

令和 4 年 4 月 12 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H04000

研究課題名(和文)筋サテライト細胞が運動トレーニングと日常動作の違いを感知する分子メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism underlying different behaviors of muscle stem cells in loaded and sedentary muscle

研究代表者

深田 宗一郎 (FUKADA, So-ichiro)

大阪大学・薬学研究科・准教授

研究者番号：20432445

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本申請では、筋常在性の間葉系前駆細胞が物理的的刺激に応答し、Yap/Taz依存的に増殖因子を発現する事で、サテライト細胞の増殖を促進する事を発見しました。特に、間葉系前駆細胞由来のThrombospondin-1 (Thbs1) に着目し解析を行った結果、Thbs1がサテライト細胞のCD47を刺激する事で、筋損傷がない環境下でもサテライト細胞の増殖を誘導する事を見出しました。さらに、サテライト細胞の静止期シグナルであるカルシトニン受容体(CalcR)の発現低下が、Thbs1の作用には必須で、CalcR欠損マウスにCD47のアゴニストを投与すると、サテライト細胞の増殖を誘導できる事を証明しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般的には、物理的的刺激により筋線維が壊れることがサテライト細胞の活性化・増殖を誘導すると考えられていました。そのため筋サテライト細胞が運動依存的に増殖するために、損傷は必要なく、間質の細胞が必要であることはこれまでの常識を塗り替える成果となりました。また、核は細胞のまさに「核」であり、老化や病気によってその質が低下します。損傷も物理的負荷もない条件でも、筋線維核を増加できる事は、筋線維核の機能が低下する疾患への応用が期待されます。

研究成果の概要(英文)：It is generally considered that muscle stem cell proliferation is triggered by the damages of myofibers in resistance training. However, in our previous study, we found that muscle stem cells proliferate even without the damages to myofibers (Elife. 2019;8:e48284.). In this proposal, we discovered the relayed signaling between interstitial cells and muscle stem cell via Yap/Taz-Thbs1-CD47 axis. We also founded that the down-regulation of calcitonin receptor ensure the proliferation of MuSC in training muscle.

研究分野：筋生物学

キーワード：レジスタンストレーニング 筋サテライト細胞 間葉系前駆細胞 カルシトニン受容体 Yap/Taz

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

筋サテライト細胞 (MuSC: Muscle Satellite Cell) は通常は、細胞周期 G0 期 (静止期) で維持されている。一方で、レジスタンストレーニング等の骨格筋への過負荷刺激により、MuSC は活性化・増殖後に筋線維へ新たな核を供給する事で筋肥大に働く。一般的にレジスタンストレーニング時の MuSC の関与は「壊れた筋線維を修復するため」と考えられていた。しかし、実質的な筋傷害が存在しない肥大条件下でも、MuSC は活性化・増殖することを申請者は観察していた。つまり、筋傷害は過負荷刺激時の MuSC が活性化・増殖に必須ではなく、MuSC は「日常動作」と「レジスタンストレーニング」の動き(機械刺激)の違いを区別していると考えられた。しかし、その分子メカニズムは不明であった。

### 2. 研究の目的

「寝たきりによる要介護状態」や「加齢」に伴う筋萎縮等を予防・改善する治療法の確立は超高齢化社会である我が国において急務の研究課題の一つである。一方で、運動トレーニング等により、骨格筋量・力を増加することができる。これは、骨格筋を構成する主たる細胞、筋線維が肥大するためである。持続的な筋力トレーニングは、筋量を維持するために効果的であるが、寝たきりの高齢者に実施することは、骨折などの他のリスクを伴うため現実的ではない。そのため、筋肥大メカニズムの解明は、骨格筋量・力減少を予防・改善するために必須の研究課題である。筋肥大時に観察される MuSC の増殖・筋核供給メカニズムを解明し、制御することができれば、高齢者にとっても負荷の少ない範囲での運動により、効率的に骨格筋量・力を改善する方法につながる可能性がある。このような背景の元、本研究の目的はマウス筋肥大モデルや MuSC の静止期維持シグナルに焦点をあてる事で MuSC が異なる筋の動きを感知する分子機構解明を目的とした。特に、機械刺激センサーとしても知られている Yap や Taz に着目した。

### 3. 研究の方法

実験計画①: CalcR・Yap1 二重欠損マウスの解析

MuSC 特異的な CalcR 欠損マウス (Pax7CreERT2::Calcrflox/flox) と Yap1 のコンディショナル欠損マウスを交配し、MuSC 特異的な CalcR・Yap1 の二重欠損マウスを作成し (Pax7CreERT2::Calcrflox/flox::Yap1flox/flox) 同腹の CalcR 欠損マウスと比較することで、CalcR 欠損で見られる MuSC の静止期異常 (Ki67 陽性細胞数の増加・細胞周期関連遺伝子の増加) が Yap1 依存的に起きているか否かについて検討を行った。

