

サルコペニアの分子メカニズム

Molecular mechanism of sarcopenia

井上 愛子¹⁾²⁾ 成 憲武^{1)~3)} 五藤 大貴²⁾ 葛谷 雅文¹⁾²⁾

要 約

サルコペニア (sarcopenia) は、加齢に伴うさまざまな要因により、骨格筋タンパクの合成と分解のアンバランス、筋肉修復能低下などが生じることより発症すると考えているが、その詳細に関して多くは不明である。サルコペニアをはじめとした骨格筋萎縮と機能低下の臨床的重要性が認知されつつあるとともに、骨格筋疾患に関する研究も新たな転換期を迎えている。加齢に伴う骨格筋の形態ならびに機能的変化に基づいたオリジナリティーの高い基礎研究が続々と発表され、従来では考えもし得なかった目覚ましい発展を遂げている状況である。加齢による骨格筋疾患 (サルコペニア) には骨格筋障害を伴っていることがしばしば多く、治療には骨格筋障害へのアプローチが必要である。サルコペニアの発症機序は多因子である。サルコペニア発症・進展プロセスにおいて骨格筋リモデリングと再生不全は重要であり、蛋白質分解システムの異常、そしてタンパク質合成と分解のアンバランスや骨格筋幹細胞の機能不全など様々な要因が関わっている。本稿では、プロテアーゼ・細胞外マトリックス代謝異常、骨格筋タンパク質合成と分解のアンバランス、骨格筋幹細胞老化・機能不全、炎症亢進、骨格筋細胞増殖とアポトーシスアンバランスならびにミトコンドリア機能不全の多方面から前3者に焦点を当てて、本研究グループの研究成果を交えてサルコペニアの新たな分子機構に関する最近の知見について概説する。

Key words サルコペニア, フレイル, プロテアーゼ, 骨格筋幹細胞, 加齢

(日老医誌 2018; 55: 13-24)

はじめに

わが国は、1950年代の高度経済成長期以降、国民平均寿命の延伸と出生率の低下により、高齢者人口の急速な増加し、高齢者の身体活動、自立、生活の質を維持または改善するという重要な課題に直面している¹⁾。加齢に関連した筋肉量の損失であるサルコペニアは、筋肉の量および質の低下によって特徴づけられ、徐々に運動の減速と筋力の低下が生じ、転倒に関連した傷害のリスクを増大させるなど生活の質に重大な影響を及ぼす²⁾。さらに、高齢者に他の加齢関連疾患の

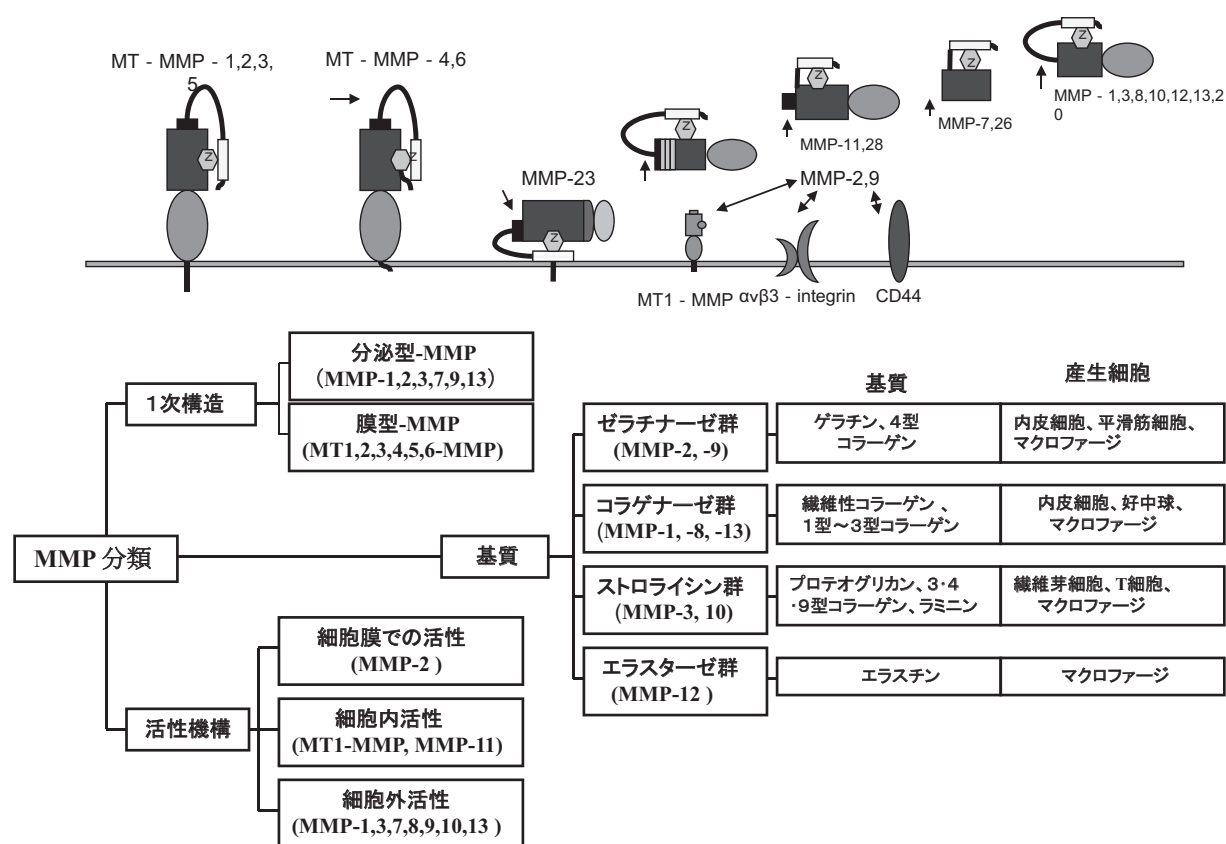
リスクを高めることもある。しかしながら、加齢に伴う骨格筋の質量の低下の防止にあたり加齢関連の骨格筋喪失の根底にある分子メカニズムの解明は不可欠であるが、依然として不明な点が多い。最近の多くの研究により、加齢に伴う筋肉量の減少に関する分子メカニズムについての重要な洞察が得られ、これらの知見はサルコペニアを予防および治療する新しい治療法の開発に非常に有用である³⁾。本稿ではサルコペニアの分子メカニズムに関して下記に示すような3つの面からみた最近の知見を中心に解説する。

1) 名古屋大学未来社会創造機構

2) 名古屋大学大学院医学系研究科地域在宅医療学・老年科学講座

3) 中国延辺大学付属病院循環器内科学講座

doi: 10.3143/geriatrics.55.13

図1 MMP1 次構造と分類法^{5,6)}

プロテアーゼ・細胞外マトリックス代謝異常

マトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinases: MMPs) の発見から 30 年間にわたる研究により、MMP の生化学的性質や調節機構がかなり明らかになった。即ち、MMP ファミリーは、①活性中心に Zn^{+2} を有し、酵素活性に Ca^{+2} を必要とすること、②潜在型酵素として産生され、プロペプチドが切断されることによって活性化されること、③アミノ酸配列において高い相同性を有すること、④細胞がマトリックス成分に対して広い基質特異性を持ち、共同作用でほとんどすべての細胞外マトリックスを分解すること、⑤共通の内因性メタロプロテアーゼ組織インヒビター (TIMP1-4) によって活性が抑制されること、などによって特徴づけられる^{4,5)}。ヒトでは 19 種類、マウスでは 24 種類の分子種が報告されており、1 次

