

平成 26 年 4 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23650433

研究課題名(和文)加齢により発現変化する筋衛星細胞機能遺伝子の同定

研究課題名(英文)Identification of regeneration promoting factors

研究代表者

深田 宗一郎 (Fukada, So-ichiro)

大阪大学・薬学研究科(研究院)・研究員

研究者番号：20432445

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は自身が見いだしたマウス系統間の差再生能力の差異に着目し、再生能力の優れている、C57BL/6と再生能力の劣っているDBA/2系統の筋衛星細胞の遺伝子発現解析を行った。単純な筋衛星細胞同士の比較では嗅覚受容体等、筋幹細胞の活性との関連が不明な物が多く候補遺伝子の選定が困難だったため、比較対照となる別の細胞(筋芽細胞、骨格筋内在性間葉系前駆細胞)も準備して解析を行った。その結果、69個の遺伝子がC57BL/6の筋芽細胞で2倍以上発現しており、そのうち60個の遺伝子は間葉系前駆細胞では発現がC57BL/6とDBA/2で違いがなかった。

研究成果の概要(英文)：Skeletal muscle has great regenerative potential that is dependent on muscle stem cells, also known as satellite cells. Intriguingly, the regenerative potential is dependent on mouse strain. We found that C57BL/6 strain has great regenerative potential, but DBA/2 strain shows inferior potential. In order to identify the 'factor' which regulates regenerative capacity, microarray analyses were performed. Sixty-nine genes were highly expressed in C57BL/6-derived myoblasts compared with DBA/2-derived myoblasts. Among 69 genes, 9 genes were also highly expressed in C57BL/6-derived mesenchymal progenitors that in DBA/2-derived them. Further analyses will lead to identify the regeneration promoting factor which might be a new therapeutic strategy for skeletal muscle disorders.

研究分野：筋生物学

科研費の分科・細目：応用健康科学

キーワード：骨格筋 加齢 幹細胞

1. 研究開始当初の背景

高齢者では筋肉量・筋力ともにピーク時から3-4割減少することが知られている。加齢による筋肉量・筋力の低下は無重力環境(宇宙滞在)や不活動(ベットレスト等)で知られる、短期的におこる筋萎縮とはことなり、筋線維の萎縮に加えて筋線維数が減少することが特徴である。加齢に伴う筋線維数の減少の要因としては、筋線維が受けた傷害を再生能力が補いきれないためと考えられている。筋肉には筋衛星細胞とよばれる幹細胞が存在しており、筋肉が傷害をうけても筋衛星細胞の優れた再生能力により、元通りの筋肉を作り出すことができる。しかし高齢になると筋衛星細胞の数や再生能力が低下し、筋肉を作ることができなくなり筋線維数が減少すると考えられている。筋線維は細胞分裂をしないために、筋線維を生理的に作り出すことが可能なのは筋衛星細胞のみである。そのため、筋肉量・筋線維数を維持するためには筋衛星細胞の数・能力をいかに維持するかが重要になってくる。

スタンフォード大学のグループは加齢による筋再生の遅延は筋衛星細胞におけるNotchシグナルの減弱が原因と報告している(Nature 433: 760-764, 2005)。しかし、この研究でも使用されているC57BL/6は加齢による、筋衛星細胞の能力の低下はないとされており(Stem Cells 25(4): 885-94, 2007)、さらにC57BL/6では加齢にともない筋重量はあまり低下しない(Mamm. Genome 17(6): 615-28, 2006)。

申請者は代表的な近交系マウスの中で、DBA/2系統のマウスはC57BL/6に比べて

- 1) 繰り返しの再生能力が悪い(急性傷害モデル)
- 2) 従来のデュシェンヌ型筋ジストロフィーのモデルマウス(mdx C57BL/10 遺伝背景)よりDBA/2に戻し交配したDBA/2-mdxの方がよりヒトに近い筋ジストロフィー症状を示す(慢性傷害モデル)ことをAm. J. Pathol., 176:2414-24 (2010)に報告している。

2. 研究の目的

加齢による筋肉量・筋力の低下は、筋線維の萎縮に加えて筋線維数が減少することが特徴である。加齢に伴う筋線維数の減少の要因としては、筋衛星細胞とよばれる幹細胞の数・能力が低下し、筋肉を作ることができないことが挙げられる。筋線維は細胞分裂をしないために、筋線維を生理的に作

り出すことが可能なのは筋衛星細胞のみである。そのため、筋肉量を維持するためには筋衛星細胞の能力をいかに維持するかが重要になってくる。申請者が明らかにした、ヒトの加齢性筋萎縮に類似した表現型をしめすDBA/2マウスの解析から、加齢に伴い発現変動し、筋衛星細胞数やその能力の維持にかかわる機能的遺伝子を明らかにする。将来的には予防・治療法のない加齢性筋萎縮の革新的分子標的治療実現を目指す。

3. 研究の方法

- 1) 若齢(8週齢)、老齢(2年齢)のDBA/2とC57BL/6マウスから筋衛星細胞の遺伝子発現解析を行う。
- 2) DBA/2とC57BL/6のin silico SNP解析を行う。
- 3) 老齢DBA/2の筋衛星細胞でのみ発現変動がみられ、かつDBA/2とC57BL/6間でSNPのある遺伝子を同定する。
- 4) 同定遺伝子のin vitro、in vivoによる機能解析を行う。