実験計画③: 間葉系前駆細胞特異的な Yap/Taz 二重欠損マウスの解析

間葉系前駆細胞特異的な Yap/Taz 欠損マウスを作成し (Pa-cdKO: PdgfraCreERT2::Yapflox/flox::Tazflox/flox) 代償性筋肥大時の MuSC の増殖や筋核供給数を解析した。

実験計画④: 間葉系前駆細胞内の Yap/Taz 依存的な因子の同定

Pa-cdKO から間葉系前駆細胞を単離し、RNA-seq 解析を行なった。

実験計画⑤: CalcR 特異的な CD47 欠損マウスの解析

Thrombospondin-1 の受容体の 1 つである、CD47 を MuSC 特異的に欠損したマウスを作成し、代償性筋肥大時の MuSC の増殖や筋核供給数を解析した。

### 4. 研究成果

まず、Yap1 欠損により CalcR 欠損 MuSC で見られる、増殖マーカーの発現は抑制されたことから、CalcR の下流に Yap1 があることが明らかとなった。CalcR 欠損 MuSC は、増殖マーカーの発現は増加するが、実際には増殖しない。そこで、間質に存在する間葉系前駆細胞で Yap1 を欠損させ筋肥大に与える影響を検討した。このとき、Taz も間葉系前駆細胞で強く発現していたことから、Yap1/Taz の二重欠損マウスを作成した。その結果、機械刺激依存的な MuSC の増殖には間葉系前駆細胞内の Yap/Taz が必須であることが明らかとなった。そこで、間葉系前駆細胞内で Yap1/Taz 依存的に発現する因子を探索した結果、Thrombospondin-1 を見出した。Thrombospondin-1 は人でも運動による増加することが知られている。そこで、Thrombospondin-1 の受容体を検討した結果、CD47 が MuSC においては重要であることを明らかにした。さらに、CD47 のアゴニストを投与することで、機械刺激依存的な筋線維核数の増加がさらに増えること

を見出した。重要なことに、CalcR の発現は負荷依存的にその発現が低下し、機械刺激 2 日目から低下していた。さらに、CalcR の発現低下と CD47 アゴニストによる刺激が揃うことで、運動も損傷もない環境下でも CalcR の増殖が誘導できることを発見した。つまり、CalcR が運動と日常動作を区別しているメカニズムとしては、1. CalcR の発現低下 2. 間葉系前駆細胞の活性化による増殖因子の分泌が二つ揃うことで、運動の強度による MuSC の動態が制御されているモデルを提唱することができた。これらの成果は Cell Stem Cell に本年度発表することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Fukada So-ichiro, Akimoto Takayuki, Sotiropoulos Athanassia	4. 巻 1867
2. 論文標題 Role of damage and management in muscle hypertrophy: Different behaviors of muscle stem cells in regeneration and hypertrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research	6. 最初と最後の頁 118742 ~ 118742
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamcr.2020.118742	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 該当する
1. 著者名 Zhang Lidan, Kubota Manami, Nakamura Ayasa, Kaji Takayuki, Seno Shigeto, Uezumi Akiyoshi, Andersen Ditte Caroline, Jensen Charlotte Harken, Fukada So-ichiro	4. 巻 39
2. 論文標題 Dlk1 regulates quiescence in calcitonin receptor-mutant muscle stem cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 STEM CELLS	6. 最初と最後の頁 306 ~ 317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/stem.3312	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 Zhang L, Noguchi YT, Nakayama H, Kaji T, Tsujikawa K, Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Okada Y, Doi T, Watanabe S, Braun T, Fujio Y, Fukada SI.	4. 巻 29
2. 論文標題 The CalcR-PKA-Yap1 Axis Is Critical for Maintaining Quiescence in Muscle Stem Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 2154-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.10.057.	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 該当する
1. 著者名 Fukuda S, Kaneshige A, Kaji T, Noguchi YT, Takemoto Y, Zhang L, Tsujikawa K, Kokubo H, Uezumi A, Maehara K, Harada A, Ohkawa Y, Fukada SI.	4. 巻 8
2. 論文標題 Sustained expression of HeyL is critical for the proliferation of muscle stem cells in overloaded muscle.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Elife	6. 最初と最後の頁 e48284.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.48284.	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 Zhang L, Uezumi A, Kaji T, Tsujikawa K, Andersen DC, Jensen CH, Fukada SI.	4. 巻 20
2. 論文標題 Expression and Functional Analyses of Dlk1 in Muscle Stem Cells and Mesenchymal Progenitors During Muscle Regeneration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 3269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20133269.	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 該当する