構造の違いによって分泌型と膜型に分けることができる (図 1)^{5,6)}。加齢による骨格筋疾患 (サルコペニア) 発症・進展において障害による骨格筋モデリング・間質線維化が重要な一因であることが広く知られている。生体内のさまざまな病的・生理的な骨格筋モデリングにおいて、種々の細胞外マトリックス (extracellular matrix: ECM) 蛋白分解のプロテアーゼが重要な役割を果たしている (表 1)。今まで報告されている幾つかの細胞外マトリックス蛋白分解酵素の中で、モデル動物ならびに臨床研究によってサルコペニア発症・進展における個々の MMP の役割に関するデータが蓄積されつつある⁷⁾。直接的な骨格筋障害あるいは他疾患 (慢性心不全、悪液質など) 発症による筋障害が生じ、筋組織内の MMPs と内因性 TIMPs 発現と活性亢進することが多数報告されている^{8)~11)}。膜型 MMP (MT1-MMP) は、細胞膜とバインディングして膜表面に存在し、フィブリンやコラーゲンなどのマ

表1 骨格筋疾患（サルコペニアなど）における MMPs と cathepsins 役割

動物モデル	標的 プロテアーゼ MMPs/cathepsins	介入方法	発現及びその役割/機序	文献
筋肉障害マウスモデル ガン悪液質マウスモデル	MT1-MMP	薬理的	発現レベル抑制： 炎症細胞浸潤抑制 間質線維化改善 発現増加： 筋萎縮および機能低下	Ref. 12
ジストロフィン遺伝子欠損マウスモデル	Pan-MMP	薬理的	発現ならびに活性低下： 筋線維障害 炎症反応調整 p38 マイトジェン活性化プロテインキナーゼ/アクチベーター蛋白質-1 活性化 β-ジストログリカンレベル低下 筋線維再生能低下 一酸化窒素 (NO) 産生低下 間質線維化増加 骨格筋機能低下 マウス寿命短縮	Ref. 22, 23, 27
ジストロフィン遺伝子欠損マウスモデル	MMP-2	遺伝子欠損	発現及び活性欠損： 血管新生低下 筋線維再生低下	Ref. 8, 21
ジストロフィン遺伝子欠損マウスモデル トランスジェニックマウス	MMP-9	トランスジェニック 薬理学/ 遺伝子欠損	発現及び活性レベル亢進： 炎症性サイトカイン発現亢進 細胞浸潤増加 活性型 TGF-β のレベル上昇 核内因子 κB/アクチベーター蛋白質-1 活性化 マイトジェン活性化プロテインキナーゼ/Akt キナーゼを活性化 骨格筋肥大 発現低下あるいは欠損： ノックシグナル伝達抑制 標準的な Wnt シグナル伝達抑制 β-ジストログリカン蛋白低下 nNOS 蛋白低下 間質線維化増加 衛星細胞数減少 筋線維再生機能減少 骨格筋前駆細胞生着を減少 心筋症発症 骨格筋と心筋機能低下	Ref. 8, 11, 15-17
筋肉障害マウスモデル	MMP3	薬理的	発現レベル低下： 炎症細胞浸潤抑制 間質線維化改善	Ref. 12
ガン悪液質マウスモデル	MMP-10	—	発現増加： 筋萎縮および機能低下	Ref. 31
ジストロフィン遺伝子欠損マウスモデル 細胞モデル	MMP-13	薬理的	発現及び活性抑制： 腫瘍壊死因子-α 発現低下 呼吸骨格筋量低下抑制 骨格筋機能低下改善 骨格筋細胞再生能改善 筋芽細胞マイグレーション能改善	Ref. 24, 27
筋肉障害マウスモデル	Cathepsin K	遺伝子欠損 薬理的	発現及び活性抑制/欠損： 活性型カスパーゼ-3/プロカスパーゼ-3 比低下 BAX/Bcl-2 比ならびに活性型カスパーゼ-8 蛋白レベル低下 骨格筋細胞アポトーシス抑制 単球走化性タンパク質-1 発現低下 Toll 様受容体 2/Toll 様受容体 4/腫瘍壊死因子-α 遺伝子発現抑制炎症性細胞浸潤減弱 骨格筋修復不全（ラミニン/デスミン発現量低下） リモデリング・間質線維化低下 運動機能（握力・仕事量）改善	Ref. 36
ジストロフィン遺伝子欠損マウスモデル	Cathepsin S	トランスジェニック 薬理学/ 遺伝子欠損	発現及び活性亢進： 筋線維壊死促成 間質線維化増加 筋ジストロフィー悪化 骨格筋機能低下悪化 発現及び活性抑制/欠損： 筋繊維ターンオーバー低下 間質線維化改善 細胞膜に局在するユートロフィン、インテグリンならびにストログリカン発現亢進 筋細胞膜の安定性の増加 骨格筋保護作用	Ref. 37

トリックス蛋白分解能, 細胞浸潤能ならびに増殖能を介して骨格筋再生と修復に不可欠な役割を果たすと言われている⁷⁾. これらのことは, 骨格筋障害モデルマウスにおいて薬理学的に MT1-MMP 発現と活性を導入する研究でさらに明らかになった¹²⁾. ゼラチナーゼ B (MMP-9) は, 細胞膜の CD44 と結合して細胞膜に存在し, マクロファージ由来 MMP-9 の虚血性血管再生での毛細血管プランチングへの関与が報告された¹³⁾. ジストロフィン遺伝子欠損モデルマウス解析で, MMP-9 活性亢進が骨格筋肥大と密接に関連し¹⁴⁾, その活性低下によるヒラメ筋再生が改善することが明らかになった¹⁵⁾. さらに, Hindi らは, 同様なモデルマウスに MMP-9 遺伝子欠損させ, 筋原細胞の増殖能や生着能改善を介して骨格筋再生と修復を促すことを明らかにした¹⁶⁾¹⁷⁾. ゼラチナーゼ A (MMP-2) は, 細胞膜インテグリン $\alpha\beta3$ と結合して膜に存在し, MMP-2 の活性は血管新生やリモデリングにおいて重要であることも幾つかの動物生体内実験で明らかになった^{18)~20)}. ジストロフィン欠損モデルマウスでの MMP-2 アブレーションによる血管新生低下が生じ, 筋線維再生が低下するとの報告もある²¹⁾. Kumar らは, 非特異的な MMP 阻害剤が p38 マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (p38mitogen activated protein kinase, p38MAKP) 活性化抑制を介して炎症関連蛋白発現と細胞浸潤を抑制するとともに, ニューロン酸化窒素 (neuronal nitric oxide, nNO) 産生やサルコレマリンタンパク質 β -ジストログリカン発現を増加させ, 骨格筋機能改善を促すと報告した²²⁾. 2013 年に Bellayr らは, 非特異的な MMP 阻害剤である GM6001 が骨格筋幹細胞行動への負の影響を介して筋肉修復と再生を抑制すると報告を行った²³⁾. これらの細胞膜に存在する MMP に対し, 分泌型 MMP の骨格筋再生とリモデリングへの関与が指摘されているものの, その役割へ関しては多く不明である. C2C12 培養細胞実験で, コラゲナーゼ 13 (MMP-13) が骨格筋細胞再生と筋芽細胞マイグレーションに深く関与することが初めて明らかになった²⁴⁾. MMP10 は内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) / Akt シグナル経路を介して障害骨格筋の修復と再生を制御すると報告されている²⁵⁾. 最近, 急性骨格筋障害

モデルや悪液質マウス骨格筋解析で膜型 (MMP-2/MT1-MMP) 以外にも分泌である MMP-3, MMP10 や MMP13 の発現亢進も報告された²⁶⁾²⁷⁾.

