

平成 30 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input checked="" type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	遺伝子多型を利用したオーダーメイド筋肉治療・トレーニング	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部 リハビリテーション医学 教授 福田寛二 共同研究者：医学部薬理学教室 教授 高橋英夫 生物理工学部人間工学科 准教授 谷本道哉 理工学部機械工学科 教授 原田 孝 医学部再生機能医学教室 教授 梶 博史 アンチエイジングセンター 教授 山田秀和 農学部食品栄養学科生体機能学研究室 教授 上嶋 繁 理工学部機械工学科 講師 池田篤俊 高度先端総合医療センター・再生医療部 講師 寺村岳士	

1. 研究目的・内容

本研究は、被験者の遺伝情報（ゲノム情報、トランスクリプトーム情報）に基づき、筋組織の状態を把握するとともにトレーニング、リハビリテーションの効果を検討するものである。これにより、特に老年期における筋減衰の予防と治療、若年世代における健康増進に対し新しいアプローチを提案することが目的である。

具体的には、被験者血液から筋肉の形成、維持あるいは再生などに関わるゲノムの一部あるいは RNA 情報を取得する。これについて被験者の筋組織の状態を把握し、リハビリ、トレーニングの効果を観察する。

2. 研究経過及び成果

本研究では、被験者の血液を採取し、ゲノム DNA あるいは RNA を抽出、筋組織の発生分化あるいは維持（ホメオスタシス）に関わる遺伝子型や発現状態を確認し、これにより、被験者の筋肉の状態と臨床リハビリテーションやスポーツトレーニングにおけるマーカーの検索を目指した。

当初、筋肉の形成、肥大に関わる遺伝子の SNPs を抽出、整理するとともに、*in vitro* 実験において同遺伝子の機能を解析することで、臨床に反映させることを計画していた。しかし、報告されている遺伝子の SNPs を裏付ける科学的根拠が少ないこと、これを完全に証明するとともに、統計上有意な数の被験者を募り解析するには研究費が不足することなどから、特定の遺伝子を観察するのではなく、少量の検体から検出可能であり、発現量と組織障害性の相関性を期待しやすい miRNA について、筋障害性を観察することにした。現在、miRNA は臨床、基礎医学研究分野で研究が進められており、新たなバイオマーカーとして注目を集めている。研究を進める上では、採取血液量を削減できるという点でもメリットが大きい。本研究においては、バイオマーカーとして提案されている miRNA のうち、炎症で発現が賦活化することが報告されている miR-155 に注目した。

筋肉をはじめ、多くの組織は幹細胞によってその恒常性が維持されている。幹細胞の能力低下は組織の再生能力や拡大（肥大）の抑制を招く。そこで我々はまず、幹細胞における miR-155 の機能解明に関わる研究を実施した。神経幹細胞を用いた検討において、miR-155 は転写因子 C/EBP β の発現を抑制し、幹細胞の維持に関わる遺伝子 *Musashi-1*、*Bmi-1*、*Hes-1* の発現を低下させることで幹細胞の維持、増殖を抑制することを明らかにした。また、ヒト iPS 細胞から神経幹細胞を作成し、同じ現象がヒトでも観察されることを発見した。同研究成果は'17 年に *Scientific Reports* 誌に掲載された。

筋組織の恒常性は主に筋衛星細胞 (Satellite cells, MuSCs)、間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cells; MSCs) により示されている。そこで次に、マウス MSC、筋芽細胞株 C2C12、マウス初代筋芽細胞を用いて miR-155 のはたらきを検討した。MSCs においては、miR-155 の発現は SOD1、HO-1、Nrf2 といった抗酸化ストレス遺伝子群の発現を低下させた。さらに興味深いことに、老化マウスの骨髄中では miR-155 の発現が上昇しており、同じ現象は老化マウスの PDGFR α +/*Sca1*+細胞画分（未熟な MSCs を表す）においても再現されることを発見した。ゲノム編集により miR-155 ノックアウト細胞を作成し、移植実験を行ったところ、miR-155 をノックアウトした細胞では抗酸化ストレス遺伝子群の低下が緩和されており、これに一致して活性酸素の発生が抑制されていることが明らかとなった。本研究成果は'17 年に *Aging Cell* 誌に掲載された。

また、C2C12 における miR-155 の発現が MuSCs 未分化マーカーの発現を抑制し、筋分化を促進した。これまでの研究で、加齢個体の MuSCs では *Notch1* の発現が低下することが報告されていた。筋分化との関連性はよくわかっていなかったが、本研究において、*Notch1* が miR-155 のリプレッサーとして機能しており、*Notch1* の低下は miR-155 の過剰発現を誘導することを発見した。本研究成果は'18 年に *PLoS One* 誌に掲載された。

バイオマーカー候補として血中に検出される miR-155 は、運動器における組織幹細胞の維持に抑制的に機能しており、炎症や老化によって増加、幹細胞を障害することで組織の恒常性を攪乱している。この知見は、miR-155 の発現と筋組織の機能低下を直接結びつけることが可能であることを示唆しており、我々の目的とするバイオマーカーの候補として極めて有力であると考えられた。なお、一連の研究成果は同分野におけるトピックスとして *Aging* 誌に掲載された。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

本研究において、加齢性筋減衰、筋障害において有用となりうるバイオマーカー miR-155 の機能的裏付けを得ることができた。また、今年度実施した予備的検討において、細胞外小胞（エキソソーム）の分離とエキソソーム内での miR-155 の検出に成功している。これらの結果は、患者血液からもおそらく miR-155 の検出が可能であり、かつその発現から組織の状態をある程度予測できることを意味している。

さらに、miR-155 以外の加齢・炎症バイオマーカー候補を同定する目的で、幼若骨髄 MSC、加齢骨髄 MSC について全 small RNA シーケンスを行い、加齢幹細胞で発現が増強する miRNA を複数同定した。今後は、これら miRNA と筋損傷、筋障害を関連付けるための研究を進めていく予定である。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
Scientific Reports	雑誌(査読あり)	2017年1月
Aging Cell	雑誌(査読あり)	2017年12月
Aging	雑誌(査読あり)	2018年1月
PLoS One	雑誌(査読あり)	2018年10月