

筋肉を速筋タイプにする転写因子を同定 ～加齢や病気で低下した筋機能の改善方法開発に期待～

筋肉（骨格筋）を構成する筋線維（骨格筋細胞）は、遅筋（I型、赤筋）と速筋（II型、白筋）の2タイプに大別され、さらに速筋は3タイプ（IIa, IIx, IIb）に分けられます。遅筋はマラソンのような持久的な筋収縮が得意です。一方、速筋は収縮スピードが速く、瞬間的に大きな力を出す特性があります。実際の筋肉には異なるタイプの筋線維がモザイク状に入り混じって存在しており、その比率によって、収縮能力や代謝能力など筋肉の質が決まります。筋肉の線維タイプ組成は、さまざまな環境因子（老化、トレーニング、宇宙滞在、不活動、筋疾患、食事など）の影響で後天的に変化します。

これまで、遅筋線維を誘導する強力な因子はいくつか同定されてきましたが、速筋線維を誘導する因子はほとんど知られていませんでした。このため、本研究チームは、特に速筋線維を作り出す機構の解明を目指しています。

宇宙環境下でマウスを約1カ月飼育すると、筋肉の萎縮と速筋化が生じることは古くから知られていました。本研究チームは今回、宇宙飼育マウスの骨格筋で発現している遺伝子を解析し、大Maf群転写因子（*Mafa*, *Mafb*, *Maf*）と呼ばれる3種類の遺伝子の発現が顕著に上昇していることを発見しました。次に、その働きを調べるため、骨格筋に発現する大Maf群転写因子をすべて欠損させたノックアウトマウスを作製しました。すると、このマウスの筋肉は、速筋タイプの中でも最も速筋線維の特性が強いIIbタイプが消失し、IIaとIIbだけで構成されるようになりました。また、それとは反対に、大Maf群転写因子を筋肉で過剰に発現させると、本来はIIb線維を持たない筋肉でIIb線維を作出できることを明らかにしました。

今回の研究成果を踏まえ、大Maf群転写因子を創薬のターゲットにすれば、加齢や病気によって変化した筋線維のタイプを再プログラム化し、筋肉の質を改善させる方法の開発が期待できます。また、将来的には、肉質制御による食肉産業への応用、さらにはアスリート向けなどのトレーニングプログラムの開発にもつながると考えられます。

研究代表者

筑波大学医学医療系/トランスボーダー医学研究センター 再生医学分野

藤田 諒 助教（卓越研究員）

筑波大学医学医療系/トランスボーダー医学研究センター 遺伝子改変マウス分野

高橋 智 教授

研究の背景

骨格筋は筋線維（骨格筋細胞）と呼ばれる細長い線維状の細胞が束になった組織です。骨格筋は収縮特性や代謝特性に応じて、遅筋タイプ（I型、赤筋）と速筋タイプ（II型、白筋）の骨格筋線維タイプ^{注1)}に大別されます。実際の筋組織には異なるタイプの筋線維がモザイク状に入り混じっており、この比率によって、遅筋タイプあるいは速筋タイプかが分類されます。さらに、タイプIIの速筋タイプは、IIa, IIx, IIbに細かく分類され、表記の順に速筋タイプの特性が徐々に強まっていくと考えられています。この分類方法は、筋線維に発現するミオシン重鎖（Myosin Heavy Chain, MyHC）というタンパク質の種類によって決定されています。成体のげっ歯類では、4種類のミオシン重鎖タンパク質（MyHC I, IIA, IIX, IIB）が発現しており、筋線維タイプと対応しています。

筋線維タイプは環境要因によって変動することが分かっており、加齢に伴い骨格筋線維タイプは一般に遅筋化^{注2)}の方向に向かっていくことが示唆されています。一方で、不活動の状況では、速筋化^{注2)}が誘導されることが知られています。そして、筋線維タイプ組成の比率は運動パフォーマンスや、疲労抵抗性に関わるだけでなく、糖尿病の発症や遺伝性筋疾患の進行にも大きな影響を及ぼすことが知られています。このことは、筋肉量だけでなく、筋肉の質がサルコペニア^{注3)}や筋疾患の予防や治療にいかに重要であるかを表していると言えます。

