

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：83903

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K19737

研究課題名（和文）骨格筋の質に注目したサルコペニアの病態解明

研究課題名（英文）Elucidation of sarcopenia pathology focusing on skeletal muscle quality

研究代表者

大村 卓也（Omura, Takuya）

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・研究所 ジェロサイエンス研究センター・副部長

研究者番号：40848420

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：筋線維タイプの可塑性が骨格筋の質を規定するという概念に基づいて、筋が遅筋化速筋化する機序、およびそれに伴う代謝変換（解糖系 酸化系）に関する基盤的研究を行った。筋線維タイプを変化させる条件をスクリーニングし、筋線維タイプ変換を誘導する条件および因子を同定した。若齢群、中齢群、老齢群の C57BL/6NJcl マウスを用いて、組織学的変化とミトコンドリアの呼吸機能を比較検討した。加齢によるミトコンドリア病態変化は筋線維タイプ特異性があること、遅筋線維では低酸素状態による酸化ストレスの亢進がミトコンドリア病態を誘導しうること、ミトコンドリア病態が筋委縮に先行すること、が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サルコペニアは2016年に国際疾病分類（ICD-10）に登録され、世界的に疾患として認識されつつある。超高齢社会が到来した我が国において、サルコペニアの克服は老化研究の最重要課題となっており、そのためには有効な早期診断・予防・治療法の確立が必要になる。

サルコペニアの病態を解明するためには筋量や筋力の低下を来す前から生じる「筋の質的变化」に注目する必要がある。筋線維タイプ変換のメカニズムや各筋線維の代謝特性および相互作用の一端が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Our research focused on elucidating the mechanisms of myofiber type conversion and metabolic plasticity in slow and fast twitch muscle fibers, as they are crucial determinants of skeletal muscle quality. Through a comprehensive drug screening assay, we successfully identified factors capable of inducing myofiber type conversion. Furthermore, we observed that myofiber type conversion can trigger metabolic changes within the muscle tissue. To investigate this phenomenon comprehensively, we conducted a histological examination of the soleus and extensor digitorum longus muscles in female C57BL/6NJcl mice across different age groups (young, middle-aged, and old). Our study findings demonstrate that age-related alterations in mitochondrial pathology are specific to myofiber types. Additionally, we highlight the role of increased oxidative stress due to hypoxia as a triggering factor for mitochondrial pathology in slow muscle fibers.

研究分野：サルコペニア

キーワード：サルコペニア 筋線維タイプ 代謝 ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

サルコペニアは2016年に国際疾病分類（ICD-10）に登録され、世界的に疾患として認識されつつある。個人の生活の質を悪化させるのみならず、社会的・経済的な損失にもつながることから、超高齢社会が到来した我が国においても、サルコペニアの克服は老化研究の最重要課題となっており、早期診断・予防・治療方法の確立が求められている¹。

加齢に伴って筋量は低下するが、筋量の減少に比して運動機能の低下の方が大きいことから、筋量のみではサルコペニアの発症機序を説明することはできない²。サルコペニアの病態を解明するためには、筋量や筋力の低下に先行する骨格筋の質的变化に注目する必要がある³。

骨格筋を構成する筋線維は遅筋と速筋に大別され、運動単位としての性質は両者でおおきく異なっている。遅筋と速筋の割合は、運動やあるいは運動しないことによって変化すること、遅筋と速筋では代謝経路（酸化系・解糖系）が異なること、筋を構成する筋線維タイプ組成が骨格筋の運動能力を規定すること、がそれぞれ明らかにされている⁴。

しかしながら、筋線維タイプ変換を制御する分子機構はほとんど未解明であり、筋線維タイプ変換によって生じた筋の変化が筋全体や全身代謝に与える意義に関しても不明な点が多い。また、マウスの筋線維タイプは、発現するミオシン重鎖（MyHC）アイソフォームにより4つの筋線維タイプに分類されており（ヒトでは3種類）、各線維タイプが可逆的に移行しながら筋の恒常性を維持していると考えられているが、筋線維タイプ変換の可塑性を維持する分子機構も明らかにされていない。

