

加齢や筋ジストロフィー疾患に伴う筋萎縮改善の可能性

筋細胞ミトコンドリアへのカルシウムイオン(Ca^{2+})の流入阻害が有効

【発表のポイント】

- 加齢に伴う骨格筋量の減少は高齢化社会の大きな問題であり、早期老化が進行する難病の筋ジストロフィーにおいても、筋萎縮の予防・治療薬の開発が切に望まれています。
- モデル生物を用いた解析により、筋細胞ミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入を阻害することで、加齢に伴う筋機能低下が抑制され、さらには筋ジストロフィーの病態が改善されることを明らかにしました。
- 加齢や疾患に伴う筋萎縮の予防薬開発の新たなターゲットを提示する成果です。

【概要】

加齢に伴う骨格筋減少は高齢化社会における深刻な問題です。また筋ジストロフィー症は筋肉が徐々に弱っていく難病です。これら筋萎縮の原因として、加齢や疾患に伴うミトコンドリア障害の関与が知られており、またミトコンドリア障害に起因する細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が筋崩壊をもたらすことをこれまで報告してきました^(引用文献¹)。しかしミトコンドリア内 Ca^{2+} 濃度が筋細胞に及ぼす影響は不明でした。

そこで東北大学大学院生命科学研究科の東谷篤志教授と名古屋大学大学院医学系研究科の小林剛講師は、国際的な共同研究により、モデル生物線虫 *C. elegans* の筋細胞ミトコンドリアの Ca^{2+} 濃度を可視化する実験系を導入し、加齢や疾患に伴うミトコンドリア Ca^{2+} 濃度と筋機能の関連を解析しました。その結果、加齢に伴うミトコンドリア Ca^{2+} 濃度の上昇が、ミトコンドリアの断片化と退縮を引き起こすことを見出しました。またミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入の阻害により、ミトコンドリアの断片化と退縮が抑制され、加齢による筋機能低下と筋ジストロフィー疾患モデル線虫の病態が改善されることを見出しました。本成果は筋萎縮の予防薬開発につながることを期待されます。本研究成果は米国実験生物学会連合誌 *The FASEB Journal* に 2023 年 3 月 20 日付けで掲載されました。

【詳細な説明】

研究の背景

加齢に伴う骨格筋量の減少は、一次性サルコペニアと呼ばれ、高齢化社会における深刻な問題となっていますが、その発生機序の詳細は不明な点が多くあります。また筋ジストロフィー症は骨格筋の変性壊死が生じる遺伝性の筋疾患であり、国指定の難病ですが、現時点での根本的治療薬はありません。健康寿命の延伸のために、これら筋萎縮の予防・治療薬の開発が切望されています。

筋の萎縮や崩壊の原因として、加齢や疾患に伴うミトコンドリア障害が関与することが知られており、またミトコンドリア障害に起因する細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が筋崩壊をもたらすことをこれまで報告してきました^(引用文献¹)。ミトコンドリアの Ca^{2+} 濃度は、細胞内 Ca^{2+} 濃度に依存して変化することが知られており、ミトコンドリアの機能を制御する重要な因子です。適切な Ca^{2+} 濃度ではミトコンドリア機能が活性化しますが、過剰な Ca^{2+} 蓄積は活性酸素種の誘導や細胞死を引き起こすことが知られて

います。しかし筋細胞はその動きに伴って細胞内 Ca^{2+} 濃度が大きく変動することが知られており、常に変動する細胞内 Ca^{2+} がミトコンドリア Ca^{2+} にどのような影響を及ぼすのかは不明でした。

筋細胞においてミトコンドリア Ca^{2+} の検出が難しい理由として、動物の骨格筋は複数の細胞が融合した複雑な構造をとるため、細胞内構造の観察が難しい点があげられます。それに対してモデル生物である線虫 *C. elegans* は、基本構造が動物の骨格筋と類似していますが構造がシンプルな体壁筋細胞を有しており、生きたまま顕微鏡下での観察が可能です。また線虫もヒトと同じように加齢に伴い筋機能が低下することが知られていますが、細胞の再生能力がないため、筋細胞の老化過程に焦点を合わせた解析が可能です。さらに寿命が約 1 ヶ月と短いことから、老化研究を行う際に有用なモデル生物です。

