

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02076

研究課題名(和文) ヒト由来筋細胞を用いた「収縮型培養筋細胞作製システム」の構築とその応用

研究課題名(英文) Establishment of "Contractile Muscle Cell Culture System" using Human-derived Satellite Cells

研究代表者

神崎 展 (Kanzaki, Makoto)

東北大学・医工学研究科・准教授

研究者番号：10272262

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、ヒト由来筋細胞を用いて「運動できる培養筋細胞系」を構築することを目的とした。各種医工学的手法を利用するとともに、フィーダー細胞や、異種筋細胞を支持細胞とした新しい共培養システムを構築することにより、ヒト筋細胞の脆弱な特性を補うことで上記目標を達成することができた。また、特殊インサートチェンバーを開発し、電気パルス刺激培養システムのマイクロ化を達成し、解析に必要なヒト筋細胞数の顕著な減少化を実現したとともに、飛躍的な多検体化も可能にした。さらに、健常者のみならず、筋疾患患者の臨床筋検体より採取したヒト筋衛星細胞をこの特殊培養系に適応し、運動依存性の高次筋細胞機能診断を可能にした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題の達成により確立されたヒト由来筋細胞を用いた「運動できる培養筋細胞系」を活用することにより、立ち後れている骨格筋を治療標的とする創薬研究に対して大きな貢献をもたらすことができると期待される。また、健常者のみならず、筋疾患患者より採取したヒト筋細胞をこの特殊培養系にて人為的な任意の収縮運動を負荷することにより、収縮能力の獲得過程や、運動応答性に惹起される各種の高次筋機能(マイオカイン類発現調節、アダプテーションや代謝能亢進など)を培養系において評価可能な「筋細胞高次機能診断システム」の将来的な構築が可能となった。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to establish an "in vitro exercise model" using human-derived muscle cells that often exhibit relatively poor contractile activity. By employing biomedical engineering techniques along with co-culture systems, we successfully established "in vitro exercise models" using (1) hybrid myotubes comprised of human myoblasts and murine C2C12 myoblasts as well as those using (2) murine 3T3L1 cells as a feeder for supporting development of human myotube contractile ability, that both exhibit vigorous contractile activity in response to electric pulse stimulation (EPS). Species-specific analyses allow us to separately evaluate contraction-inducible gene expressions and myokine secretions from human and mouse constituents. We also fabricated a culture insert chamber that one can efficiently deliver EPS to the myotubes. Thus, these inventions would allow us to maximize the use of the human myocytes obtained from biopsy samples, a very limited resource.

研究分野：分子細胞生理学

キーワード：骨格筋 筋細胞 運動 培養システム 電気パルス 筋疾患 マイオカイン

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎え加齢性疾患が激増している。一方、適切な運動刺激(いわゆる運動療法)は、この加齢性疾患、特に筋萎縮症(サルコペニア)や各種の生活習慣病(糖尿病、肥満、脂質異常症など)に対して明らかな予防/治療効果を発揮することができることから、骨格筋組織は上述疾患の有効な治療標的として注目を集めている。しかしながら、その運動効果発現の詳細な機序などについては未解明な点が多い。また、骨格筋自体やその運動効果メカニズムに直接働きかける創薬開発も進んでいない現状がある。このように骨格筋研究が遅れている原因の一つに、筋細胞の運動特性を培養系において再現可能な優れた培養筋細胞系が存在せず、効率的な研究開発が困難であった点があった。

我々は各種工学的的手法を駆使することにより、マウス筋細胞株(C2C12)に対して電気パルス刺激(EPS)を付与してその収縮活動能力を飛躍的に発達させた「運動できる培養筋細胞系(in vitro Exercise モデル)」を構築することに成功している[1-5]。この特殊培養系では、EPS様式の制御により培養筋細胞の運動負荷を量的/質的に任意にコントロールだけでなく、至適調整した栄養組成培地において収縮運動を負荷することで、生体筋の運動後に観察されるいわゆる「運動の良い効果」を忠実に再現できる優れた特徴がある(図1)。

このin vitro Exerciseモデルに改良を加えることにより、ヒト由来筋細胞を用いたEPS特殊培養系を構築することができれば、立ち後れている骨格筋を治療標的とする創薬研究に対して大きな貢献をもたらすことができると考えられる。また、筋疾患患者から採取した筋細胞をこの特殊培養システムへと適応することが可能となれば、各種の筋疾患の基礎的研究への貢献だけでなく、運動性に障害のある筋疾患の細胞診断も将来的に可能になると考えられる。

2. 研究の目的

本研究課題では、これまでマウス筋細胞株を用いて開発してきた「運動できる培養筋細胞系」に改良を加えることにより、ヒト由来筋細胞種へと適応開発することを目的としている。ヒト筋細胞をEPS培養系へと適応した研究報告が海外より既にいくつか報告されているものの[6]、我々の基礎的検討ではEPS特殊培養系に適応してもヒト筋細胞の収縮活動能力は低く、運動依存性の高次機能応答性も極めて貧弱であることが判明している。そこで本研究課題では、各種の工学的的手法を駆使するとともに、ヒト筋細胞の脆弱な特性を補う目的で、フィーダー細胞や、異種筋細胞を支持細胞として活用する新しい共培養システムの構築を目的とした。さらに、健常者のみならず、筋疾患患者より採取したヒト筋細胞をこの特殊培養系にて人為的な任意の収縮運動を負荷することにより、収縮能力の獲得過程や運動応答性に惹起される各種の高次筋機能(マイオカイン類発現調節、アダプテーションや代謝能亢進など)を培養系において評価可能な「筋細胞高次機能診断システム」の将来的な構築へとつなげることを目的としている。