2. 研究の目的

以上の背景を受けて、筋線維タイプ可塑性が骨格筋の老化の過程でどのように維持され、その破綻がどのように筋機能低下に影響するかを明らかにしたいと考えた。

4種の筋線維タイプを生きたまま観察することはこれまで不可能であったが、所属した研究室ではそれを可能にするMusColorマウスの樹立に成功していた。そこで、MusColorマウスを用いて、筋線維タイプ組成と老化・疾患による筋力低下との関連、筋萎縮による筋代謝の変化を *in vitro*・*in vivo* で解析することを目指した。

生筋細胞を使って代謝変換を伴う筋線維タイプ可塑性に着目した先行研究は存在しない。筋線維タイプ可塑性を維持する分子機構とその意義を明らかにすることで、これまでにないサルコペニアの早期診断・予防方法の確立につながる可能性があった。

3. 研究の方法

以下の実験を通して、代謝変換を伴う筋線維タイプ可塑性の制御機構とその生理的・病的意義を明らかにし、サルコペニアの克服に向けた基盤的な検討を実施した。

(1) 筋線維タイプを変化させうる条件（運動刺激、化合物）の検討

MusColorマウスの骨格筋およびMusColorマウス由来筋細胞で、筋線維タイプの可視化が可能であることを確認した。培養筋細胞に electrical pulse stimulation（以下、EPS）を加え、筋線維タイプ変換（速筋・遅筋）が生じるか検討した。インキュベーター内の酸素濃度を調整し、低酸素状態で培養した筋細胞で筋線維タイプ変化が誘導されるか検討した。

一部の化合物によって筋線維タイプ変換が誘導されることが既に報告されており、その他の候補因子（栄養成分、生体内因子）によって筋線維タイプが変化するか検討した。

(2) 筋線維タイプ変換によって生じた細胞の代謝変化の検討

筋線維タイプ変換が生じた際に、代謝変換（解糖系・酸化系）を伴うか、Flux analyzer（XFp）で細胞内代謝を解析した。

(3) 歩行特性に基づくサルコペニアモデルの新しい評価法の確立

マウス歩行特性を質的かつ定量的に評価する新指標の開発を目的に、8・18・26ヵ月齢の各マウスの運動（running wheel で1ヶ月間の運動）前後の歩行特性の変化を、ErasmusLadder やCatWalk装置等を用いて解析した。

(4) サルコペニアの病態の解明

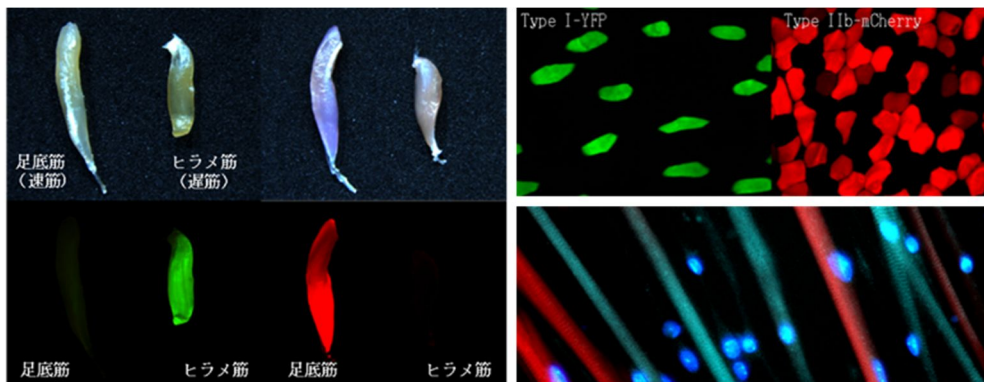
若齢群（6-8ヶ月齢）、中齢群（19-20ヶ月齢）、老齢群（29-32ヶ月齢）のC57BL/6NJc1雌マウスを用いて、遅筋優位筋でもおもに type I と IIA 線維からなるヒラメ筋（SOL）と速筋優位筋でもおもに IIX と IIB 線維からなる長趾伸筋（EDL）の組織学的変化とミトコンドリアの呼吸機能を比較検討した。ミトコンドリア関連遺伝子と酸化ストレス関連遺伝子発現の加齢変化を解析した。各マウスの筋切片において、血管とミトコンドリアを免疫染色し、加齢にともなって血管やミトコンドリアに変化が生じうるかも検討した。

4. 研究成果

(1) 筋線維タイプを変化させうる条件（運動刺激、化合物）の検討

マウス骨格筋において遅筋優位のヒラメ筋と速筋優位の足底筋の筋線維タイプの可視化に成功した（図）。マウス骨格筋から筋衛星細胞を単離・培養し、筋細胞に分化させて、筋線維タイ

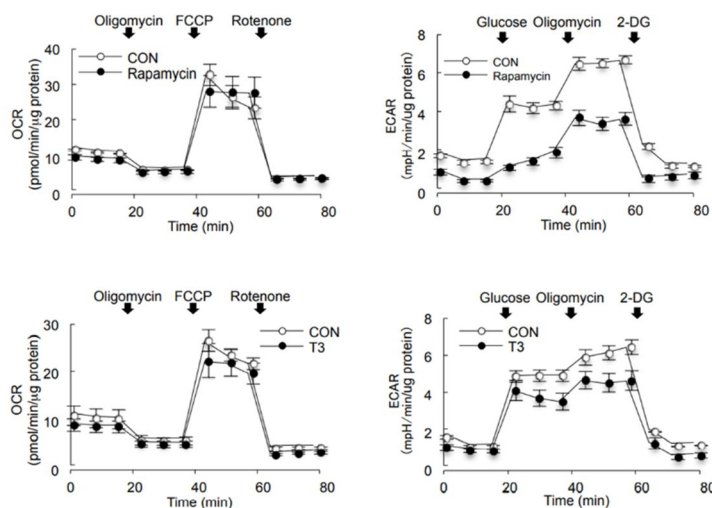
プを可視化することができた(図)。EPS 刺激や低酸素状態での培養により、筋線維タイプが変換しうることを見出した(データ未公表)。薬剤添加によるスクリーニングを実施し、遅筋化を誘導する因子を4つ、速筋化を誘導する因子を1つ同定した(データ未公表)。



MyHC 遺伝子に4つの蛍光タンパク質遺伝子 (YFP/Sirius/Cerulean/mCherry) をノックインした MusColor マウス由来筋および筋細胞

(2) 筋線維タイプ変換によって生じた細胞の代謝変化の検討

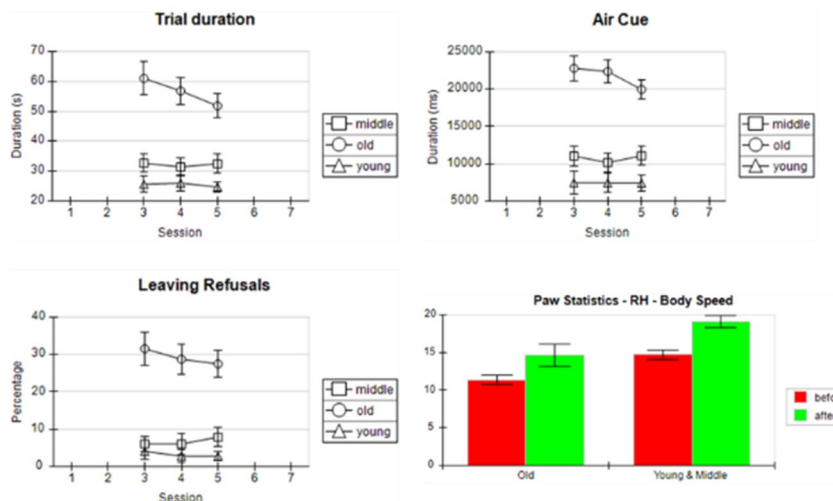
既知の筋線維タイプ変換を誘導する因子に関して、細胞内代謝の変化を計測した結果、解糖系が抑制された(図)。スクリーニングで同定された遅筋化誘導因子と速筋化誘導因子を添加し、細胞内代謝の検討した結果、遅筋化によって酸化系が亢進し、速筋化によって解糖系が亢進する、といった単純な応答ではないことが分かった(データ未公表)。



ラパマイシン・甲状腺ホルモン (T3) はともに解糖系を抑制する

(3) 歩行特性に基づくサルコペニアモデルでの新しい評価法の確立

各月齢のマウスの運動・歩行能力、学習能力を測定した。加齢に伴って歩行速度が低下すること、刺激への反応が低下すること、拒否反応が増加することが分かった。また、高齢群では、同じ動作を反復することによる学習効果が認められた。



(4) サルコペニア発症の因果関係と分子機構の解明

各月齢のマウスの筋病理を比較検討した。加齢によるミトコンドリア病態変化は筋線維タイプ特異性があること、遅筋線維では低酸素状態による酸化ストレスの亢進がミトコンドリア病態を誘導しうること、ミトコンドリア病態が筋委縮に先行すること、が明らかになった⁵。

加齢に伴い、筋のミトコンドリアの数は減少したが、血管数は減少しなかった(データ未公表)。遺伝子解析では、加齢マウスの筋で HIF-1 遺伝子の発現が上昇していた。血管数のみでは評価できない、筋血流の低下の可能性が示唆された。

<引用文献>

Lancet. 2019 Jun 29;393(10191):2636-2646.