今回の取り組み

そこで今回の取り組みとして、東北大学大学院生命科学研究科の東谷篤志教授、寺西美佳助教らと名古屋大学大学院医学系研究科の小林剛講師は、東北大学医学系研究科・医工学研究科の阿部高明教授はじめ国際的な共同研究により、モデル生物線虫を用い、筋細胞ミトコンドリアに Ca^{2+} 濃度に応じて蛍光強度が変化する Ca^{2+} センサータンパク質を発現させ、筋細胞におけるミトコンドリア Ca^{2+} と細胞質 Ca^{2+} の同時ライブ観察を行いました。また加齢に伴う Ca^{2+} 濃度変化をイメージングにより解析しました。その結果、線虫筋細胞においてミトコンドリア Ca^{2+} は細胞質 Ca^{2+} に非常によく連動して変化しており、また加齢に伴いミトコンドリア Ca^{2+} 濃度は上昇することが明らかになりました。さらに Ca^{2+} 蓄積部位はミトコンドリアの選択的分解機構であるマイトファジー^(注1)によって分解されることが明らかになり、このマイトファジーによる分解が、加齢に伴うミトコンドリアの断片化と退縮の原因であると考えられました。

そこでミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入を担うカルシウムユニポーター^(注2) *mcu-1* の変異体を用いて解析したところ、加齢に伴うミトコンドリア Ca^{2+} 濃度の上昇は認められず、ミトコンドリアの断片化と退縮が抑制されました(図 1)。さらに *mcu-1* 変異体線虫は、中間寿命^(注3) が延び、加齢に伴う運動性低下とミトコンドリア機能低下が軽減されました。この効果は、ミトコンドリアカルシウムユニポーターの阻害剤として知られる Ru360 処理でも同様に見られ、ミトコンドリア Ca^{2+} 蓄積を阻害することにより、加齢に伴う筋機能の低下を軽減できることが明らかになりました。

さらに筋細胞の Ca^{2+} 制御機構の異常により病態が引き起こされることが報告されている^(引用文献 2) デュシェンヌ型筋ジストロフィー(Duchenne muscular dystrophy: DMD)の病態モデル線虫を用いた解析を行いました。その結果、DMD モデル線虫においては、若い段階からミトコンドリア Ca^{2+} が異常蓄積しており、ミトコンドリアが断片化し、消失していました。DMD モデル線虫においても、ミトコンドリアカルシウムユニポーターの阻害によりミトコンドリアの断片化と消失が軽減され、運動性が改善することが明らかになりました。またミトコンドリアへの Ca^{2+} 蓄積を抑制したところ、細胞質 Ca^{2+} の上昇も抑制されており、ミトコンドリアの機能改善により筋細胞の Ca^{2+} 制御機構の正常化が起こったと考えられました。

結論として、ミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入を阻害することで、加齢線虫や DMD モデル線虫において、筋細胞ミトコンドリアの断片化と退縮が抑制され、筋機能低下が軽減されることが明らかになりました(図 2)。近年、DMD の新規治療薬として、細胞質 Ca^{2+} を筋小胞体にもどす SERCA^(注4) の活

性化剤が開発されており、細胞質 Ca^{2+} の蓄積を抑制することが DMD の病態改善に効果的であると報告されています^(引用文献 2)。本研究成果において、DMD モデル線虫のミトコンドリア Ca^{2+} 異常蓄積の抑制によっても細胞質 Ca^{2+} の上昇が抑制されており、DMD 治療薬開発の新たなターゲットとしてミトコンドリア Ca^{2+} 蓄積阻害を提示するものです。またミトコンドリア Ca^{2+} 蓄積の抑制は、通常に加齢個体でも筋機能低下を軽減したことから、ヒトにおいても健康寿命の延伸につながる骨格筋減少の予防薬の開発ターゲットにもなりうると考えられます。

【今後の展開】

これまでに、ミトコンドリア病治療薬候補化合物である MA-5^(注 5) が DMD モデル線虫の症状緩和に機能することを発表してきました^(引用文献 3)。今後、本研究において見出したミトコンドリア Ca^{2+} 蓄積と MA-5 の治療効果の関連性に関して解析を進めることで、ミトコンドリア障害に起因する障害や疾患に対し、相加的・相乗的な改善効果をもたらすアプローチを見出していく足掛かりになると期待されます。