3. 研究の方法

市販されているヒト筋芽細胞を用いた基礎的な開発研究を行うとともに、研究分担者である萩原嘉廣准教授が臨床検体よりFACS法で採取した初代ヒト筋衛星細胞を用いて「収縮型培養筋細胞作製システム」を構築する。採取した筋衛星細胞は3~4回の継代培養を繰り返して増殖させた活性型筋芽細胞として小分けして液体窒素にて保存し、各々の実験へと供した。さまざまな面で脆弱性を示すヒト由来筋細胞をEPS特殊培養系において、収縮能力を発達させるために、以下に詳しく示す方法について研究開発を行った。

(1) ハイブリッド筋管細胞の創製

本開発研究では、さまざまな面で脆弱な特性を示すヒト筋細胞と、マウス筋芽細胞株(C2C12細胞)とともに共培養して分化誘導することにより、ヒトとマウスの異種筋細胞種が互いに融合したハイブリッド筋管細胞を創生して、上記のEPS特殊培養系への適応を試みた。ヒトとマウスの異種筋細胞同士の融合状態は、免疫染色法および恒常発

現的に GLUT4-ECFP を発現する C2C12 株を用いて検証した(図 1)。ハイブリッド筋管細胞内に存在するヒトとマウスの両核から発現される遺伝子、そして翻訳後に分泌されるマイオカイン類は、下述する種差選択的計測手法により解析した。

(2) フィーダー細胞を用いた混在培養システムの構築

本開発研究では、筋分化により筋芽細胞種のみが互いに融合して多核の筋管細胞になり、他の細胞種(フィーダー細胞)とは融合しない特性を利用した。混在フィーダー細胞種としてマウス 3T3L1 細胞株を利用した。あえてマウス由来細胞をフィーダー細胞として利用することで、ヒトとマウスの種差(遺伝子塩基配列の種差、分泌因子のアミノ酸配列の種差)を戦略的に利用することにより、混在培養系下においてもヒト筋細胞が収縮依存性に発する生物応答性(遺伝子発現亢進・マイオカイン類分泌)を RT-PCR 法と BioPlex 法により選択的にモニターした。収縮運動能力の評価は Differential image subtraction (DIS)法[1]を用いた。収縮依存性マイオカイン発現は CXCL1/CXCL5 およびインターロイキン 6 (IL-6)を指標とした。

(3) 限局通電型インサートチェンバーを用いた in vitro exercise 系の新規構築

本開発研究では、非常に多数のヒト筋細胞を必要としていた既存の EPS 特殊培養システムをマイクロ化するための試みとして、限局通電型インサートチェンバーを新たに開発した。12-, 24-, 96-well スケールの市販のインサートチェンバーに、通電性を持たせるための特殊加工を施すことにより、インサートチェンバー内の筋細胞に対して有効に EPS を付与することとした。EPS 発生装置および水平対向設置型の炭素電極は、これまでと同じものを使用した。

4. 研究成果

(1) ハイブリッド筋管細胞の創製ヒトとマウスの筋細胞からなるハイブリッド筋管細胞の細胞融合状態について、ヒト細胞のみを検出する抗ヒト核抗原抗体と、筋分化マーカー(caveolin-3)を検出する抗 caveolin-3 抗体を用いた免疫染色法で確認した(図 1)。多核の筋管細胞内にヒト筋細胞由来の核と、マウス筋細胞由来の核が共存することを確認した。また、このハイブリッド筋管細胞は EPS に応じて活発な収縮活動を示すことを DIS 法により確認した(図 2A)。種差を活用した RT-PCR 法および BioPlex 法を構築し、ヒトあるいはマウス由来の発現遺伝子変動(図 2B)とマイオカイン分泌増加(図 2C)を各々調べたところ、異種混合融合したハイブリッド筋管細胞から生じる生物応答性であっても、ヒトとマウスの各々の由来を分別して正確に計測することを可能にした。

市販のヒト筋芽細胞(HSMM)を用いて得られたこれらの成果に基づいて、実際の臨床検体より

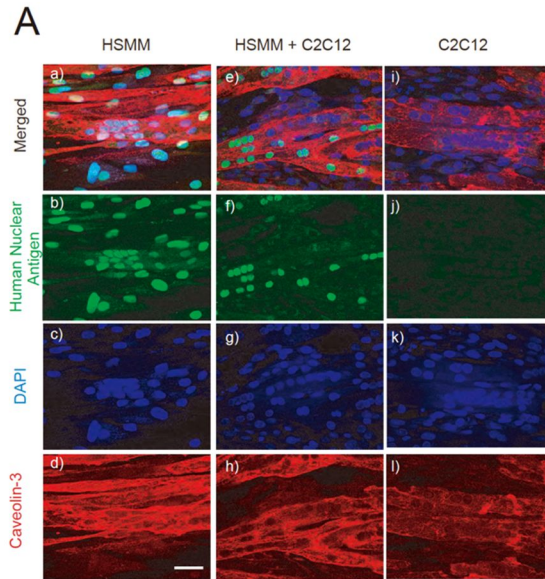
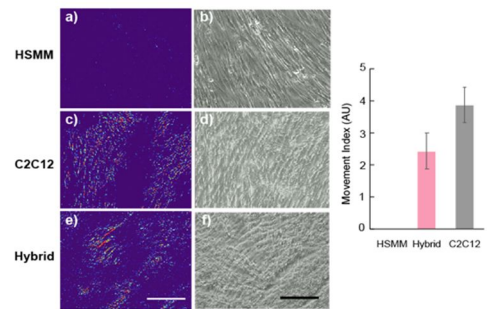
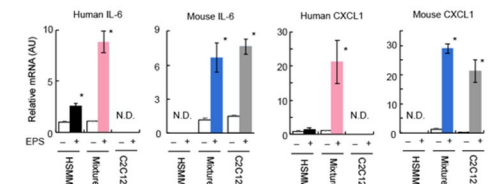


