

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09580

研究課題名(和文) 血中IGF1低下による新規サルコペニアモデルの樹立とその治療法の開発

研究課題名(英文) Establishment of a novel sarcopenia mouse model by reducing serum IGF1 and development of a way for sarcopenia treatment by using the model

研究代表者

佐藤 結子 (SATO, Yuiko)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・研究員

研究者番号：70445443

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)：本研究ではアダルトにおいて任意のタイミングで血中のIGF1レベルを低下させるモデルマウスであるIGF1のコンディショナルノックアウトマウス(IGF1 cKO)の作出を行った。IGF1 cKOでは血清IGF1のレベルがコントロールマウスの約半分に低下しており、この際、筋量と筋力が共に有意に低下するサルコペニア様の表現型を呈していることを見出した。筋量の低下は筋萎縮によるものであった。萎縮筋では同化と異化の両方の因子の発現が抑制される低代謝回転に陥ることを明らかにした。以上のことから、IGF1シグナルの維持がサルコペニアの抑制に重要であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サルコペニアは加齢性に筋量と筋力が共に低下する退行性疾患であり、加齢を背景にした多因子疾患であると考えられていた。今回申請者はIGF1という単一の因子の血中濃度の低下のみによってサルコペニア様の表現型を若年齢のマウスにおいても発症し得る知見を得た。このことはサルコペニアの病態や発症要因を理解する上で重要な知見であり、学術的に意義がある。また、今回のモデルマウスではコントロールマウスの約半分の濃度にIGF1レベルを低下させているが、これはまさに人でも高齢者では若年者に比べて血中IGF1レベルが約1/2に低下することが知られており、本知見の人への応用という意味でも社会的意義も大きいと考えている。

研究成果の概要(英文)：In this study, we established a novel mouse model (IGF1 conditional knockout, IGF1 cKO), in which its serum IGF1 levels were down-regulated to about half to those of control mice in adults. In IGF1 cKO mice, both muscle volume and power were significantly decreased compared with control mice, phenotypes mimic to sarcopenia patients. We found that decreased muscle volume was due to muscle atrophy in IGF1 cKO mice. In those atrophied muscles, expression levels of both anabolic and catabolic factors were decreased, suggesting that muscles underwent to metabolically a low turnover state under an IGF1 reduced condition in IGF1 cKO mice. Taken together, our results suggest that maintaining serum IGF1 levels is required to prevent sarcopenia development.

研究分野：整形外科

キーワード：サルコペニア

1. 研究開始当初の背景

今日の超高齢社会の到来を受けて、我が国では、加齢に伴い筋量と筋力が低下し、運動機能である握力や歩行能力の低下をきたすサルコペニアを発症する症例が増大している。サルコペニアは運動能力の低下から高齢者の日常生活動作レベルの低下や、寝たきり、自立性の低下の原因となるなど、その対策は重要である。しかし、研究開始当初はサルコペニアの発症機構は明らかではなく、有効な予防法も開発されていないのが現状であった。サルコペニアが加齢と共に発症することから、サルコペニアは加齢による多因子疾患と考えられており、発症要因を特定することは困難と考えられていた。

2. 研究の目的

本研究ではサルコペニアの発症機構を解明し、その発症の予防法を開発することを目的とした。我々は加齢と共に血中の insulin like growth factor 1 (IGF1) の濃度が減少することに着目し、アダルトにおいて任意のタイミングで血中 IGF1 濃度を減少することができるマウスを新規に樹立し、血中 IGF1 濃度減少による筋量および筋力への影響を解析することとした。

Relative serum IGF-I levels

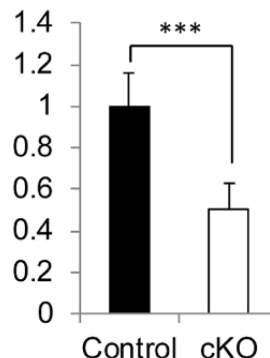


図1：IGF1 cKOにおける血中IGF1濃度

3. 研究の方法

本研究では IGF1-flox マウスと, Mx1 Cre マウスを交配して Mx1 Cre/IGF1-flox/flox マウス (IGF1 cKO) を新たに樹立した。

