

令和 4 年 5 月 12 日現在

機関番号：13903

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19945

研究課題名（和文）骨格筋の質的調節機構の解明とサルコペニア克服への応用-筋核に着目した検討-

研究課題名（英文）Elucidation of the qualitative regulatory mechanism of skeletal muscle and its application to overcoming sarcopenia

研究代表者

阿藤 聡 (Ato, Satoru)

名古屋工業大学・工学（系）研究科（研究院）・特別研究員（ポスドク）

研究者番号：20825731

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）：本研究は老化に伴う骨格筋収縮機能低下の機序の解明とその応用による克服を目指して進められた。筋特異的中間径フィラメントのDesminは骨格筋細胞核の細胞周囲への保持や筋収縮機能に関わっていることが知られている。骨格筋細胞では老化に伴い骨格筋へDesminの蓄積が生じることや、中心核の増加が観察されることから、Desminの蓄積と老化に伴う筋収縮機能低下との関連性を想定した。我々はマウス骨格筋へDesminの過剰発現を行い、骨格筋量と筋収縮機能に及ぼす影響の検討を行いDesmin強制発現による蓄積が筋収縮機能に影響を及ぼさないものの、骨格筋量を低下させることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は老化に伴う骨格筋収縮機能低下の機序解明とその応用による克服を目指した。骨格筋の中間径フィラメントDesminは骨格筋細胞核の細胞周囲への保持や筋収縮機能に関わっていることが知られている。骨格筋細胞では老化に伴い筋内へDesminの蓄積が生じることや、核が異常な局在を示すことから、Desminの蓄積が筋収縮機能低下と関連する可能性が考えられた。我々はマウス骨格筋へDesminの過剰発現を行い、骨格筋量と筋収縮機能に及ぼす影響の検討を行いDesminの蓄積が筋収縮機能に影響を及ぼさないものの、骨格筋量を低下させる因子であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：This study was undertaken to elucidate the mechanisms of skeletal muscle contractile dysfunction associated with aging and to overcome this problem through its application. It is known that Desmin, a muscle-specific intermediate diameter filament, is involved in the retention of skeletal muscle cell nuclei to the cell periphery and in muscle contractile function. Since accumulation of Desmin in skeletal muscle cells occurs with aging and an increase in the number of central nuclei has been observed in skeletal muscle, we hypothesized that the accumulation of Desmin is associated with the loss of muscle contractile function with aging. We overexpressed Desmin in mouse skeletal muscle and examined its effects on skeletal muscle mass and contractile function, and found that accumulation due to forced Desmin expression reduced skeletal muscle mass without affecting muscle contractile function.

研究分野：運動生理学

キーワード：骨格筋 老化 筋収縮 Desmin 筋核

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

骨格筋は老化に伴いその量と収縮機能の双方が低下する(加齢性筋減弱症)。また、筋収縮機能は筋量の低下よりも時間的に先行して観察され、機能低下が骨格筋量の低下の一因となっている可能性が指摘されている。したがって筋収縮機能低下メカニズムの解明は骨格筋老化の予防改善策の確立に重要であると考えられる。骨格筋は線維状の細胞(筋線維)に複数の核を有する多核の細胞によって構成される。本来、筋線維の核(筋核)は細胞の周囲に保持されているが老化に伴って筋線維内部へ移動し中心核と呼ばれる状態となることが観察されており、核の配置異常は筋収縮機能と関連すると考えられている。近年、筋核の細胞周囲への保持には筋特異的中間径フィラメントの Desmin が重要な役割を担っていることが明らかとなってきた(Roman et al. 2017 Nat Cell Biol)。一方で老化した骨格筋では Desmin タンパク質の発現が増加していることが観察されており(Russ and Grandy 2011 J Cachexia Sarcopenia Muscle) Desmin の量的変化が骨格筋機能の変化と関連する可能性が考えられる。Desmin はその遺伝子の欠損や変異が中心核ミオパチーなどの筋疾患と関連することが広く知られている一方、その量的な増加が観察されるのは運動による骨格筋肥大時や老化などのごく限られた生理状態であり骨格筋に与える影響については全く理解されていない。