図 1.ヒトとマウスのハイブリッド筋管細胞

A. Movement Index



B. RT-PCR



C. BioPlex

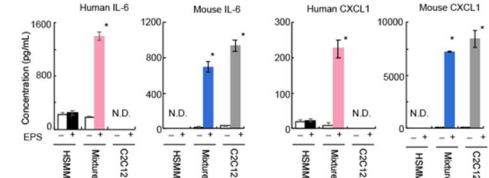


図 2.ハイブリッド筋管細胞の運動と運動応答性

FACS 法で採取した初代ヒト筋衛星細胞を用いてハイブリッド筋管細胞を作製してその実用性についても検討を行った。その結果、臨床検体由来の筋細胞を用いた場合でも、ハイブリッド化することによって、EPS 誘発性の高い収縮能力特性を獲得できることを確認した。さらに、このハイブリッド筋管細胞の培養液中に分泌されたマイオカイン類を多検体 BioPlex 法にて調べたところ、4 種のインターロイキン類 (IL-6, IL-8, IL-10, and IL16), 5 種の CXC ケモカイン類 (CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL6, CXCL10), 14 種の CC ケモカイン類 (CCL1, CCL2, CCL7, CCL8, CCL11, CCL13, CCL16, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL25, CCL27)。さらに IFN- γ の分泌が収縮運動により有意に分泌増加することを見出した [7]。これらの分泌増加因子の中には、これまで筋細胞が分泌することが知られていなかったものもあり、今後、これらの新規マイオカインが生理的にどのような役割をはたしているのかについて、さらなる研究が必要である。

(2) ヒト由来の筋管細胞を単独で培養した場合、筋分化マーカー (caveolin-3 や sarcomeric-actinin) の発現は十分であるにもかかわらず、EPS を付与しても全く収縮能力の発達が見られない。この理由の一つとして、培養ディッシュへの強い接着様式と、それに伴う筋管細胞の非常に扁平な細胞形態があげられる。そこで、ヒト筋細胞を播種する際にフィーダー細胞 (マウス 3T3L1 細胞) を混在させることにより、ヒト筋管細胞の分化促進と、接着状態の改善による収縮能力獲得亢進を目指してフィーダー細胞を用いた混在培養システムを構築した。その結果、フィーダー細胞との混在共培養により、ヒト筋細胞の筋分化にかかる時間は若干遅延するものの、筋管の形成は非常に良好であり EPS 付与によるサルコメア構造の新規発達に伴い (図 3A) EPS 強度依存性の活発な収縮活動能力を誘導することができた (図 3BC)。

腱板断裂患者より採取したヒト筋衛星細胞を用いた基盤研究 (収縮能力の発達、運動応答性の遺伝子発現およびマイオカイン分泌の亢進など) が大変良好に進展したため、東北大学病院・神経内科・青木正志教授との共同研究により、希少筋疾患患者より採取した筋衛星細胞を用いたプレリミナリー実験を開始した。筋疾患患者より得たヒト筋衛星細胞を用いた場合でも、フィーダー細胞混在培養システムを用いることにより、疾患筋管細胞の収縮能力を発達させながら、その運動依存性の生物応答を正確に評価できることを確認している。現在、本手法を用いて、これらの筋疾患の原因遺伝子群に関連する細胞生物学的な基礎検討を鋭意推進中である。筋疾患により運動負荷テストなどが不可能な場合でも、本手法を駆使することにより疾患筋細胞の収縮運動能の獲得過程や、その運動応答性などの高次筋機能診断が可能になると考えている。

(3) ヒト筋細胞を EPS 特殊培養系にて高い収縮能力を獲得させるために、上記のようにマウス線維芽細胞株を用いた 2 つの混在/混合培養システムを構築することができた。しかしながら、ヒト筋細胞のみからなる「in vitro exercise モデル」の構築し、その質保証と信頼度を向上させることが強く望まれる。ヒト筋細胞を EPS 特殊培養系に適應する際の大きな障害の一つは、良好な筋分化を誘導するために比較的高い細胞密度の状態 (コンフルエント)

