

Title	Adiponectin promotes muscle regeneration through binding to T-cadheirn
Author(s)	田中, 紀實
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/72201">https://hdl.handle.net/11094/72201</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 田中 紀實

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 下村 伸一郎
	副 査	大阪大学教授 山下 俊英
	副 査	大阪大学教授 熊ノ郷 淳

## 論文審査の結果の要旨

脂肪由来分泌因子アディポネクチン(APN)がGPIアンカー型蛋白であるT-カドヘリン(T-cad)を介して組織に集積し保護作用を有することがこれまでに大動脈・心筋において示されてきたが、骨格筋においてはこれまで検討されていなかった。本論文は筋量維持機構の一つである筋再生能に着目し、筋再生モデルを用いて再生筋におけるAPNの集積及び効果を、またC2C12細胞におけるAPNの集積及び効果を検討した。その結果、APNは骨格筋にT-cad依存的に集積し、再生筋においては特に細胞内部にも局在した。またAPNはT-cad依存的に筋再生を促進した。C2C12細胞においては分化に伴いT-cadが発現し、APNが集積した。また分化筋においてはAPNはT-cad依存的にエクソソーム分泌を促進した。以上よりAPNはT-cadを介して筋再生を促進し、その作用機序としてエクソソーム分泌促進機構を介することが示唆された。以上、骨格筋におけるAPNの新たな意義を示したものであり、学位論文に値すると考える。

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏名 Name	田中 紀實
論文題名 Title	Adiponectin promotes muscle regeneration through binding to T-cadherin (アディポネクチンはT-カドヘリンとの結合を介して筋再生を促進する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 脂肪組織特異的分泌因子であるアディポネクチン(APN)は種々の臓器保護作用を有するが、近年我々はAPNの臓器への集積はT-カドヘリン(T-cad)に依存すること、APNとT-cadは高い親和性をもって特異的に結合することを報告した。また、GPIアンカーであり細胞内ドメインを有さないT-cadが、APNと結合後に膜輸送系を介して細胞内に移行し、CD63陽性の多胞体に局在すること、さらにAPN/T-cadが多胞体内でのエクソソームの生合成及びこれに引き続く細胞外への分泌を促進することを明らかにした。T-cad発現臓器である心臓・血管・骨格筋の内、心筋・血管においてはAPNがT-cadを介して保護作用を発揮することが明らかである一方で、骨格筋においてT-cadを介した保護作用があるのかは不明である。高齢者の筋量低下において血中APN濃度が高値となっていることが知られており、心不全患者においてはより若年者で同様の関係が報告されている。これらの報告からは筋量保持におけるAPNの役割は他臓器とは異なり保護的ではないことが示唆されている。骨格筋は高い再生能を有する臓器であり、加齢による再生能の低下は高齢者の筋量低下及び生活の質の低下の一因となりうる。今回我々は筋再生に着目し、骨格筋におけるAPNの役割の一端を明らかにすることを目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 筋再生はカルディオトキシン(CTX)注入により誘導した。まず正常及びCTX注入7日後のマウス前脛骨筋におけるAPNの集積を免疫染色で調べた。野生型(WT)マウスとAPNノックアウト(AKO)マウスの正常筋及び再生筋においてAPNは筋細胞に集積したが、T-cadノックアウト(TKO)マウスでは集積を認めなかった。すなわちAPNはT-cad依存的に骨格筋に集積することが示唆された。さらにWTマウス再生筋を観察するとAPN、T-cadは再生筋特異的に筋細胞内部に局在した。また、細胞内のAPNは多胞体マーカーであるCD63と共局在した。次にAPNの筋再生における効果を見るためにアデノウイルスを用いてAPNを強制発現した上で筋再生を惹起した。検討に用いたC57B6Jマウスは再生能が強い系統でありAPN強制発現の効果を観察しにくいことが想定された。背景で述べたように心不全状態においてAPNと筋量との関係がより強調されることが示唆され、また、心不全ではアンジオテンシンIIを介して筋再生が悪化することが報告されている。心不全による筋量低下を模倣するため、アンジオテンシンII負荷下に検討を行った。この結果、WTマウスではAPNは筋線維面積率を増加させ、壊死組織面積率を減少させた。さらにAPNは再生筋マーカーであるeMyHC陽性領域率及び遺伝子発現を増加させ、線維化マーカーであるCol1a1遺伝子発現を低下させた。これらからAPNが筋再生を促進することが示唆された。AKOマウスでもAPNは同様に筋線維断面積を増加させ、壊死組織面積率を減少させたが、TKOマウスではAPNのこのような作用は認めなかった。APNはT-cadを介して筋再生を促進するものと考えられた。次にC2C12の分化時系列に沿ってT-cadの発現及び添加したAPNの集積を調べたところ、分化前の筋芽細胞ではT-cadは発現せずAPNは集積しなかったが、分化に伴ってT-cadは発現し、APNも集積した。APNの免疫染色では筋芽細胞にはやはりAPNは検出されなかったが、分化誘導後には管状構造を形成する筋管細胞に特異的にAPNを認めた。また、強拡大画像では集積したAPNはCD63と共局在した。最後にC2C12の分化前後でAPNを添加し、超遠心処理により培地中のエクソソーム分画を抽出し、WBにてエクソソームマーカーを解析したところ、分化前の筋芽細胞ではAPN添加によるエクソソーム分泌への変化は認めなかったが、分化後の筋管細胞においてはAPN添加によりエクソソーム分泌が増加した。	
〔総括(Conclusion)〕 APNはT-cadを介して筋再生を促進することを明らかにした。またAPNは再生筋において筋細胞内部にも局在化し、エクソソーム生合成の場である多胞体に局在した。APNのエクソソーム生合成促進機構が何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。	