しかし、これまでタイプI筋線維を誘導する非常に強力な因子が同定されていたものの、速筋タイプ（IIa, IIx, IIb）を誘導する因子はほとんど知られていませんでした。このため、本研究チームは速筋タイプを誘導する因子を同定することで、筋の質変化によるサルコペニアをはじめとした筋疾患治療介入などに結びつけることを目指しています。

研究内容と成果

初めに本研究では、速筋化が強く惹起される条件下で発現が誘導される転写因子^{注4)}に着眼しました。

本研究チームは宇宙航空研究開発機構（JAXA）と共同で宇宙実験を行ない、マウスを約1カ月、宇宙環境下で飼育しました。宇宙飼育マウスは筋肉の萎縮と速筋化が生じることが古くから知られています。本研究チームはこの宇宙飼育マウスの骨格筋から得られた網羅的遺伝子発現解析データを用い、大Maf群転写因子（*Mafa*, *Mafb*, *Maf*）^{注5)}の発現が宇宙滞在によって顕著に上昇することを発見しました。

次に、大Maf群転写因子の機能を明らかにするために、大Maf群転写因子を構成する *Mafa*, *Mafb*, *Maf* をそれぞれ欠損するノックアウトマウス^{注6)}を作製し、骨格筋量や筋線維タイプの比率を比較しました。しかし、どの大Maf群転写因子を欠損しても、骨格筋量や筋線維タイプの比率は野生型マウスと比較してほとんど変化はありませんでした。

このため本研究チームは、それぞれの大Maf群転写因子は異なった遺伝子としてコードされていても、構造的に非常によく似ており、機能的にそれぞれお互いを相補的に補完しているため、一つずつを欠損するだけでは骨格筋に大きな変化は出ないのではないかと仮説を立てました。そこで、*Mafa*, *Mafb*, *Maf* の3種類を全て同時に欠損する3重ノックアウトマウスを作製しました。驚くべきことに、大Maf群転写因子を全て欠損した骨格筋では速筋タイプのうち、タイプIIb線維のみがほぼなくなり、代わりにタイプIIx, IIa線維のみで構成される筋肉へと変化していました（参考図）。また、速筋の性質が最も強いIIb線維がなくなったことで、3重欠損マウスが発揮できる筋力は低下した一方、長距離走の成績は反対に上昇しました。この結果は、筋肉の質的变化が個体の身体パフォーマンスに大きな影響を及ぼすことを示唆しています。

この結果を受け、大Maf群転写因子が直接的にタイプIIb筋線維を作り出す主要な因子なのではないかと考え、ヒラメ筋^{注7)}に *Mafa*, *Mafb*, *Maf* をそれぞれ過剰発現させました。ヒラメ筋は本来、タイプ

IIb 筋線維をほとんど持ちませんが、各大 Maf 転写因子を過剰発現することで、タイプ IIb 筋線維を誘導することに成功しました。さらに、この分子メカニズムとして、各大 Maf 転写因子は直接 *Myh4* (MyHC IIB に対応する遺伝子) の発現制御領域にある特異的な配列 (MARE 配列) に結合し、遺伝子発現を誘導していることを証明しました。興味深いことに、大 Maf 群転写因子は MyHC IIB のみを特異的に誘導する作用を持ち、他の MyHC の遺伝子発現制御には関与していないことが分かりました。

本研究は大 Maf 群転写因子群が速筋線維タイプの一つであるタイプ IIb 線維を直接作り出すことができる非常に強力な因子であることを証明しました。本研究成果によって、加齢に伴う遅筋化の予防に加えて、既に遅筋化してしまった筋肉を速筋の組成が高かった若い頃の筋肉へと再プログラム (リプログラム) する新たな介入を可能にすると考えられます。

