The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	過負荷筋における骨格筋幹細胞の活性化・増殖メカニズム解明
Author(s)	福田, 純明
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/76493
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　福田　純明　　）	
論文題名	過負荷筋における骨格筋幹細胞の活性化・増殖メカニズム解明

論文内容の要旨

骨格筋には筋衛星（幹）細胞（サテライト細胞）と呼ばれる組織幹細胞が存在し，解剖学的には筋線維の細胞膜と基底膜の間に存在する単核の細胞である．他の組織幹細胞と同様に，細胞周期としてはG0期にあり，さらに未分化な状態で維持されている．骨格筋が傷害を受けると，サテライト細胞は速やかに筋分化マスター遺伝子であるMyoDの発現を開始することで活性化/増殖し，最終的に融合することで新たな筋線維を生み出す．この一連の筋傷害時の筋再生過程におけるサテライト細胞の不可欠な役割と活性化/増殖メカニズムはこれまでに多面的に研究されており，サテライト細胞分化モデルの確立につながっている．一方，骨格筋には環境に応じてそのサイズを適応させるもう一つの能力がある．寝たきりをはじめとする廃用，癌悪液質や敗血症といった疾患，あるいは加齢といった様々な要因で筋萎縮が誘導される．このように骨格筋量が低下し，筋力もしくは身体機能の低下を示す疾患であるサルコペニアは，日常生活活動の低下や死亡リスクの増大につながるため，我が国をはじめとする先進国での高齢化の進展に伴い注目を集めているが，治療薬は存在せず，その開発が切望されている．また，骨格筋量はサルコペニアのように減少するのみではなく，逆にレジスタンストレーニングによって増加（筋肥大）する．筋肥大に対するサテライト細胞の寄与については議論の渦中にあるが，近年，長期の筋肥大にサテライト細胞が必要という研究が複数報告されており，明らかな壊死筋線維が存在しない環境下においてもサテライト細胞が活性化され増殖することが報告されている．これらの結果は筋線維への致命的な損傷の存在が，過負荷筋におけるサテライト細胞の活性化と増殖に必要ではないことを示唆している．筋肥大時のサテライト細胞活性化のメカニズムは，筋傷害時とは異なる可能性があることを考えると，その挙動を解明することは，筋傷害がなく筋萎縮を示すサルコペニア患者において，サテライト細胞の活性化および融合を介した筋量増加といった新しい治療戦略に寄与する可能性がある．以上より，私は筋肥大時におけるサテライト細胞の活性化/増殖メカニズムの解明を目的に研究を行った．

腓腹筋およびヒラメ筋の共働筋である足底筋に，代償的に筋肥大を誘発するモデルとしてSynergist ablation（SA）およびTenotomyが知られているが，筋傷害に依らないサテライト細胞の活性化/増殖メカニズムを解明するために，本研究では筋傷害が顕著に認められないTenotomyによる筋肥大モデルを使用した．

静止期かつ未分化に維持されているサテライト細胞のTenotomyによる代償性筋肥大時の活性化について，増殖マーカーであるKi67および分化マーカーであるMyoDを指標に検証した．顕著な筋傷害が認められないTenotomy処置による足底筋への過負荷によって，Ki67陽性割合の増加，MyoD陽性割合の増加を伴ったサテライト細胞数の増加が認められた．その際MyoD陽性サテライト細胞の数に比べ，Ki67陽性サテライト細胞数が多く認められた．この活性化パターンは，筋傷害時の活性化パターンとは異なることが示された．実際，単一筋線維法によるサテライト細胞の数および活性化特性の解析から，代償性筋肥大時のサテライト細胞の活性化は，局所的な傷害によるものではなく全体的に過負荷に反応した結果であることが示唆された．また，Tenotomy処置により活性化したサテライト細胞は新しい筋核を筋線維に供給することが示された．これらのことから，代償性筋肥大時に，筋傷害に依らずサテライト細胞は活性化/増殖をすることが明らかとなり，筋傷害時とは異なるメカニズムが働く可能性も示された．

次に，代償性筋肥大時のサテライト細胞活性化の解剖学的な位置の検証を実施した．その結果，サテライト細胞は筋線維と基底膜の間隙で増殖することが示された．代償性筋肥大時におけるサテライト細胞の活性化部位が，筋線維が消失した状態で活性化する筋傷害時とは異なることが示されたことから，筋傷害時と異なるサテライト細胞の特徴的な活性化パターン（MyoD陰性Ki67陽性）には，筋線維の有無の違いが関与する可能性が考えられた．サテライト細胞の静止期維持に関与する経路のうち，Canonical Notch シグナル経路はMyoD発現抑制に働く重要な経路であり，そのリガンドは筋線維が供給すると考えられている．Notchシグナルの主要なターゲット遺伝子である*Hey1*および*HeyL*は静止期のサテライト細胞で発現が認められ，筋傷害後に大幅に発現低下をする．そこで，代償性筋肥大時のサテライト細胞におけるNotch標的遺伝子の発現解析を実施した．その結果，代償性筋肥大時には筋傷