8週令において polyIpolyC をマウスに投与し Cre を活性化し、IGF1 遺伝子を欠損させたところ、polyIpolyC 投与後1週間で血中の IGF1 濃度はコントロールマウスの約半分程度に減少した(図1)。その後、この低下した IGF1 の血中濃度は維持された。そこで、IGF1 cKO の腓腹筋および大腿四頭筋において、筋量は筋湿重量で測定し、筋繊維の萎縮の程度は組織的な評価により段面積を cross sectional area (CSA) で、また筋力はマウスの握力計により評価することとした。筋の代謝状態は同化因子である *Eif4e* と *p70S6K*、また異化因子である *MuRF1* と *Atrogin-1* の発現を realtime PCR で評価することとした。また、IGF1 の下流因子として知られている Akt、ERK1/2、また筋萎縮促進因子として知られている Smad2、Smad3 の発現を western blotting で評価することとした。

Relative muscle weight

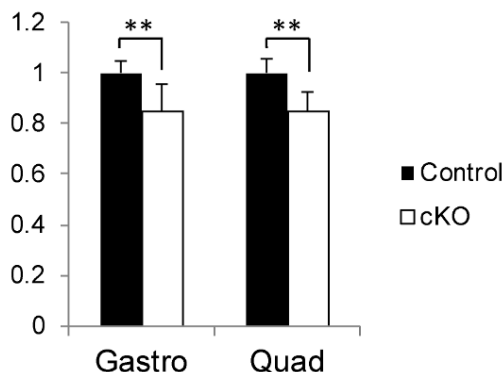


図2：IGF1 cKOにおける腓腹筋 (Gastro) と大腿四頭筋 (Quad) の筋湿重量の有意な減少

4. 研究成果

上述のように、IGF1 cKO を新たに樹立し、polyIpolyC をマウスに投与したところ、polyIpolyC 投与後1週間で血中 IGF1 濃度はコントロールマウスの約半分程度に減少することを見出した(図1)。このことから、新規の血中 IGF1 レベル低下モデルマウスの樹立に成功した。そこで、腓腹筋および大腿四頭筋の筋湿重量を測定したところ、IGF1 cKO ではコントロールマウスに比べて、いずれの筋においても、有意に筋量が減少していた(図2)。また、マウスの筋力を握力で評価したところ、IGF1 cKO はコントロールマウスに比べて握力が有意に低下していた(図3)。

Grip power (g)

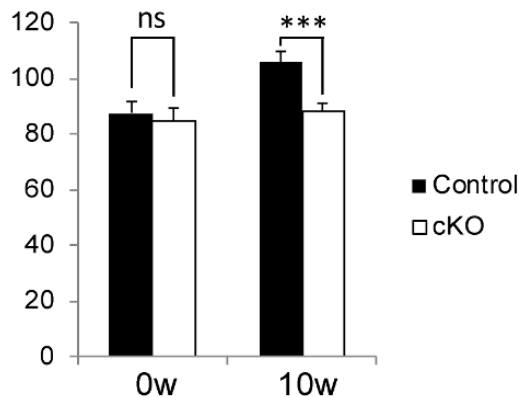


図3：IGF1 cKOにおける握力の有意な減少

つまり、IGF1 cKO は筋量と筋力がともに有意に低下するサルコペニアの病態を呈していることが明らかとなった。また、組織票本を作成し CSA を計測したところ、IGF1 cKO は有意に CSA が減少しており、筋量の有意な減少は、筋断面積の有意な低下、つまり筋萎縮によるものであることが明らかになった (図4)。IGF1 低下による筋代謝への影響を、筋の同化因子である *Eif4e* と *p70S6K*、異化因子である *MuRF1* と *Atrogin-1* の発現を *realtime PCR* で評価すると、いずれもコントロールに比べて発現が低下していることを見出した。このことは、*western blotting* でも同様の所見を認め、IGF1 cKO では IGF1 の下流で活性化される同化因子である Akt と ERK1/2 はいずれも活性化が抑制されており、また IGF1 の下流で活性が抑制される異化因子である Smad2 と Smad3 の活性化も抑制されていた。つまり、血中の IGF1 濃度の低下により、筋は低代謝状態に陥り、筋量および筋力が低下していることが明らかになった。