4. 研究成果

申請者は自身が見いだしたマウス系統間の差再生能力の差異に着目し、再生能力の優れている、C57BL/6と再生能力の劣っているDBA/2系統の筋衛星細胞の遺伝子発現解析を行った。単純な筋衛星細胞同士の比較では嗅覚受容体等、筋幹細胞の活性との関連が不明な物が多く、候補遺伝子の選定が困難だったため、比較対照となる別の細胞(筋芽細胞、骨格筋内在性間葉系前駆細胞)も準備して、解析を行った。その結果、69個の遺伝子がC57BL/6の筋芽細胞で2倍以上発現しており、そのうち60個の遺伝子は間葉系前駆細胞では発現がC57BL/6とDBA/2で違いが無かった。その中にはSerpina6, Testv3, Krtap1-5, Mgl2, Supt4h1, Polr2h, Tox4, Duxbl, Cbx7や17個のolfactory receptorが含まれていた。一方Rpl2やVamp5等の9個の遺伝子は筋芽細胞と間葉系前駆細胞の両方で発現低下が見られた。またDBA/2-mdxの利便性に関しては多くの研究者に周知頂いた事で、実験動物中央研究所とMTAを契約する事で、より多くの研究者に使用して頂けるように準備を行った。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計7件)

① **Fukada S***, Ma Y., and Uezumi A; Adult stem cell or mesenchymal progenitors theories for aging. *Frontiers in Cell and Development*, (*corresponding author)

② **Fukada S***, Ma Y., Ohtani T, Watanabe Y, Murakami S., Yamaguchi M; Isolation, characterization, and molecular regulation of muscle stem cells. *Frontiers in Physiology*, 4:317, (*corresponding author) 2013

③ Kanagawa M, Yu C, Ito C, **Fukada S**, Hozoji-Inada M, Chiyo T, Kuga A, Matuo M, Sato K, Yamaguchi M, Ito T, Katanosaka Y, Miyagoe-Suzuki Y, Naruse K, Kobayashi K, Okada T, Takeda S, Toda T: Impaired viability of muscle precursor cells in muscular dystrophy with glycosylation defects and amelioration of its severe phenotype by limited gene expression *Human Molecular Genetics*, 2013, 22(15): 3003-3015

④ Ito T, Ogawa R, Uezumi A, Watanabe Y, Ohtani T, Miyagoe-Suzuki Y, Tsujikawa K, Takeda S, Yamamoto H, **Fukada S***: Imatinib attenuates dystrophic condition in severe mouse dystrophy and inhibits both proliferation and fibrosis-marker expression in muscle mesenchymal progenitors, *Neuromuscular Disorders*. 2013, 23: 349-56 (*corresponding author)

⑤ Yamaguchi M, Ogawa R, Watanabe Y, Uezumi A, Miyagoe-Suzuki Y, Tsujikawa K, Yamamoto H, Takeda S, **Fukada S***: Calcitonin receptor and Odz4 are differently expressed in Pax7-positive cells during skeletal muscle regeneration, *J. Mol. Histol.* 2012, 43: 581-87 (*corresponding author)

⑥ 山口賢彦, 大谷拓史, **深田宗一朗**: 転写因子制御機構からの筋発生・筋再生の解明, 整形・災害外科 臨時増刊号, 「再生医療の現状と最前線」 (戸口田淳也先生 編集), 2013, 56 (5): 683-688

⑦ 渡邊洋子, 山口賢彦, **深田宗一朗**: 筋サテライト細胞の維持機構, 生体の科学, 「特殊な幹細胞としての骨格筋サテライト細胞」 2013, 64 (2): 111-116

〔学会発表〕(計5件)

① Max-Planck Institute, ECCPS Mini symposium, 「Muscle regeneration and muscle stem cells」 **So-ichiro Fukada**, Bad Nauheim, Germany, 2012年5月31日

② **So-ichiro Fukada**, Masahiko Yamaguchi, Yoko Watanabe, Takuji Ohtani 「Calcitonin receptor regulates muscle satellite cells」 Lucca, Italy, **Oral presentation**、**FASEB Summer Research Conferences**, 2012年8月14日

③ 東京女子医科大学 テニユアトラック教員支援セミナー 「骨格筋幹細胞から筋疾患治療開発へのアプローチ」 **深田宗一朗**, 東京女子医科大学, 2012年11月2日

④ 9th Japanese-French Symposium for ‘muscular dystrophy’ 「Molecular regulation of muscle stem cells by ‘quiescence genes’」 **So-ichiro Fukada**, JA共済ビルカンファレンス 2012年9月8日

⑤ 第35回日本分子生物学会 ワークショップ W66 骨格筋幹細胞研究の最前線, 「ホルモン受容体による骨格筋幹細胞維持メカニズム」 **深田宗一朗**, 福岡国際会議場, 2012年12月11日

〔図書〕(計1件)

① Yamaguchi M and **Fukada S***: Regulation of muscle stem cell quiescence and undifferentiated state: The role of Hes1 and Hes3, *Tumor Dormancy, Quiescence, and Tissue Senescence* (eds. M.A. Hayat), 2013, Volume 1, p107-116, Springer, ISBN 978-94-007-5957-2 (*corresponding author)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

深田 宗一朗 (FUKADA So-ichiro)

大阪大学・大学院薬学研究科・招聘准教授

研究者番号：20432445

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：