

京都府公立大学法人若手研究者・地域未来づくり支援事業研究成果報告書

	(所 属)	(職名・学年)	(氏 名)																		
研究者 (研究代表者)	京都府立医科大学 内分泌・代謝内科	病院助教	岡村 拓郎																		
研究の名称	サルコペニア肥満の <i>foxo1</i> を介した発症メカニズムの解明																				
研究の キーワード	サルコペニア肥満、筋肉、 <i>foxo1</i> 、micro RNA																				
研究の概要	<p>サルコペニアに肥満が伴う「サルコペニア肥満」はサルコペニアよりも予後が悪いことが報告されており、糖尿病における病態の中心になっていると考えられているが、詳細な機序は明らかではなく、病態機構の解明によるイノベーションが期待されている。申請者は先行研究(Okamura T, et al. J Clin Biochem Nutr 2019)でDb/Dbマウスは「サルコペニア肥満」の病態を有しており、さらに骨格筋内での<i>foxo1</i>の発現上昇がサルコペニア肥満の病態の中心となる遺伝子発現障害と関連することを明らかとしている。</p> <p>本研究ではサルコペニア肥満における筋肉内の<i>foxo1</i>の発現に関与するメッセンジャーRNA(mRNA)として<i>scd1</i>の発現が減少を明らかにした。</p> <p>さらに、サルコペニア肥満の筋肉内において飽和脂肪酸濃度が著明に増加していたこと、さらには筋肉の細胞への飽和脂肪酸添加によって筋萎縮遺伝子の発現の上昇を認めた。</p> <table border="1"> <caption>脂肪酸濃度比較 (推定値)</caption> <thead> <tr> <th>脂肪酸</th> <th>対照 (黒)</th> <th>SCD1欠損 (灰)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>パルミチン酸</td> <td>~40</td> <td>~160*</td> </tr> <tr> <td>ステアリン酸</td> <td>~20</td> <td>~50*</td> </tr> <tr> <td>ラウリン酸</td> <td>~0.5</td> <td>~2.5**</td> </tr> <tr> <td>ミスチン酸</td> <td>~3</td> <td>~13*</td> </tr> <tr> <td>リリン酸</td> <td>~50</td> <td>~180*</td> </tr> </tbody> </table> <p>今後はこれらのmRNAや脂肪酸代謝の関連及び、それらがサルコペニア発症に及ぼす影響をより詳細に明らかにすることで、画期的なサルコペニア予防法開発へとつなげる。</p>			脂肪酸	対照 (黒)	SCD1欠損 (灰)	パルミチン酸	~40	~160*	ステアリン酸	~20	~50*	ラウリン酸	~0.5	~2.5**	ミスチン酸	~3	~13*	リリン酸	~50	~180*
脂肪酸	対照 (黒)	SCD1欠損 (灰)																			
パルミチン酸	~40	~160*																			
ステアリン酸	~20	~50*																			
ラウリン酸	~0.5	~2.5**																			
ミスチン酸	~3	~13*																			
リリン酸	~50	~180*																			

<p>研究の背景</p>	<p>サルコペニアに肥満が伴う「サルコペニア肥満」はサルコペニアよりも予後が悪いことが報告されており、糖尿病における病態の中心になっていると考えられているが、詳細な機序は明らかではなく、病態機構の解明によるイノベーションが期待されている。申請者は先行研究(Okamura T, et al. J Clin Biochem Nutr 2019)でDb/Dbマウスは「サルコペニア肥満」の病態を有しており、さらに骨格筋内でのfoxo1の発現上昇がサルコペニア肥満の病態の中心となる遺伝子発現障害と関連することを明らかとしている。</p> <p>糖尿病患者の増加・高齢化が進んでおり、糖尿病に合併するサルコペニアの発症予防は、寝たきりやそれに伴う医療費等削減のための最重要課題となっている。近年、一つの病態に関連する複数の遺伝子発現を一つのmicroRNAが行うことが明らかになってきた。サルコペニアにおいてもmicroRNAが病態の基盤を構成していると考えられ、申請者もmir23クラスターがサルコペニアに関与していることを明らかとしている。</p> <p>そこで、サルコペニア肥満およびサルコペニア肥満における筋肉内のfoxo1の発現に関与するメッセンジャーRNA(mRNA)およびmicroRNAを明らかにすることで、今後の画期的なサルコペニア予防法開発へとつなげ、府民が介護を必要とすることを未然に防ぎ、地域の活性化につなげることを目的として本研究を行った。</p>
<p>研究手法</p>	<p>【研究計画】</p> <p>Db/Dbマウス及びDb/mマウスを16週齢まで飼育しサクリファイスを行い下記を評価した。</p> <p>骨格筋重量：ヒラメ筋及び足底筋を採取し、重量を測定した。</p> <p>筋断面積：組織学的にヒラメ筋最大膨部断面積を測定した。</p> <p>骨格筋内mRNA及びmicro RNAアレイ解析：それぞれのマウスのヒラメ筋からmiRNeasy Micro Kit(QIAGEN)を使用し、total RNA抽出後、外部委託(タカラバイオ)にてmRNA及びmicro RNAアレイ解析を実施しサルコペニア肥満の骨格筋特異的なmRNA及びmicroRNAの検討を行った。</p> <p>骨格筋内リポドーム解析：ヒラメ筋を凍結粉碎後、脂質抽出(ナカライテスク社)にて誘導体化処理後、GC/MS システム(Agilent 7890B/5977B) を用いて測定した。</p>

	<p>C2C12細胞株を用いた飽和脂肪酸の影響の検討：上記で明らかとした飽和脂肪酸を細胞株に添加し影響を検討した。</p>
研究の成果	<p>Db/Dbマウス及びDb/mマウスのヒラメ筋のmRNAアレイ解析の結果、脂肪酸不飽和化酵素である <u>scd1の発現がサルコペニア肥満モデルマウスで有意に低下</u>していることを明らかにした。</p> <p>そこで、ヒラメ筋内の脂肪酸の存在に関して、リピドーム解析を実施したところ、ヒラメ筋内のパルミチン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、リノレン酸といった飽和脂肪酸濃度がDb/Dbマウスで有意に増加していることを明らかにした。</p> <p>以上の結果から過剰な飽和脂肪酸が骨格筋内で増加することが筋委縮に関与していると考えた。そこで、各種飽和脂肪酸を負荷し、筋への影響を検討するために、マウス筋管細胞C2C12に上記で明らかとした各種飽和脂肪酸を負荷したところ、ミオシン重鎖やMyoD、Myogeninの発現が有意に低下し、ATP産生能が有意に低下していた。さらにRT-PCRの結果、飽和脂肪酸を添加したC2C12では筋委縮関連遺伝子であるfbxo32の発現が有意に上昇していることを明らかにできた。</p>
今後の期待	<p>今回の研究結果からサルコペニア肥満では脂肪酸不飽和化酵素に関与するscd1の発現が低下していること、そして骨格筋内の飽和脂肪酸の増加が筋委縮を引き起こす一因である可能性が示唆された。今後はこれらの因子がサルコペニア肥満に関与する機序を明らかにするとともに、改善を促すことでサルコペニア肥満の予防につなげていく。</p>
研究発表	<p>馬場遼，岡村拓郎. 他「ルセオグリフロジンの体組成に与える影響の検討」第62回日本糖尿病学会年次学術集会、仙台、2019年5月23日</p>