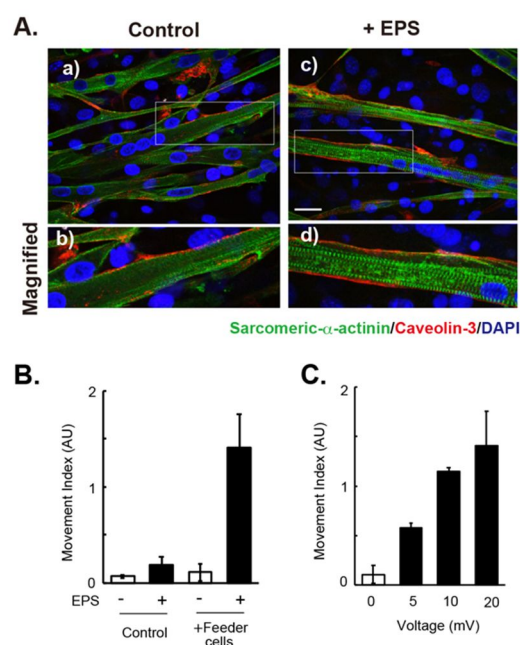


図 3.フィーダー細胞混在培養によるヒト筋管細胞の収縮能力の獲得

にする必要があり、ヒト筋細胞の場合、非常に多数の初期播種細胞数が必要となることであった。そこで、限局通電型インサートチェンバーを用いることにより（特願 2019-33091）培養スケールを飛躍的にマイクロ化した *in vitro* exercise 系を新規に構築した（図 4）。

この特殊インサートチェンバーを用いることにより、ヒト筋細胞数を 1 アッセイあたり ~1/40 程度にまで減らすことに成功した。これまでヒト筋細胞単独の培養系では EPS による収縮運動能はほとんど認められなかったが、インサートチェンバーを用いることで、

収縮運動能力の獲得、さらには運動依存性の高次筋機能応答（マイオカイン遺伝子発現上昇、細胞内シグナル伝達系の賦活化、筋線維変換など）を誘導できることを確認した。マイクロ化したインサートチェンバーを利用することにより、貴重な細胞種の節約ができるだけでなく、飛躍的な多検体化も可能となった。本手法を活用することにより「筋細胞高次機能診断システム」として効率的な稼働が見込まれるとともに、筋細胞の運動効果を治療標的とした創薬プラットフォームとして応用が大いに期待される。

