

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：82710

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650342

研究課題名(和文)サルコペニアの部位差に関わる分子基盤の解明

研究課題名(英文)Molecular mechanisms of site-related differences of sarcopenia in Japanese women

研究代表者

田中 信帆(Tanaka, Nobuho)

独立行政法人国立病院機構(相模原病院臨床研究センター)・政策医療企画部・研究員

研究者番号：60530920

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：部位特異的筋萎縮に関わる遺伝子をcDNAマイクロアレイで解析を行った。高齢群と若年群の大腿四頭筋とハムストリングスの筋組織を解析し、高齢群の増加する遺伝子をそれぞれの筋で絞り込んだ。さらにその中からハムストリングと比べて大腿四頭筋で発現率の大きい遺伝子を調べ、大腿四頭筋で大きく増加した遺伝子20個を同定した。パスウェイ解析では10個のパスウェイが大腿四頭筋で同定された。

研究成果の概要(英文)：We used cDNA microarray analysis to identify the genes, which is related to a site-specific loss of skeletal muscle mass. We analyzed the data of quadriceps and hamstrings in young as well as aged women. We then focused on genes wherein the expression is increased in aged group. We identified twenty genes, which had higher expression in aged-quadriceps compared to aged-hamstrings. Ten pathways were found which may have caused to the aging of the quadriceps.

研究分野：分子生物学

キーワード：サルコペニア 加齢 部位 分子基盤

## 1. 研究開始当初の背景

サルコペニア発症には身体活動量の低下のみならず、加齢に伴って変化する栄養摂取量、運動神経数、内分泌系、体脂肪量等、様々な要因が考えられている。サルコペニアの部位差に注目した研究は筋量や筋力をパラメーターとした研究が多くなされている。上肢および下肢筋量に関して、下肢筋量は上肢よりも減少率が大きいことは先行研究間で結果が一致している。また下肢筋群の中でも膝伸筋群が膝屈筋群よりも筋量の減少が大きいことが報告されている(Abe T, et al. *J Sports Sci Med*.2011)。しかしながら、筋萎縮の部位差に着目してその分子メカニズムを検証した報告はこれまでにほとんど見られない。

## 2. 研究の目的

筋萎縮の部位差について分子レベルでの検証はこれまでにほとんど報告されていないため、われわれは部位差に関わる遺伝子の分子機構を解明するという観点からサルコペニアの病態に迫る。

## 3. 研究の方法

### (1) 検体の調整

整形外科手術の術中に大腿四頭筋および大腿ハムストリングスから直視下あるいは針生検により筋組織を採取する。組織からRNAを抽出しcDNAへ変換後、Agilent社製マイクロアレイを用いて網羅的に遺伝子発現を検証した。

## 4. 研究成果

大腿四頭筋(高齢者と若年者、各々3例)、ハムストリングス(高齢者と若年者、各々2例)からの骨格筋組織をcDNAマイクロアレイで解析を行い、統計ソフト Genespring を用いて比較した。加齢に伴い大腿四頭筋とハムストリングスで増加していた遺伝子をそれぞれ解析した。これらの遺伝子の中でハムストリングと比べて大腿四頭筋で発

現率の大きい遺伝子を絞りこんだ。大腿四頭筋で増加した遺伝子(図1)、逆に低下した遺伝子(図2)を20個ずつ示す。さらにパスウェイ解析を行い腿四頭筋で増加したパスウェイ(図3)あるいは低下したパスウェイ(図4)を10個ずつ示す。主な結果は、Translation factor、Wnt signaling pathway and pluripotency, Estrogen signaling pathway の各パスウェイが大腿四頭筋で増加していた。一方、TGF Beta Signaling Pathway、GPCRs、Class C Metabotropic glutamate、Diclofenac Metabolic Pathway の各パスウェイが大腿四頭筋で低下していた。

図1-a

1. keratin associated protein 19-8
2. chromosome 5 open reading frame 58
3. long intergenic non-protein coding RNA 923
4. cytokine inducible SH2-containing protein
5. mucin 20, cell surface associated
6. nucleolar protein 6 (RNA-associated)
7. uncharacterized LOC100131094
8. hepatoma-derived growth factor
9. synuclein, beta
10. olfactory receptor, family 5, subfamily L, member 2

図1-b (続き)

11. OTU domain containing 6A
12. transglutaminase 6
13. lymphocyte antigen 6 complex, locus K
14. spectrin, beta, non-erythrocytic 2
15. tachykinin 4 (hemokinin)
16. keratin associated protein 3-3
17. solute carrier family 34, member 3
18. uncharacterized LOC145757
19. glutamate receptor, ionotropic, delta 2 (Grid2) interacting protein
20. CD79a molecule, immunoglobulin-associated alpha

