

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：34310
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2017～2022
課題番号：17K13138
研究課題名(和文) マイオカインによる筋損傷修復機構の解明

研究課題名(英文) Muscle regeneration system on Myokine

研究代表者

土屋 吉史 (Tsuchiya, Yoshifumi)

同志社大学・スポーツ健康科学部・助教

研究者番号：20795679

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、損傷筋線維由来マイオカインを同定することで、筋の再生や質をコントロールする「筋サテライト細胞」を活性化させ、筋損傷後の素早い回復のメカニズムを明らかにすることに取り組んだ。筋幹細胞の活性化動態が観察可能なプラットフォームを構築後、損傷筋由来マイオカイン「DMDFs：(Damaged myofiber-derived factors)」を同定した。そして、DMDFs はマウス骨格筋内のサテライト細胞の増殖を加速させたことから、損傷した筋肉が DMDFs を放出することで、筋幹細胞を活性化させ自身の修復を図るといった、合理的な再生メカニズムの存在を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で新規に同定したマイオカインがバイオマーカーとして、筋疾患の亢進を食い止める新たな指標や、創薬開発、トレーニング法の構築に繋がることが期待される。したがって、本研究成果に基づいた筋疾患の「予防医学的」な治療法やアスリートのための筋疲労回復促進など、関連する分野における研究を加速させ、臨床も含めた国内外における創薬事業やスポーツ啓発事業にも貢献するものと予想される。

研究成果の概要(英文)：Here, we investigated whether damaged myofibers influence the activation of satellite cells. Our findings revealed that satellite cells are directly activated by damaged myofiber-derived factors (DMDFs). DMDFs induced satellite cells to enter the cell-cycle; however, the cells stayed at the G1 phase and did not undergo S phase, while these cells were reversible to the quiescent state. Proteome analysis identified metabolic enzymes including GAPDH as DMDFs, whose recombinant proteins stimulated the activation of satellite cells. Satellite cells pre-exposed to the DMDFs demonstrated accelerated proliferation ex vivo. Treatment with recombinant DMDFs prior to muscle injury promoted expansion of the satellite cell population in vivo. Thus, our results indicate that DMDFs are not only a set of biomarkers for muscle damage but also acting as moonlighting proteins involved in satellite cell activation at the initial step of muscle regeneration.

研究分野：筋分子生物学

キーワード：サテライト細胞 マイオカイン 筋損傷 活性化

1. 研究開始当初の背景

急速に高齢化が進行する我が国において、加齢に伴う筋萎縮症(サルコペニア)などに代表される運動器機能低下(ロコモティブシンドローム)への対策は、健康寿命の延伸を図る上で喫緊の課題となっている。特にサルコペニアは、ロコモティブシンドロームを引き起こす主要因であり、機能障害や生活の質の低下が懸念される。したがって、運動を定着させ筋量を維持するサルコペニア予防や筋機能維持は、心身ともに健康を維持する上で欠かせない試みであるといえる。また、アスリートに対するトレーニング方法の構築もスポーツ科学領域における命題である。ハードなトレーニングや連戦を強いられるアスリートにとって、損傷した筋を素早く修復させることは、次の試合で高いパフォーマンスを発揮するための鍵といえる。したがって、運動に伴う筋損傷を素早く修復する機序解明は本領域において意義深いといえる。

今世紀に入り、骨格筋は単純にエネルギーを生み出すだけでなく、血液循環を介して様々な組織に作用する生理活性因子(マイオカイン)を放出する内分泌器官としての役割を担うことが見出された(Steensberg et al., 2001)。マイオカインは、「筋線維(筋細胞)の収縮によって産生、発現、放出され、傍分泌、内分泌様に生体に影響を及ぼす生理活性物質(Pedersen et al., 2007)」と考えられており、運動の有益な効果を説明する因子として注目されている。このためマイオカインの研究は、生活習慣病や加齢に関わる疾病予防の創薬開発や、競技パフォーマンス向上に対するトレーニング法の開発を加速させる可能性がある。しかし、既存のマイオカイン研究の多くは運動前後の動態に焦点しており、筋の損傷時に応答し損傷修復を促すマイオカインは発見されていない。運動習慣をもたない中・高齢者や、ハードなトレーニングをこなすアスリートにとって長時間あるいは高強度運動後の筋損傷は必至であり、運動を継続し難い。しかし、筋損傷の修復機構、とりわけマイオカインの影響については未だにその全容が明らかにされていない。本研究では、筋損傷の修復を促進するマイオカインを独自に同定し、マイオカインによる筋の修復機構の解明を目指した。