今後の展開

今後は、マウスだけでなくヒト骨格筋細胞でも大 Maf 群転写因子によって、タイプ IIb 筋線維を誘導できるかどうかを明らかにします。実はヒトや大型の哺乳類ではタイプ IIb 筋線維をほとんど発現していないことが知られていますが、大 Maf 群転写因子の発現を調整することによって、ヒトを含むタイプ IIb 筋線維を発現しない細胞でも、タイプ IIb 線維を作成可能だと考えています。また、私たちはタイプ IIb 筋線維だけでなく、タイプ IIa や IIx を直接誘導する転写因子もあると仮説を立て、これらの因子の探索も開始しています。

本研究によって、骨格筋の質を制御する主要因子が一つ明らかとなりました。今後、現代日本の大きな社会問題となるサルコペニアの予防・治療として、骨格筋量だけでなく、骨格筋の質を変化させることに着眼した戦略がより大きな注目を集めると考えます。また、本研究成果であるタイプ IIb 筋線維の直接誘導方法の開発は、高齢者のみならず、健常者やより強く素早く収縮する筋肉を鍛える必要のあるアスリートにも大きな影響を与える可能性があります。さらに、近年大きな注目を集める培養肉をはじめとした食肉の肉質制御に応用できる可能性もあります。今後も本研究チームは骨格筋の質の変化を通して、人類の健康や営みの改善に貢献していきたいと考えています。

参考図

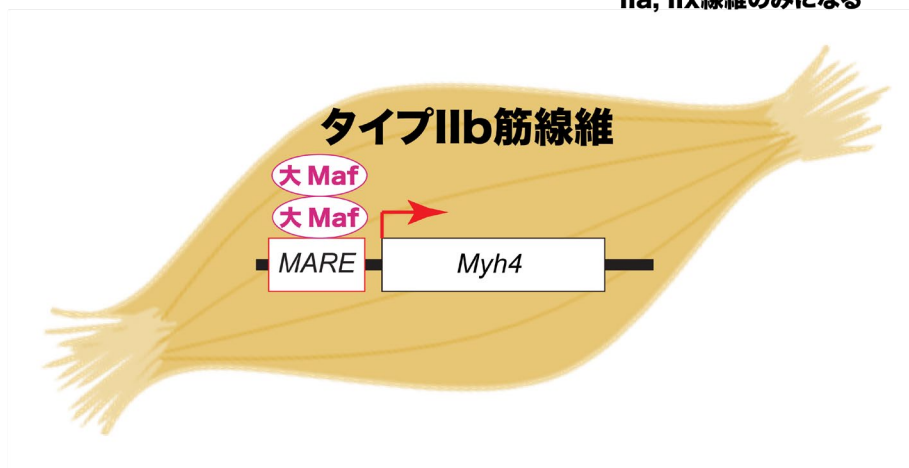
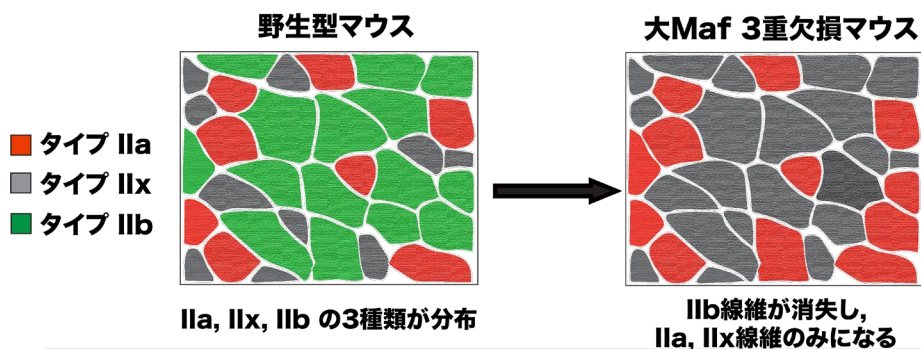