一方, cysteine proteases [特に Cathepsin (カテプシン) ファミリー] は長年, 種々の蛋白の細胞内スカベンジャーとして機能し, 酸性下のライソゾームで働く蛋白分解酵素として認識されてきた²⁸⁾. しかし, 近年これらの一部は細胞外に分泌され, 種々の組織リモデリングに関与することが明らかになった²⁹⁾. この 10 年間, 著者らは, カテプシン・ファミリーの中でもカテプシン K とカテプシン S に着目し, 心血管病発症進展におけるそれらの役割を明らかにした. 先ず, カテプシン中のカテプシン K が, 動脈硬化病変で高発現を示し, プラーク破綻に関与することを明らかにした³⁰⁾. また, 不全期心筋でのカテプシン K の高発現と培養平滑筋細胞や心筋細胞でのカテプシン K が細胞増殖および心血管組織リモデリングに関与していることを明らかにした^{31)~33)}. さらに, Notch1 活性化への関与および血管新生における役割も明らかにした³⁴⁾. これらの研究成果を一早く総説に纏めて発表し, 心血管リモデリングにおいて重役を演じるカテプシン K と骨格筋リモデリング・線維化との関係が不明であることを見出した³⁵⁾. そこで, 2017 年, 著者らは初めてカテプシン K 遺伝子欠損マウスと選択的カテプシン K 阻害剤 (ONO-KK1-300-01) を用い, 障害による骨格筋リモデリング・間質線維化におけるカテプシン K の役割を解明した³⁶⁾. 先ず, ヘビ毒障害により骨格筋組織ならびに/あるいは細胞におけるカテプシン K 発現ならびに活性が増加 (数十倍) し, 活性型カスパーゼ-3 (cleaved caspase-3) /プロカスパーゼ-3 (procaspase-3) 比, BAX/Bcl-2 比ならびに活性型カスパーゼ-8 (cleaved caspase-8) 蛋白レベル増加に伴う骨格筋細胞アポトーシスの亢進が生じ, 単球走化性タンパク質-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1), Toll 様受容体 2 (toll-like receptor-2, TLR-2), Toll 様受容体 4 (TLR-4) ならびに腫瘍壊死因子- α (tumor-necrosis factor- α , TNF- α) 遺伝子発現増加に伴う炎症性細胞浸潤が促され, 最終的に骨格筋修復不全 (ラミニン/デスミン発現量低下), リモデリング, 間質線維化および運動機能を低下させることを突

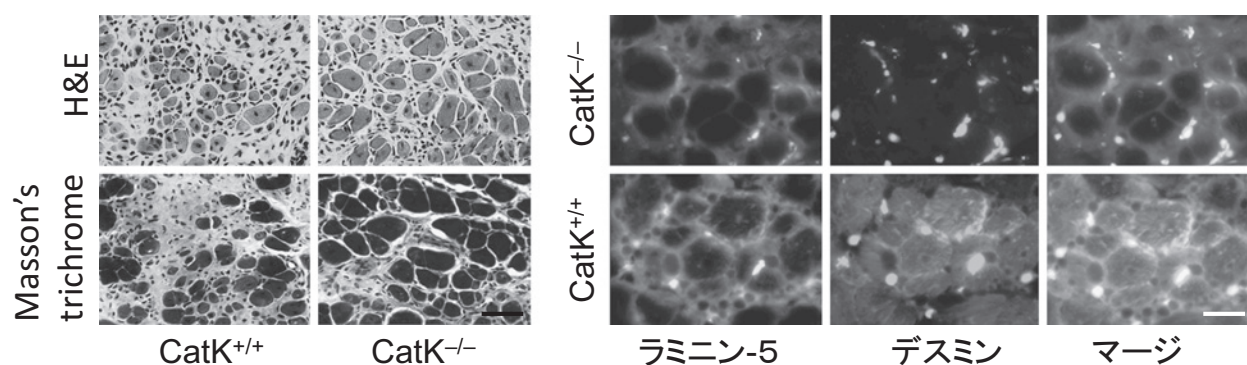


図2 カテプシン K 遺伝子欠損による障害骨格筋保護作用^{36 改変}

野生型 (CatK^{+/+}) と CatK 遺伝子欠損 (CatK^{-/-}) マウスへヒ毒を注射した障害骨格筋の比較

左上；ヘマトキシリン/エオシン (H/E) 染色；

左下；マッソントリクローム (Masson's Trichrome) 染色；

右；ラミニン-5/デスミン蛍光2重蛍光染色

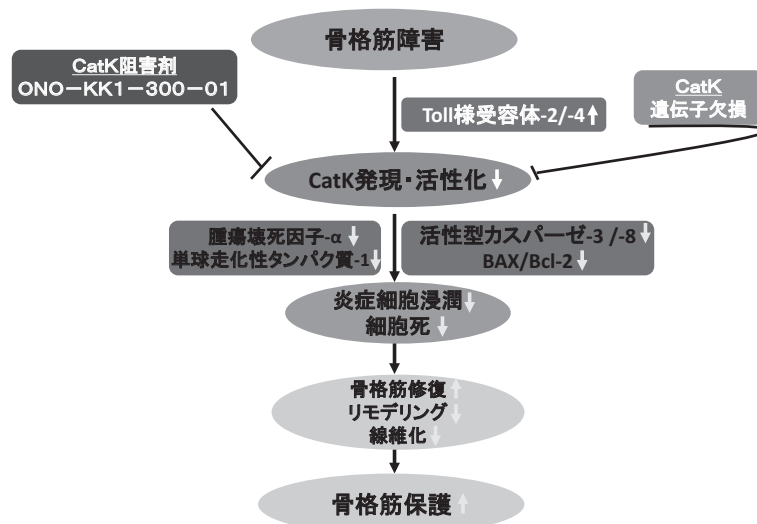


図3 遺伝的/薬理的カテプシン K 阻害による障害骨格筋保護作用およびその機序

き止めた。遺伝学的あるいは薬理的にカテプシン K 活性を抑制することで、骨格筋アポトーシスと炎症細胞浸潤、骨格筋リモデリング、線維化ならびに運動機能低下の有意に改善 (図2) およびその機序を解明し (図3), JCSM (Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle 2017) 雑誌に報告した。これ以外に、著者らは、生体内実験においてカテプシン K の骨格筋細胞の増殖への関与も明らかにした。カテプシン S も Toll 様受容体 2 依存性 p38MAPK ならびにホスホイ

