

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16397

研究課題名（和文）ストレスによる筋萎縮の制御機構の解析

研究課題名（英文）Analysis of regulatory mechanism of stress-induced muscle atrophy

研究代表者

平田 悠（Hirata, Yu）

神戸大学・医学研究科・学術研究員

研究者番号：70846352

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：ストレス環境下での骨格筋における転写因子KLF15の発現増強及び筋萎縮に「脳内炎症」が関わることを明らかとした。また、ストレス性筋萎縮に視床下部-下垂体-副腎軸及び転写因子C/EBPが関与することを証明した。すなわち、ストレス下で生じた脳内炎症が、視床下部-下垂体-副腎軸を介して骨格筋のC/EBP-KLF15経路を活性化し、筋萎縮を促進することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疫学的研究などから、心理ストレスや抑うつとサルコペニアとの関連性は以前から指摘されてきたが、その分子メカニズムについての詳細は不明であった。本研究では、ストレス下で生じた脳内炎症が視床下部-下垂体-副腎軸を介して骨格筋のC/EBP-KLF15経路を活性化し、筋萎縮を促進することを明らかとした。また、ストレス惹起性の脳内炎症が骨格筋という遠隔臓器に与える影響について検討した点で新規性が高く、本研究で得られた知見はサルコペニアやフレイルの発症予防法の開発や治療戦略に資すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We have shown that "brain inflammation" is involved in the upregulation of the transcription factor KLF15 and muscle atrophy under the stress condition. We have also shown that the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the transcription factor C/EBP are involved in stress-induced muscle atrophy. It was shown that brain inflammation under the stress condition activates the C/EBP-KLF15 signaling pathway in skeletal muscle via the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, which in turn, promotes muscle atrophy.

研究分野：糖尿病代謝学

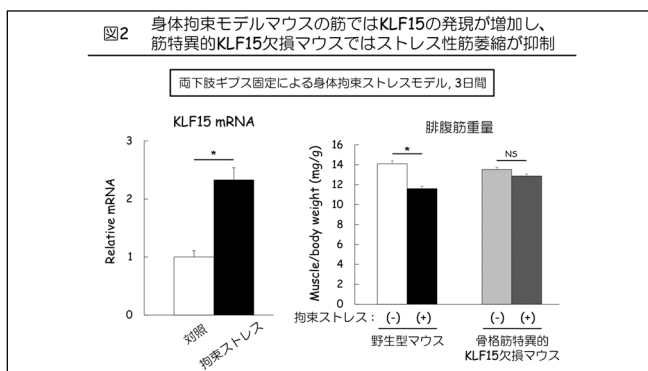
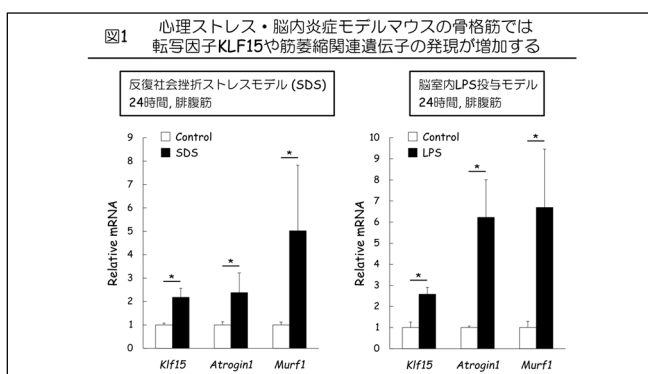
キーワード：ストレス性筋萎縮 脳内炎症 サルコペニア

1. 研究開始当初の背景

サルコペニアは超高齢社会を迎えた我が国における健康寿命短縮の重要な要因である。加齢に伴う様々な生理機能の変化がサルコペニアの発症基盤となるが、加齢性の生理変化に加えて、加齢に伴って発症する糖尿病や COPD、慢性肝疾患、慢性腎不全など様々な併存症がサルコペニアの重要な促進要因であることも知られている。

一方、慢性的な心理ストレスもサルコペニアとの関連が指摘されており、ストレスによって引き起こされる抑うつがサルコペニアの重要な促進要因であることも複数の疫学研究において示されている (Age Ageing. 2017;46(5):738)。抑うつを発症する高齢者が増加していることを踏まえても (J Affect Disord. 2016;205:1)、心理ストレスや抑うつがどのようなメカニズムで筋量減少に繋がるかを明らかにすることは、サルコペニアやフレイルの発症予防法や治療戦略を考える上で重要である。

