

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 6 年 6 月 29 日現在

機関番号：32650

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17028

研究課題名（和文）M2様マクロファージとTcf4陽性線維芽細胞の再生筋線維成熟機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of regenerative muscle fiber maturation mechanism of M2-like macrophages and Tcf4-positive fibroblasts

研究代表者

小川 雄大（Ogawa, Yudai）

東京歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：10875694

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：骨格筋再生において、線維芽細胞が再生筋線維の成熟に重要な役割を持つことが報告されている。またM2様マクロファージも再生筋線維成熟に関与することが示されており、線維芽細胞と協力して骨格筋再生に貢献すると考えられている。さらに我々は線維芽細胞の中でもTranscription factor 4(Tcf4)陽性線維芽細胞が再生筋線維の内部に進入する現象を発見した。この進入現象が骨格筋再生に能動的な影響を与えるかと仮定し、マクロファージを不活性化し、Tcf4陽性線維芽細胞に影響を及ぼすか検証した。しかしながら、マクロファージ単独の不活性化が想定通りに働かず、検証成果を得ることができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在我が国は、超高齢社会に突入し、人生100年といわれるようになった。このような社会的背景において、注目すべきことは健康寿命が100年の人生を全うすることである。そこでTcf陽性線維芽細胞とM2様マクロファージによる再生筋線維の成熟機構を紐解くことができれば、サルコペニアやフレイルなど現代に蔓延る老化現象からなる生活活動能力の低下、そしてそれに付随して生じる著しいQOLの低下を改善または予防することが可能となる。これを実現することにより本当の意味で実りある人生100年が送れるようになると思った。

研究成果の概要（英文）：It has been reported that fibroblasts play an important role in the maturation of regenerating muscle fibers in skeletal muscle regeneration. It has also been shown that M2-like macrophages are involved in the maturation of regenerating muscle fibers, and are thought to cooperate with fibroblasts to contribute to skeletal muscle regeneration. Furthermore, we discovered a phenomenon in which transcription factor 4 (Tcf4)-positive fibroblasts invade the interior of regenerating muscle fibers. Assuming that this invasion phenomenon has an active effect on skeletal muscle regeneration, we inactivated macrophages to verify whether they would affect Tcf4-positive fibroblasts. However, inactivating macrophages alone did not work as expected, and we were unable to obtain any verification results.

研究分野：組織・発生学

キーワード：骨格筋再生 Tcf4 線維芽細胞 M2様マクロファージ 再生筋線維 成熟

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

骨格筋線維の周囲には筋特異的幹細胞の筋衛星細胞が常在し、本来は静止状態にある。骨格筋が損傷すると筋衛星細胞が活性化し、再生筋線維の起源として分化、増殖を繰り返し骨格筋再生が開始される。さらに骨格筋再生は筋衛星細胞のみでは完遂できず、筋線維周囲結合組織の線維芽細胞の活動が無ければ十分な筋再生が完了しないことから、筋線維周囲線維芽細胞は再生筋線維の成熟に関与することが示唆されてきた。なかでも Transcription factor 4 (Tcf4) 陽性の線維芽細胞が重要な役割をもつことが報告されている。さらに Tcf4 陽性線維芽細胞のみならず、マクロファージの活動も骨格筋再生に重要である。マクロファージの活動を抑制したうえで骨格筋に損傷を与えると、骨格筋組織は線維化を起こし、再生を完了しないことが報告された。さらに抗炎症性、代謝、損傷治癒さらには組織再構築に働く M2 様マクロファージも骨格筋再生において重要な役割を持つことが報告されており、間葉系線維脂肪前駆細胞 (FAP) と協調的に作用し、活性化した FAP は骨格筋再生の過程を促進することが報告されている。このことから我々は、骨格筋再生において Tcf4 線維芽細胞と M2 様マクロファージの両者が協調的に活動することにより、再生筋線維の成熟に肯定的に大きく貢献していると仮説を立て、Tcf4 陽性線維芽細胞と M2 様マクロファージの局在を骨格筋再生過程においてそれらの局在の検索を行った。そして我々は経時的に骨格筋再生過程を観察している際に、再生筋線維の周囲に Tcf4 陽性線維芽細胞と M2 様マクロファージが存在しているなか、Tcf4 陽性線維芽細胞のみが特異的に再生筋線維の内部に進入する現象を発見した (図 1)。

