

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成31年4月26日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 徳島文理大学 薬学部 病態分子薬理学研究室  
職 名 教授  
研究代表者 深田俊幸

下記のとおり平成30年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:18010)

1. 共同研究課題名	亜鉛シグナルによる骨格筋の形成と機能制御の機序解明 -運動器関連疾患の新しい治療戦略の構築を目指して-			
2. 共同研究目的	<p>本申請は、骨格筋形成と機能における亜鉛シグナルの役割を解明し、関連疾患の治療戦略の構築に挑むものである。骨格筋は個体で最大量の亜鉛を保有するが、その生理的意義は明らかではない。本申請は、筋肉緊張低下を発症する疾患の原因遺伝子である亜鉛トランスポーターZIP13 をモデル分子として、骨格筋の形成と機能における亜鉛恒常性システムの役割解明を目標とする。</p> <p>超高齢社会を迎える日本では、骨格筋をはじめとする運動器の機能低下が問題視されている。群馬大学生体調節研究所との共同研究による本研究は、骨格筋における亜鉛の役割解明にとどまらず、骨格筋と脂肪組織等の他臓器との相互作用における亜鉛シグナルの意義の解明にも貢献すると確信する。</p>			
3. 共同研究期間	平成30年 4月 1日 ~ 平成31年 3月31日			
4. 共同研究組織				
	氏 名	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者)	深田 俊幸	徳島文理大学薬学部 病態分子薬理学研究室	教授	研究総括と指導
(分担研究者)	姫野 誠一郎	徳島文理大学薬学部 衛生化学教室	教授	亜鉛の細胞内動態解析
	高岸 照久	徳島文理大学薬学部 病態分子薬理学研究室	助教	骨格筋の分化と機能の解析
	藤代 瞳	徳島文理大学薬学部 衛生化学教室	講師	亜鉛の細胞内動態解析
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	分子糖代謝制御		氏 名 藤谷与士夫

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

## 6. 共同研究計画

### 1).骨格筋における ZIP13 の役割解明

*Zip13* 遺伝子 floxed (*Zip13<sup>lox</sup>*) マウスを用いて、骨格筋特異的な *Zip13* 遺伝子欠損(KO)マウスを作製する。具体的には、*Zip13<sup>lox</sup>* マウスを *MyoD-Cre Tg* マウスと交配して出生したマウス (*Zip13<sup>MyoD</sup>* マウス) の表現型を解析し、骨格筋における ZIP13 の役割を精査する。*Zip13<sup>MyoD</sup>* マウスは、下記に示す骨格筋初代培養系を用いた実験にも適用して、ZIP13 を介する亜鉛シグナルの分子メカニズムを解明する。

### 2).ZIP13 を介する亜鉛シグナルの分子機序の解明

ZIP13 の亜鉛シグナルがどのように骨格筋に関わるのか、その分子メカニズムを解明する。具体的には、ZIP13 に会合する蛋白質を Yeast two hybrid 法で単離する。ライブラリーには、上述の骨格筋初代培養細胞や、線維芽細胞および脂肪細胞等の間葉系細胞から調整した cDNA を使用する。得られた分子は免疫沈降で会合を確認した後に、それらの分子の ZIP13 に対する亜鉛輸送能等の役割を検討する。さらに、当該患者の線維芽細胞を用いて iPS 細胞を作製し、ZIP13 および ZIP13 結合分子が間葉系細胞の運命決定の初期段階に関わるのか検討する。

### 3).脂肪組織における ZIP13 の役割解明する

*Zip13<sup>lox</sup>* マウスを用いて脂肪組織特異的 *Zip13-KO* マウスを樹立し、脂肪組織における ZIP13 を介する亜鉛シグナルの役割を解明する。さらに、骨格筋のエネルギー代謝を分析して、亜鉛シグナルを介した脂肪-骨格筋間の相互関連を究明する。

同時に、*Zip13<sup>MyoD</sup>* マウスの脂肪組織における糖代謝とエネルギー代謝(酸素消費量や locomoter activity) を評価して、骨格筋での ZIP13 の異常が他臓器に与える影響を精査する。

## 7. 共同研究の成果

### 1).骨格筋における ZIP13 の役割解明

全身性の *Zip13-KO* マウスを用いて、Wire-hung test 等で筋力測定と運動負荷試験を実施し、当該マウスが顕著な筋力低下を呈する結果を得た(未発表)。一方、*Zip13<sup>lox</sup>* マウスを *MyoD-Cre Tg* マウスと交配し、*Zip13<sup>MyoD</sup>* マウスを作成した(未発表)。現在、*Zip13<sup>MyoD</sup>* マウスの表現型を解析している。

### 2).ZIP13 を介する亜鉛シグナルの分子機序の解明

ZIP13 に会合する蛋白質として数種類の候補分子が単離されており(未発表)、それらの ZIP13 の機能制御における関わりを現在解析している。一方、筋芽細胞株 C2C12 細胞を用いて *Zip13* 遺伝子-ノックダウン(KD)細胞株を作成し、骨格筋分化誘導刺激における ZIP13 の役割を精査している。現時点において、ZIP13 は C2C12 細胞の骨格筋への分化誘導に必要であること、分化誘導時に発現上昇する *MyoD* 遺伝子の発現誘導に関与するここ、さらに、*Zip13-KD* 細胞に *MyoD* を誘導的に過剰発現することにより、骨格筋分化誘導をレスキューすることができることを見出している(未発表)。以上の結果は、ZIP13 が骨格筋分化誘導のマスター制御因子である *MyoD* の発現誘導に関与することを示しており、同様の結果は *Zip13-KO* マウスから作成した iPS 細胞を用いた骨格筋分化誘導実験でも得られている(未発表)。現在、ZIP13 がどのようにして *MyoD* 遺伝子の発現を制御しているのか、その分子機序を解析している。

### 3).脂肪組織における ZIP13 の役割解明する

*Zip13<sup>lox</sup>* マウスを *Adiponectin-Cre Tg* マウスと交配して脂肪組織特異的 *Zip13-KO* マウスを樹立し、現在それらの表現系を解析している(未発表)。また、ZIP13 に会合する蛋白質として単離された候補分子に注目し、ZIP13 が関与するペーリュ脂肪褐の分化抑制におけるそれらの役割について、*Zip13-KO* マウスから単離した脂肪前駆細胞を用いた分化系を適用して解析している。

## 8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

### ①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

該当なし

### ②この共同研究に基づくとの記載のある論文

該当なし