攻撃性の高いマウスへの強制暴露による反復社会挫折モデルは広く用いられる心理ストレス・抑うつモデルマウスである。代表者は反復社会挫折モデルマウスの骨格筋では、転写因子 KLF15 やその下流で機能する Atrogin1 や Murf1 など筋萎縮関連遺伝子の発現が増加することを見出した (図 1 左)。また、同じく代表的心理ストレスモデルである身体拘束モデルマウスの骨格筋でも KLF15 の発現が増強し、骨格筋特異的 KLF15 欠損マウスでは身体拘束による筋量減少が顕著に抑制されることも明らかとしている (図 2)。近年、ストレス環境下では脳内に生じた炎症がミクログリアの機能変化などを介して、様々なストレス関連の心理反応を引き起こすことが明らかとなりつつある (Trends Neurosci. 2015;38(10):637)。そこで、脳内炎症モデルである脳室内 LPS 投与マウスの骨格筋について検討したところ、やはり KLF15 や筋萎縮関連遺伝子の発現が増強することが明らかとなった (図 1 右)。すなわち、ストレス環境下では脳内炎症を介して骨格筋での KLF15 の発現が増加し、その結果、筋量減少が生じる可能性が示唆された。



2. 研究の目的

ストレス環境下での骨格筋における転写因子 KLF15 の発現増強及び筋萎縮に「脳内炎症」が関わることを証明する。また、ストレス性筋萎縮における視床下部-下垂体-副腎軸及び転写因子 C/EBP-KLF15 経路の関与について検討し、「ストレスによる筋減少のメカニズム」の本態を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ストレス性筋萎縮における脳内炎症の関与についての検討

ストレス下での骨格筋における KLF15 の発現増強および筋萎縮に脳内炎症が関わることを、薬理的及び遺伝学的手法で明らかにする。

(2) ストレス性筋萎縮における視床下部-下垂体-副腎軸の関与についての検討

ストレス下での中枢から骨格筋への遠隔的作用の発現機構について、特に視床下部-下垂体-副腎軸の関与を中心に検討する。

(3) ストレス性筋萎縮における KLF15 の上流の分子機構の解明

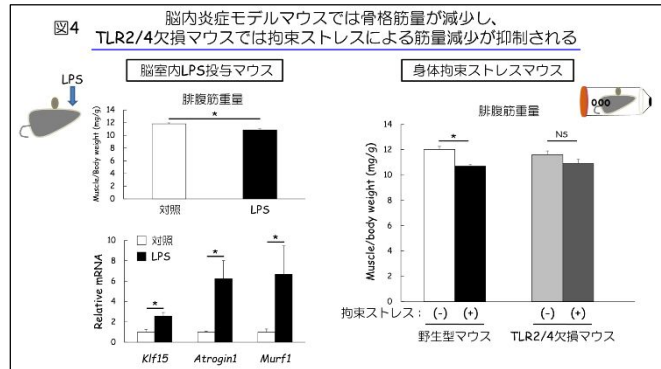
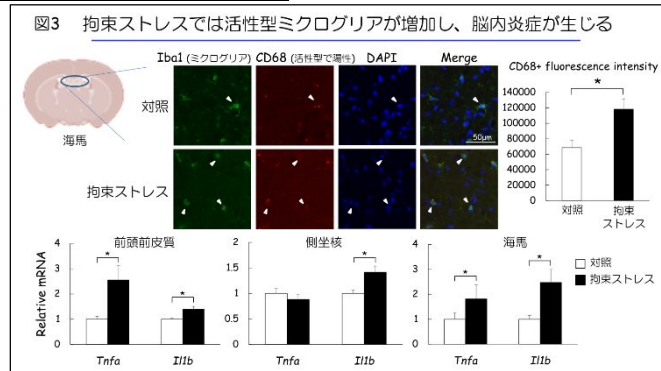
ストレス下での骨格筋での KLF15 の発現増加に関わる上流の分子機構について、転写因子 C/EBP 経路の関与を検討する。

4. 研究成果

(1) ストレス性筋萎縮における脳内炎症の関与についての検討

代表的な心理ストレスモデルである身体拘束マウスの海馬では、活性型で陽性となる CD68 陽性のミクログリア数が増加しており、前頭前皮質や側坐核、海馬において TNF や IL1 などの炎症関連遺伝子の発現が増加することを見出した (図 3)。

また、脳内炎症モデルである脳室内 LPS 投与マウスでは骨格筋量が有意に減少し、KLF15 や筋萎縮関連遺伝子の発現が増加することが明らかとなった (図 4 左)。加えて、ストレス下での脳内炎症の発症には Toll-like receptor (TLR) 2/4 が関与することが明らかとなっており (Neuron. 2018;99(3):464) 全身性に TLR2/4 を欠損するマウスを用いて検討したところ、TLR2/4 欠損マウスの前頭前皮質や海馬では身体拘束ストレスによる炎症関連遺伝子の発現増加が抑制され、筋量減少についても有意に抑制されることが明らかとなった (図 4 右)。

