬大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：80589482

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：我が国はすでに超高齢社会に直面しており、高齢者の健康寿命を維持する上で筋骨格系などの運動器の維持が喫緊の課題となっている。甲状腺ホルモンはT4からT3に活性化され生理作用を発揮し、骨格筋や骨の分化を促進するとともに抗肥満効果を示し、高齢者で問題となるサルコペニア肥満の病態を改善する効果が期待される。本研究では、骨格筋において甲状腺ホルモン活性化を介してサルコペニアを改善しうる新規G蛋白共役受容体を同定するとともにその機能解析を行い、将来的にサルコペニア肥満を予防ならびに治療するための分子基盤を確立することを目的として研究を行ない、いくつかの候補となるG蛋白共役受容体を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サルコペニアは筋量と筋力の進行性かつ全身性の減少に特徴づけられ、身体機能障害、生活の質の低下や死のリスクを伴う。正常な筋量・筋力を維持することは高齢者の身体機能を維持し健康寿命を延伸するために極めて重要である。肥満・内臓脂肪の蓄積はインスリン抵抗性を惹起し、脂質異常、耐糖能異常、高血圧をもたらす。動脈硬化の促進と心血管疾患発症のリスクを高め、患者の生命予後やQOLの低下をもたらす。本研究における骨格筋において甲状腺ホルモン活性化を介してサルコペニアを改善しうる新規G蛋白共役受容体の同定は将来的にサルコペニア肥満を予防ならびに治療するための分子基盤を確立し、健康寿命の延伸につながる成果である。

研究成果の概要(英文)：As our country is already facing a super-aging society, the maintenance of musculoskeletal system and other locomotory organs is an urgent issue in maintaining healthy life expectancy of the elderly. Thyroid hormones are activated from T4 to T3 and exert their physiological effects, promoting skeletal muscle and bone differentiation as well as exhibiting anti-obesity effects, and are expected to improve the condition of sarcopenic obesity, which are problems in the elderly. In this study, we identified several candidate G-protein coupled receptors that can improve sarcopenia through thyroid hormone activation in skeletal muscle and analyzed their functions to establish a molecular basis for the prevention and treatment of sarcopenic obesity in the future.

研究分野：内分泌代謝・糖尿病学

キーワード：サルコペニア G蛋白共役型受容体 甲状腺ホルモン活性化

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国はすでに超高齢社会に直面しており、高齢者の健康寿命を維持する上で筋骨格系などの運動器の維持が喫緊の課題となっている。甲状腺ホルモンは T4 から T3 に活性化され生理作用を發揮し、骨格筋や骨の分化を促進するとともに抗肥満効果を示し、高齢者で問題となるサルコペニア肥満の病態を改善する効果が期待される。本研究では、骨格筋において甲状腺ホルモン活性化を介してサルコペニアを改善しうる新規 G 蛋白共役受容体を同定するとともにその機能解析を行い、将来的にサルコペニア肥満を予防ならびに治療するための分子基盤を確立することが重要であると考えられた。

2. 研究の目的

サルコペニアは筋量と筋力の進行性かつ全身性の減少に特徴づけられ、身体機能障害、生活の質(QOL)の低下や死のリスクを伴う。正常な筋量・筋力を維持することは高齢者の身体機能を維持し健康寿命を延伸するために極めて重要である。肥満・内臓脂肪の蓄積はインスリン抵抗性を惹起し、脂質異常、耐糖能異常、高血圧をもたらす、動脈硬化の促進と心血管疾患発症のリスクを高め、患者の生命予後や QOL の低下をもたらす。

甲状腺ホルモンは T4 から T3 に活性化され生理作用を發揮し、骨格筋や骨の分化を促進するとともに抗肥満効果を示し、高齢者で問題となるサルコペニア肥満の病態を改善する効果が期待される。本研究では、骨格筋において甲状腺ホルモン活性化を介してサルコペニアを改善しうる新規 G 蛋白共役受容体を同定するとともにその機能解析を行い、将来的にサルコペニア肥満を予防ならびに治療するための分子基盤を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