ハイスループット化(マルチウェル化)への改良

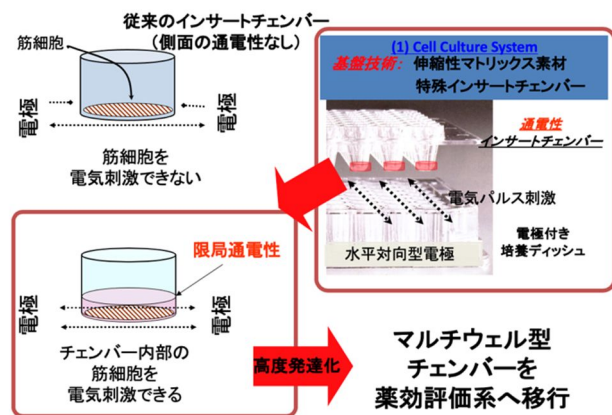


図 4. EPS 培養系用のインサートチェンバー創製

引用文献

1. Fujita, H., Nedachi, T. & Kanzaki, M. (2007) Accelerated de novo sarcomere assembly by electric pulse stimulation in C2C12 myotubes, *Experimental cell research*. **313**, 1853-65.
2. Nedachi, T., Fujita, H. & Kanzaki, M. (2008) Contractile C2C12 myotube model for studying exercise-inducible responses in skeletal muscle, *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. **295**, E1191-204.
3. Nagamine, K., Kawashima, T., Ishibashi, T., Kaji, H., Kanzaki, M. & Nishizawa, M. (2010) Micropatterning contractile C2C12 myotubes embedded in a fibrin gel, *Biotechnology and bioengineering*. **105**, 1161-7.
4. Farmawati, A., Kitajima, Y., Nedachi, T., Sato, M., Kanzaki, M. & Nagatomi, R. (2013) Characterization of contraction-induced IL-6 up-regulation using contractile C2C12 myotubes, *Endocr J*. **60**, 137-47.
5. Nagamine, K., Sato, H., Kai, H., Kaji, H., Kanzaki, M. & Nishizawa, M. (2018) Contractile Skeletal Muscle Cells Cultured with a Conducting Soft Wire for Effective, Selective Stimulation, *Sci Rep*. **8**, 2253.
6. Nikolic, N. & Aas, V. (2019) Electrical Pulse Stimulation of Primary Human Skeletal Muscle Cells, *Methods Mol Biol*. **1889**, 17-24.
7. Chen, W., Nyasha, M. R., Koide, M., Tsuchiya, M., Suzuki, N., Hagiwara, Y., Aoki, M. & Kanzaki, M. (2019) *In vitro* exercise model using contractile human and mouse hybrid myotubes, *Sci Rep*. **9**, 11914.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計29件（うち査読付論文 23件 / うち国際共著 6件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Hatakeyama Hiroyasu, Morino Taisuke, Ishii Takuya, Kanzaki Makoto	4. 巻 294
2. 論文標題 Cooperative actions of Tbc1d1 and AS160/Tbc1d4 in GLUT4-trafficking activities	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 1161 ~ 1172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.004614	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okii Kentaro, Arias Edward B., Kanzaki Makoto, Cartee Gregory D.	4. 巻 43
2. 論文標題 Prior treatment with the AMPK activator AICAR induces subsequently enhanced glucose uptake in isolated skeletal muscles from 24-month-old rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism	6. 最初と最後の頁 795 ~ 805
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1139/apnm-2017-0858	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Nagamine Kuniaki, Sato Hirotaka, Kai Hiroyuki, Kaji Hirokazu, Kanzaki Makoto, Nishizawa Matsuhiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Contractile Skeletal Muscle Cells Cultured with a Conducting Soft Wire for Effective, Selective Stimulation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-20729-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoshida Shinichirou, Hagiwara Yoshihiro, Tsuchiya Masahiro, Shinoda Masamichi, Koide Masashi, Hatakeyama Hiroyasu, Chaweewannakorn Chayanit, Yano Toshihisa, Sogi Yasuhito, Itaya Nobuyuki, Sekiguchi Takuya, Yabe Yutaka, Sasaki Keiichi, Kanzaki Makoto, Itoi Eiji	4. 巻 14
2. 論文標題 Involvement of neutrophils and interleukin-18 in nociception in a mouse model of muscle pain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Pain	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1744806918757286	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Munakata Yuichiro, Yamada Tetsuya, Imai Junta, Takahashi Kei, Tsukita Sohei, Shirai Yuta, Kodama Shinjiro, Asai Yoichiro, Sugisawa Takashi, Chiba Yumiko, Kaneko Keizo, Uno Kenji, Sawada Shojiro, Hatakeyama Hiroyasu, Kanzaki Makoto, Miyazaki Jun-ichi, Oka Yoshitomo, Katagiri Hideki	4. 巻 8
2. 論文標題 Olfactory receptors are expressed in pancreatic β -cells and promote glucose-stimulated insulin secretion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-19765-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koide Masashi, Hagiwara Yoshihiro, Tsuchiya Masahiro, Kanzaki Makoto, Hatakeyama Hiroyasu, Tanaka Yukinori, Minowa Takashi, Takemura Taro, Ando Akira, Sekiguchi Takuya, Yabe Yutaka, Itoi Eiji	4. 巻 244
2. 論文標題 Retained Myogenic Potency of Human Satellite Cells from Torn Rotator Cuff Muscles Despite Fatty Infiltration	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Tohoku Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 15 ~ 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.244.15	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Gardini Lucia, Calamai Martino, Hatakeyama Hiroyasu, Kanzaki Makoto, Capitanio Marco, Pavone Francesco Saverio	4. 巻 1841
2. 論文標題 Three-Dimensional Tracking of Quantum Dot-Conjugated Molecules in Living Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods in molecular biology	6. 最初と最後の頁 425 ~ 448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8591-3_26	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsuchiya Masahiro, Sekiai Shigenori, Hatakeyama Hiroyasu, Koide Masashi, Chaweewannakorn Chayanit, Yaoita Fukie, Tan-No Koichi, Sasaki Keiichi, Watanabe Makoto, Sugawara Shunji, Endo Yasuo, Itoi Eiji, Hagiwara Yoshihiro, Kanzaki Makoto	4. 巻 23
2. 論文標題 Neutrophils Provide a Favorable IL-1-Mediated Immunometabolic Niche that Primes GLUT4 Translocation and Performance in Skeletal Muscles	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2354 ~ 2364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.04.067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okii Kentaro, Arias Edward B, Kanzaki Makoto, Cartee Gregory D	4. 巻 75
2. 論文標題 Effects of Acute Exercise Combined With Calorie Restriction Initiated Late-in-Life on Insulin Signaling, Lipids, and Glucose Uptake in Skeletal Muscle From Old Rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journals of Gerontology: Series A	6. 最初と最後の頁 207 ~ 217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/gerona/gly222	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 神崎 展	4. 巻 37 (1)
2. 論文標題 2型糖尿病治療薬メトホルミンの肝臓における真なる薬理機序	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 60-61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 神崎 展	4. 巻 36 (11)
2. 論文標題 イタコン酸によるマクロファージ免疫代謝制御系の解明	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 1878-1879
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okii Kentaro, Arias Edward B., Kanzaki Makoto, Cartee Gregory D.	4. 巻 43
2. 論文標題 Prior treatment with the AMPK activator AICAR induces subsequently enhanced glucose uptake in isolated skeletal muscles from 24-month-old rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism	6. 最初と最後の頁 795 ~ 805
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1139/apnm-2017-0858	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Chaweewannakorn Chayanit, Tsuchiya Masahiro, Koide Masashi, Hatakeyama Hiroyasu, Tanaka Yukinori, Yoshida Shinichirou, Sugawara Shunji, Hagiwara Yoshihiro, Sasaki Keiichi, Kanzaki Makoto	4. 巻 315