図 本研究結果のまとめ

大 Maf 群転写因子 (*Mafa*, *Mafb*, *Maf*) を全て欠損した 3 重欠損マウスはタイプ IIb 筋線維のほぼ完全な消失が認められました (上段)。タイプ IIb 筋線維を全く持たない筋肉で大 Maf 群転写因子を強制発現させることで、タイプ IIb 筋線維の誘導に成功しました。その機構としては、大 Maf 群転写因子はタイプ IIb の主要遺伝子である *Myh4* のプロモーター上に存在する MARE 配列に直接結合し、その発現を直接誘導し、タイプ IIb 線維を誘導することを明らかにしました。

用語解説

注1) 骨格筋線維タイプ

マウスに関しては、形態的および機能的特徴から遅筋線維と速筋線維に大別される。遅筋線維は持続力、速筋線維は瞬発力に特化している。組織学的特徴から、遅筋線維はタイプ I、速筋線維はタイプ II に相当し、タイプ II はさらにタイプ IIa, IIx, IIb に分類される。

注2) 遅筋化・速筋化

さまざまな環境因子に応じて、筋線維タイプの特徴が変化すること。I⇔IIa⇔IIx⇔IIb のように、左にいけば遅筋化、右にいけば速筋化。

注3) サルコペニア

加齢にともなう筋力・筋量減弱症のこと。超高齢社会に突入し、人生 100 年時代を迎えた我が国において、サルコペニア発症の分子機序やその予防策、治療方法の発見は喫緊の課題である。

注4) 転写因子

DNA に結合することで、特定の遺伝子の発現を制御するタンパク質の総称。

注5) 大 Maf 群転写因子

ヒト及びマウスでは *Mafa*, *Mafb*, *Maf*, *Nrl* の 4 種類が存在することが知られている転写因子で、Maf 認識配列 MARE に結合することでターゲット遺伝子の発現を誘導する。*Nrl* は骨格筋では発現していな

い。これまでの研究で、大 Maf 群転写因子はさまざまな臓器の発生や機能に重要であり、疾患の発症とも関連していることが報告されている。

注6) ノックアウトマウス

特定の遺伝子を遺伝子組換え技術によって欠損させたマウス。遺伝子の機能を失わせることにより、その遺伝子の生体内での意義を調べるための重要なモデル動物。

注7) ヒラメ筋

下腿にある骨格筋の一つで、成体マウスではタイプIとタイプIIa 線維を含み、IIb 線維はほとんど存在しない。

研究資金

本研究は、宇宙航空研究開発機構「きぼう」重点課題テーマ、科学研究費補助金 新学術領域研究（宇宙にいきる）、共創の場形成支援プログラム(COI-NEXT)「つくば型デジタルバイオエコノミー社会形成の国際拠点」、文科省卓越研究員事業の研究プロジェクトの一環として実施されました。

掲載論文

【題名】 Large Maf transcription factor family is a major regulator of fast type IIb myofiber determination. (大 Maf 群転写因子は骨格筋を速筋線維タイプ IIb に決定する主要な因子である)

【著者名】 定木駿弥, 藤田諒, 林卓杜, 中村綾乃, 岡村結, 布施谷清香, 濱田理人, 蕨栄治, 久野朗広, 石井亜紀子, 村谷匡史, 岡田理沙, 芝大, 工藤崇, 武田伸一, 高橋智

【掲載誌】 Cell Reports

【掲載日】 2023年3月22日 (オンライン先行公開)

【DOI】 <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112289>

問い合わせ先

【研究に関すること】

高橋 智 (たかはし さとる) / 藤田 諒 (ふじた りょう)

筑波大学医学医療系 教授 / 筑波大学医学医療系 助教

TEL: 029-853-7516

Email (高橋): satoruta@md.tsukuba.ac.jp ; Email (藤田): fujiryo@md.tsukuba.ac.jp

URL (高橋): <http://www.md.tsukuba.ac.jp/basic-med/anatomy/embryology/>

URL (藤田): <http://www.md.tsukuba.ac.jp/tmrc//en/members/fujita/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp