

令和 6 年 5 月 4 日現在

機関番号：16201

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17685

研究課題名（和文）食塩の摂り過ぎによる筋萎縮機序の解明とその予防法の開発：ATP6ap2の視点から

研究課題名（英文）Role of ATP6ap2 in salt-driven muscle wasting

研究代表者

北田 研人（Kitada, Kento）

香川大学・医学部・助教

研究者番号：30882493

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：加齢や現代の生活習慣に伴う筋萎縮は健康寿命の低下に直結するが、その発症・進展機序は明らかにされていない。我々は、高食塩摂取が筋萎縮のリスクとなることを報告している。高食塩摂取マウスの筋肉組織を用いて、RNA sequencingにより全転写物の塩基配列を測定し、バイオインフォマティクス解析を行ったところ、様々な加齢性変化を促進する遺伝子であるATP6ap2が高食塩摂取に伴う筋萎縮と関連していることを同定した。ATP6ap2に対するワクチンを作製し、その投与により、高食塩負荷に伴う筋萎縮を予防できることを見出した。本研究に関するワクチンに関しては、筋萎縮予防への有効性も含め、特許申請を完了した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦は超高齢化社会を迎え、いかに健康寿命を延長させるかが緊急課題となっている。加齢や現代の生活習慣は、筋肉量および筋力の低下を引き起こし、骨折、代謝疾患、寝たきり、死亡などのリスクを上昇させ健康寿命を低下させてしまうが、その発症・進展機序の詳細は不明である。本研究では、高食塩摂取に伴う筋萎縮のメカニズムにATP6ap2が関与すること、また、ATP6ap2に対するワクチン投与により、高食塩摂取による筋萎縮を予防できることを見出した。本研究を基盤とした将来的な研究により、食塩の摂り過ぎや加齢に伴う筋萎縮を、ATP6ap2を標的としたワクチンにより克服し、健康寿命の延長を達成したい。

研究成果の概要（英文）：Sarcopenia accompanied by aging and modern lifestyles is directly related to a decline in healthy life expectancy, however, the mechanisms of muscle atrophy remain to be clarified. We have reported that high salt intake is a risk for muscle atrophy. We performed bioinformatics analysis using RNA sequence data from the muscle of high salt-fed mice and found that ATP6ap2 is associated with high salt-induced muscle wasting. Administration of a vaccine against ATP6ap2 prevented high salt-induced muscle atrophy. A patent application has been completed for the vaccine, including its efficacy in preventing muscle atrophy.

研究分野：薬理学・生理学・病態生理学

キーワード：ATP6ap2 筋萎縮 塩

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- 本邦は超高齢化社会を迎え、いかに健康寿命を延長させるかが緊急課題となっている。特に、加齢や現代の生活習慣は、筋肉量および筋力の低下を引き起こし、骨折、代謝疾患、寝たきり、死亡などのリスクを上昇させ健康寿命を低下させてしまうが、その発症・進展機序の詳細は不明であり、予防・治療法も存在しない。
- 一方、生命維持の根幹である生体内のナトリウムイオン (Na^+) を主とする電解質および体液の恒常性は、主に腎臓によって調節されていると考えられてきた学術的背景の中で、我々は、高食塩摂取下で体液の恒常性を維持するためには、浸透圧物質である尿素を利用した腎臓の水再吸収増加、肝臓の尿素産生亢進、尿素産生に必要なアミノ酸・エネルギーを供給するために筋肉の異化(カタボリズム)亢進が生じ、筋肉量が減少することを世界に先駆けて発見している (Kitada et al., J Clin Invest 2017;127:1932-1943 & J Clin Invest 2017;127:1944-1959)。
- 本邦は、食塩摂取量が多い国のひとつである。よって、高食塩摂取による筋肉のカタボリズム亢進(筋肉量減少)は、加齢や現代の生活習慣に伴う筋萎縮メカニズムの一因である可能性が高い。しかしながら、「どのような機序で高食塩摂取は筋肉量減少を引き起こすのか?」そして「その機序を突き止め、予防・治療することで筋肉量を維持することは可能か?」は不明である。

2. 研究の目的

- 本研究では、食塩摂取に伴う筋肉量減少メカニズムを解明するため、RNA sequence によるバイオフィーマティクス解析を行う。
- 見出した因子に対するワクチンや中和抗体を実験動物に投与し、食塩過剰摂取による筋萎縮を予防できることを証明する。

3. 研究の方法

高食塩による筋萎縮に関連する因子の同定:

高食塩摂取により筋萎縮を誘導したマウスの筋肉サンプルを用いて RNA sequencing を行い、全転写物の塩基配列を測定した。また、得られたデータのバイオフィーマティクス解析を実施し、高食塩摂取による筋萎縮に関連する候補因子の探索を行った。

高食塩摂取による筋萎縮に対する ATP6ap2 ワクチンの予防効果の検証:

ATP6ap2 の活性を阻害する ATP6ap2 ワクチンをマウスに投与し、通常食 (0.3% NaCl) あるいは高食塩食 (4% NaCl + 生理食塩水・過食無し) を摂取させ筋萎縮を誘導し、筋肉量や筋力測定を行った。

ATP6ap2 ワクチンの筋萎縮予防効果の分子メカニズム解明:

上記で使用したマウスの筋肉サンプルや培養細胞を用いて、代謝物のメタボローム解析、筋蛋白質分解マーカー解析 (MuRF1、MAFbx、LC3、p62 など qRT-PCR、Western Blot)、筋肉の Wnt/ カテニン経路の活性化評価 (Western Blot、免疫組織化学) を実施した。

4. 研究成果

高食塩摂取により筋萎縮を誘導したマウスの筋肉サンプルを用いた RNA sequence およびバイオフィーマティクス解析により、Wnt/ カテニン経路を介して筋萎縮を惹起することが報告されている (Aging Cell 2019;18:e12991) ATP6ap2 の発現量と筋肉量減少の間に強い負の相関が認められることが明らかとなった。よって、高食塩食に伴う筋萎縮には、ATP6ap2 発現の増加が関与している可能性が考えられた。

そこで、ATP6ap2 の活性を阻害するワクチンあるいはコントロールとしてアジュバントのみをマウスに投与し、正常食あるいは高食塩食を摂取させた。その結果、コントロールマウスでは高食塩摂取により筋肉量および筋力の低下が認められたが、ATP6ap2 ワクチンを投与したマウスでは、高食塩摂取による筋肉量および筋力の低下がみられなかった。これらの実験結果より、ATP6ap2 をワクチン等で阻害することで、食塩の摂り過ぎによる筋萎縮を予防できる可能性が示唆された。尚、本ワクチンに関しては、その筋萎縮予防作用も含め特許申請を完了させた。

ATP6ap2 を介した高食塩摂取による筋萎縮メカニズムを解明するため、筋肉量の増減に関する複数のマーカーを検討した。上述の高食塩摂取による筋肉量の減少や、ATP6ap2 ワクチンの予

防効果には、ユビキチン-プロテアソーム系やオートファジーによる筋蛋白質の分解経路やそれに伴う筋肉の代謝変化が関連していることを見出した。一方、過去に報告されている Wnt/ カテニン経路に関しては、明確な差異は認められなかった。また、高食塩摂取がどのように筋肉の ATP6ap2 発現を増加させるのか、その詳細な機序を見出すには至らず、今後の検討課題である。現段階では、ATP6ap2 による筋委縮予防効果のメカニズムには、ユビキチン-プロテアソーム系、オートファジー、代謝変化が関与していると、我々は結論付けた。今後は、上記の筋サンプルや培養細胞を用いた検討を継続し、オミクス解析なども組み合わせ、さらなる分子メカニズムの解明を展開していく。

以上の結果より、食塩摂取に伴う筋肉量減少メカニズムに ATP6ap2 が関与していること、また、ワクチン等により ATP6ap2 を阻害することで食塩過剰摂取による筋委縮を予防できることを実証できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kento Kitada, Satoshi Kidoguchi, Daisuke Nakano, Akira Nishiyama.	4. 巻 147
2. 論文標題 Sodium/glucose cotransporter 2 and renoprotection: From the perspective of energy regulation and water conservation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 245-250
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jphs.2021.07.006	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 Satoshi Kidoguchi, Kento Kitada, Kazuki Nakajima, Daisuke Nakano, Hiroyuki Ohsaki, Wararat Kittikuluth, Hideki Kobara, Tsutomu Masaki, Takashi Yokoo, Kazuo Takahashi, Jens Titze, Akira Nishiyama.	4. 巻 289
2. 論文標題 Hepatocellular carcinoma induces body mass loss in parallel with osmolyte and water retention in rats.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 120192
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lfs.2021.120192	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 該当する

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 9件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北田研人
2. 発表標題 腎臓と皮膚から捉える体液制御と高血圧
3. 学会等名 第65回日本腎臓学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 北田研人
2. 発表標題 Rethinking of body fluid and electrolyte regulation from the perspective of fluid loss and dehydration stress response
3. 学会等名 第26回日本心血管内分泌代謝学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 北田研人
2. 発表標題 多臓器による体液制御の視点からみるSGLT2阻害薬
3. 学会等名 第26回日本心不全学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 北田研人
2. 発表標題 Salt and fluid handling in multiple organs
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 北田研人
2. 発表標題 臓器連関から捉える生体の塩調節機構
3. 学会等名 第52回日本腎臓学会西部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 北田研人
2. 発表標題 高血圧学におけるモデル動物の再考：ワンポイント測定のとし穴
3. 学会等名 第43回総会（招待講演）
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 北田研人
2. 発表標題 Water conservation system -多臓器に制御される水・ナトリウム代謝-
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 北田研人, 宗定優紘, 木戸口 慧, 西山 成
2. 発表標題 高食塩摂取および5/6腎摘モデルラットにおける 各骨部位のナトリウム・カリウム含量変化
3. 学会等名 第66回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 北田研人
2. 発表標題 「多臓器による体液制御機構：夏眠様反応」に着目した新しい血圧コントロール法の開発
3. 学会等名 第45会日本高血圧学会総会（招待講演）
4. 発表年 2023年～2024年

1. 発表者名 北田研人
2. 発表標題 体液喪失が RAS 活性化、体液過剰、血圧上昇の起点となる
3. 学会等名 第59回高血圧関連疾患モデル学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2023年～2024年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 プロレニン受容体ペプチド、コンジュゲート、および医薬組成物	発明者 西山 成、北田 研 人、他	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-032709	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------