

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：33604

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2019～2023

課題番号：19KK0253

研究課題名（和文）長期間の重力変化に対するマウス骨格筋の適応メカニズム追究

研究課題名（英文）Adaptation of mouse skeletal muscle to a long-term exposure to altered gravity

研究代表者

河野 史倫（Kawano, Fuminori）

松本大学・大学院 健康科学研究科・教授

研究者番号：90346156

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトが現在よりも長く宇宙滞在するためには、まず実験動物を使った長期間の宇宙飛行実験が必要である。本国際共同研究の目的は、1か月間の3-G高重力環境曝露実験に国際共同研究チームとして参加し、当該研究の骨格筋サンプルを取得しつつ主幹研究チームとの直接的な国際共同研究関係を構築することであった。本実験は2023年3月に実施され筋サンプルを取得したが、現在解析途中である。過重力環境と運動や加齢の類似性を探るため、運動トレーニングや加齢実験を日本国内で予備実験として実施した。その結果、運動と加齢で起こるエピジェネティクスは類似しているものの、その機能は全く逆であることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨格筋機能の獲得・維持には重力に抗した活動が必要であるが、加齢に伴い重力下では活動が困難になることも事実である。研究内容の観点からは、筋活動という生理パラメータの中に強度など加齢には乏しい要因を抽出できた。国際共同研究の観点からは、宇宙ライフサイエンス研究は日本国内では規模が小さいことが当初の問題であったが、若手研究者が独自の研究フィールドを獲得でき、分野の発展にもつながる国際共同研究関係の構築ができたことと確信している。

研究成果の概要（英文）：A long-term space flight experiments using laboratory animals are necessary for the development of the procedure to realize a manned long-term stay in space. The purpose of this international collaborative research was to participate in a one-month 3-G hypergravity environment exposure experiment. The main experiment was conducted in March 2023 and muscle samples were obtained, but are currently under analysis. In order to understand the similarities between hypergravity environments and exercise or aging, exercise training or aging experiments were conducted as a pilot study in Japan. As a result, we found that although the epigenetics caused by exercise and aging are similar, their functions are completely opposite. In terms of the amount of muscular activity, exercise training and aging are similar. However, the results of the present study suggested that the intensity of physical activity is important for maintaining the epigenetics in skeletal muscle.

研究分野：骨格筋生理学

キーワード：骨格筋 エピジェネティクス 宇宙 微小重力 運動 加齢 国際共同研究

1. 研究開始当初の背景

2009年8月28日から同年11月27日までの3ヵ月間、当時 principal investigator (PI) であった Prof. Ranieri Cancedda (イタリア・ジェノバ大学)らが考案した Mouse Drawer System (MDS) を用いた国際宇宙ステーション (ISS) 内でのマウス長期飼育実験が実施された。MDS にはマウス用の飼育ケージが6ユニット搭載されており、それぞれのケージにおいて空調、明暗サイクル、給餌給水、排泄物処理、ビデオ撮影が制御されている。それまでの間、スペースシャトル内における3週間の宇宙飛行がげっ歯類を用いた実験では最長であったが、MDS はそれを大きく更新し、「生物が重力の無い環境にどのように適応するのか？」をさらに長期間追究する研究が可能となった。しかしながら3ヵ月間の宇宙実験後、生存して地球に帰還したマウスは6匹中3匹であった。生存したマウスから組織サンプルを取得し各種解析が行われたが、この際に組織サンプルシェアプログラム (PI グループが使用しないサンプルを有効活用するためのサンプル分配) が実施され、我々も参加し、骨格筋や脳、精巣などのサンプルを取得した。これら一連の研究によって得られた成果は、学術誌 PLoS ONE にコレクションとして集約され公表された (1-4)。

