

令和 4 年 5 月 18 日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11678

研究課題名（和文）ABC輸送体遺伝子欠損動物を基盤に展開する「運動器の成長・老化メカニズムの解析」

研究課題名（英文）ABC transporters-based analysis for the mechanism of growth and aging in the musculoskeletal system

研究代表者

中川 大（Nakagawa, Hiroshi）

中部大学・応用生物学部・准教授

研究者番号：40397039

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）：本申請課題では、Abca1、Abcb4、Abcc5遺伝子を独立して欠損したマウス3系統を対象にして、骨・筋肉・脂肪に対する各遺伝子の影響を評価した。その結果、野生型マウスと比してAbca1遺伝子欠損マウスおよびAbcc5遺伝子欠損マウスの骨長が有意に短いことを見出した。また、野生型マウスと比してAbca1遺伝子欠損マウスおよびAbcc5遺伝子欠損マウスの脂肪重量および筋肉重量が有意に少ないことを見出した。一方、Abcb4遺伝子の欠損に起因する影響は、骨・筋肉・脂肪に認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、「ABC輸送体は、運動器の成長/機能を体内で調節している」という独自の仮説に基づいた研究を進展させ、「運動器の成長/老化」・「ABC輸送体」・「栄養/シグナル伝達因子」の連関を分子レベルで理解することを目指している。

本研究の完成は、「発育不良」や「運動器障害」を導く分子機構の熟知に加え、「発育不良」や「要支援・要介護・寝たきり」の個人差予測、食事・栄養補助療法の考案へと我々を導く。したがって、本申請課題は、「橋渡し研究」への発展を左右する基礎研究としても大きな価値がある。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the effects of each gene on bone, muscle, and fat in three strains of mice that are independently deficient in the Abca1, Abcb4, and Abcc5 genes. We found that Abca1- and Abcc5-deficient mice had significantly shorter bone lengths than wild-type mice. We also found that the weights of fat and muscle of Abca1- and Abcc5-deficient mice were significantly lower than those of wild-type mice. On the other hand, we found no effects of Abcb4 gene deletion in bone, muscle, or fat.

研究分野：ABC輸送体学、細胞工学

キーワード：ABC輸送体 骨 筋肉 脂肪

1. 研究開始当初の背景

[1] 人類は、体外方向への物質輸送を担う「ABC 輸送体」を生体膜上に 48 種類備えており、イオンや脂質、尿酸、プルフィリン代謝の恒常性を維持している (Gastroenterology, 120, 1203-11, 2001.; Nature, 440, 477-83, 2006.; Nature, 443, 586-9, 2006; Sci. Transl. Med., 1, 5ra11, 2009.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 106, 16263-8, 2009.)

[2] 骨の溶解に関わる破骨細胞と同じ分化系譜をたどるマクロファージおよび樹状細胞の機能・分化は、ABC 輸送体によって制御される (Science, 265, 237-41, 1994; Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 101, 9774-9, 2004; Cell, 103, 757-8, 2000.)

[3] 研究代表者は、仮説「ABC 輸送体は、骨代謝を制御する」の下、ABC 輸送体遺伝子欠損マウスの骨構造を解析し、ABC 輸送体が骨代謝に影響を及ぼすことを見出した (図 1; 研究課題番号: 19791361, 22791786, 24592822)

[4] 研究代表者は、野生型マウスと ABC 輸送体遺伝子欠損マウスの体重を比較し、ABC 輸送体がマウスの体重に影響を及ぼすことを見出した (図 2; 研究課題番号: 24592822)。また、研究代表者は、仮説「ABC 輸送体は、疾患の環境要因を体内で調節する」(図 4) を提唱し、*Abcb4* 遺伝子の欠損に伴う体重の増加 (図 2) が肝肥大に起因する可能性を見出した (図 3; 研究課題番号: 16K00879)。同時に、*Abcc5* 遺伝子欠損マウスの筋肉重量が野生型マウスと比べて少ないことを見出し、*Abcc5* 遺伝子の欠損に伴う体重の減少 (図 2) が成長の遅延に起因する可能性を見出した (図 3; 研究課題番号: 16K00879)

これらの知見は、ABC 輸送体が運動器の成長・老化に連関する可能性を強く支持する。しかしながら、「ABC 輸送体は、どのように運動器の成長・老化に連関するのか?」という学術的「問い」に対する解答は、未だに得られていない。