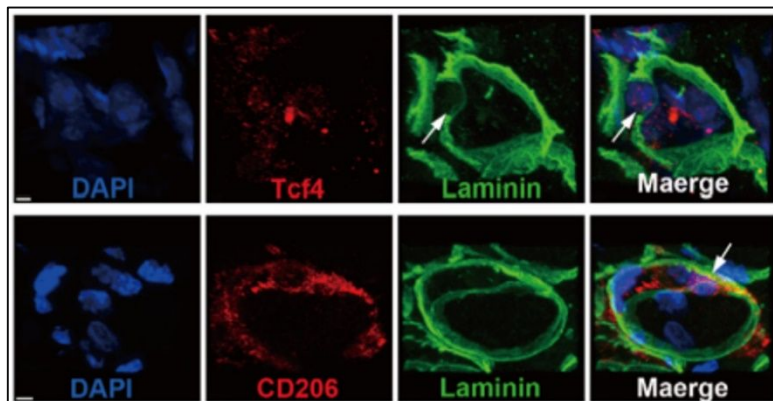


図 1

2. 研究の目的

我々が発見した Tcf4 陽性線維芽細胞の再生筋線維内への進入現象を透過型電子顕微鏡で観察したところ、再生筋線維の細胞膜と Tcf4 陽性線維芽細胞の細胞膜が同化することによって連続し、両者の細胞質が癒合する様子が認められた (図 2)。このことから、我々はこの再生筋線維内部への Tcf4 陽性線維芽細胞の進入現象は能動的であり、かつ再生筋線維成熟に肯定的な影響を与えていると仮定した。前述のように Tcf4 陽性線維芽細胞と M2 様マクロファージが協調的に活動し、骨格筋再生を促進または肯定的な作用をもつことが示唆されている。そこで我々は、マクロファージ存在下と非存在下で Tcf4 陽性線維芽細胞の進入現象と活動について検索し、再生筋線維成熟機構の詳細を紐解くことを目的とした。

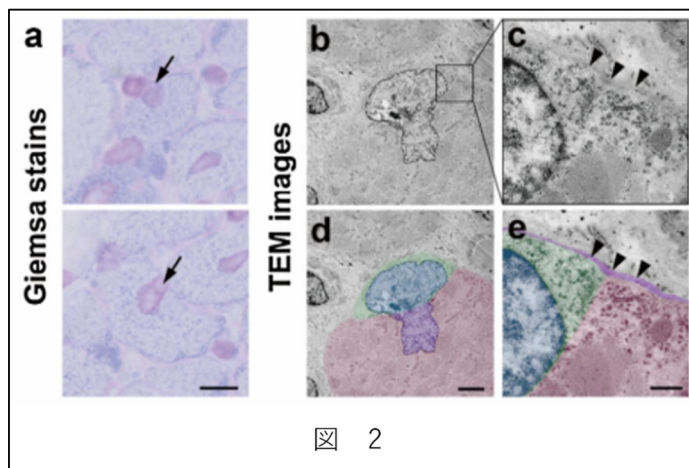


図 2

3. 研究の方法

生後 8 週齢の C57BL/6J マウスの咬筋を観察対象とした。液体窒素にて冷却した金属プローブを咬筋に直接接触させることにより凍傷を引き起こし、骨格筋再生過程を継時的に観察した。さらにマクロファージ浸潤抑制モデルマウスを作製するためにマクロファージ刺激因子である M-CSF 受容体の阻害する M-CSF 受容体抗体を投与した。この M-CSF 受容体抗体の投与によりマクロファージの浸潤を、通常の 80 ~ 90% 抑制されることが報告されている。組織学的な検索のために H-E 染色を、Tcf4 陽性線維芽細胞と M2 様マクロファージを抗 Tcf4 抗体、抗 CD206 抗体をそれぞれ用いて免疫蛍光染色を施し、観察を行った。

4. 研究成果

M-CSF 受容体抗体を腹腔内投与することによりマクロファージ浸潤抑制モデルマウス作製を試みた。その後咬筋を損傷し、継時的に骨格筋再生の観察を行った。しかしながら、咬筋損傷後、

翌日以降に死亡するマウスがほとんどを占める結果となった。投与量の調節を試みたが死亡するマウス数は大きく変わらなかった。次に投与経路を静脈内投与に変更したが、結果に大きな違いはみられなかった。損傷による炎症反応が適切に進行することができずに死亡してしまったのか、M-CSF 受容体抗体の投与量を誤ったのかの追求に多くの時間を費やしてしまった。しかしながら、本研究は再生筋線維の成熟機構が解明することにより、サルコペニアやフレイルの改善および予防につながる基盤的研究となり、超高齢社会に突入した本国の社会的問題点に光を差し込める要素がある。今後は、再生筋線維成熟機構の解明を更なる視点で紐解き、知的財産の蓄積に貢献したいと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小川雄大、笠原典夫、北村啓、菊池布恵、阿部伸一、山本仁
2. 発表標題 骨格筋再生過程におけるTcf4陽性線維芽細胞とM2型マクロファージの局在の共焦点レーザー顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いた検索
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小川雄大、笠原典夫、北村啓、菊池布恵、阿部伸一、山本仁
2. 発表標題 骨格筋再生過程におけるTcf4陽性線維芽細胞とM2型マクロファージの局在の共焦点レーザー顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いた検索
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------