2. 論文標題 Roles of IL-1 / in regeneration of cardiotoxin-injured muscle and satellite cell function	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	6. 最初と最後の頁 R90 ~ R103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00310.2017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagamine Kuniaki, Sato Hiroataka, Kai Hiroyuki, Kaji Hirokazu, Kanzaki Makoto, Nishizawa Matsuhiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Contractile Skeletal Muscle Cells Cultured with a Conducting Soft Wire for Effective, Selective Stimulation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-20729-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Munakata Yuichiro, Yamada Tetsuya, Imai Junta, Takahashi Kei, Tsukita Sohei, Shirai Yuta, Kodama Shinjiro, Asai Yoichiro, Sugisawa Takashi, Chiba Yumiko, Kaneko Keizo, Uno Kenji, Sawada Shojiro, Hatakeyama Hiroyasu, Kanzaki Makoto, Miyazaki Jun-ichi, Oka Yoshitomo, Katagiri Hideki	4. 巻 8
2. 論文標題 Olfactory receptors are expressed in pancreatic -cells and promote glucose-stimulated insulin secretion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-19765-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Shinichirou, Hagiwara Yoshihiro, Tsuchiya Masahiro, Shinoda Masamichi, Koide Masashi, Hatakeyama Hiroyasu, Chaweewannakorn Chayanit, Yano Toshihisa, Sogi Yasuhito, Itaya Nobuyuki, Sekiguchi Takuya, Yabe Yutaka, Sasaki Keiichi, Kanzaki Makoto, Itoi Eiji	4. 巻 14
2. 論文標題 Involvement of neutrophils and interleukin-18 in nociception in a mouse model of muscle pain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mol. Pain.	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1744806918757286	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koide Masashi, Hagiwara Yoshihiro, Tsuchiya Masahiro, Kanzaki Makoto, Hatakeyama Hiroyasu, Tanaka Yukinori, Minowa Takashi, Takemura Taro, Ando Akira, Sekiguchi Takuya, Yabe Yutaka, Itoi Eiji	4. 巻 244
2. 論文標題 Retained Myogenic Potency of Human Satellite Cells from Torn Rotator Cuff Muscles Despite Fatty Infiltration	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tohoku J. Exp. Med.	6. 最初と最後の頁 15 ~ 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.244.15	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Junpei, Imai Junta, Izumi Tomohito, Takahashi Hironori, Kawana Yohei, Takahashi Kei, Kodama Shinjiro, Kaneko Keizo, Gao Junhong, Uno Kenji, Sawada Shojiro, Asano Tomoichiro, Kalinichenko Vladimir V., Susaki Etsuo A., Kanzaki Makoto, Ueda Hiroki R., Ishigaki Yasushi, Yamada Tetsuya, Katagiri Hideki	4. 巻 8
2. 論文標題 Neuronal signals regulate obesity induced -cell proliferation by FoxM1 dependent mechanism	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Commun.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-017-01869-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Yasufumi, Ida Hiroki, Matsumae Yoshiharu, Komaki Hirokazu, Zhou Yuanshu, Kumatani Akichika, Kanzaki Makoto, Shiku Hitoshi, Matsue Tomokazu	4. 巻 19
2. 論文標題 3D electrochemical and ion current imaging using scanning electrochemical?scanning ion conductance microscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Phys. Chem. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 26728 ~ 26733
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c7cp05157c	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroyasu Hatakeyama, Makoto Kanzaki	4. 巻 595(16)
2. 論文標題 Heterotypic endosomal fusion as an initial trigger for insulin induced glucose transporter 4 (GLUT4) translocation in skeletal muscle	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Physiol.	6. 最初と最後の頁 5603-5621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP273985	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 神崎 展	4. 巻 36(1)
2. 論文標題 自然免疫DNAセンサー (cGAS) による細胞老化の制御	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 60-61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 神崎 展	4. 巻 35(11)
2. 論文標題 タンパク質の品質管理と寿命決定-CHIPによるインスリン受容体の恒常性制御-	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 57-58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chaweewannakorn Chayanit, Nyasha Mazvita R., Chen Weijian, Sekiai Shigenori, Tsuchiya Masahiro, Hagiwara Yoshihiro, Bouzakri Karim, Sasaki Keiichi, Kanzaki Makoto	4. 巻 598
2. 論文標題 Exercise evoked intramuscular neutrophil endothelial interactions support muscle performance and GLUT4 translocation: a mouse gnawing model study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Physiology	6. 最初と最後の頁 101 ~ 122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/JP278564	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Chen Weijian, Nyasha Mazvita R., Koide Masashi, Tsuchiya Masahiro, Suzuki Naoki, Hagiwara Yoshihiro, Aoki Masashi, Kanzaki Makoto	4. 巻 9
2. 論文標題 In vitro exercise model using contractile human and mouse hybrid myotubes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-48316-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi J, Hasegawa T, Sugeno N, Yoshida S, Akiyama T, Fujimori K, Hatakeyama H, Miki Y, Tomiyama A, Kawata Y, Fukuda M, Kawahata I, Yamakuni T, Ezura M, Kikuchi A, Baba T, Takeda A, Kanzaki M, Wakabayashi K, Okano H, Aoki M	4. 巻 33
2. 論文標題 Extracellular synuclein enters dopaminergic cells by modulating flotillin 1-assisted dopamine transporter endocytosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 10240 ~ 10256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201802051R	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Shinichirou, Hagiwara Yoshihiro, Tsuchiya Masahiro, Shinoda Masamichi, Koide Masashi, Hatakeyama Hiroyasu, Chaweewannakorn Chayanit, Suzuki Kazuaki, Yano Toshihisa, Sogi Yasuhito, Itaya Nobuyuki, Sekiguchi Takuya, Yabe Yutaka, Sasaki Keiichi, Kanzaki Makoto, Itoi Eiji	4. 巻 15
2. 論文標題 Involvement of inflammasome activation via elevation of uric acid level in nociception in a mouse model of muscle pain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Pain	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1744806919858797	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Melouane Aicha, Yoshioka Mayumi, Kanzaki Makoto, St-Amand Jonny	4. 巻 229
2. 論文標題 Sparc, an EPS-induced gene, modulates the extracellular matrix and mitochondrial function via ILK/AMPK pathways in C2C12 cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 277 ~ 287
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lfs.2019.05.070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 神崎 展	4. 巻 38(1)
2. 論文標題 免疫伝達物質 c GAMPのトランスポーター-SLC19Aの同定	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 60-61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 神崎 展	4. 巻 45(6)
2. 論文標題 ヒト筋衛星細胞を用いた「in vitro Exerciseモデル」の構築	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 358-361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計32件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 21件)