2. 研究の目的

本研究では、運動器の成長・老化に関わる ABC 輸送体を同定すると共に、その連関を栄養因子レベルで解明することを目指す。そのために、「運動器の健全な成長・機能は、ABC 輸送体によって支えられている」という独自の仮説に基づき、運動器の成長・老化と連関する ABC 輸送体を同定する。実際には、ABC 輸送体遺伝子欠損動物を基盤にし、「骨・筋肉の質と量」および「体重および脂肪の質と量」、「食餌量」を評価項目の中心に設定して、運動器・栄養因子・ABC 輸送体の視点から ABC 輸送体遺伝子欠損動物における表現型を解析する。人類は、48 種の ABC 輸送体が自身の健康とどのように連関しているのかを十分に理解していない。「ABC 輸送体は、どのように運動器の成長・老化に連関するのか?」という学術的「問い」を提起し、これに国際規模で取り組み、解答を提示して健康寿命の延伸を目指すのが、本研究である。

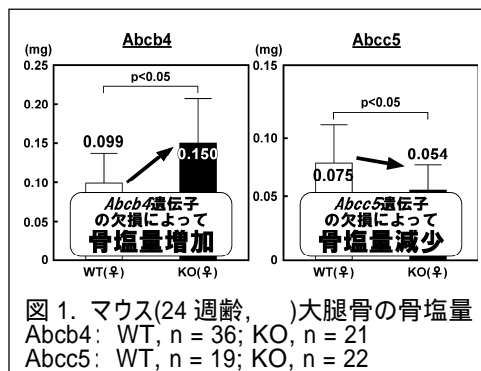


図 1. マウス(24 週齢, ♀)大腿骨の骨塩量
Abcb4: WT, n = 36; KO, n = 21
Abcc5: WT, n = 19; KO, n = 22

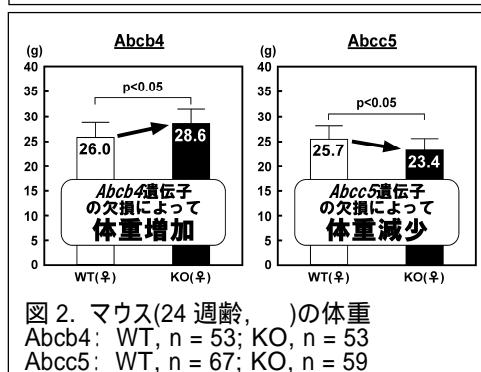


図 2. マウス(24 週齢, ♀)の体重
Abcb4: WT, n = 53; KO, n = 53
Abcc5: WT, n = 67; KO, n = 59

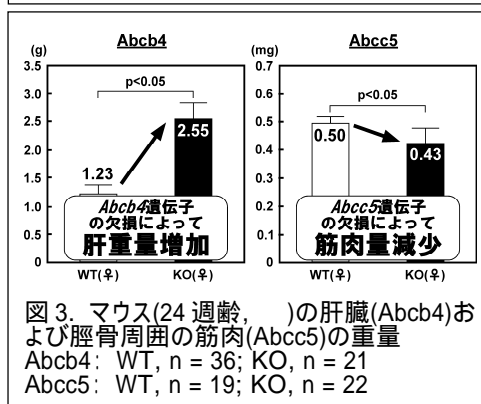


図 3. マウス(24 週齢, ♀)の肝臓(*Abcb4*)および脛骨周囲の筋肉(*Abcc5*)の重量
Abcb4: WT, n = 36; KO, n = 21
Abcc5: WT, n = 19; KO, n = 22

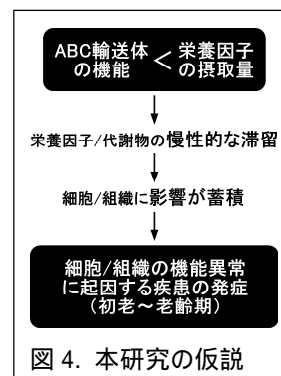


図 4. 本研究の仮説

3. 研究の方法

[ABC 輸送体が骨の質と量に及ぼす影響の解析]

マウスの後肢から脛骨、大腿骨を採取し、骨構造と骨形態を観察・解析した。骨構造の解析は、研究協力者・高見らの方法 (*Biochem Biophys Res Commun*, 491, 614-21, 2017.) に従い、実験動物用 X 線 CT を用いて行った。なお、骨構造の解析は、皮質骨と海綿骨に分けて行った。

[ABC 輸送体が筋肉の質と量に及ぼす影響の解析]

マウスの後肢から前脛骨筋、腓腹筋、ヒラメ筋を採取し、湿重量を測定した。また、Rusmini らの方法 (*Sci. Rep.*, 22, 15174, 2015.) に従って筋肉組織の薄切標本を作製し、コハク酸脱水素酵素にたいする染色 (*J. Histochem. Cytochem.*, 5, 420-36, 1957.) を施して速筋と遅筋を染め分けた。そして、組織形態を観察・解析した。また、画像解析ソフトウェア ImageJ を用いて筋繊維の太さも評価した。