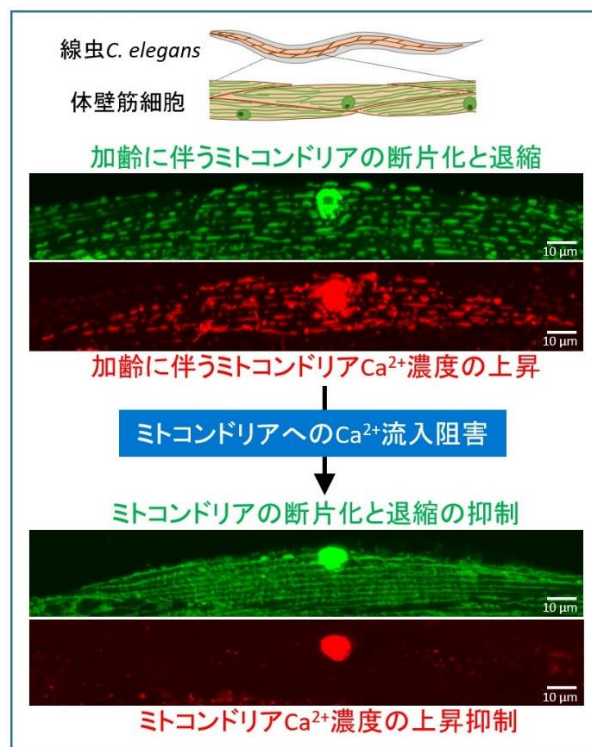


図 1. 線虫体壁筋のミトコンドリア形態とミトコンドリア Ca^{2+} のイメージング解析

(上)加齢した線虫では、ミトコンドリアが断片化し退縮する。ミトコンドリア内の Ca^{2+} 濃度は上昇しており、特にミトコンドリア断片化部位に強いシグナルが観察される。(下)ミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入を阻害することで、ミトコンドリアの断片化と退縮が抑制される。

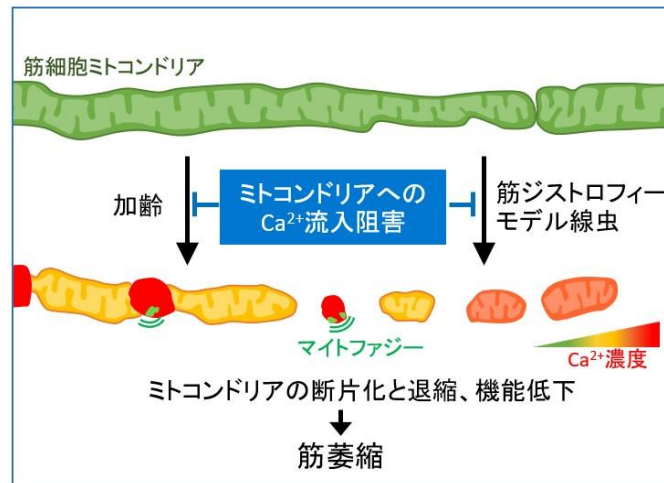


図 2. ミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入阻害による筋萎縮の改善

【謝辞】

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の AMED ムーンショット型研究開発事業 ムーンショット目標 7「ミトコンドリア先制医療」(研究代表:東北大学 阿部高明)(JP22zf0127001)、革新的先端研究開発支援事業(AMED-CREST)「メカノバイオロジー機構の解明による革新的医療機器及び医療技術の創出」研究開発領域(研究開発総括:名古屋大学 曾我部正博)(JP16814305)、および日本学術振興会科学研究費補助金(JP15H05937, JP19H04054, JP21K06149)の支援を受けて行われました

【引用文献】

引用文献 1. Sudevan S. et al. The FASEB Journal (2019) 33: 9540-9550. doi.org/10.1096/fj.201802298R (2019年6月11日 14:00 プレスリリース)

引用文献 2. Nogami K. et al. Human Molecular Genetics (2021) 30: 1006-1019. doi.org/10.1093/hmg/ddab100

引用文献 3. Wu X. et al. International Journal of Molecular Sciences (2022) 23: 9572. doi.org/10.3390/ijms23179572 (2022年9月14日 11:00 プレスリリース)

【用語説明】

注1. マイトファジー:ミトコンドリアを選択的分解するオートファジー機構。オートファジーは、細胞が有している自らの一部を分解する自食作用のこと。

注2. カルシウムユニporter: Ca^{2+} 特異的に一方向に輸送する膜タンパク質。この場合は、細胞質からミトコンドリアへ Ca^{2+} が輸送される。

注3. 中間寿命:集団の 50%が死亡する日数。中間寿命の変化は集団の健康状態を反映するため、健康寿命とも捉えられる。

注4. SERCA:小胞体に存在する Ca^{2+} ポンプ。ATP エネルギー依存的に細胞質から小胞体へ Ca^{2+} を取り込む

注5. MA-5: 東北大学医学系研究科・医工学研究科の阿部高明教授らのグループにより見出され

た直接ミトコンドリアに作用するインドール化合物。新規のミトコンドリア病治療薬として期待され、第1相臨床試験が進められている。

【論文情報】

タイトル: Increased mitochondrial Ca^{2+} contributes to health decline with age and Duchene muscular dystrophy in *C. elegans*.

著者: Atsushi Higashitani*, Mika Teranishi, Yui Nakagawa, Yukou Itoh, Surabhi Sudevan, Nathaniel J Szewczyk, Yukihiko Kubota, Takaaki Abe, Takeshi Kobayashi*

*責任著者: 東北大学大学院生命科学研究科 教授 東谷篤志、
名古屋大学大学院医学系研究科 講師 小林剛

筆頭著者: 東谷篤志、寺西美佳

掲載誌: The FASEB Journal

DOI: 10.1096/fj.202201489RR

URL: <https://doi.org/10.1096/fj.202201489RR>