上述のように、宇宙実験では真の微小重力環境に生物を曝露し長期間の影響を検証することができるものの、取得できるサンプル数が限られている。したがって、宇宙実験により得られた貴重なサンプルから得たデータに真価を持たせるためには、地上におけるシミュレーション実験が必須である。そこで2010年に、MDSを用いた宇宙実験と同期間の尾部懸垂 (体重による後肢への負荷を除去する実験モデル) および小動物用遠心装置を使った高重力 (2-G) 曝露実験 (MDS は未使用) を日本国内にて実施し、ジェノバ大学グループのみならず、MDS 実験に参加した他の研究グループ (パドヴァ大学、バーリ大学など) がサンプル取得のため来日した。我々の研究グループは、これらの実験から得たデータも含めて論文を発表済みである (4)。日本においてこの地上実験を実施したのは、ヨーロッパでは実験動物を使った尾部懸垂や 2-G 曝露の実験が困難であったためであるが、当時 MDS を搭載できるような遠心装置がヨーロッパになかったことも理由に挙げられる。

微小重力環境では重力に対して姿勢を支える必要がないため、哺乳動物においては運動器や循環器、全身代謝、平衡感覚などの生理機能が著しく低下する。これらを解消するため、現在 ISS に搭乗する宇宙飛行士は毎日の運動を義務付けられているが、完全な解決には至っていない。そこで、宇宙空間で実際に重力を発生させること (人工重力) で地上と類似した環境を作るという構想も発展している。ヨーロッパ宇宙機関 (ESA) は、現在 ISS に取り付けられている実験棟を回転式のモジュールに変え、遠心力によって重力を発生させることで、宇宙空間での人工重力の有効性を検証する構想を持っている。これに関連してドイツ航空宇宙センターは2013年に Short-Arm Human Centrifuge (ヒト用遠心負荷装置) を設置し、ヒトに対する人工重力を用いた処方策の研究を開始した。

以上の研究背景に基づき、「重力が生体機能にどのような役割を果たすのか」マウスを用いて検証するための国際共同研究を、本研究テーマ代表者が直接的に進めていけるよう共同研究関係を構築しようと着想したことが本研究種目のきっかけであった。本研究の根幹は MDS を使ったマウスの長期間飼育実験である。MDS はイタリア・ジェノバ大学の現 PI である Prof. Sara Tavella が中心をなして実施している研究プロジェクトであり、また ESA やイタリア宇宙機関の直接的なサポートによって研究そのものが遂行されている。日本国内においても宇宙航空研究開発機構 (JAXA) を通じて宇宙実験を実施するルートは国内にも存在する。しかしながら、MDS は ESA およびイタリア宇宙機関に所属するマウス飼育装置であり、JAXA がこれを使用することはない。さらに、JAXA が保有する飼育装置は現在のところ1ヵ月間までの宇宙実験を想定して運用されているため、長期間飼育を目指す我々にとっては MDS が研究目的に合致した装置と言える。

国際的な組織サンプルシェアプログラムに加わることで、異なる重力環境で長期間飼育されたマウスの個体変化を様々な専門分野からのアプローチにより包括的に理解できる。重力が生体にもどのような役割を果たすのかは詳細には分かっておらず、同じ実験で得られたマウスで複数の生理機能を評価できることは組織サンプルシェアの最も有意義な点であると言える。そのような観点からは、我々がヨーロッパグループの研究に参画することも、先方にとっては価値が高いと言える。宇宙滞在中は複数の生理機能不全 (筋・骨萎縮、代謝不全、心機能低下、平衡感覚低下、精神疾患など) が同時に起こる。しかしながら、地上医療のように1疾患に対して1治療方法というやり方は宇宙滞在中に不可能であり、全ての症状が包括的に緩和するような処方が必要とされる。重力という刺激パラメータを解明することは、長期宇宙滞在する宇宙飛行士や地上での生活習慣病、加齢などに対する新しい処方策の切り口としても意義が大きい。

また、宇宙ライフサイエンス研究は日本国内では規模が小さく、従事する若手研究者は少ない。宇宙実験実施は個人研究者レベルでは困難を極めることから、研究の機会が少ないことが原因と考えられる。既に民間宇宙旅行の時代が始まっており、誰もが宇宙へ行けるようになる中、宇宙へ行った時の体の変化やその対処法に関しては研究が進んでいないのも事実で

ある。本国際共同研究では、高重力環境で飼育されたマウスのサンプルを解析する機会が得られる。このような貴重なサンプルを若手研究者と共有して解析することで、その若手研究者が当該分野で研究を進展させ、独自の研究フィールドや国際的なつながりを確立することが当初の狙いであった。