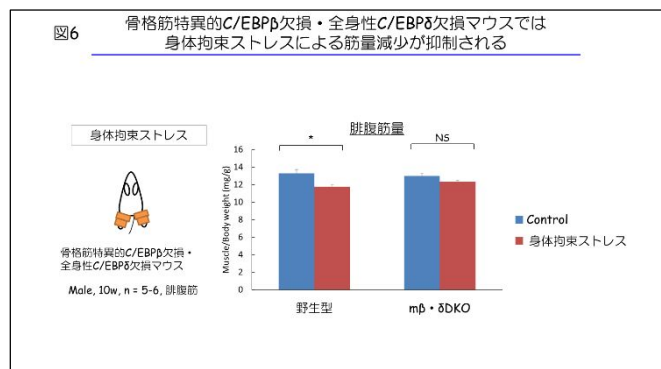
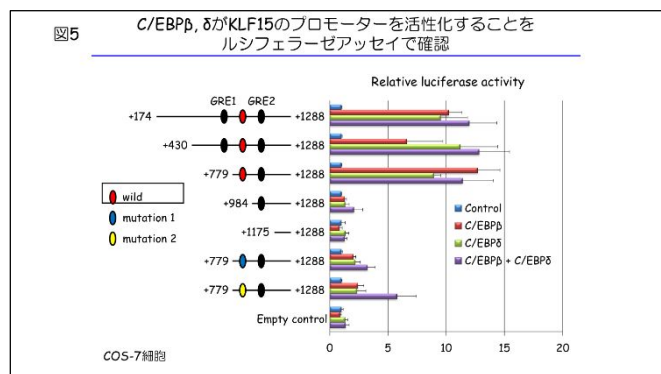


(2) ストレス性筋萎縮における視床下部-下垂体-副腎軸の関与についての検討

身体拘束ストレスモデルマウスや脳室内 LPS 投与マウスでは血中コルチコステロン値が増加し、培養筋細胞をグルココルチコイドで処理すると KLF15 や筋萎縮関連遺伝子の発現が増加することから、ストレスは視床下部-下垂体-副腎軸を介して骨格筋の KLF15 経路を制御する可能性が高いと考えられた。そこで、脳室内 LPS 投与マウスに副腎摘除術を行い検討したところ、脳室炎症による筋萎縮関連遺伝子の発現増加は副腎摘除によって有意に抑制されることが明らかとなった。

(3) ストレス性筋萎縮における KLF15 の上流の分子機構の解明

KLF15 のプロモーター領域には転写因子 C/EBP の結合配列が存在し、C/EBP 及び GRE1 が KLF15 のプロモーターを活性化することをルシフェラーゼアッセイで確認した (図 5)。また、グルココルチコイドによる KLF15 の発現増加は C/EBP 又は C/EBP のノックダウンによって抑制された。そこで、骨格筋特異的に C/EBP を欠損し、かつ全身性に C/EBP を欠損するマウスを作成して検討したところ、このマウスでは身体拘束ストレスによる筋量減少及び KLF15 や筋萎縮関連遺伝子の発現増加が有意に抑制されることが明らかとなった (図 6)。



以上より、ストレス下で生じた脳内炎症は、視床下部-下垂体-副腎軸を介して骨格筋の C/EBP-KLF15 経路を活性化し、筋萎縮を促進すると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 内山奏、平田悠、野村和弘、Hendy Wijaya、谷口将之、北岡志保、古屋敷智之、小川涉
2. 発表標題 脳内炎症は骨格筋のC/EBP経路を介してストレス性筋萎縮を促進する
3. 学会等名 第58回日本臨床分子医学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内山奏、平田悠、野村和弘、Hendy Wijaya、谷口将之、北岡志保、古屋敷智之、小川涉
2. 発表標題 脳内炎症は骨格筋のC/EBP経路を介してストレス性筋萎縮を促進する
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kana Uchiyama, Yu Hirata, Kazuhiro Nomura, Hendy Wijaya, Masayuki Taniguchi, Shiho Kitaoka, Tomoyuki Furuyashiki, Wataru Ogawa
2. 発表標題 Mental stress induces muscle atrophy through brain inflammation and the C/EBP pathway in skeletal muscle
3. 学会等名 The 50th European Muscle Conference (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内山奏、平田悠、野村和弘、Hendy Wijaya、谷口将之、北岡志保、古屋敷智之、小川涉
2. 発表標題 ストレスはC/EBP-KLF15経路を介して筋萎縮を促進する
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内山奏、平田悠、野村和弘、Hendy Wijaya、北岡志保、古屋敷智之、小川涉
2. 発表標題 ストレスはC/EBP-KLF15経路を介して筋萎縮を促進する
3. 学会等名 第95回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内山奏、平田悠、野村和弘、Hendy Wijaya、谷口将之、北岡志保、古屋敷智之、小川涉
2. 発表標題 ストレスは骨格筋のC/EBP経路を介して筋萎縮を促進する
3. 学会等名 第8回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内山奏、平田悠、野村和弘、Hendy Wijaya、谷口将之、北岡志保、古屋敷智之、小川涉
2. 発表標題 脳内炎症は骨格筋のC/EBP経路を介してストレス性筋萎縮を促進する
3. 学会等名 第43回日本肥満学会
4. 発表年 2022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
---------	---------