ノシチド 3-キナーゼ (Phosphoinositide 3-kinase-Akt, PI3K) /Akt-ヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase-6, HDAC-6) シグナリング経路を介して細胞増殖に不可欠な役割を果たす。これらのことは、カテプシン S 遺伝子欠損マウスにおける血管平滑筋細胞および障害による血管リモデリングに関する研究でも明らかになった³⁷⁾。面白いことに、2016 年に Tjondrokoesoemo らは、mdx 筋ジストロフィーモデルマウスに急性骨格筋障害モデルを作成し、カテプシン S

遺伝子のアブレーションによる筋繊維ターンオーバー、線維化および骨格筋保護作用を報告した³⁸⁾。さらに、これらのことは、細胞膜に局在するユートロフィン、インテグリンならびにストログリカンをより多く発現することによる筋細胞膜の安定性の増加によるものであることを解明した。反面、カテプシンS遺伝子を筋肉内に高発現することより筋線維壊死、間質線維化および筋ジストロフィーを悪化させ、骨格筋機能低下が確認された³⁸⁾。

以上のことより、MMPsとcathepsinsは細胞増殖能、移動能、浸潤能、アポトーシスやマトリックス蛋白分解を介して骨格筋再生、リモデリングと線維化に深く関与すると考えられる。障害に骨格筋リモデリング・線維化のみならず様々な要因に発症する加齢性サルコペニア発症の予防と治療を目的として、これらの強力なプロテアーゼをターゲットにした新規の薬物治療法や非薬物療法（運動療法など）の確立が切望されている。

骨格筋タンパクの合成と分解のアンバランス

加齢変化に伴い骨格筋タンパク質の分解および再合成バランスは崩壊する。この不均衡は、おそらく鈍化した同化シグナル伝達および異化シグナル伝達の増加によるものと推測される。サルコペニアは、加齢によるタンパク質合成とタンパク質分解との間のアンバランスな状態に起因する骨格筋の質量および強度の顕著な減少を伴う骨格筋疾患である^{39)~41)}。骨格筋肥大に重要な役割を果たすのが、PI3-K/Akt/mTORシグナリングであり、この経路が加齢に伴い減退し、筋タンパク質合成の活性低下をもたらす^{42)~45)}。PI3-Kの活性化は、細胞内でのシグナル伝達を介して細胞の分化・増殖や代謝、遊走など多様な生物活性を引き起こすことが知られている⁴⁶⁾。PI3-Kによりリン酸化されたAktはアポトーシスの阻害や細胞増殖促進の役割を果し、mTORは、オートファジーの調節因子であることからこの経路がオートファジーと密接に関連していることが多くの研究によって示されている^{45)~48)}。オートファジーは、老化プロセスにおける機能不全のオルガ

ネラおよび損傷した巨大分子の除去のための複雑なシグナル伝達制御システムを有する分解経路である⁴⁹⁾。骨格筋量を維持するためには、オートファジープロセスの適切な誘導と調節、およびオートファジーによるミトコンドリアの品質管理の改善が必要とされる⁵⁰⁾⁵¹⁾。マウス骨格筋におけるmTORC1シグナル伝達の持続的な活性化は、オートファジーの阻害およびp62含有タンパク質凝集体ならびに機能不全のミトコンドリアの蓄積を特徴とする重篤な筋障害を導くことが報告されている⁴²⁾。

近年、老化によるインスリン様成長因子1 (Insulin-like growth factor-1: IGF-1)の低下が筋肉量減少を招くことが知られている⁵²⁾。強力なタンパク同化因子であるIGF-1は、成長ホルモン (GH)により調節され、主に肝臓で産生される⁵³⁾⁵⁴⁾。IGF-1は、骨格筋において、細胞の増殖、分化および代謝、ならびに筋肉再生において中心的役割を果たす多くの同化経路に関与している⁵⁵⁾⁵⁶⁾。骨格筋のIGF-1には、筋芽細胞、筋衛星細胞の増殖に関連するPI3Kカスケードと、筋幹細胞の融合、タンパク合成、糖取り込み、肥大、アポトーシス回避に関連するMAPKカスケードの二つのシグナル伝達系がある^{56)~58)}。IGF-1は、PI3-K/Aktシグナルを活性化し、S6キナーゼ (S6K)系によりタンパク質合成を促進する⁵⁸⁾。また、IGF-1はAktのリン酸化を促進し、その下流にある転写因子のForkhead box O (FoxO)のリン酸化を抑制することでFoxOの細胞核内移行を抑制し、MAFbx/atrogen-1, MuRF1の遺伝子発現を抑制する⁵⁵⁾⁵⁶⁾。骨格筋におけるタンパク質分解の経路として、ユビキチン-プロテアソーム系 (UPS, ユビキチンリガーゼE3: Atrogen-1, MuRF1), リソソーム系 (オートファジー: LC3, Bnip3) およびカルパイン系の3つが存在する^{59)~61)}。加齢によってこれらの中で1者、2者あるいは3者異常が生じ、サルコペニアを始めとする骨格筋疾患が発症すると言われている。廃用性筋萎縮では、IGF-1発現の低下を引き金にAkt-1のリン酸化抑制とFoxOの脱リン酸化による核内への移行が起こり、MAFbx/atrogen-1とMuRF-1の発現が上昇し、筋タンパク質分解が促進される⁵⁹⁾⁶²⁾⁶³⁾。この十数年間、マイクロRNA (miR)による骨格筋量と質制御に関する研究成果も蓄積されつ

