

課題番号 4

ロコモの可視化と動物モデルの確立

[1] 組織

代表者：平田 普三

(青山学院大学理工学部)

対応者：舟橋 淳一

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：荻野 一豊 (青山学院大学理工学部)

東海林 互 (東北大学学際科学フロンティア研究所)

研究費：物件費 37 万 3 千円，旅費 7 万 7 千円

[2] 研究経過

日本人の平均寿命は男性 80.50 歳、女性 86.83 歳で男女平均では世界一をほこり、これはとても喜ばしいことである。同時に日本は 2013 年に 65 歳以上の高齢者が総人口の 25%を超える超高齢化社会に突入した。総務省の人口推計によると高齢者比率は 2035 年には 33.4%になり、2050 年代に 40%に達する見込みで、その後も社会の超高齢化は進むとされている。そんな中、「ロコモ」が社会問題として認識されつつある。ロコモとはロコモティブシンドローム (locomotive syndrome) という造語の略で、加齢や運動不足による身体機能低下や運動器疾患と定義される。簡単に言うと、年を取って筋が萎縮したり、関節が曲がらなくなったりして、最後には要介護となる老人病のことであり、成人病「メタボ」を上回る国民病となるのは時間の問題である。患者を対象としたロコモの疫学調査や運動促進の啓発活動は行われているが、動物を用いたロコモの実験系は十分に確立されているとはいえない。社会情勢を鑑みるとロコモ対策は急務であり、動物モデルを用いたロコモの理解と治療法確立は緊急の課題である。

本共同研究では生体内ライブイメージングに精通した舟橋淳一准教授 (加齢研)、ゼブラフィッシュの神経筋投射の可視化系を構築した東海林互准教授 (東北大学学際科学フロンティア研究所) の協力を得て、ゼブラフィッシュで筋萎縮を非侵襲的に解析する「筋萎縮の評価系」と早期にロコモを発症する「ロコモ誘導系」を確立・融合してロコモの理解と治療法確立を目指す。

本共同研究の遂行にあたり、以下のように研究打ち合わせの開催状況を記す。

4~8 月：メール打ち合わせ

9 月：小型魚類研究会 (大阪) で打ち合わせ、スクリーン会議

10 月：メール打ち合わせ

11 月：加齢医学研究所で打ち合わせ

12~1 月：メール打ち合わせ



図1 研究の展望

本共同研究では筋萎縮評価系とロコモ誘導系の確立し、これらを融合してロコモ解析系を構築し、ロコモの理解を目指す。1年で完了する研究プロジェクトではないが、共同研究者の協力を得て、地道に進めていく。

[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に筋萎縮評価系の確立の目的で筋を可視化するトランスジェニックゼブラフィッシュの樹立を進めた。具体的には筋で強力な転写活性を発揮するプロモーターを単離し、これで局在型 GFP、RFP、YFP、カルシウム指示蛍光タンパク質 GCaMP をドライブするコンストラクトを作製し、To12 トランスポゾンシステムを用いてゼブラフィッシュ受精卵にインジェクションで導入した。インジェクションしたファウンダー個体 (F0) を成魚まで育て、野生型と交配させて F1 個体を得ると、GFP、RFP、YFP、GCaMP のいずれも F1 の稚魚で特異的な発現が観察されたことから、トランスジェニック系統の樹立にほぼ成功したと考えられる。稚魚期に明るい蛍光シグナルが観察される F1 個体を成魚まで育て、F2 個体を得て、F2 で発現・明るさの点で再現がとれれば系統樹立に成功したといえるだろう。

第2にロコモ誘導系の確立の目的で、老化関連遺伝子を破壊した個体や変異タンパクを発現する個体の樹立を進めた。具体的には老化に関係する遺伝子や、発現が低下すると老化マーカーが亢進するような遺伝子に注目し、遺伝子破壊を視野に CRISPR をデザインして DNA 二本鎖切断活性を比較検討し、低い

ながらも活性のある CRISPR を得た。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究から学外研究者、また海外の研究者との交流が活性化しつつあり、そのネットワークを活かして第 25 回国際神経化学学会大会（ケアンズ・豪国）で招待講演をする機会を得た。また、本研究で作製中のトランスジェニックゼブラフィッシュを使いたいという需要があり、今後、共同研究が広がる事が期待される。

[4] 成果資料

1. Knierim, E., Hirata, H.*, Wolf, N. I., Morales-Gonzalez, S., Schottmann, G., Tanaka, Y., Rudnick-Schöneborn, S., Orgeur, M., Zerres, K., Vogt, S., van Riesen, A., Gill, E., Seifert, F., Zwirner, A., Kirschner, J., Goebel, H. H., Hübner, C., Stricker, S., Meierhofer, D., Stenzel, W. and Schuelke, M.*

Mutations in subunits of the activating signal cointegrator 1 complex are associated with prenatal spinal muscular atrophy and congenital bone fractures.

Am. J. Hum. Genet. 98: 473-489 (2016).

(*Corresponding authors)

2. Kotani, Y., Morito, D.*, Yamazaki, S., Ogino, K., Kawakami, K., Takashima, S., Hirata, H.* and Nagata, K.*

Neuromuscular regulation in zebrafish by a large AAA+ ATPase/ubiquitin ligase, mysterin/RNF213.

Sci. Rep. 5: 16161 (2015).

(*Corresponding authors)

3. Ogino, K., Low, S. E., Yamada, K., Saint-Amant, L., Zhou, W., Muto, A., Asakawa, K., Nakai, J., Kawakami, K., Kuwada, J. Y. and Hirata, H.*

RING finger protein 121 facilitates the degradation and membrane localization of voltage-gated sodium channels.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 112: 2859-2864 (2015).

(*Corresponding author)

4. Stöddberg, T.*, McTague, A.*, Ruiz, A. J.*, Hirata, H.*, Zhen, J., Long, P., Farabella,

I., Meyer, E., Kawahara, A., Vassallo, G., Stivaros, S. M., Bjursell, M. K., Stranneheim, H., Tigerschiöld, S., Persson, B., Bangash, I., Das, K., Hughes, D., Lesko, N., Lundeberg, J., Scott, R. C., Poduri, A., Scheffer, I. E., Smith, H., Gissen, P., Schorge, S., Reith, M. E. A., Topf, M., Kullmann, D. M., Harvey, R. J., Wedell, A. and Kurian, M. A.

Mutations in *SLC12A5* in epilepsy of infancy with migrating focal seizures. *Nature Commun.* 6: 8038. (2015)

(*Co-first authors)