

課題番号 56

空間的トランスクリプトーム解析を基盤とした 脳 - 骨格筋老化関連機構の解明

[1] 組織

代表者：細山 徹
(国立長寿医療研究センター)
対応者：佐藤 亜希子
(東北大学加齢医学研究所)
漆畑 拓弥
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：なし

研究費：物件費7万4千円，旅費5万6千円

[2] 研究経過

サルコペニア・フレイルに対する予防法や治療法の開発は、超高齢社会にある我が国において近年ますますその重要性を増している。しかし、これらの疾患の本態は依然として不明であり、様々な病態モデルや研究手法を組み合わせた詳細な検討が必要である。特にサルコペニア・フレイルは、全身性に生じる老年性疾患であり、単一の臓器・組織に焦点を絞った研究ばかりではなく、身体全体を包括的に捉えた検証が重要である。本共同研究では、近年、疾患の病態生理研究において新たな研究手法として注目されている“空間トランスクリプトーム解析”と画像解析手法を駆使して、サルコペニア・フレイルの病態生理研究に有用な新しい組織マッピング法の構築と、他(多)臓器関連機構の解明を目的として研究を行った。

以下に研究活動状況の概要を記す。

国立長寿医療研究センター(以下NCGG)で行った空間トランスクリプトーム解析(細山)の情報をもとに、東北大学加齢医学研究所の対応研究者(佐藤・漆畑)が筋組織での遺伝情報に関する新しいマッピング方法を構築した(本件に関する情報のやり取りをメールベースで行った)。さらにNCGG側では、ヒト筋細胞や老齢マウスを用いて、空間トランスクリプトーム解析で得られた筋由来液性因子Xの

発現解析や機能解析などを実施し、因子Xが新規マイオカインであることを示す結果を得た。これらの結果を踏まえて、2023年9月19-20日の2日間にわたり東北大加齢研・統合生理学研究分野(仙台)において対面で研究打合せを実施し、打ち合わせで挙げた課題について、東北大側で組織マッピングについてより効果的な方法について検討し(情報交換はメールベースで行った)、さらにNCGG側でNCGGバイオバンク貯蔵の血液検体と高齢者骨格筋組織を用いた発現解析を行い、新規マイオカインの加齢性発現変動や疾患バイオマーカーとしての有用性について検討した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、若齢マウスと老齢マウスの骨格筋組織(速筋)に対する空間トランスクリプトーム解析の結果、発現変動の最上位に位置する液性因子Xを同定した(老齢マウス骨格筋で発現が増加する)。本因子Xについて、不死化ヒト筋芽細胞株Hu5KD3を用いて発現解析を行ったところ、融合前の筋芽細胞ではほとんど発現が認められず、融合した筋管細胞において高発現することを明らかにした。本結果は、因子Xが筋線維においてdominantに発現していることを示している。さらに、Hu5KD3筋管細胞の培養上清において因子Xとその活性を検出したことから、因子Xが活性を有する液性因子として筋線維から分泌されることを認めた。マウス血中においても因子Xが検出され、また加齢によって血中量が増加することも確認した。これらの結果は、因子Xが新規のマイオカインであることを示唆する重要な知見である。近年、サルコペニアやフレイルなどの加齢性筋疾患において、マイオカインを介した他(多)臓器関連機構の破綻が病態に深く関わることを示されており、今後は本因子Xを介した臓器関連機構について詳細な検討を進める。

さらに本研究では、NCGGバイオバンク貯蔵のフレイル患者の血液検体を用いて、健常者血液検体と

比較することで疾患バイオマーカーとしての有用性についても検証した。その結果、因子Xの血中レベルは加齢に伴い増加すること（図1A）、また、健常者に比べてフレイル患者の血中レベルは有意に低値を示すこと（図1B）などを明らかにした。このことは、因子Xのフレイル病態との関わりを示唆するとともに、疾患バイオマーカーとしての可能性を示している。