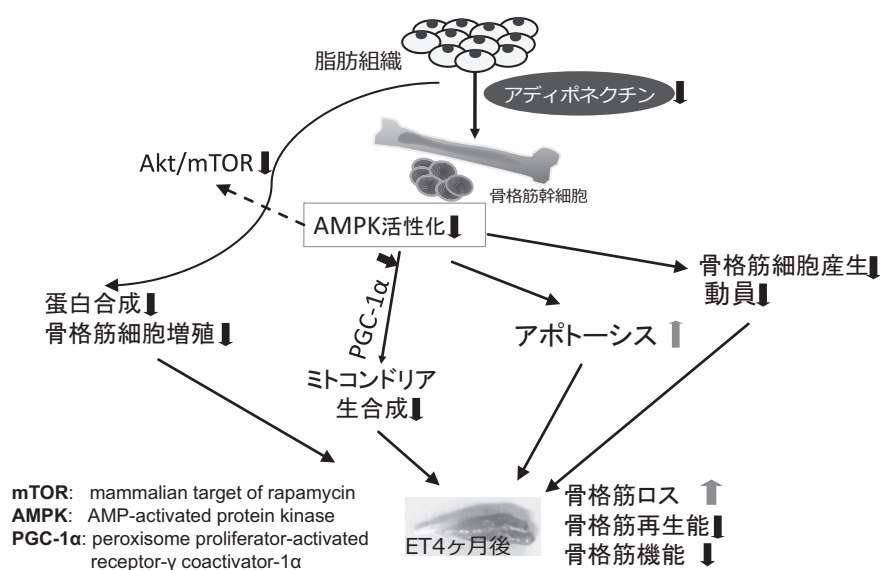


図4 サルコペニア発症・進展：アディポネクチン/受容体1役割⁷⁰⁾

つある。miR-23aは、直接 MuRF1/MAFbx の遺伝子発現を制御することで骨格筋量を調節すると報告されている⁶⁴⁾⁶⁵⁾。筋肉内に miR-182 を高発現することにより FoxO3 リン酸化による MAFbx プロモーターが活性化され、筋線維萎縮が発症する⁶⁶⁾。反面、薬理的・遺伝学的に C2C12 細胞レベルでの miR-182 を抑制することで FoxO3 依存性 MAFbx 発現が抑制され、筋線維萎縮が改善される⁶⁷⁾。2013 年 Motohashi らは、miR-128 がインスリン/IGF-1 シグナリングを介して培養骨格筋細胞の増殖と肥大を促すと報告した⁶⁸⁾。

他に、肥満・脂肪蓄積による脂肪組織由来アディポサイトカイン (adipocytokine) 異常、特に善玉アディポサイトカインであるアディポネクチン発現・分泌異常が糖尿病や心不全などの生活習慣病を惹起させ、サルコペニアのような慢性骨格筋疾患の発症を促すことが動物実験と臨床研究によって証明されてきた⁶⁹⁾。2010 年 Iwabu らは、アディポネクチンが骨格筋細胞においてアディポネクチン受容体 1 (AdipoR1) を介して細胞外 Ca²⁺ 流入を誘導し、そして Ca²⁺/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ β (calmodulin-dependent protein kinase β: CaMKKβ), 5'アデノシン-リン酸化活性化プロテインキナーゼ (5' adenosine monophosphate-activated protein kinase: AMP

kinase) ならびに SIRT1 の発現増加させる反面、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体-γ コアクチベーター-1α (peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1: PGC-1α) のアセチル化を抑制し、ミトコンドリアの数を増やすと報告した。その上、薬理的に AdipoR1 抑制あるいは筋肉特異にアブレーションすることで、肥満モデルマウスにおけるアディポネクチンの骨格筋にたいする保護作用を抹殺することを解明した。最近、著者らは、アディポネクチン/AdipoR1 経路を介した分子機構に着目し老化促進モデルマウス (SAMP10) を使用して検証を行った。SAMP10 において血中アディポネクチンと骨格筋での AdipoR1, PGC-1α, リン酸化された AMPK, MAPK, Akt ならびに mTOR が著明に低下するとともに、MuRF 発現亢進していることを明らかにした (図4)⁷⁰⁾。これらの変化はエクササイズによって有意に改善し、アディポネクチンと AdipoR1 の中和抗体によって運動効果がなくなることも明らかにした⁷⁰⁾。さらに、C2C12 筋芽細胞において分枝鎖アミノ酸ロイシンの代謝産物である β-Hydroxy-β-methylbutyrate (HMB) HMB が細胞内に取り込まれると、PI3K を介して Akt を活性化し、さらに一般的にタンパク合成系に関わる mTOR を活性化することが確認された⁵⁹⁾。また、活性化した

Akt がタンパク分解に関わる転写因子 Foxo をリン酸化し、不活性型にすることも確認された⁵⁹⁾。

これらのことより、エクササイズは筋再生能力の改善効果の分子機構として、脂肪組織から分泌されたアディポネクチンがアディポネクチン受容体 1 (AdipoR1) を介して蛋白合成を促し、HMB は筋肉細胞の維持に重要なタンパク質の合成促進、分解抑制に関与していることがわかり、今後サルコペニアの予防、改善への有用性が示唆された。

骨格筋幹細胞（筋衛星細胞, satellite cell）老化・機能不全

骨格筋は、成人においても高い再生能力を保持している代表的な組織の一つである⁷¹⁾。骨格筋組織には、「筋サテライト細胞」と呼ばれる骨格筋特異的な組織幹細胞が存在し、筋再生において中心的な役割を担っている⁷¹⁾。近年、筋サテライト細胞の骨格筋幹細胞としての機能に注目があつまり、その特性および機能制御にかんする細胞・分子レベルでの解明は大きく進んでいる。サルコペニアの発症・進展と骨格筋再生不全との関連性については、不明な点が多いものの、加齢性骨格筋再生不良がサルコペニア発症に深く関わっていることを示唆する動物やヒトでの研究成果が蓄積されつつある。以前、著者らは高齢マウスにおいて虚血刺激下による骨髄由来内皮前駆細胞動員ならびに機能低下の報告を行った¹⁹⁾⁷²⁾。最近、老化促進モデルマウス (SAMP10) の骨髄と末梢血液の解析を行ったところ、内皮前駆細胞と同様に、両組織におけるインテグリン $\alpha 7$ と CD34 ダブル陽性の骨格筋前駆細胞 (muscle stem cells) の数とその細胞機能 (移動能、浸潤能と増殖能) 低下とアポトーシス亢進が確認された⁷⁰⁾。その原因として、骨髄幹細胞 (インテグリン $\alpha 7$ 細胞) において p-AMPK, p-Akt, p-Foxo3 ならびに Bcl-2 の蛋白レベル低下であることを突き止めた。

筋細胞転写因子メンバーのエンハンサー因子-2 ファミリー (members of myocyte enhancer factor-2 family of transcription factors: MEF2) のなかで、MEF2 A, 2C と 2D は、胚形成や大人時期の骨格筋細胞分化過程において重要な役割を演じると言われている⁷³⁾。

しかし、個々の単遺伝子だけを欠損させることでは、骨格筋細胞分化および再生への影響がないものの、三者を同時になくすことで、その効果が発揮されることが明らかになった⁷³⁾。加齢マウス骨格筋に Wnt/ β -catenin を高発現させると、その結果、クロマチン構造 Myf5/MyoD 遺伝子発現レベルが促進され、増殖能を有する Pax7⁺Myf5⁺ と Pax7⁺MyoD⁺サテライト細胞の数が増えることが証明された⁷⁴⁾。2016 年 Lukjanenko らは、加齢マウスにおいてフィブロネクチン遺伝子欠損による骨格筋幹細胞の再性能不全が生じ、骨格筋修復が遅れると報告した。一方、骨格筋幹細胞であるサテライト細胞を薬理的枯渇させると骨格筋再生能が低下するものの、サルコペニアへの影響はないとの報告も出されている⁷⁵⁾⁷⁶⁾。したがって、さらなる基礎ならびに臨床研究を通じて加齢による骨格筋サテライト細胞の量と質の変化および役割に関して明らかにさせるべきだと考えられる。