### 2. 研究の目的

本研究は老化による骨格筋収縮機能低下の分子機序解明及び筋機能改善の為の分子標的を確立することを目的とし、骨格筋への Desmin 蓄積が及ぼす影響を明らかにすることを目的として検討を行った。

### 3. 研究の方法

3月齢と24月齢の雄性 C57B/6J マウスを材料として骨格筋内の Desmin を Western blot と免疫組織化学によって評価することで骨格筋の老化と Desmin 蓄積について再評価を行った。続いて3月齢の若齢マウスを材料としてアデノ随伴ウイルスベクターを用いた DES 遺伝子の強制発現が骨格筋の量および収縮機能に及ぼす影響を経時的に検討した。マウス右後肢腓腹筋に対して DES 遺伝子発現ベクター(AAV6-CMV-DES)を左脚の腓腹筋には EGFP 遺伝子発現ベクター(AAV6-CMV-EGFP)をそれぞれ筋肉注射により投与し通常飼育を行った。ベクター投与から2週間後、8週間後に筋収縮機能の評価と骨格筋の摘出を行い、骨格筋量の評価と筋収縮に関連するタンパク質の発現量を Western blot にて評価した。

### 4. 研究成果

老化マウス骨格筋では先行研究と同様に Desmin のタンパク質発現量は若齢マウスに比較して約 2.5 倍の有意な高値を示した。次に Desmin がどこで増加しているかを確認する為骨格筋の縦断切片を作成して観察を行ったところ、老化マウスにおいても Desmin の局在には異常性は観察されず、その局在はサルコメアの Z 線上と細胞核周囲において認められた。このことから老化に伴う骨格筋内の Desmin タンパク質発現の増加は必ずしも異所性の蓄積ではない可能性が示された(図1)