血中 IGF1 濃度は加齢により徐々に低下し、高齢者では若年者の約 1/2 程度に低下することが知られている。今回のモデルマウスである IGF1 cKO における血中 IGF1 濃度の 1/2 程度の減少は、ヒトにおける加齢による IGF1 濃度の低下レベルを反映したモデルといえる。加齢により発症するサルコペニアは多因子の複合的な要因で発症すると考えられてきたが、今回の研究で、血中 IGF1 の単独の低下によっても発症することが明らかとなった。今後の病態の理解や、治療法の開発のための一助になると考えられた。

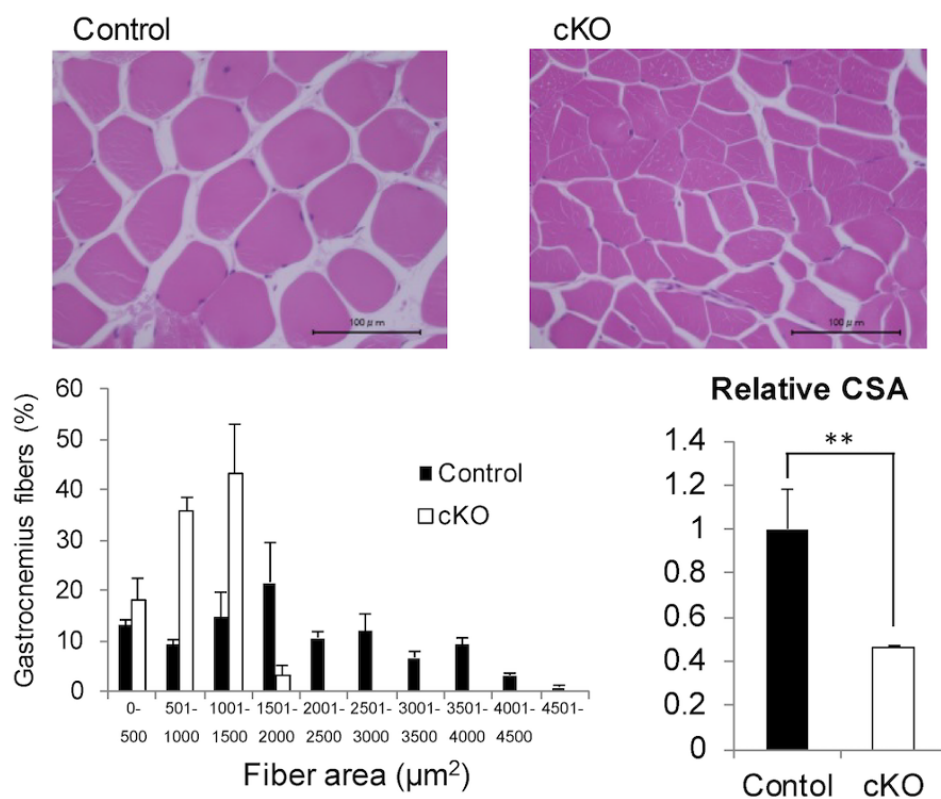


図4：IGF1 cKOにおける筋繊維断面積 (cross sectional area) の有意な減少

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10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 4件）