おわりに

以上、加齢によるサルコペニア発症・進展と骨格筋リモデリング、間質線維化や再生不全とは密接に関連し、蛋白質分解システムの異常、そしてタンパク質合成と分解のアンバランスと骨格筋幹細胞の機能不全による再生不良が重要な要因として知られている。しかし、それ以外の過剰な炎症反応、骨格筋細胞増殖とアポトーシスアンバランス、ミトコンドリア機能不全やホルモン合成と代謝異常など単因子より多因子の総合的な作用による骨格筋の質と量及び機能の低下を特徴とする最終的な‘産物’であることは数多くの基礎と臨床研究で証明されている。そこで、サルコペニアを中心とする加齢性骨格筋疾患の予防と治療にあたっては、これらのことを念頭におきながら、サルコペニア発症・進展にかかわりそうな多因子を総合的に考慮し、『もう少しでも元気で長生きしたい』という高齢者の願いを叶えるために、個々の患者にあう治療方針 (personalized medicine) の確立を目指したい。

著者の COI (Conflict of Interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文献

- 1) 佐竹昭介：【特集・高齢者医療におけるサルコペニア・フレイル対策】1. 高齢者医療におけるサルコペニア・フレイルの位置づけ. 医薬ジャーナル 2015; 51 (9): 51-56.
- 2) 井上愛子, 成 憲武, 葛谷雅文：【特集・高齢者医療におけるサルコペニア・フレイル対策】3. サルコペニア・フレイルのバイオマーカー. 医薬ジャーナル 2015; 51 (9): 67-71.
- 3) 葛谷雅文：老年医学における Sarcopenia & Frailty の重要性. 日老医誌 2009; 46 (4): 279-285.
- 4) 成 憲武, 室原豊明：【TOPICS 循環器内科学】MMP-2 と血管新生. 医学のあゆみ 2007; 223 (3): 188-189.
- 5) 成 憲武, 室原豊明：【血管発生・新生の分子機序】血管新生における MMP の役割. 医学のあゆみ 2007; 223 (13): 1007-1014.
- 6) van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P: Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2001; 936: 426-437.
- 7) Ogura Y, Tajrishi MM, Sato S, Hindi SM, Kumar A: Therapeutic potential of matrix metalloproteinases in Duchenne muscular dystrophy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 2014; 2: 11.
- 8) Yeghiazaryan M, Zybura-Broda K, Cabaj A, Wlodarczyk J, Slawinska U, Ryłski M, et al.: Fine-structural distribution of MMP-2 and MMP-9 activities in the rat skeletal muscle upon training: a study by high-resolution in situ zymography. *Histochemistry and Cell Biology* 2014; 138 (1): 75-87.
- 9) Rehn TA, Borge BA, Lunde PK, Munkvik M, Sneve ML, Grondahl F, et al.: Temporary fatigue and altered extracellular matrix in skeletal muscle during progression of heart failure in rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2009; 297 (1): R26-33.
- 10) Biga PR, Froehlich JM, Greenlee KJ, Galt NJ, Meyer BM, Christensen DJ: Gelatinases impart susceptibility to high-fat diet-induced obesity in mice. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2013; 24 (8): 1462-1468.
- 11) Pereira JA, Matsumura CY, Minatel E, Marques MJ, Santo Neto H: Understanding the beneficial effects of doxycycline on the dystrophic phenotype of the mdx mouse. *Muscle & Nerve* 2014; 50 (2): 283-286.
- 12) Urso ML, Wang R, Zambraski EJ, Liang BT: Adenosine A3 receptor stimulation reduces muscle injury following physical trauma and is associated with alterations in the MMP/TIMP response. *Journal of Applied Physiology* 1985; 112 (4): 658-670.
- 13) Johnson C, Sung HJ, Lessner SM, Fini ME, Galis ZS: Matrix metalloproteinase-9 is required for adequate angiogenic revascularization of ischemic tissues: potential role in capillary branching. *Circulation Research* 2004; 94 (2): 262-268.
- 14) Dahiya S, Bhatnagar S, Hindi SM, Jiang C, Paul PK, Kuang S, et al.: Elevated levels of active matrix metalloproteinase-9 cause hypertrophy in skeletal muscle of normal and dystrophin-deficient mdx mice. *Human Molecular Genetics* 2011; 20 (22): 4345-4359.
- 15) Zimowska M, Olszynski KH, Swierczynska M, Streminska W, Ciemerych MA: Decrease of MMP-9 activity improves soleus muscle regeneration. *Tissue Engineering Part A* 2012; 18 (11-12): 1183-1192.
- 16) Hindi SM, Shin J, Ogura Y, Li H, Kumar A: Matrix metalloproteinase-9 inhibition improves proliferation and engraftment of myogenic cells in dystrophic muscle of mdx mice. *PLOS ONE* 2013; 8 (8): e72121.
- 17) Li H, Mittal A, Makonchuk DY, Bhatnagar S, Kumar A: Matrix metalloproteinase-9 inhibition ameliorates pathogenesis and improves skeletal muscle regeneration in muscular dystrophy. *Human Molecular Genetics* 2009; 18 (14): 2584-2598.
- 18) Cheng XW, Kuzuya M, Nakamura K, Maeda K, Tsuzuki M, Kim W, et al.: Mechanisms underlying the impairment of ischemia-induced neovascularization in matrix metalloproteinase 2-deficient mice. *Circulation Research* 2007; 100 (6): 904-913.
- 19) Cheng XW, Kuzuya M, Kim W, Song H, Hu L, Inoue A, et al.: Exercise training stimulates ischemia-induced neovascularization via phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent hypoxia-induced factor-1 alpha reactivation in mice of advanced age. *Circulation* 2010; 122 (7): 707-716.
- 20) Silletti S, Kessler T, Goldberg J, Boger DL, Cheresch DA: Disruption of matrix metalloproteinase 2 binding to integrin alpha v beta 3 by an organic molecule inhibits angiogenesis and tumor growth in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001; 98 (1): 119-124.
- 21) Miyazaki D, Nakamura A, Fukushima K, Yoshida K, Takeda S, Ikeda S: Matrix metalloproteinase-2 ablation in dystrophin-deficient mdx muscles reduces angiogenesis resulting in impaired growth of regenerated muscle fibers. *Human Molecular Genetics* 2011; 20 (9): 1787-1799.
- 22) Kumar A, Bhatnagar S: Matrix metalloproteinase in-