害時と異なり，*Hey1*の発現は低下したものの*HeyL*の発現維持が認められた．このことから，筋傷害時と異なった*HeyL*発現維持が過負荷筋におけるサテライト細胞増殖時の特徴であることが明らかとなった．

この持続的なHeyL発現の意義を検証することを目的に，HeyL-KOマウスにTenotomy処置による代償性筋肥大を誘導したところコントロールマウスと比較して，特徴的なKi67陽性MyoD陰性の表現型を示すサテライト細胞の割合が低値を示し，サテライト細胞数の増加も抑制された．一方で，筋傷害時におけるサテライト細胞の数，筋再生能についてはコントロールマウスとHeyL-KOマウスの間で差は認められなかった．また，HeyL-KOマウスでは，Tenotomy処置後の筋線維への新しい筋核の供給もコントロールマウスと比べて低値を示したことから，代償性筋肥大時におけるサテライト細胞の活性化および筋核の供給にはHeyLの発現維持が重要な役割を果たしていることが示された．

さらにHeyLの発現維持が，骨格筋自体の肥大効率（筋重量と筋線維サイズ）に影響を与えるか，筋肥大効率が高いSA処置を用いて検証した．その結果，HeyL-KOマウスでは，SAによる代償性筋肥大後の筋重量増加率の減少，筋線維断面積の増加抑制および，筋線維当たりの筋核数の低下傾向が認められた．以上より，代償性筋肥大時のサテライト細胞におけるHeyLの発現維持は，その増殖や筋核供給のみならず，長期的な筋肥大効率にも影響を及ぼすことが認められた．

本論文では，過負荷筋のサテライト細胞の増殖メカニズムが，これまでに研究されてきた筋の傷害再生モデルとは異なり，HeyLの発現を維持することによりMyoD発現を伴わずに増殖することを示した．今後の研究により，HeyL発現下においてサテライト細胞が活性化/増殖を誘発する因子とメカニズムを同定することが，傷害を伴わない加齢性サルコペニアに対するサテライト細胞を標的とした治療戦略の開発につながることを期待する．

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（福田　純明）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	辻川　和丈
	副 査	教授	中川晋作
	副 査	教授	水口　裕之
	副 査	准教授	岡田　欣晃

論文審査の結果の要旨

骨格筋には「再生」と「適応」の二つの能力が存在する。両方の能力を可能にしているのが、骨格筋幹細胞（筋サテライト細胞）である。運動トレーニングによる「適応」としては、筋肥大が知られている。一般的に、筋肥大時の筋サテライト細胞の働きは、「運動により傷がついた筋線維を修復すること」であると信じられていた。しかし、学位申請者はよく調べてみると筋肥大に筋損傷が必要であるという科学的根拠はない事に気がついた。特に、ヒトの研究においては、運動トレーニングにより筋損傷が誘発されるという間接的な実験データはあるものの、直接的なデータはほとんどない。そこで、学位申請者は筋肥大モデルの一つ、アキレス腱切除モデルを確立し、詳細に筋サテライト細胞の動態や、損傷の有無などを検討した。その結果、筋肥大には筋損傷を必要なく、また、筋損傷がない状況下で、筋サテライト細胞が活動期に入り、増殖・分化することで、筋肥大に貢献することを明らかにした。更に、学位申請者は、筋再生時とは異なり筋肥大時には、Notchシグナルのエフェクター分子の一つであるHeyLが筋サテライト細胞の増殖に必須であり、HeyL欠損マウスでは、筋サテライト細胞の増殖効率・筋肥大効率が共に低下する事も明らかにした。

本論文の新規性は、

１．筋肥大に筋損傷は必要ない

２．筋再生と筋肥大時では、筋サテライト細胞の動態が異なり、筋肥大時には増殖と分化が長期間に渡って同時に起きている

３．筋再生時には必須の筋決定因子であるMyoDは、筋肥大時の増殖筋サテライト細胞にはほとんど発現していない。

4. 筋再生時には必要ないHeyLが、筋肥大時の筋サテライト細胞の増殖には必須である

以上、筋肥大時特有の筋サテライト細胞の動態を明らかにし、筋再生と筋肥大では筋サテライト細胞の増殖様式が異なる事を証明した世界初の例であることから、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。