



Hyperglycemia induces skeletal muscle atrophy via a WWP1-KLF15 axis

Hirata, Yu

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2019-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7468号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007468>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学 位 論 文 の 内 容 要 旨

Hyperglycemia induces skeletal muscle atrophy via a WWP1-KLF15 axis

高血糖は WWP1-KLF15 経路を介して筋萎縮を促進する

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

糖尿病・内分泌内科学

(指導教員： 小川 渉 教授)

平田 悠

【背景】サルコペニアは加齢に伴う筋肉量の減少と身体能力の低下であり、様々な疾患の病態基盤や寿命短縮の原因となる。糖尿病はサルコペニアの重要な促進因子であるが、糖尿病が筋肉量を減少させる機序は不明である。本研究は、糖尿病による筋萎縮の分子機構を明らかにすることを目的とした。

【方法と結果】ストレプトゾトシン (STZ) 投与により高血糖を誘導したマウスでは STZ 投与後 3 週間で体重当たりの骨格筋重量が約 15%減少した。本モデルの骨格筋では転写因子 KLF15 の mRNA 発現に変化はないにも関わらず、蛋白発現が約 4 倍に増加し、アミノ酸異化や筋萎縮関連遺伝子の発現が増加した。骨格筋特異的 KLF15 欠損マウスを作成したところ、本マウスは定常状態では骨格筋量に変化はなかったが、STZ 投与により高血糖を誘導した際の骨格筋量の減少と筋萎縮関連遺伝子の発現増加が顕著に抑制された。以上から、KLF15 は糖尿病による筋萎縮の重要な制御因子であると考えられた。C2C12 培養筋細胞を高濃度グルコースで処理すると、KLF15 の mRNA レベルでの発現に影響はなく、KLF15 蛋白のユビキチン化の減弱と蛋白発現増加を認めた。一方、インスリンは KLF15 の発現には影響を及ぼさなかった。細胞をプロテアソーム阻害剤で処理すると KLF15 の蛋白発現が増加し、プロテアソーム阻害剤存在下では、高濃度グルコース処理は KLF15 の蛋白発現をそれ以上増加させなかったことから、グルコースによる KLF15 の蛋白発現制御にはユビキチン/プロテアソーム系の関与が示唆された。STZ 投与マウスの骨格筋のトランスクリプトーム解析により、グルコースにより発現が低下するユビキチンリガーゼとして WW domain-containing E3 ubiquitin protein ligase 1 (WWP1) を同定した。WWP1 の発現は、高濃度グルコースで処理した培養筋細胞や STZ 処理マウスの骨格筋で低下し、培養筋細胞で siRNA により WWP1 をノックダウンすると KLF15 の蛋白発現は増加し、逆に WWP1 を強制発現させると KLF15 のユビキチン化が亢進し、蛋白発現は低下した。定常状態の培養筋細胞では、KLF15 は核内に、WWP1 は細胞質に局在するが、両者の共発現により核内の KLF15 は消失し、プロテアソーム阻害剤処理によって細胞質で KLF15 の蓄積を認めたことから、KLF15 は細胞質において WWP1 により分解されると考えられた。慢性の高血糖状態でも WWP1 経路を介した筋萎縮が生じるのかかを明らかにするため、Akita マウスでの検討を行った。10 週齢の Akita マウスでは、対照に比べ骨格筋の WWP1 発現が有意に低下し、骨格筋重量は約 10%減少していた。SGLT2 阻害薬 (エンパグリフロジン) を 5 週齢の Akita マウスに投与すると、投与後 1 週間以内に対照と同程度まで血糖が低下し、SGLT2 阻害薬投与 5 週後 (10 週齢) の Akita マウスでは、WWP1 の発現低下および骨格筋重量減少は有意に抑制されていた。

【結論】定常状態の骨格筋では、KLF15 は WWP1 によってユビキチン化されることによりプロテアソーム分解を受け、蛋白量は低いレベルに保たれている。一方、高血糖状態では、WWP1 の発現低下により KLF15 のユビキチン化とプロテアソーム分解が抑制され、KLF15 蛋白が過剰蓄積することにより骨格筋の萎縮が促進されると考えられた。従来、糖尿病における筋萎縮ではインスリン作用低下による蛋白合成シグナルの減弱が重要な役割を担うと考えられてきたが、今回、高血糖が筋萎縮の促進要因であることを初めて明らかとした。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2867 号	氏 名	平田 悠
論文題目 Title of Dissertation	Hyperglycemia induces skeletal muscle atrophy via a WWP1-KLF15 axis 高血糖は WWP1-KLF15 経路を介して筋萎縮を促進する		
審査委員 Examiner	主 査 勾坂 敏朗 Chief Examiner 副 査 黒田 良祐 Vice-examiner 副 査 古屋敷 智之 Vice-examiner		