- hibitor batimastat alleviates pathology and improves skeletal muscle function in dystrophin-deficient mdx mice. *The American Journal of Pathology* 2010; 177 (1): 248–260.
- 23) Bellayr I, Holden K, Mu X, Pan H, Li Y: Matrix metalloproteinase inhibition negatively affects muscle stem cell behavior. *International Journal Of Experimental Pathology* 2013; 6 (2): 124–141.
 - 24) Lei H, Leong D, Smith LR, Barton ER: Matrix metalloproteinase 13 is a new contributor to skeletal muscle regeneration and critical for myoblast migration. *Am Journal of Physiology-Cell Physiology* 2013; 305 (5): C 529–538.
 - 25) Bobadilla M, Sainz N, Rodriguez JA, Abizanda G, Orbe J, de Martino A, et al.: MMP-10 is required for efficient muscle regeneration in mouse models of injury and muscular dystrophy. *Stem Cells* 2014; 32 (2): 447–461.
 - 26) Devine RD, Bicer S, Reiser PJ, Velten M, Wold LE: Metalloproteinase expression is altered in cardiac and skeletal muscle in cancer cachexia. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 2015; 309 (4): H685–691.
 - 27) Percival JM, Whitehead NP, Adams ME, Adamo CM, Beavo JA, Froehner SC: Sildenafil reduces respiratory muscle weakness and fibrosis in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *J Pathol* 228 (1): 77–87.
 - 28) Wu H, Du Q, Dai Q, Ge J, Cheng X: Cysteine Protease Cathepsins in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2017; doi: 10.5551/jat.RV17016. [Epub ahead of print].
 - 29) Cheng XW, Kuzuya M, Nakamura K, Di Q, Liu Z, Sasaki T, et al.: Localization of cysteine protease, cathepsin S, to the surface of vascular smooth muscle cells by association with integrin α 5 β 3. *American Journal of Pathology* 2006; 168 (2): 685–694.
 - 30) Sasaki T, Kuzuya M, Nakamura K, Cheng XW, Hayashi T, Song H, et al.: AT1 blockade attenuates atherosclerotic plaque destabilization accompanied by the suppression of cathepsin S activity in apoE-deficient mice. *Atherosclerosis* 2010; 210 (2): 430–437.
 - 31) Cheng XW, Obata K, Kuzuya M, Izawa H, Nakamura K, Asai E, et al.: Elastolytic cathepsin induction/activation system exists in myocardium and is upregulated in hypertensive heart failure. *Hypertension* 2006; 48 (5): 979–987.
 - 32) Cheng XW, Murohara T, Kuzuya M, Izawa H, Sasaki T, Obata K, et al.: Superoxide-dependent cathepsin activation is associated with hypertensive myocardial remodeling and represents a target for angiotensin II type 1 receptor blocker treatment. *American Journal of Pathology* 2008; 173 (2): 358–369.
 - 33) Hu L, Cheng XW, Song H, Inoue A, Jiang H, Li X, et al.: Cathepsin K activity controls injury-related vascular repair in mice. *Hypertension* 2014; 63 (3): 607–615.
 - 34) Jiang H, Cheng XW, Shi GP, Hu L, Inoue A, Yamamura Y, et al.: Cathepsin K-mediated Notch1 activation contributes to neovascularization in response to hypoxia. *Nature Communications* 2014; 5: 3838.
 - 35) Cheng XW, Shi GP, Kuzuya M, Sasaki T, Okumura K, Murohara T: Role for cysteine protease cathepsins in heart disease: focus on biology and mechanisms with clinical implication. *Circulation* 2012; 125 (12): 1551–1562.
 - 36) Ogasawara S, Cheng XW, Inoue A, Hu L, Piao L, Yu C, et al.: Cathepsin K Activity Controls Cardiotoxin-Induced Skeletal Muscle Repair in Mice. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* 2017; doi: 10.1002/jcsm.12248.
 - 37) Wu H, Cheng XW, Hu L, Takeshita K, Hu C, Du Q, et al.: Cathepsin S Activity Controls Injury-Related Vascular Repair in Mice via the TLR2-Mediated p38 MAPK and PI3K-Akt/p-HDAC6 Signaling Pathway. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2016; 36 (8): 1549–1557.
 - 38) Tjondrokoesoemo A, Schips TG, Sargent MA, Vanhoutte D, Kanisicak O, Prasad V, et al.: Cathepsin S Contributes to the Pathogenesis of Muscular Dystrophy in Mice. *Journal of Biological Chemistry* 2016; 291 (19): 9920–9928.
 - 39) Suetta C, Frandsen U, Jensen L, Jensen MM, Jespersen JG, Hvid LG, et al.: Aging affects the transcriptional regulation of human skeletal muscle disuse atrophy. *PLoS One* 7 (12): e51238.
 - 40) Voisin L, Breuille D, Combaret L, Pouyet C, Taillandier D, Aurousseau E, et al.: Muscle wasting in a rat model of long-lasting sepsis results from the activation of lysosomal, Ca^{2+} -activated, and ubiquitin-proteasome proteolytic pathways. *Journal Of Clinical Investigation* 1996; 97 (7): 1610–1617.
 - 41) Goodman CA, Mayhew DL, Hornberger TA: Recent progress toward understanding the molecular mechanisms that regulate skeletal muscle mass. *Cell Signal* 23 (12): 1896–1906.
 - 42) Bujak AL, Crane JD, Lally JS, Ford RJ, Kang SJ, Rebalka IA, et al.: AMPK activation of muscle auto-

