

心不全に合併するサルコペニアの機序の解明

絹川真太郎

九州大学大学院医学研究院 循環器内科学

【研究の背景】

サルコペニアを合併する高齢心不全患者が増加している。サルコペニアは、生命予後だけでなく身体活動の低下と密接に関連しているが、運動療法以外に有効な治療法はない。この中心病態である骨格筋萎縮は Akt リン酸化を介するタンパク合成とユビキチンプロテオソーム系によるタンパク分解のバランスの破綻によってもたらされる¹⁾。我々は、心筋梗塞(MI)後心不全モデルにおいて、骨格筋萎縮がおこり、Akt リン酸化障害が重要な役割を果たしていることを報告した²⁾。骨格筋では主に脂肪酸と糖をエネルギー基質として用いる。心不全では、骨格筋の代謝シフト、すなわち脂肪酸酸化が障害され、解糖系に依存したエネルギー産生の割合が高くなっている。解糖系の副経路のヘキサミン生合成経路の代謝産物を基質として、タンパクのセリンおよびスレオニン残基の O-GlcNAc 化修飾が起こる。この翻訳後修飾は、タンパクリン酸化修飾の制御に関わっていることが知られている。骨格筋が生体の代謝の中心であることから心不全における骨格筋萎縮の形成・進展に O-GlcNAc 修飾に関わっている可能性があるという仮説を立てた。

【目 的】

本研究の目的は、心不全における骨格筋萎縮の形成・進展にタンパク合成や分解に関わる種々のタンパクの O-GlcNAc 化修飾が重要な役割を果たしているかどうかを明らかにすることである。

【方 法】

C57BL/6J マウスを購入し(日本 SLC 株式会社)、12時間の明暗サイクル下で、標準食と水へのアクセスが自由な環境で、飼育された。すべての動物実験ならびに実験に用いたマウスの飼育保管および実験計画は九州大学動物実験委員会にて承認され、九州大学動物実験マニュアルに従って実施された。

8-12 週齢のマウスの左冠動脈を結紮することによって、MI を作成した。対照群として冠動脈を結紮しない偽手術(Sham)を行った。手術後4週間飼育し、実験を行った。心エコーによる評価、小動物トレッドミルを用いた運動能力評価を行い、深麻酔下(3 種混合麻酔)に下肢骨格筋が摘出された。重量測定後に、骨格筋組織は組織学的評価(ヘマトキシリン-エオジン染色)およびウエスタンブロットに用いられた。C2C12 骨格筋培養細胞を用いて、O-GlcNAcase (OGA)阻害薬である Thiamet G (10^{-8} - 10^{-6} mol/L)を添加し、24 時間後にタンパク回収を行い、ウエスタンブロットに用いられた。ウエスタンブロットは一般的な方法で行われた。

【結 果】

MI マウスは Sham マウスと比較して、左室拡張末期径が拡大、左室短縮率が低下、肺重量が増加し、心不全状態を呈した。また、運動能力も MI マウスで 50%まで低下した。下肢骨格筋重量は有意に低下し、取り出した骨格筋の組織学的評価では、骨格筋細胞断面積は 15%減少し、心不全モデルにおいて骨格筋が萎縮した。

次に、タンパク合成系および分解系に関係する分子の評価を行った。Akt および mTOR タンパク発現は両群で違いがな

かった。MI マウスの骨格筋において Sham マウスと比較して Akt リン酸化レベルは 20%減少し、mTOR リン酸化レベルは 16%減少した。さらに、MI マウスの骨格筋において Sham マウスと比較して atrogen-1 および MuRF1 タンパク発現は 51%、65%増加した。従って、タンパク合成・分解系のバランスが破綻していた。

MI マウスの骨格筋において Sham マウスと比較して、骨格筋タンパクの O-GlcNAc 化修飾は有意に低下した。O-GlcNAc 化を制御する分子タンパクを評価したところ、OGA は有意に増加した。また、C2C12 骨格筋培養細胞への Thiamet G の添加は濃度依存性に骨格筋タンパクの O-GlcNAc 化を増加させた。同時に、atrogin-1 や MuRF1 タンパク発現を減少させた。

【考 察】

本研究において、MI マウスの骨格筋で萎縮が起こり、タンパク合成・分解のバランスが破綻していた。その際、骨格筋タンパクの O-GlcNAc 化が低下していた。このことは OGA の増加によって達成された。C12C12 培養細胞を用いた実験で、OGA を抑制することによって、O-GlcNAc 化を増加させることによって、萎縮関連タンパクの発現が減少することが明らかとなった。これらの結果は、骨格筋タンパクの O-GlcNAc 化と骨格筋萎縮は密接に関連することを示唆している。

圧負荷肥大心モデルにおいて、心筋における O-GlcNAc 化が増加し、このことは心肥大シグナルの鍵分子である Akt リン酸化の活性化と密接に関連していた³⁾。O-GlcNAc 化とリン酸化の部位は同じ場所もしくは近傍で起こるため、タンパクのリン酸化の制御に重要な役割を果たしていると考えられる⁴⁾。したがって、MI モデルでの骨格筋萎縮、骨格筋 Akt リン酸化低下と O-GlcNAc 化修飾が密接に関連している可能性が示唆される。今後この点の因果関係を詳細に検討する必要がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究において、心不全における骨格筋萎縮の機序に基づく新規治療ターゲットが明らかとなれば、新たな治療法の開発へと発展する可能性がある。高齢化社会を迎え、心不全は増加の一途を辿っている。骨格筋萎縮を特徴とするサルコペニアやフレイル合併の心不全患者の治療法開発は今後の医療における大きな課題の一つである。本研究はこの重要な課題に挑戦する研究であり、極めて臨床的意義が高い。

【参考・引用文献】

- (1) Kinugawa S, et al. Skeletal muscle abnormalities in heart failure. *Int Heart J.* 2015;56:475-84
- (2) Nambu H, et al. Inhibition of xanthine oxidase in the acute phase of myocardial infarction prevents skeletal muscle abnormalities and exercise intolerance. *Cardiovasc Res.* 2021;117:805-19
- (3) Ishikita A, et al. *iScience.* 2021;24:103517.
- (4) Butkinaree C, et al. O-linked beta-N-acetylglucosamine (O-GlcNAc): Extensive crosstalk with phosphorylation to regulate signaling and transcription in response to nutrients and stress. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1800:96-106.