2. 研究の目的

筋損傷を修復させるマイオカインを新規に同定し、筋損傷の新たな修復機構を解明すること。

3. 研究の方法

【実験1】：筋内に含まれるタンパク質が筋損傷を修復させるか否かの検証

先ず、筋線維一本一本の培養を可能にする浮遊培養法にて、サテライト細胞の活性化動態が観察可能なプラットフォームを構築した。そして損傷筋線維と非損傷筋線維を共培養し、非損傷筋線維上のサテライト細胞を活性化指標である Pax7 と MyoD 抗体により観察し、定量した。

【実験2】：筋損傷を修復するマイオカインの同定

プロテオーム解析によってサテライト細胞を活性化させたマイオカイン候補を選定した。この際、特定されたマイオカイン(DMDFs: Damaged Myofiber-Derived Factors) のリコンビナントたん

ぱく質を用い再現性の確認を行った。

【実験3】：同定したマイオカインの損傷を促進するか否かの検証

WT マウスの前脛骨筋に DMDFs を事前投与し、薬剤により筋損傷を誘導した。前脛骨筋の凍結切片を作成した後、増殖期にあると考えられるサテライト細胞の数を定量した。同時に、遺伝子解析も行った。

4. 研究成果

この研究では先ず、通常の接着培養方法では不可能な筋線維一本一本の培養を可能にする浮遊培養法の利点を活かし、生理的筋損傷下でサテライト細胞の活性化動態を観察可能にしたプラットフォームを構築した。本損傷モデルを用いて解析した結果、損傷筋線維から漏出する成分はサテライト細胞を活性化させ、活性化した細胞は細胞分裂の準備期にあたる G1 期に入ることを見出した。その際に得られた培養上清をプロテオーム解析に投じたところ、損傷により筋線維から解糖系酵素群が漏出していたことをみつけた。この酵素群を休止期のサテライト細胞に曝露すると、サテライト細胞は予想通り活性化し G1 期に入ることを確認した。我々はこれらの酵素群を DMDFs (Damaged Myofiber-Derived Factors) と命名し、これらがサテライト細胞を活性化させることを突き止めた。さらに、マウス骨格筋に DMDFs を事前投与し、続いて薬剤により筋損傷を誘導すると、サテライト細胞の増殖は加速した。

以上の結果から、壊れた筋そのものが DMDFs を放出し、筋線維上に休止期の状態で居るサテライト細胞を活性化させるといった、極めて合理的な再生メカニズムの存在を明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tsuchiya Yoshifumi, Kitajima Yasuo, Masumoto Hiroshi, Ono Yusuke	4. 巻 15
2. 論文標題 Damaged Myofiber-Derived Metabolic Enzymes Act as Activators of Muscle Satellite Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 926 ~ 940
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2020.08.002	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 Tsuchiya Yoshifumi, Ono Yusuke	4. 巻 12
2. 論文標題 An in vitro Mechanical Damage Model of Isolated Myofibers in a Floating Culture Condition	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BIO-PROTOCOL	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) 10.21769/BioProtoc.4280	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yoshifumi Tsuchiya, Yusuke Ono
2. 発表標題 Do Muscle- And Tendon- Derived Factors Contribute To Muscle Regeneration?
3. 学会等名 ACSM Integrative Physiology of Exercise (国際学会)
4. 発表年 2018年 ~ 2019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
---------	---------