- phagy prevents fasting-induced hypoglycemia and myopathy during aging. *Cell Metabolism* 2015; 21 (6): 883–890.
- 43) Bentzinger CF, Romanino K, Cloetta D, Lin S, Mascarenhas JB, Oliveri F, et al.: Skeletal muscle-specific ablation of raptor, but not of rictor, causes metabolic changes and results in muscle dystrophy. *Cell Metabolism* 2008; 8 (5): 411–424.
 - 44) Naguib A: Following the trail of lipids: Signals initiated by PI3K function at multiple cellular membranes. *Science Signaling* 2016; 9 (428): re4.
 - 45) Filbin MG, Dabral SK, Pazyra-Murphy MF, Ramkissoon S, Kung AL, Pak E, et al.: Coordinate activation of Shh and PI3K signaling in PTEN-deficient glioblastoma: new therapeutic opportunities. *Nature Medicine* 2013; 19 (11): 1518–1523.
 - 46) Benoit B, Meugnier E, Castelli M, Chanon S, Vieille-Marchiset A, Durand C, et al.: Fibroblast growth factor 19 regulates skeletal muscle mass and ameliorates muscle wasting in mice. *Nature Medicine* 2017; 23 (8): 990–996.
 - 47) Bravo-San Pedro JM, Kroemer G, Galluzzi L: Autophagy and Mitophagy in Cardiovascular Disease. *Circulation Research* 2017; 120 (11): 1812–1824.
 - 48) Narita M, Young AR, Arakawa S, Samarajiwa SA, Nakashima T, Yoshida S, et al.: Spatial coupling of mTOR and autophagy augments secretory phenotypes. *Science* 2011; 332 (6032): 966–970.
 - 49) Garcia-Prat L, Martinez-Vicente M, Perdiguer E, Ortet L, Rodriguez-Ubrea J, Rebollo E, et al.: Autophagy maintains stemness by preventing senescence. *Nature* 2016; 529 (7584): 37–42.
 - 50) Masiero E, Agatea L, Mammucari C, Blaauw B, Loro E, Komatsu M, et al.: Autophagy is required to maintain muscle mass. *Cell Metabolism* 2009; 10 (6): 507–515.
 - 51) Sopariwala DH, Yadav V, Badin PM, Likhite N, Sheth M, Lorca S, et al.: Long-term PGC1 β overexpression leads to apoptosis, autophagy and muscle wasting. *Scientific Reports* 2017; 7 (1): 10237.
 - 52) Ewald CY, Landis JN, Porter Abate J, Murphy CT, Blackwell TK: Dauer-independent insulin/IGF-1 signalling implicates collagen remodelling in longevity. *Nature* 2015; 519 (7541): 97–101.
 - 53) Giovannini S, Marzetti E, Borst SE, Leeuwenburgh C: Modulation of GH/IGF-1 axis: potential strategies to counteract sarcopenia in older adults. *Mechanisms of Ageing and Development* 2008; 129 (10): 593–601.
 - 54) Werner H, Le Roith D: New concepts in regulation and function of the insulin-like growth factors: implications for understanding normal growth and neoplasia. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2000; 57 (6): 932–942.
 - 55) Lu Y, Bradley JS, McCoski SR, Gonzalez JM, Ealy AD, Johnson SE: Reduced skeletal muscle fiber size following caloric restriction is associated with calpain-mediated proteolysis and attenuation of IGF-1 signaling. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2017; 312 (5): R806–R815.
 - 56) Matheny RW Jr, Carrigan CT, Abdalla MN, Geddis AV, Leandry LA, Aguilar CA, et al.: RNA transcript expression of IGF-1/PI3K pathway components in regenerating skeletal muscle is sensitive to initial injury intensity. *Growth Hormone & IGF Research* 2017; 32: 14–21.
 - 57) Remacle-Bonnet M, Garrouste F, Baillat G, Andre F, Marvaldi J, Pommier G: Membrane rafts segregate pro- from anti-apoptotic insulin-like growth factor-I receptor signaling in colon carcinoma cells stimulated by members of the tumor necrosis factor superfamily. *The American Journal of Pathology at ScienceDirect* 2005; 167 (3): 761–773.
 - 58) Papaconstantinou J: Insulin/IGF-1 and ROS signaling pathway cross-talk in aging and longevity determination. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2009; 299 (1): 89–100.
 - 59) Kimura K, Cheng XW, Inoue A, Hu L, Koike T, Kuzuya M: beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate facilitates PI3K/Akt-dependent mammalian target of rapamycin and FoxO1/3a phosphorylations and alleviates tumor necrosis factor α /interferon γ -induced MuRF-1 expression in C2C12 cells. *Nutrition Research* 2014; 34 (4): 368–374.
 - 60) Birkenkamp KU, Coffey PJ: Regulation of cell survival and proliferation by the FOXO (Forkhead box, class O) subfamily of Forkhead transcription factors. *Biochemical Society Transactions* 2003; 31 (Pt 1): 292–297.
 - 61) Herningtyas EH, Okimura Y, Handayani AE, Yamamoto D, Maki T, Iida K, et al.: Branched-chain amino acids and arginine suppress MaFbx/atrogin-1 mRNA expression via mTOR pathway in C2C12 cell line. *Biochimica et Biophysica Acta* 2008; 1780 (10): 1115–1120.
 - 62) Sharp ZD, Bartke A: Evidence for down-regulation of phosphoinositide 3-kinase/Akt/mammalian target of

- rapamycin (PI3K/Akt/mTOR)-dependent translation regulatory signaling pathways in Ames dwarf mice. *The Journals of Gerontology, Series A Biological or medical analysis on aging* 2005; 60 (3): 293–300.
- 63) Daitoku H, Fukamizu A: FOXO transcription factors in the regulatory networks of longevity. *The Journal of Biochemistry* 2007; 141 (6): 769–774.
 - 64) Wada S, Kato Y, Okutsu M, Miyaki S, Suzuki K, Yan Z, et al.: Translational suppression of atrophic regulators by microRNA-23a integrates resistance to skeletal muscle atrophy. *The Journal of Biochemistry* 2011; 286 (44): 38456–38465.
 - 65) Hudson MB, Woodworth-Hobbs ME, Zheng B, Rahnert JA, Blount MA, Gooch JL, et al.: miR-23a is decreased during muscle atrophy by a mechanism that includes calcineurin signaling and exosome-mediated export. *The American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2014; 306 (6): C551–558.
 - 66) Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A, et al.: Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* 2004; 117 (3): 399–412.
 - 67) Hudson MB, Rahnert JA, Zheng B, Woodworth-Hobbs ME, Franch HA, Price SR: miR-182 attenuates atrophy-related gene expression by targeting FoxO3 in skeletal muscle. *The American Journal of Physiology - Cell Physiology* 2014; 307 (4): C314–319.
 - 68) Motohashi N, Alexander MS, Shimizu-Motohashi Y, Myers JA, Kawahara G, Kunkel LM: Regulation of IRS 1/Akt insulin signaling by microRNA-128a during myogenesis. *Journal of Cell Science* 2013; 126 (Pt 12): 2678–2691.
 - 69) Khan MP, Singh AK, Joharapurkar AA, Yadav M, Shree S, Kumar H, et al.: Pathophysiological Mechanism of Bone Loss in Type 2 Diabetes Involves Inverse Regulation of Osteoblast Function by PGC-1 α and Skeletal Muscle Atrogenes: AdipoR1 as a Potential Target for Reversing Diabetes-Induced Osteopenia. *Diabetes* 2015; 64 (7): 2609–2623.
 - 70) Inoue A, Cheng XW, Huang Z, Hu L, Kikuchi R, Jiang H, et al.: Exercise restores muscle stem cell mobilization, regenerative capacity and muscle metabolic alterations via adiponectin/AdipoR1 activation in SAMP10 mice. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2017; 8 (3): 370–385.
 - 71) 橋本有弘：第2章サルコペニアの基礎的理解 第2節サルコペニア発生のメカニズム III. 骨格筋幹細胞とサルコペニア. *サルコペニアの基礎と臨床* 2011; 42–48.
 - 72) Di Q, Cheng Z, Kim W, Liu Z, Song H, Li X, et al.: Impaired cross-activation of beta3 integrin and VEGFR-2 on endothelial progenitor cells with aging decreases angiogenesis in response to hypoxia. *The International Journal of Cardiology* 2013; 168 (3): 2167–2176.
 - 73) Liu N, Nelson BR, Bezprozvannaya S, Shelton JM, Richardson JA, Bassel-Duby R, et al.: Requirement of MEF2A, C, and D for skeletal muscle regeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2014; 111 (11): 4109–4114.
 - 74) Fujimaki S, Hidaka R, Asashima M, Takemasa T, Kuwabara T: Wnt protein-mediated satellite cell conversion in adult and aged mice following voluntary wheel running. *Journal of Biological Chemistry* 2014; 289 (11): 7399–7412.
 - 75) Fry CS, Lee JD, Mula J, Kirby TJ, Jackson JR, Liu F, et al.: Inducible depletion of satellite cells in adult, sedentary mice impairs muscle regenerative capacity without affecting sarcopenia. *Nature Medicine* 2015; 21 (1): 76–80.
 - 76) Jackson JR, Mula J, Kirby TJ, Fry CS, Lee JD, Ubele MF, et al.: Satellite cell depletion does not inhibit adult skeletal muscle regrowth following unloading-induced atrophy. *The American Journal of Physiology - Cell Physiology* 2012; 303 (8): C854–861.