[ABC 輸送体が体重および脂肪の質と量に及ぼす影響の解析]

マウスの体重および食餌量を 6 週齢の時点から 2 週間毎に測定した。解剖時には、傍子宮脂肪あるいは副睾丸周囲脂肪、鼠径部皮下脂肪、後腹膜脂肪を採取し、湿重量を測定した。そして、山下らの方法 (*PLoS One.*, 8, e83264, 2013.) に従って脂肪組織の薄切標本を作製し、組織形態を観察した。また、画像解析ソフトウェア ImageJ を用いて、脂肪細胞の大きさも評価した。

4. 研究成果

研究代表者は、*Abca1* あるいは *Abcc5* をコードする遺伝子が欠損するとマウスの体重が増え難いことを見出した(図 3)。また、*Abca1* 遺伝子あるいは *Abcc5* 遺伝子を欠損したマウスでは、野生型マウスと比して頸骨長が短いことを見出した(図 3)。さらに、*Abca1* 遺伝子を欠損したマウスでは、野生型マウスと比して脛骨周囲の筋肉量が少なかったことを見出した(図 3)。

これらの知見を得た研究代表者は、「ABC 輸送体は、運動器の健全な成長/機能を体内で調節している」ことを確信し、「ABC 輸送体は、運動器の成長/老化に関連する」と考えた。そして、次なる研究の出発点として次の学術的「問い」を新たに提示した。

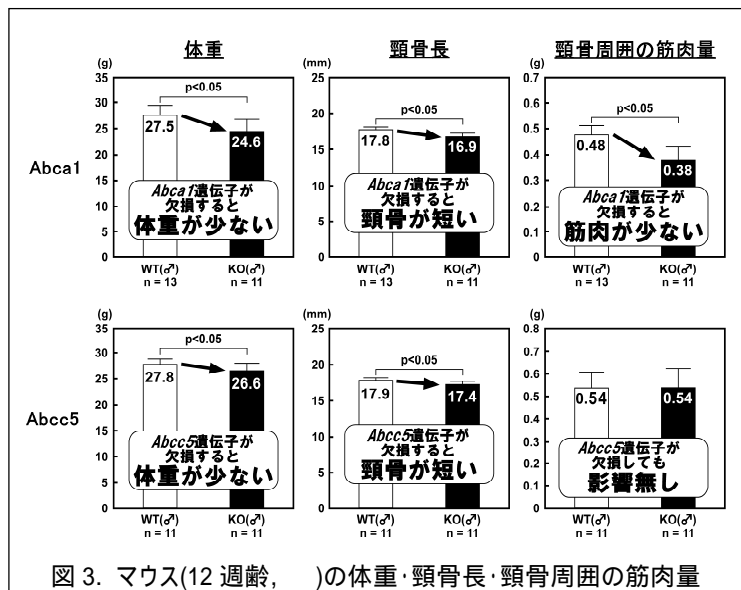


図 3. マウス(12 週齢,)の体重・頸骨長・頸骨周囲の筋肉量

ABC 輸送体は、どのように運動器の成長/老化を制御するのか？

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>中部大学 応用生物学部 応用生物化学科 中川研究室 https://www3.chubu.ac.jp/faculty/nakagawa_hiroshi/researchmap https://researchmap.jp/read0069650 ResearchGate https://www.researchgate.net/profile/Hiroshi_Nakagawa6 中部大学 応用生物学部 応用生物化学科 中川研究室 https://www3.chubu.ac.jp/faculty/nakagawa_hiroshi/researchmap https://researchmap.jp/read0069650 ResearchGate https://www.researchgate.net/profile/Hiroshi_Nakagawa6</p>

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
研究協力者	今井 律子 (Imai Ritsuko)		
研究協力者	富田 実花 (Tomida Mika)		
研究協力者	中村 一郎 (Nakamura Ichiro)		
研究協力者	山下 実穂 (Yamashita Miho)		

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
研究協力者	糟谷 薫 (Kasuya Kaoru)		
研究協力者	高見 正道 (Takami Masamichi)		
研究協力者	山下 均 (Yamashita Hitoshi)		
研究協力者	水村 和枝 (Mizumura Kazue)		
研究協力者	横山 信治 (Yokoyama Shinji)		
研究協力者	堂前 純子 (Domaie Sumiko)		
研究協力者	Elferink Ronald P. J. Oude (Elferink Ronald P. J. Oude)		
研究協力者	Borst Piet (Borst Piet)		

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			
オランダ	the Amsterdam University Medical Centers	Netherlands Cancer Institute		
オランダ	the Amsterdam University Medical Centers	Netherlands Cancer Institute		