1. 発表者名 畠山裕康・神崎 展
2. 発表標題 多角的光学イメージング計測により解明したマウス骨格筋繊維におけるGLUT4輸送制御とインスリン初期作用
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 瀬将義・川口航汰・畠山裕康・佐々木渉太・金子俊郎・神崎 展
2. 発表標題 大気圧プラズマ反応性 Ca ²⁺ 透過性チャンネルの同定
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kanzaki Makoto, Sekiai Shigenori, Hatakeyama Hiroyasu, Chaweewannakorn Chayanit, Sasaki Keiichi, Hagiwara Yoshihiro, Itoi Eiji, Tsuchiya Masahiro
2. 発表標題 Roles of neutrophils and IL-1 in intramuscular immunometabolic niche for priming GLUT4 translocation during exercise
3. 学会等名 The 54th EASD (European Association for the Study of Diabetes) meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1 . 発表者名 R. Honda , S. Sasaki , K. Takashima , M. Kanzaki , T. Sato , and T. Kaneko
2 . 発表標題 Introduction of drug simulated molecules into adherent cells using in-liquid plasmas
3 . 学会等名 The 6th International Workshop and the 5th International Mini Workshop on Solution Plasma and Molecular Technology (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 T. Kaneko , K. Takashima , S. Sasaki , R. Honda , K. Nihei , M. Kanzaki , and T. Sato
2 . 発表標題 Gas-Liquid Interfacial Plasmas for Medical and Agricultural Applications
3 . 学会等名 The 6th International Workshop and the 5th International Mini Workshop on Solution Plasma and Molecular Technology (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 S. Sasaki , Y. Zheng , M. Kanzaki , and T. Kaneko
2 . 発表標題 Investigation of Chemical Components in Plasma-exposed Organic Buffer for Drug Transfer Application
3 . 学会等名 7th International Conference on Plasma Medicine (ICPM7) (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 T. Kaneko , S. Sasaki , and M. Kanzaki
2 . 発表標題 Cell Membrane Transport Activated by Gas-Liquid Interfacial Plasmas for Future-Oriented Gene/Drug Transfer Device
3 . 学会等名 7th International Conference on Plasma Medicine (ICPM7) (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 金子 俊郎, 佐々木 渉太, 神崎 展
2. 発表標題 気液界面プラズマ生成複合刺激による細胞膜輸送促進の機構解明
3. 学会等名 第40回日本光医学・光生物学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 本田 竜介, 佐々木 渉太, 高島 圭介, 神崎 展, 佐藤 岳彦, 金子 俊郎
2. 発表標題 液相中プラズマによる薬剤模擬分子導入の作用機序の探索
3. 学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木 渉太, 神崎 展, 保苅 雄太郎, 冨並 香菜子, 目代 貴之, 金高 弘恭, 金子 俊郎
2. 発表標題 Roles of charged particles and reactive species on cell membrane permeabilization induced by atmospheric-pressure plasma irradiation
3. 学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Sasaki, Y. Zheng, M. Kanzaki, and T. Kaneko
2. 発表標題 Continuous release of short-lived species induced by plasma irradiation and its application in drug delivery
3. 学会等名 2nd Asia-Pacific Conference on Plasma Physics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R. Honda, S. Sasaki, K. Takashima, M. Kanzaki, T. Sato, and T. Kaneko
2. 発表標題 Effects of in-liquid plasma on enhancement of cell membrane permeability
3. 学会等名 2nd Asia-Pacific Conference on Plasma Physics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木 渉太, 鄭 悦星, 本田 竜介, 高島 圭介, 神崎 展, 金子 俊郎
2. 発表標題 プラズマ照射緩衝液中で活性化されるラジカル連鎖反応の解明
3. 学会等名 第35回 プラズマ・核融合学会 年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Sasaki, M. Kawase, M. Kanzaki, and T. Kaneko
2. 発表標題 Effects of short-lived reactive species generated by non-thermal plasma on TRP channels and organic cation uptake
3. 学会等名 The 49th NIPS International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Kaneko, S. Sasaki, K. Takashima, R. Honda, K. Nihei, M. Kanzaki, and T. Sato
2. 発表標題 Development of Gas-Liquid Interfacial Plasma Devices for Medical and Agricultural Applications
3. 学会等名 The 5th Taiwan-Japan Plasma Life Science and Technology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Sasaki , Y. Zheng , M. Kanzaki , and T. Kaneko
2. 発表標題 大気圧プラズマによってトリガされる短寿命活性種の持続放出
3. 学会等名 第28回 日本MRS年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Kaneko , S. Sasaki , R. Honda , Y. Zheng , T. Mokudai , H. Kanetaka and M. Kanzaki
2. 発表標題 気液界面プラズマにおける細胞膜輸送増進短寿命活性種
3. 学会等名 第28回 日本MRS年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R. Honda , S. Sasaki , K. Takashima , M. Kanzaki , T. Sato , and T. Kaneko
2. 発表標題 液相中プラズマの安定生成と薬剤分子局所導入
3. 学会等名 第36回 プラズマプロセッシング研究会/第31回 プラズマ材料科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木 渉太 , 鄭 悦星 , 神崎 展 , 金子 俊郎
2. 発表標題 プラズマ照射緩衝液を用いた培養細胞に対する短寿命活性種の持続供給
3. 学会等名 仙台 “ プラズマフォーラム ”
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chaweewannakorn C., Sekiai, S., Tsuchiya M., Koide M., Hatakeyama H., Sasaki, K., Hagiwara Y., Kanzaki M.