骨格筋における 2 型甲状腺ホルモン脱ヨード酵素 (D2) による甲状腺ホルモン活性化機構の新規分子標的を同定し、サルコペニア肥満に対する新たな分子機序の解明や治療薬の創薬への臨床応用に展開するための基盤となる研究を下記 1~3 に従い順次行うこととした。1. 骨格筋芽細胞(myoblast)ならびに成熟骨格筋細胞(myotube)において D2 発現を増強させる新規 G 蛋白共役型受容体の同定(マウス初代培養細胞系)、2. 同定した新規 G 蛋白共役型受容体のマウス個体における組織分布の確認とヒト骨格筋細胞における発現の検討、3. 新規 G 蛋白共役型受容体に対するリガンドスクリーニングのための受容体安定発現細胞株の樹立とリガンドの同定。

研究初年度は、1. マウス骨格筋芽細胞ならびに骨格筋細胞において発現する G 蛋白共役型受容体の PCR アレイによるプロファイリングと D2 発現増強に關与する G 蛋白共役型受容体の同定について研究を実施する。まず、(1) マウス骨格筋芽細胞(myoblast)ならびに骨格筋細胞(myotube)の培養を下記手順で行う。生後 2 日の仔マウス大腿四頭筋から初代培養骨格筋芽細胞を単離し、精製を行う。精製された骨格筋芽細胞はデスミン染色で染まり、分化培地に変更することで筋管細胞(myotube)に分化し、分化後 4 日目では拍動が観察される。次に、(2) G 蛋白共役型受容体の PCR アレイによるプロファイリングと D2 発現増強に關与する G 蛋白共役型受容体の同定を行う。マウス myoblast、myotube、ならびにコントロール用の組織より、RNA を抽出・精製し、Applied Biosystems TaqMan GPCR Array により、370 種類の G 蛋白共役型受容体の発現をコントロール組織と比較し、マウス myoblast ならびに myotube 特異的に発現する G 蛋白共役型受容体を同定する。D2 遺伝子のプロモーターには cAMP 応答領域が存在し、D2 の発現が細胞内 cAMP の上昇により強力に誘導されることから、得られた候補受容体について細胞内 cAMP を上昇しうる受容体に焦点を当て解析を進める。リアルタイム RT-PCR 法や次世代型シーケンサーによる mRNA 発現解析、Western Blot や細胞免疫染色による蛋白発現解析を行い、同定された受容体が真に発現しているか確認を行う。受容体ならびにリガンドが既知のものに関してはリガンドを投与し、D2 発現の上昇が認められることを RT-PCR ならびに D2 酵素活性測定により検討することとした。

次年度以降、2. 同定した新規 G 蛋白共役型受容体のマウス個体における組織分布の確認とヒト骨格筋細胞における発現の検討、3. 新規 G 蛋白共役型受容体に対するリガンドスクリーニングのための受容体安定発現細胞株の樹立とリガンドの同定について研究を実施することとした。

4．研究成果

研究計画に基づき、初年度は、まずマウス初代培養細胞を用いて、骨格筋芽細胞(myoblast)ならびに成熟骨格筋細胞(myotube)において甲状腺ホルモンを活性化する酵素である2型甲状腺ホルモン脱ヨード酵素(D2)の発現を増強させる新規 G 蛋白共役型受容体の同定を行った。同定した受容体の発現を培養がより容易で再現性が得られやすいマウス骨格筋細胞株(C2C12 細胞)を用いて検討し、候補となる受容体の機能解析を行った。得られた研究結果の一部を学会にて発表した。

実験系の一部をマウス骨格筋細胞株にて行い、再現性の高い結果が得られており、この結果をふまえて、次年度以降にヒト初代培養細胞を用いたヒト骨格筋における検討や、より再現性の高い結果を得るためヒト初代培養骨格筋芽細胞のみならず、ヒト間葉系幹細胞からの骨格筋分化誘導を行う実験系を検討していたが、COVID-19 禍により研究が実施できなかった。

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 石垣 宏尚、荒木 修、Larasati Martha、常川 勝彦、木村 孝穂、村上 正巳
2. 発表標題 マウス骨格筋C2C12細胞における甲状腺ホルモン活性化とサルコペニアの病態への関与
3. 学会等名 第62回日本甲状腺学会学術集会
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
---------------------------	-----------------------	----

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