J Am Geriatr Soc. 2010 Nov;58(11):2055-62.

Geriatr Gerontol Int. 2022 Feb;22(2):110-120.

Physiol Rev. 2011 Oct;91(4):1447-531.

Biochem Biophys Res Commun. 2021 Feb 12;540:116-122.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8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 Omura Takuya, Ito Hideki, Araki Atsushi	4. 巻 21
2. 論文標題 Which is a better predictor for adverse events in older adults with diabetes, frailty or higher level functional incapacity?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Geriatrics Gerontology International	6. 最初と最後の頁 541 ~ 542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggi.14166	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 Omura Takuya, Tamura Yoshiaki, Sakurai Takashi, Umegaki Hiroyuki, Iimuro Satoshi, Ohashi Yasuo, Ito Hideki, Araki Atsushi, the Japanese Elderly Diabetes Intervention Trial Research Group	4. 巻 21
2. 論文標題 Functional categories based on cognition and activities of daily living predict all cause mortality in older adults with diabetes mellitus: The Japanese Elderly Diabetes Intervention Trial	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Geriatrics Gerontology International	6. 最初と最後の頁 512 ~ 518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggi.14171	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 Tamura Yoshiaki, Shimoji Keigo, Ishikawa Joji, Matsuo Yoshinori, Watanabe So, Takahashi Hisae, Zen Shugo, Tachibana Aya, Omura Takuya, Kodera Remi, Oba Kazuhito, Toyoshima Kenji, Chiba Yuko, Tokumaru Aya M., Araki Atsushi	4. 巻 13
2. 論文標題 Subclinical Atherosclerosis, Vascular Risk Factors, and White Matter Alterations in Diffusion Tensor Imaging Findings of Older Adults With Cardiometabolic Diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Aging Neuroscience	6. 最初と最後の頁 712385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnagi.2021.712385	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 Omura Takuya, Araki Atsushi	4. 巻 22
2. 論文標題 Skeletal muscle as a treatment target for older adults with diabetes mellitus: The importance of a multimodal intervention based on functional category	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Geriatrics Gerontology International	6. 最初と最後の頁 110 ~ 120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggi.14339	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 Tamura Yoshiaki, Omura Takuya, Toyoshima Kenji, Araki Atsushi	4. 巻 12
2. 論文標題 Nutrition Management in Older Adults with Diabetes: A Review on the Importance of Shifting Prevention Strategies from Metabolic Syndrome to Frailty	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 3367 ~ 3367
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu12113367	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 Fukunaga Taichi, Mori Shuuichi, Omura Takuya, Noda Yoshihiro, Fujita Yasunori, Ohsawa Ikuroh, Shigemoto Kazuhiro	4. 巻 540
2. 論文標題 Muscle fiber type specific alterations of mitochondrial respiratory function and morphology in aged female mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 116 ~ 122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.11.071	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 Omura Takuya, Araki Atsushi, Shigemoto Kazuhiro, Toba Kenji	4. 巻 20
2. 論文標題 Geriatric practice during and after the COVID-19 pandemic	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Geriatrics Gerontology International	6. 最初と最後の頁 735 ~ 737
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggi.13958	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 Mori Shuuichi, Suzuki Shigeaki, Konishi Tetsuro, Kawaguchi Naoki, Kishi Masahiko, Kuwabara Satoshi, Ishizuchi Kei, Zhou Heying, Shibasaki Futoshi, Tsumoto Hiroki, Omura Takuya, Miura Yuri, Mori Seijiro, Higashihara Mana, Murayama Shigeo, Shigemoto Kazuhiro	4. 巻 361
2. 論文標題 Proteolytic ectodomain shedding of muscle-specific tyrosine kinase in myasthenia gravis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 114300 ~ 114300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.expneurol.2022.114300	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 -

〔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
---------	---------