(要旨は1, 000字～2, 000字程度)

【目的】

サルコペニアは加齢に伴う筋肉量の減少と身体能力の低下であり、様々な疾患の病態基盤や寿命短縮の原因となる。糖尿病はサルコペニアの重要な促進因子であるが、糖尿病が筋肉量を減少させる機序は不明である。本研究は、糖尿病による筋萎縮の分子機構を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】

ストレプトゾトシン (STZ) 投与により高血糖を誘導したマウスでは STZ 投与後 3 週間で体重当たりの骨格筋重量が約 15%減少した。本モデルの骨格筋では転写因子 KLF15 の mRNA 発現に変化はないにも関わらず、蛋白発現が約 4 倍に増加し、アミノ酸異化や筋萎縮関連遺伝子の発現が増加した。骨格筋特異的 KLF15 欠損マウスを作成したところ、本マウスは定常状態では骨格筋量に変化はなかったが、STZ 投与により高血糖を誘導した際の骨格筋量の減少と筋萎縮関連遺伝子の発現増加が顕著に抑制された。以上から、KLF15 は糖尿病による筋萎縮の重要な制御因子であると考えられた。C2C12 培養筋細胞を高濃度グルコースで処理すると、KLF15 の mRNA レベルでの発現に影響はなく、KLF15 蛋白のユビキチン化の減弱と蛋白発現増加を認めた。一方、インスリンは KLF15 の発現には影響を及ぼさなかった。細胞をプロテアソーム阻害剤で処理すると KLF15 の蛋白発現が増加し、プロテアソーム阻害剤存在下では、高濃度グルコース処理は KLF15 の蛋白発現をそれ以上増加させなかったことから、グルコースによる KLF15 の蛋白発現制御にはユビキチン/プロテアソーム系の関与が示唆された。STZ 投与マウスの骨格筋のトランスクリプトーム解析により、グルコースにより発現が低下するユビキチンリガーゼとして WW domain-containing E3 ubiquitin protein ligase 1 (WWP1) を同定した。WWP1 の発現は、高濃度グルコースで処理した培養筋細胞や STZ 処理マウスの骨格筋で低下し、培養筋細胞で siRNA により WWP1 をノックダウンすると KLF15 の蛋白発現は増加し、逆に WWP1 を強制発現させると KLF15 のユビキチン化が亢進し、蛋白発現は低下した。定常状態の培養筋細胞では、KLF15 は核内に、WWP1 は細胞質に局在するが、両者の共発現により核内の KLF15 は消失し、プロテアソーム阻害剤処理によって細胞質で KLF15 の蓄積を認めたことから、KLF15 は細胞質において WWP1 により分解されることが考えられた。慢性の高血糖状態でも WWP1 経路を介した筋萎縮が生じるか否かを明らかにするため、Akita マウスでの検討を行った。10 週齢の Akita マウスでは、対照に比べ骨格筋の WWP1 発現が有意に低下し、骨格筋重量は約 10%減少していた。SGLT2 阻害薬 (エンパグリフロジン) を 5 週齢の Akita マウスに投与すると、投与後 1 週間以内に対照と同程度まで血糖が低下し、SGLT2 阻害薬投与 5 週後 (10 週齢) の Akita マウスでは、WWP1 の発現低下および骨格筋重量減少は有意に抑制されていた。

【結論】

定常状態の骨格筋では、KLF15 は WWP1 によってユビキチン化されることによりプロテアソーム分解を受け、蛋白量は低いレベルに保たれている。一方、高血糖状態では、WWP1 の発現低下により KLF15 のユビキチン化とプロテアソーム分解が抑制され、KLF15 蛋白が過剰蓄積することにより骨格筋の萎縮が促進されと考えられた。従来、糖尿病における筋萎縮ではインスリン作用低下による蛋白合成シグナルの減弱が重要な役割を担うと考えられてきたが、今回、高血糖が筋萎縮の促進要因であることを初めて明らかとした。

本研究は、高血糖状態における KLF15 の蛋白量調節と骨格筋量調節を研究したものであるが、ユビキチン/プロテアソーム系による KLF15 の蛋白量調節機構、さらにはその機構による骨格筋量調節を明らかにし、糖尿病による筋萎縮の分子機構における重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。