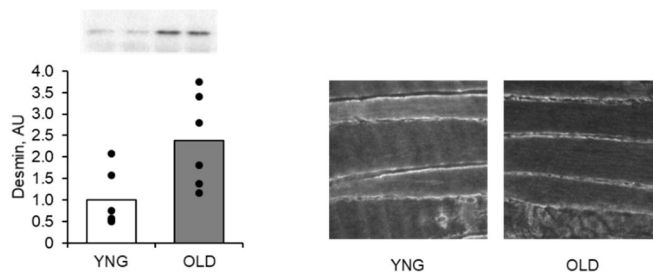


図1: 老化に伴うマウス骨格筋Desminの変化

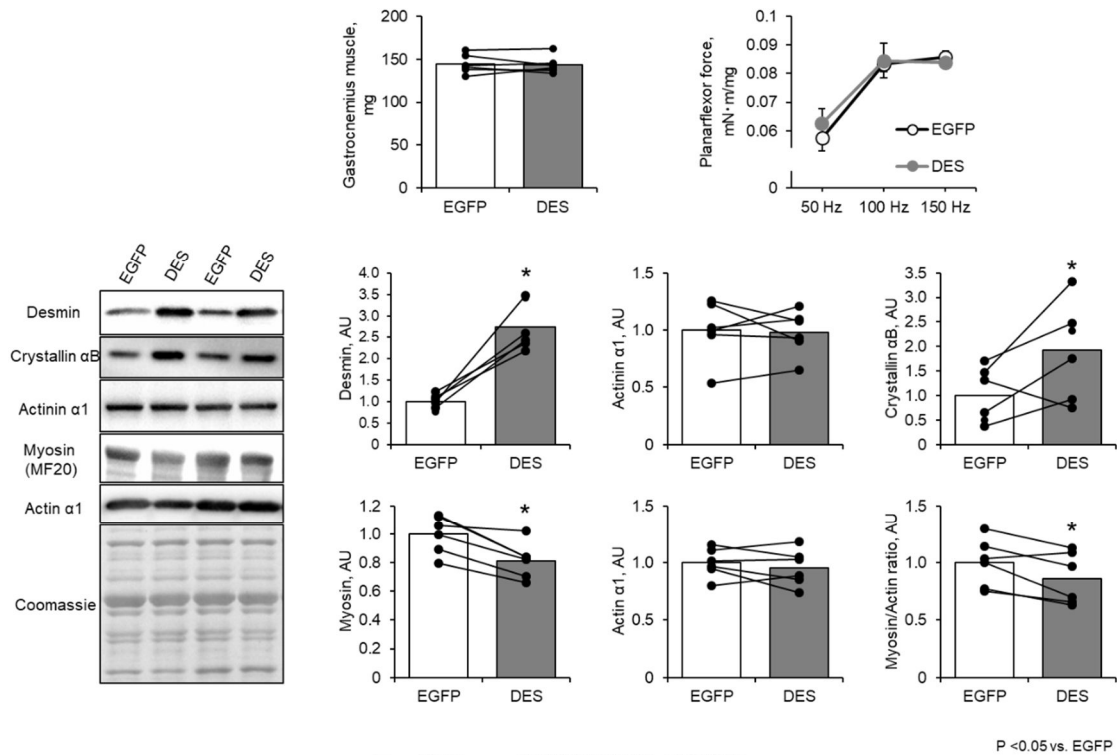


図2:2週間のDesmin過剰発現が骨格筋に及ぼす影響

DES 遺伝子発現ベクターによる Desmin の強制発現は骨格筋の Desmin を約 2.8 倍程度に増加させたが、ベクター投与から 2 週間後の時点においては骨格筋量、収縮機能には影響を与えなかった。一方で、Desmin の強制発現によって骨格筋 Myosin 重鎖の発現量は有意に低値を示した。このことから骨格筋における Desmin の蓄積は筋収縮機能には影響を与えないものの、収縮機構の構成に何らかの修飾を引き起こす可能性が示唆された (図 2)。

さらにベクター投与から 8 週間後の時点においては約 6%と僅かではあるものの骨格筋量の減少を観察した (図 3)。これら一連の観察から骨格筋に対する Desmin 蓄積は筋収縮機能に必ずしも負の影響を及ぼさないものの、骨格筋量を低下させる因子である可能性が示唆された。本研究では老化骨格筋中の Desmin に対する介入が骨格筋量・収縮機能を改善し得るかについてまでは検討するに至らなかったが、Desmin が加齢性筋減弱症の改善に向けた分子標的に成り得る可能性が示された。

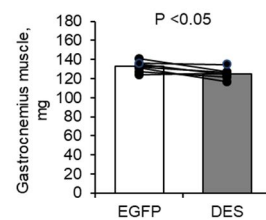


図3:8週間のDesmin過剰発現が骨格筋に及ぼす影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ato Satoru, Ogasawara Riki	4. 巻 -
2. 論文標題 The relationship between myonuclear number and protein synthesis in individual rat skeletal muscle fibre	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Biology	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） 10.1242/jeb.242496	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 Ato Satoru, Kido Kohei, Sase Kohei, Fujita Satoshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Response of Resistance Exercise-Induced Muscle Protein Synthesis and Skeletal Muscle Hypertrophy Are Not Enhanced After Disuse Muscle Atrophy in Rat	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	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） 10.3389/fphys.2020.00469	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 Ato Satoru, Fukada So-ichiro, Kokubo Hiroki, Ogasawara Riki	4. 巻 322
2. 論文標題 Implication of satellite cell behaviors in capillary growth via VEGF expression-independent mechanism in response to mechanical loading in HeyL-null mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 C275 ~ C282
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpcell.00343.2021	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2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 阿藤聡、小笠原理紀
2. 発表標題 骨格筋線維の核数とタンパク質合成の関係性と筋収縮による修飾
3. 学会等名 第25回日本体力医学会東海学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 阿藤聡、小笠原理紀
2. 発表標題 マウス腓腹筋におけるDesmin過剰発現が筋量と収縮機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会 2021年9月 三重
4. 発表年 2021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
---------	---------