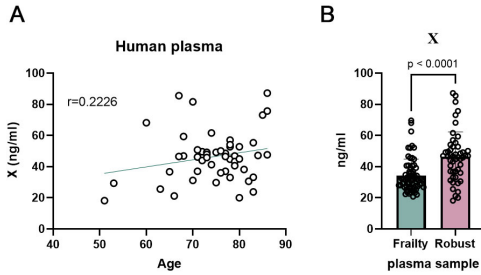


図1.A: 血中因子X量と年齢との相関 B: 血中因子Xのフレイル患者と健常者との比較

第2に、マウス骨格筋に対する空間トランスクリプトーム解析で得られた遺伝子発現情報をもとに、骨格筋の組織マッピングを行い、ミオシン重鎖をコードする遺伝子 (*Myh1*, *Myh2*, *Myh4*) の発現によって筋組織を大まかに領域分けすることが出来ることを明らかにした（図2A）。さらに本マッピング法をもとに、加齢に伴って骨格筋（速筋）内で発現変動する遺伝子群を領域ごとに抽出することに成功した。例えば、*Myh3* は骨格筋の脛骨側 (*Myh4* 発現が低い領域) に高発現するが、その発現は高齢マウス骨格筋において有意に低下し（図2B）、さらに、*Myh3*に関連することが知られている *Myoz2* などアクチンやミオシンの重合・脱重合に関わる遺伝子群が同様に高齢マウス骨格筋において発現変動（低下）していた。これらの結果は、加齢に伴い領域特異的なアクチン・ミオシンのリモデリングが生じていることを示唆しており、サルコペニア・フレイル病態との関連性が予想される。

本研究では、速筋を解析対象として空間トランスクリプトーム解析と組織マッピングを行ったが、現在遅筋を用いた同様の解析も進めており、それらの情報が得られればより統合的な理解が可能となり、サルコペニア・フレイルの病態生理研究が進展するものと期待される。

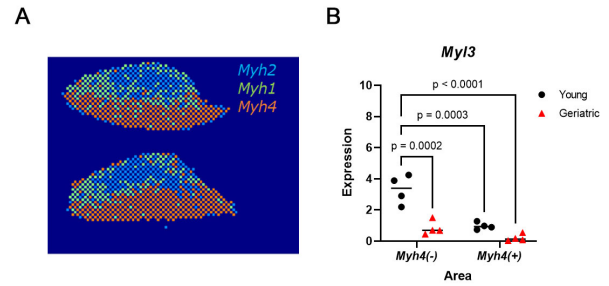


図2. A: *Myh1*, *2*, *4* 発現による速筋の領域分け B: *Myh3*の領域内発現の加齢変化

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、学外研究者との交流を活性化させるものであり、現在、国立高度専門医療研究センター医療研究連携推進本部・横断的研究推進費に申請中である。本申請課題は、空間トランスクリプトーム解析手法を駆使した他（多）臓器連関に関わるものであり、様々なライフステージ・疾患を対象とした統合的解析を研究基盤とする。また、本共同研究で新たに同定した新規マイオカインXは、従来から知られているサイトカインや成長因子と異なる因子であり、昨今様々な疾患研究領域で注目されているマイオカインの概念を変える可能性があり、今後の研究発展が期待される。さらに、本研究で構築したトランスクリプトームから骨格筋組織を領域化するマッピング手法は、新たな研究手法として当該研究領域で広く用いられる可能性がある。

[4] 成果資料

学会発表（招待講演含む）

(1) Tohru Hosoyama.

Impact of cell-cell communications and environmental changes surrounding muscle on IMAT formation.

IAGG-AOR2023. Symposium 15. June 14, 2023, Yokohama. 招待講演

(2) Hosoyama T, Kawai-Takaishi M, Watanabe T, Matsui Y, Urushihata U, Satoh A, Watanabe K.

Dual transcriptome analysis identified novel age-related myokine.

The 9th Asian Conference for Frailty and Sarcopenia, Oct 27-28th. 2023, Singapore.