2. 研究の目的

重力は地球上に普遍的に存在する物理パラメータである。地球の重力環境で生まれ育つ我々は、重力を物理的な負荷として認識することは少なく、重力の存在を意識して生活することもない。しかしながら、重力に対抗した身体活動はヒトの生理機能形成において非常に重要な役割を果たす。重力の存在しない宇宙空間へ曝露された場合、体重を支える必要がないため骨格筋の活動量が著しく低下する。それに伴い、エネルギー代謝が鈍化し、心拍数や心拍出量が低下、骨にも筋収縮や体重による負荷がかからなくなる。その結果、骨格筋の廃用性萎縮、全身代謝量の低下、心循環機能低下、骨密度低下が誘発される。また宇宙空間では姿勢制御を行う必要もないため、平衡感覚も退化する。このような身体変化は、宇宙滞在中は大きな問題にはならないものの、地球帰還後に再び重力に曝露された場合に支障をきたす。例えば、筋力低下のため自重を支えることができない、深刻な起立性低血圧を引き起こす、骨折リスクが劇的に増加するなどである。以上の事実から、ヒトは発生・発育から日常生活を通じて重力による負荷を受けながら生理機能を獲得・維持していることが明らかである。このように重力はヒトの生理機能獲得にとって不可欠であるものの、加齢に伴い徐々に重力下での生活行動が困難になっていくこともまた事実である。ヒトが重力環境で生きるためには重力が必要なのに、「なぜ重力に対抗できなくなっていくのか?」「重力は生体にとってどんな刺激なのか?」は未だにその詳細は解明されていない。

ISSの運用が進み、現在では約6ヵ月間の宇宙滞在が標準となっている。宇宙開発は今後、2020年代に月近傍への新拠点「深宇宙ゲートウェイ」の建設、無人月面開拓、2030年代以降に有人火星探査が計画されており、ヒトの宇宙滞在期間はさらに延長する見込みである。有人火星探査ミッションは最長3年間の宇宙滞在を要することがアメリカ航空宇宙局(NASA)から公表されている。現在ISS内では、レジスタンストレーニング装置、トレッドミル、エルゴメータを用いた運動により、宇宙飛行士の健康管理が進められている。しかしながら、物資供給の不可能な有人火星探査ミッションにおいては、船内の搭載物量が大きく制限されるため、これまでのような運動器具を搭載するのは困難となる。長期宇宙滞在によって起こる医学的問題に対して人工重力は根本的な解決手段と言えるが、重力の作用に関して深く科学的な理解が進んでいないのが現状である。

全身の約4割を占める骨格筋は、運動器としてのみならず、全身代謝の中心的な臓器としても重要な役割を果たす。正常な骨格筋機能の維持にはエピジェネティクスによる適正な遺伝子発現制御が必要である。エピジェネティクスは遺伝子を取り巻く環境によって遺伝子を読み出しやすく、または読み出しにくくする仕組みであり、DNAメチル化やヒストン修飾によって引き起こされる。我々は、慢性的な運動により骨格筋のヒストン修飾が変化し、その後の遺伝子発現応答性を変化させることを見出している。しかし重力そのものが変化した場合に骨格筋でどのようなエピジェネティクスが誘発されるのかは不明である。また、細胞内のエネルギー産生器官であるミトコンドリアは、活性酸素の主要な発生源でもあることが知られている。ミトコンドリアは融合・分裂をダイナミックに繰り返すことでその品質を保持することも近年分かってきている。ミトコンドリアの品質保持には筋活動が重要であると言われているが、高重力環境曝露により常に筋活動が高まった場合にミトコンドリアがどのように性質変化するのかは不明である。本研究における日本グループの目的は、骨格筋のエピジェネティクスやミトコンドリア性質が高重力環境に対してどのような長期適応変化を示すのか明らかにすることである。

3. 研究の方法

ジェノバ大学のProf. Sara TavellaがPIとなり実施される3-G曝露実験に組織サンプルシェアプログラムのパートナーグループのひとつとして参加し、マウス大腿四頭筋サンプルを取得する。

3-G曝露実験：ヨーロッパ宇宙技術研究センター(ESTEC)(オランダ・アムステルダム)に設置されている動物用遠心負荷装置を利用して1ヵ月間のマウス3-G曝露実験を実施した。3-G曝露、MDS飼育コントロール、通常飼育コントロールの3種類(各12匹)に群分けして3-G曝露の影響を検討した。これらのマウスから中間筋筋をサンプリングし、液体窒素で瞬間凍結した後、-80℃で保存した。

