

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

令和2年 4月 1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
職 名 教授
研究代表者 深田 俊幸

下記のとおり令和元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 -患者由来 iPS 細胞を用いた新しい治療戦略の開発-			
2. 共同研究目的	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、新しい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。本研究では、亜鉛トランスポーターZIP13 の失調による筋萎縮や筋緊張低下を呈する患者由来の iPS 細胞株および、その疾患モデルマウスに由来する iPS 細胞株を解析することで、骨格筋の形成における ZIP13 の生理的役割を明らかにするとともに、骨格筋関連疾患に対する再生医療研究を目標とする。 一方、骨格筋は、脂肪組織などの他の組織との間で相互に連携しているため、骨格筋の機能低下は個体の恒常性維持に影響する。群馬大学生体調節研究所との共同による本研究は、脂肪組織や他の組織の形成と機能における亜鉛シグナルの役割と意義について、新たな理解をもたらすことが期待される。特に、骨格筋の機能低下が病態形成に関与する二型糖尿病などの内分泌代謝関連の疾患への治療法の開発にも、有益な知見がもたらされられると思われる。			
3. 共同研究期間	平成31年 4月 1日 ～ 令和2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	研究の総括と指導	
(分担研究者) 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	
原 貴史	徳島文理大学薬学部 病態分子薬理学研究室	講師	骨格筋の分化と機能の解析	
葛原 隆	徳島文理大学薬学部 生化学教室	教授	iPS 細胞関連実験	
庄司 正樹	徳島文理大学薬学部 生化学教室	講師	iPS 細胞関連実験	
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 の役割を解明する.

骨格筋特異的 *Zip13*-cKO マウスを作製する。具体的には、*Zip13* 遺伝子 floxed (*Zip13^{flax}*) マウスを *MyoD*-Cre マウスと交配し、出生したマウス (*Zip13^{MyoD}*-cKO マウス) の個体レベルの表現型を解析して、骨格筋における ZIP13 の生理的役割を精査する。*Zip13^{MyoD}*-cKO マウスは、骨格筋初代培養系を用いた実験にも適用し、骨格筋の形成における ZIP13 を介する亜鉛シグナルの分子メカニズムを明らかにする。

2).骨格筋関連疾患の病態発症メカニズムを解明する.

ZIP13 の亜鉛シグナルがどのように骨格筋関連疾患に関わるのか、その病態発症メカニズムを解明する。具体的には、*Zip13*-KO マウスから樹立した iPS 細胞株に骨格筋分化誘導系を適用し、遺伝子発現の変動を RNA シークエンスで網羅的に解析することにより、骨格筋の形成過程における ZIP13 の作用点を明らかにする (担当: 深田・高岸・原)。さらに、脊椎手掌異形成型エーラス・ダンロス症候群 (EDSSPD3) 患者の線維芽細胞から樹立した iPS 細胞株を骨格筋分化誘導系に適用し、骨格筋病態モデリングを行って ZIP13 の作用機序を解析する。また、患者由来 iPS 細胞株に野生型 *Zip13* 遺伝子を導入することで、当該疾患細胞に観察された異常が回復されるのか検討する (担当: 葛原・庄司)。

3).脂肪組織における ZIP13 の役割を解明する.

Zip13^{flax} マウスを用いて脂肪組織特異的 *Zip13*-cKO 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 (既に脂肪組織特異的 *Zip13*-cKO マウスは作製済み)。さらに、骨格筋のエネルギー代謝を精査して、ZIP13 の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^{MyoD}*-cKO 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 locomotive activity) を評価することにより、骨格筋での ZIP13 の失調が骨格筋以外の組織に及ぼす影響を精査する。

7. 共同研究の成果

1).骨格筋における ZIP13 の役割を解明する.

Zip13^{flax} マウスを *MyoD*-Cre マウスと交配し、*Zip13^{MyoD}*-cKO マウスを作成した (未発表)。*Zip13^{MyoD}*-cKO マウスに Wire-hung test 等で筋力測定と運動負荷試験を実施したところ、約 40 週齢を超えた時点から、顕著な筋力低下を呈する結果を得た (未発表)。現在、当該マウス由来の骨格筋幹細胞と間葉系幹細胞を適用して、骨格筋分化における ZIP13 の役割と機序の解明に関する解析を実施している。

2).骨格筋関連疾患の病態発症メカニズムを解明する.

Zip13-KO マウス由来 iPS 細胞株を適用して、骨格筋分化誘導実験を以下の 2 種類の方法で行なった。

1.外因性 MyoD 遺伝子導入法

MyoD 遺伝子を薬剤依存的に発現誘導する iPS 細胞株を樹立しており、MyoD の発現量が同程度の iPS 細胞株を複数樹立した (未発表)。現在、当該 iPS 細胞株を用いて解析している。

2.遺伝子導入非依存的筋分化誘導法

Zip13-KO マウス由来 iPS 細胞から得られた胚様体 (embryonic body: EB) に、筋分化誘導系を適用して解析した。その結果、ZIP13 が骨格筋への分化に必須な転写因子である *MyoD* 遺伝子の発現を誘導することで、骨格筋の分化誘導に関与していることが示唆された (未発表)。さらに、EDSSPD3 患者由来 iPS 細胞株でも同様な結果が得られている (未発表)。現在、ZIP13 の亜鉛シグナルがどのような経路を介して *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 の役割を解明する

Zip13^{flax} マウスを *Adiponectin*-Cre Tg マウスと交配して脂肪組織特異的 *Zip13*-cKO マウスを作成し、表現型を解析している (未発表)。一方、ZIP13 に会合する複数の分子が単離されており、それら会合分子の機能について、*Zip13*-KO マウスから単離した脂肪前駆細胞を用いた分化誘導系を適用して解析を進めている。

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