

研究代表者 所属・職：健康科学部・助教

氏 名：土田 和可子

研究課題名：細胞内シグナル伝達経路を標的とするステロイド筋症（筋萎縮）の治療法の開発

取り組み状況（2年間）

積極的な身体運動は、ステロイド療法の副作用の一つであるステロイド筋症の治療や進行予防に有効であるが、臨床で遭遇する患者の中には、原疾患そのものの特異的な病態や二次的な廃用症候群などによって運動制限を有する者も多く存在するため、運動の代わりとなる治療法の早期開発が求められている。そこで、本研究では、細胞内シグナル伝達経路を標的とし、骨格筋の加温による治療介入がステロイド筋症の進行過程に及ぼす影響とその作用機序を解明することで、ステロイド筋症の治療や予防を目的とした効果的で効率的な治療法の開発に向けた基礎的資料を提供する。培養骨格筋細胞を用いて、ステロイド投与に伴う筋細胞の萎縮進行に対する熱刺激による抑制方法および作用機序について組織病理学的、生化学的、分子生物学的指標を用いて検討した。その結果、予め筋細胞に熱刺激を負荷しておくこと筋細胞内の HSP72 発現量が増加し、ステロイド投与に伴う筋細胞の萎縮も著明に抑制できること、ステロイド投与に伴う転写因子の活性化や筋特異的ユビキチンリガーゼの発現増加を著名に抑制できることを明らかにした。現在、これまでに得られた結果を基に、熱刺激による筋萎縮の進行抑制作用に対する HSP72 の関与について検討している。具体的には、HSP72 の阻害剤を培養細胞に導入しターゲット分子を阻害することで、熱刺激によるステロイド投与に伴う筋細胞の萎縮の進行抑制作用への HSP72 の阻害効果を検証している。実験に用いる HSP72 の阻害剤の導入方法・条件を検討し、期待する阻害効果が得られることを確認している。今後は、さらに、ステロイド筋症モデル動物に対して骨格筋加温による治療介入を行い、組織病理学的、生化学的、分子生物学的指標を用いて、その介入効果の検討を行っていく予定である。

研究成果の内容

1) プロジェクト目標の達成状況・成果内容

ステロイド筋症の治療や予防には、身体運動が有効であることは間違いない。しかし、臨床で遭遇するステロイド服用患者の中には、原疾患そのものの特異的な病態や二次的な廃用症候群、疾病の急性期や心循環器系の疾患を合併しているなどの理由で、積極的な身体運動を伴うような運動療法を実施することが困難なケースも多く存在し、その代償となる治療法の早期開発が急務となっている。これまで研究代表者は、先行研究を参考に、ステロイド剤を投与すると萎縮が生じる培養骨格筋細胞を用いて、ステロイド筋症に対する熱刺激の効果と HSP72 の関連性について検討してきた。その結果、予め筋細胞に温熱暴露（41℃の環境温に 60 分間の暴露）を負荷しておくこと筋細胞内の HSP72 が増加し、ステロイド投与に伴う萎縮も著明に抑制できることを確認している（土田和可子・他：理学療法、2012）。そして、この作用機序としては、熱刺激によって誘導される分子量 70 kDa の熱ショックタンパク質ファミリーに属する HSP72 がもつ、ユビキチン-プロテアソーム系の活性化を抑制する働きが関与すると推察された（Senf SM, et al.: Am J Physiol Cell Physiol, 2010）。そこで我々は、タンパク質分解に関わる細胞内シグナル伝達経路に着目し、熱刺激がステロイド筋症の進行過程に及ぼす影響とその作用機序の解明を目的とし検討を進めてきた。その結果、予め筋細胞に熱刺激を負荷しておくこと、ステロイド投与に伴う転写因子の活性化や筋特異的ユビキチンリガーゼの発現増加を著名に抑制できることが示唆された（Tsuchida W, et al.: J Cell Physiol, 2017）。これらの結果は、熱刺激が HSP72 の発現増加を介して、ステロイド投与に伴う転写因子の活性化や筋特異的ユビキチンリガーゼの発現増加

を抑制することで、結果的に筋萎縮の進行を抑制する可能性を示している。

2) 優れた成果があがった点

前述の通り、これまで研究代表者は、ステロイド筋症に対する熱刺激の効果について検討してきた。熱刺激による筋萎縮抑制効果の機序としては、熱刺激によって誘導される HSP72 が持つ、分子シャペロンとしてタンパク質を保護するだけでなく、そのタンパク質保護機能を介して情報伝達分子を修飾し、その下流の転写因子の活性を制御する作用によると考えられている。実際、遺伝子導入によって HSP70 を過剰発現させたラットのヒラメ筋では、不動化に伴うフォークヘッド型転写因子の脱リン酸化（活性化）を介した筋特異的ユビキチンリガーゼの発現増加が抑制され、結果的に廃用性筋萎縮の進行が抑制できたとの報告がなされている (Senf SM, et al.: Am J Physiol Cell Physiol, 2010)。そこで我々は、タンパク質分解に関わる細胞内シグナル伝達経路に着目し、熱刺激がステロイド筋症の進行過程に及ぼす影響とその作用機序の解明を目的とし検討を進めてきた。その結果、ステロイド投与により萎縮が誘導される筋細胞に HSP72 発現量の増加をもたらす熱刺激を加えると、ステロイド投与によって生じる転写因子の活性化や筋特異的ユビキチンリガーゼの発現増加が著明に抑制されることを明らかにした。本研究課題は培養細胞実験に基づくものであるが、その成果は運動制限を有する患者に対する新たな方法論の開発に向けた基礎的資料を提供することができるものと確信しており、筋障害に対する安全かつ効果的な治療法の在り方にも示唆を与えることができると考えている。

また、今回、助成を受けた本研究課題にて得られた研究成果を踏まえ、2018年度文部科学省科学研究費(科研費)への申請を行い、採択された。本研究課題の助成のお陰で大きな進展を得ることができ、科研費の採択につながったと考えている。ご支援ご協力頂いた皆様に対し、ここに感謝の意を

表す。

3) 研究期間終了後の今後の展望

今後は、得られた研究成果をまとめ、国内外の関連学会またはリハビリテーション医学関連学会にて発表を行う。また、原著論文を作成し、リハビリテーション医学の関連雑誌に投稿する。その他にも、得られた結果を大学講義や講演に活用するとともに、リハビリテーション医学関連雑誌の総説や書籍等において適時結果を公表し、研究成果の発信を行っていく予定である。