

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)

平野 容亘 (青山学院大学大学院理工学研究科)

田中 悠 (青山学院大学大学院理工学研究科)

松川 えり (青山学院大学大学院理工学研究科)

東海林 亙 (東北大学学際科学フロンティア研究所)

研究費：物件費 10 万 4 千円，旅費 9 万 6 千円

[2] 研究経過

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。総務省の推計によると高齢者比率は2050年代に40%に達する見込みで、その後も高止まりするとされている。近年、「ロコモ」が社会問題として広く認識されつつある。ロコモとはロコモティブシンドローム (locomotive syndrome) の略で、加齢による筋萎縮 (サルコペニア) を発展させた加齢性疾患の概念であり、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。成人病「メタボ」を上回る国民病になるのは時間の問題とされる。患者を対象としたロコモの疫学調査は行われているが、動物を用いたロコモの実験系は十分には確立されているとはいえない。日本社会の高齢化が進む中、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創薬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亙准教授 (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を可視化し、筋萎縮を非侵襲的に解析する「筋萎縮の評価系」と早期に加齢してロコモを発症する「ロコモ誘導系」を融合することで、ロコモの理解とその先にある創薬を目指

す。本研究課題は昨年度からの継続課題である。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を行った。

8 月：小型魚類研究会 (岡崎) で打ち合わせ

9 月：加齢医学研究所 (仙台) で打ち合わせ

10～12 月：メール打ち合わせ

[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。

第1に筋萎縮の評価系を構築する目的で、筋で強力な転写活性を發揮するプロモーターで核局在型 GFP、細胞膜局在型 YFP、アクチン線維結合型 RFP を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを To12 トランスポゾンシステムを用いて作製し、それぞれの系統を樹立した (図1)。現在はこれらの系統の交配を進めており、トリプルトランスジェニックゼブラフィッシュを得ることで、筋の細胞の数と太さ、1細胞当たりの核の数、アクチン線維の太さを同一個体で評価する実験系の確立を進めている。さらに色素を欠損した変異体系統にのせることで、成魚における筋の可視化を行いたい。

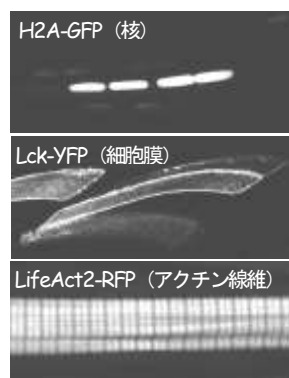


図1 ゼブラフィッシュの筋の生体内可視化

第2にロコモ誘導系を構築する目的で、老化が早く起こる変異体やトランスジェニックの作製を進めた。ハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群は核ラミナの構成成分である LMNA の優性変異によって発症する早老症である。To12 トランスポゾンシステムを用いて変異型 LMNA タンパク質を発現するトランスジーンをゼブラフィッシュに導入することで、早老するトランスジェニックゼブラフィッシュの作製を目指したが、変異型 LMNA を高発現する個体は全て F0 (ファウンダー世代) で重篤な奇形を

生じ、幼魚期に死んでしまった。このことから変異型 LMNA タンパク質はきわめて毒性が高いことが分かった。To12 トランスポゾンによるトランスジーン導入において、トランスジーンはゲノムのランダムな位置に挿入されることから、挿入部位によっては変異型 LMNA タンパク質をきわめて低いレベルで発現する個体も得られると期待された。F0 作製をする中で、成魚まで育つ F0 も得られつつある。まもなく F0 が交配可能になるので、F1 世代を得て早老するトランスジェニック系統を確立したい。

(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る。本研究に興味をもった米国ロックフェラー大学の電気生理学者 Sean Low 博士が日本学術振興会の長期招聘研究員として研究代表者の研究室に1年間来ることになった。本研究では筋の形態の解析を中心に進めていく予定だが、これに筋の生理の解析を加えられると期待され、本研究の発展が期待される。

[4] 成果資料

1. Nakahata, Y., Eto, K., Murakoshi, H., Watanabe, M., Kuriu, T., **Hirata, H.**, Moorhouse, A. J., Ishibashi, H. and Nabekura, J. (2017) Activation-dependent rapid postsynaptic clustering of glycine receptors in mature spinal cord neurons. *eNeuro*. 4: 1.
2. Boubakri, M., Chaya, T., **Hirata, H.**, Kajimura, N., Kuwahara, R., Ueno, A., Malicki, J., Furukawa, T. and Omori, Y. (2016) Loss of ift122, a retrograde intraflagellar transport (IFT) complex component, leads to slow, progressive photoreceptor degeneration due to inefficient opsin transport. *J. Biol. Chem.* 291: 24465-24474.
3. Ogino, H. and **Hirata, H.** (2016) Defects of the glycinergic synaptic in zebrafish. *Front. Mol. Neurosci.* 9: 50, 1-18.
4. 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.* (2016) 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. (*Corresponding authors)