図2-a

1. keratin 1
2. serum amyloid A1
3. EGF-like-domain, multiple 6
4. Parvalbumin
5. KCNE1-like
6. MIR205 host gene (non-protein coding)
7. serum amyloid A2
8. keratin 16 pseudogene 2
9. zinc finger protein 98-like
10. fatty acid 2-hydroxylase

図2-b (続き)

11. claudin 1
12. teneurin transmembrane protein 2
13. Desmoplakin
14. Desmoplakin
15. lymphocyte antigen 6 complex, locus D
16. keratin 77
17. calcineurin-like EF-hand protein 2
18. noncompact myelin associated protein
19. Suprabasin
20. annexin A8-like 2

図3

1. Translation factor
2. Wnt signaling pathway and pluripotency
3. Estrogen signaling pathway
4. Selenium Pathway
5. Triacylglyceride Synthesis
6. Notch\_Signaling\_Pathway
7. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy
8. Eicosanoid Synthesis
9. NOD pathway
10. Catalytic cycle of mammalian FMOs

図4

1. TGF Beta Signaling Pathway
2. GPCRs, Class C Metabotropic glutamate, pheromone
3. Diclofenac Metabolic Pathway
4. Electron Transport Chain
5. Apoptosis Modulation and Signaling
6. Integrin-mediated cell adhesion
7. Sphingolipid Metabolism
8. Interferon type I
9. PDGF Pathway
10. IL-9 Signaling Pathway

今後の課題として、筋サンプルの中には NanoDrop による吸光定量とバイオアナライザによる電気泳動で RNA 量が基準を満たしておらず、(1) cDNA アレイは可能であるが、microRNA アレイ不可能なもの、(2) cDNA と microRNA、両アレイの実行が不可能なものがあった。特にハムストリングスからの採取分では RNA 抽出量が十分でないものがあり、まだサンプル数が少ないため、さらにサンプルを増やして検証を行う必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2件)

1. Nobuho Tanaka, Yasuko Ikeda, Tetsuo Yamaguchi, Hiroshi Furukawa, Hiroyuki Mitomi, Takumi Nakagawa, Shigeto Tohma and Naoshi Fukui: alpha5beta1 integrin induces the expression of noncartilaginous procollagen gene expression in articular chondrocytes cultured in monolayers., Arthritis Research & Therapy, Vol.15, No.5, p.R127, 2013.
2. Tetsuo Yamaguchi, Maiko Omori, Nobuho Tanaka and Naoshi Fukui : Distinct and additive effects of sodium bicarbonate and continuous mild heat stress on fiber type shift via calcineurin/NFAT pathway in human skeletal myoblasts., American Journal of Physiology, Cell Physiology, Vol.305, No.3, p.323-333, 2013.

[学会発表](計 4件)

1. 山口 鉄生  
筋肉のエイジング・アンチエイジング  
ヒト筋芽細胞のストレス応答 ミトコン

ドリアを中心に,日本整形外科学会雑誌,  
Vol.88, No.8, S1580頁, 2014年10月.

2. 山口 鉄生, 福井 尚志 :  
Sodium bicarbonateがヒト筋芽細胞の  
分化へ及ぼす影響について,日本整形外  
科学会雑誌, Vol.87, No.8, S1601頁,  
2013年.
3. 山口 鉄生, 田中 信帆, 福井 尚志 :  
筋損傷を科学する 持続的温度変化がヒ  
ト筋芽細胞の増殖・分化へ与える効果と  
その分子メカニズム,日本整形外科學會  
雑誌, Vol.86, No.8, S1223頁, 2012年8  
月.
4. 山口 鉄生 :  
微妙な温度変化による骨格筋再生の変  
化, 第15回水と健康医科学研究会, プ  
ログラム・抄録集, 3頁, 2012年6月.

〔図書〕(計 2件)

1. Shihori Tanabe and Tetsuo Yamaguchi:  
PPARs and Their Roles in the Molecular  
Network and Disease, Advances in  
Physical Therapy Research,  
p.1-44, Nova Science Publishers, Inc.,  
New York, 2013.
2. Tetsuo Yamaguchi, Shihori Tanabe and  
Naoshi Fukui: Review; Mild heat  
stress changes cell differentiation  
and function., Recent Research  
Development in Physiology, Vol.5,  
p.97-104, Research Signpost, India,  
2012.

〔その他〕

<http://pub2.db.tokushima-u.ac.jp/ERD/person/261430/work-ja.html>

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

田中 信帆 (Nobuho Tanaka)  
国立病院機構相模原病院臨床研究センタ  
ー・研究員  
研究者番号: 60530920

##### (2)研究分担者

福井 尚志 (Fukui Naoshi)  
東京大学大学院総合文化研究科・教授  
研究者番号: 10251258

山口 鉄生 (Yamaguchi Tetsuo)  
徳島大学大学院ソシオ・アーツ・アンド・サ  
イエンス研究部・准教授  
研究者番号: 80569731