1. 著者名 Ito E, Sato Y, Kobayashi T, Nakamura S, Kaneko Y, Soma T, Matsumoto T, Kimura A, Miyamoto K, Matsumoto H, Matsumoto M, Nakamura M, Sato K, Miyamoto T	4. 巻 542
2. 論文標題 Treatment with an active vitamin D analogue blocks hypothalamic dysfunction-induced bone loss in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 48-53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.01.026	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 Ito E, Sato Y, Kobayashi T, Nakamura S, Kaneko Y, Soma T, Matsumoto T, Kimura A, Miyamoto K, Matsumoto H, Matsumoto M, Nakamura M, Sato K, Miyamoto T	4. 巻 534
2. 論文標題 Food restriction reduces cortical bone mass and serum insulin-like growth factor-1 levels and promotes uterine atrophy in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 165-171
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.11.122	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 Soma T, Iwasaki R, Sato Y, Kobayashi T, Nakamura S, Kaneko Y, Ito E, Okada H, Watanabe H, Miyamoto K, Matsumoto M, Nakamura M, Asoda S, Kawana H, Nakagawa T, Miyamoto T	4. 巻 39
2. 論文標題 Tooth extraction in mice administered zoledronate increases inflammatory cytokine levels and promotes osteonecrosis of the jaw	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Bone Miner Metab	6. 最初と最後の頁 372-384
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00774-020-01174-2	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 Kobayashi H, Nakamura S, Sato Y, Kobayashi T, Miyamoto K, Oya A, Matsumoto M, Nakamura M, Kanaji A, Miyamoto T	4. 巻 142
2. 論文標題 ALDH2 mutation promotes skeletal muscle atrophy in mice via accumulation of oxidative stress	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bone	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） 10.1016/j.bone.2020.115739	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 Kiyota Y, Muramatsu H, Sato Y, Kobayashi T, Miyamoto K, Iwamoto T, Matsumoto M, Nakamura M, Tateno H, Sato K, Miyamoto T	4. 巻 10
2. 論文標題 Smoking cessation increases levels of osteocalcin and uncarboxylated osteocalcin in human sera	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep	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) 10.1038/s41598-020-73789-4	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 Nakamura S, Sato Y, Kobayashi T, Kaneko Y, Ito E, Soma T, Okada H, Miyamoto K, Oya A, Matsumoto M, Nakamura M, Kanaji A, Miyamoto T	4. 巻 10
2. 論文標題 Vitamin D protects against immobilization-induced muscle atrophy via neural crest-derived cells in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep	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) 10.1038/s41598-020-69021-y	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 Kaneko Y, Tanigawa N, Sato Y, Kobayashi T, Nakamura S, Ito E, Soma T, Miyamoto K, Kobayashi S, Harato K, Matsumoto M, Nakamura M, Niki Y, Miyamoto T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Oral administration of N-acetyl cysteine prevents osteoarthritis development and progression in a rat model.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 18741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-55297-2.	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 Miyamoto T, Miyakoshi K, Sato Y, Kasuga Y, Ikenoue S, Miyamoto K, Nishiwaki Y, Tanaka M, Nakamura M, Matsumoto M.	4. 巻 9
2. 論文標題 Changes in bone metabolic profile associated with pregnancy or lactation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 6787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-43049-1.	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 Okada H, Kajiya H, Omata Y, Matsumoto T, Sato Y, Kobayashi T, Nakamura S, Kaneko Y, Nakamura S, Koyama T, Sudo S, Shin M, Okamoto F, Watanabe H, Tachibana N, Hirose J, Saito T, Takai T, Matsumoto M, Nakamura M, Okabe K, Miyamoto T, Tanaka S.	4. 巻 34
2. 論文標題 CTLA4-Ig directly inhibits osteoclastogenesis by interfering with intracellular calcium oscillations in bone marrow macrophages.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Bone Miner Res.	6. 最初と最後の頁 1744-1752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbmr.3754.	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 Nakamura S, Sato Y, Kobayashi T, Oike T, Kaneko Y, Miyamoto K, Funayama A, Oya A, Nishiwaki T, Matsumoto M, Nakamura M, Kanaji A, Miyamoto T.	4. 巻 37
2. 論文標題 Insulin-like growth factor-I is required to maintain muscle volume in adult mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Bone Miner Metab.	6. 最初と最後の頁 627-635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-018-0964-6.	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
---------------------------	-----------------------	----

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