国内予備実験：高重力曝露と運動がどう違うのかを解釈するため、日本国内においても予備実験を実施した。上記実験と同週齢のマウスに対して同期間(1ヵ月間)のトレッドミル走運動(15m/min、30分/日、週5日)を行い、最後の運動から3日後に前脛骨筋をサンプリングした。また、高重力曝露と加齢がどう違うのかを解釈するため、8、32、53、75週齢のマウスから前脛骨筋をサンプリングし、週齢間または運動モデルと比較した。

これらの筋サンプルからクロマチンを抽出し、運動刺激に対して増加応答を示す遺伝子領域をターゲットにしてクロマチン免疫沈降法を用いた解析を行った。

4. 研究成果

3-G 曝露実験：2019年7月にドライラン（実験動物が良好な状態であるか試す短期実験）を実施した。この実験ではMDS内におけるマウスの摂食に問題が認められたため、本実験を当初の予定（同年12月）から延期し、翌年3月とした。しかしながら、新型コロナウイルスの世界的パンデミックおよびロシアによるウクライナ侵攻が相次いで起こり、最終的に本実験が実施できたのは2023年3月であった。本実験で取得した筋サンプルは現在解析途中である。

国内予備実験：1ヵ月間の走運動トレーニングにより、ターゲットとした遺伝子領域において転写抑制型ヒストン修飾H3K27me3ならびに転写活性型ヒストン修飾H3K4me3が有意に増加した。これらのヒストン修飾変化は、ヒストンバリエントH3.3の増加を伴うことも分かった。運動トレーニング後に単発の走運動を行い、運動に対する遺伝子の応答性も評価した。その結果、未トレーニングのマウスに比べ、トレーニング後のマウスでは急性運動に対するこれら遺伝子の増加応答が劇的に促進することが明らかとなった。H3K27me3とH3K4me3が両方修飾された状態は“バイバレント”として知られ、転写が強く抑えられているが転写活性に対しては強く応答する特徴を有する。運動トレーニングにより遺伝子の応答性が亢進した背景には、このようなエピジェネティクスが生じていることが分かった。さらに加齢実験においては、加齢に伴い発現変化する遺伝子領域においてヒストンバリエントH3.3の顕著な分布増加が認められた。このようなH3.3増加はH3K27me3修飾を伴い、H3K4me3修飾に影響はなかった。このようなヒストン分布の変化は53週齢まで進行しその後頭打ちとなった。8週齢（若齢）と53週齢（中年）マウスを用いて急性運動に対する遺伝子の応答性を比較した結果、53週齢では遺伝子の増加応答性が低下していることが分かった。したがって、加齢に伴う骨格筋のH3.3増加とそれに付随するH3K27me3修飾が抑制的な遺伝子構造を形成し、運動刺激に対する応答性を低下させたと考察できる。以上の結果をまとめると、運動と加齢によって骨格筋に生じるヒストン修飾変化は類似しているが、H3K4me3増加の有無により遺伝子構造の機能としては活性的または抑制的といった逆の結果を生じることが明らかとなった。

<引用文献>

1. Masini MA et al. The impact of long-term exposure to space environment on adult Mammalian organisms: a study on mouse thyroid and testis. PLoS ONE 7: e35418, 2012.
2. Sandonà D et al. Adaptation of mouse skeletal muscle to long-term microgravity in the MDS mission. PLoS ONE 7: e33232, 2012.
3. Santucci D et al. Evaluation of gene, protein and neurotrophin expression in the CNS of mice exposed to space environment for 91 days. PLoS ONE 7: e40112, 2012.
4. Ohira T et al. Effects of gravitational levels on protein expression related to metabolic and/or morphologic properties of mouse neck muscles. Physiol. Rep. 2: e00183, 2014.

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〕

-

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
研究分担者	内田 貴之 (Uchida Takayuki) (00803561)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・助教 (16101)	
研究分担者	芝口 翼 (Shibaguchi Tsubasa) (40785953)	金沢大学・GS教育系・助教 (13301)	

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