2. 発表標題 Roles of IL-1alpha/beta and neutrophils in GLUT4 translocation and muscle performance during exercise
3. 学会等名 FASEB Summer Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Chaweewannakorn C., Hatakeyama H., Tsuchiya M., Hagiwara Y., Koide M., Yoshida S., Kanzaki M., Sasaki K.
2. 発表標題 Roles of Interleukin-1 in the regulation of myoblast fusion and actin dynamics
3. 学会等名 American Society for Cell Biology meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hatakeyama H and Kanzaki M
2. 発表標題 Identification of heterotypic endosomal fusion as an initial trigger for insulin-induced GLUT4 translocation in skeletal muscle revealed by comprehensive imaging analyses of GLUT4 behavior
3. 学会等名 FASEB Summer Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 R. Honda , S. Sasaki , K. Takashima , M. Kanzaki , T. Sato and T. Kaneko
2. 発表標題 Dominant Factors of In-Liquid Micro Plasma for Drug Introduction into Cells
3. 学会等名 The 10th International Workshop on Microplasmas (IWM-10) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 R. Honda , S. Sasaki , K. Takashima , M. Kanzaki , T. Sato and T. Kaneko
2. 発表標題 Drug introduction into cells using direct exposure of gas-liquid interfacial plasmas
3. 学会等名 24th International Symposium on Plasma Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 R. Honda , S. Sasaki , K. Takashima , M. Kanzaki , T. Sato , and T. Kaneko
2. 発表標題 The molecule introduction into cells by in-liquid plasma irradiation and investigation of the key factor for introduction
3. 学会等名 The 6th Japan-Taiwan Workshop on Plasma Life Science and Technology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Sasaki , M. Kawase , M. Kanzaki , T. Kaneko
2. 発表標題 Short-lived reactive oxygen nitrogen species continuously generated in plasma-exposed solution activates TRP channels and drug uptake
3. 学会等名 The Joint Conference of XXXIV International Conference on Phenomena in Ionized Gases (XXXIV ICPIG) and the 10th International Conference on Reactive Plasmas (ICRP-10) ((国際学会))
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 R. Honda , S. Sasaki , K. Takashima , M. Kanzaki , T. Sato , and T. Kaneko
2. 発表標題 In-Solution Type Plasma Device for Highly-Efficient Drug Transfer
3. 学会等名 The Joint Conference of XXXIV International Conference on Phenomena in Ionized Gases (XXXIV ICPIG) and the 10th International Conference on Reactive Plasmas (ICRP-10) ((国際学会))
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Kaneko , S. Sasaki , K. Takashima , R. Honda , M. Kanzaki
2. 発表標題 Gas-Liquid Interfacial Plasmas Yielding Short-Lived Reactive Species for Medical and Agricultural Applications
3. 学会等名 The 12th Asian-European International Conference on Plasma Surface Engineering ((招待講演) (国際学会))
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 R. Honda , S. Sasaki , K. Takashima , M. Kanzaki , T. Sato , and T. Kaneko
2. 発表標題 液相中プラズマによる分子導入因子の探索
3. 学会等名 第29回日本MRS年次大会 The 42nd Photonics & Electromagnetics Research Symposium
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Kaneko , S. Sasaki , R. Honda , M. Kanzaki
2. 発表標題 Gas-Liquid Interfacial Plasmas Generating Short-Lived Reactive Species for Drug/Gene Transfer into Living Cells
3. 学会等名 The 42nd Photonics & Electromagnetics Research Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kanzaki, M. Chaweewannakorn, C. Tsuchiya, M. Sasaki, K
2. 発表標題 Fractalkine/CX3CL1 serves as a key factor organizing the neutrophil mediated favorable immunometabolic niche in working skeletal muscles
3. 学会等名 Cell Symposia, Exercise Metabolism (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kanzaki. M.
2. 発表標題 Implication of a new protein in the insulin vesicle trafficking
3. 学会等名 EuroDIA meeting 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 細胞培養用インサート及び電気刺激用培養装置	発明者 神崎 展	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-33091	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>Researcher ID: Makoto Kanzaki https://publons.com/researcher/1489749/makoto-kanzaki/ ORCID: Makoto Kanzaki https://orcid.org/0000-0002-6884-2955 Research Map: Makoto Kanzaki https://researchmap.jp/makotokanzaki Scopus: Makoto Kanzaki https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7006880707 東北大学医工学研究科・神崎研ホームページ http://www.ecei.tohoku.ac.jp/kanzaki/index.html</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	萩原 嘉廣 (Hagiwara Yoshihiro) (90436139)	東北大学・医学系研究科・准教授 (11301)	