1. 著者名 Cheng W, Gonzalez I, Pan W, Tsang AH, Adams J, Ndoka E, Gordian D, Khoury B, Roelofs K, Evers SS, MacKinnon A, Wu S, Frikke-Schmidt H, Flak JN, Trevasakis JL, Rhodes CJ, Fukada SI, Seeley RJ, Sandoval DA, Olson DP, Blouet C, Myers MG Jr.	4. 巻 31
2. 論文標題 Calcitonin Receptor Neurons in the Mouse Nucleus Tractus Solitarius Control Energy Balance via the Non-aversive Suppression of Feeding.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Metab	6. 最初と最後の頁 301-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cmet.2019.12.012	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 Ikemoto-Uezumi M*, Uezumi A, Zhang L, Zhou H, Hashimoto N, Okamura K, Matsui Y, Tsukazaki K, Hosoyama T, Nakatani M, Morita M, Yamada H, Tsuchida K, Fukada SI*	4. 巻 2
2. 論文標題 Reduced expression of calcitonin receptor is closely associated with age-related loss of the muscle stem cell pool	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Cachexia. Sarcop. Muscle. Rapid Commun	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/j.2617-1619.2019.tb00012.x	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 Kaneshige Akihiro, Kaji Takayuki, Zhang Lidan, Saito Hayato, Nakamura Ayasa, Kurosawa Tamaki, Ikemoto-Uezumi Madoka, Tsujikawa Kazutake, Seno Shigeto, Hori Masatoshi, Saito Yasuyuki, Matozaki Takashi, Maehara Kazumitsu, Ohkawa Yasuyuki, Potente Michael, Watanabe Shuichi, Braun Thomas, Uezumi Akiyoshi, Fukada So-ichiro	4. 巻 29
2. 論文標題 Relayed signaling between mesenchymal progenitors and muscle stem cells ensures adaptive stem cell response to increased mechanical load	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Stem Cell	6. 最初と最後の頁 265 ~ 280.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stem.2021.11.003	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 該当する

1. 著者名 Ato Satoru, Fukada So-ichiro, Kokubo Hiroki, Ogasawara Riki	4. 巻 322
2. 論文標題 Implication of satellite cell behaviors in capillary growth via VEGF expression-independent mechanism in response to mechanical loading in HeyL-null mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 C275 ~ C282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpcell.00343.2021	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14件 (うち招待講演 12件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 深田 宗一郎
2. 発表標題 運動負荷依存的に筋線維核が増加する機構
3. 学会等名 第94回日本薬理学 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 深田 宗一郎
2. 発表標題 Exercise and muscle stem cells
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 So-ichiro Fukada
2. 発表標題 Calcitonin receptor and muscle satellite cells
3. 学会等名 Berlin Muscle Club (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 So-ichiro Fukada
2. 発表標題 Resistance training and muscle stem cell
3. 学会等名 AOCE-SICEM (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 So-ichiro Fukada
2. 発表標題 Molecular and Cellular regulation of MuSCs in loaded muscle
3. 学会等名 Muscle Science Talks (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 So-ichiro Fukada
2. 発表標題 Regulation of muscle stem cell in overloaded muscle
3. 学会等名 France-Hong Kong meeting-Hong Kong, China (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 So-ichiro Fukada, Ryo Ogawa, Ma Yuran, Masahiko Yamaguchi
2. 発表標題 Muscle stem cell responses to muscle injury and overload
3. 学会等名 Seoul National University, Medical School, Invited seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 So-ichiro Fukada ,Lidan Zhang
2. 発表標題 Calcitonin receptor signaling and muscle exercise
3. 学会等名 Frontiers in myogenesis ( 国際学会 )
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 深田 宗一郎
2. 発表標題 骨格筋肥大と筋幹細胞
3. 学会等名 第 1 2 6 回日本畜産学会 ( 招待講演 )
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 深田 宗一郎
2. 発表標題 骨格筋の適応と筋サテライト細胞
3. 学会等名 第 7 4 回体力医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 深田 宗一郎
2. 発表標題 アンチエイジングと筋幹細胞
3. 学会等名 第 4 7 回日本関節病学会 ( 招待講演 )
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 深田 宗一郎
2. 発表標題 骨格筋幹細胞研究を起点とした移植細胞創成技術の開発 -筋損傷・筋肥大に対する筋幹細胞のレスポンスの違い-
3. 学会等名 筋ジストロフィー 合同班会議（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 深田 宗一郎
2. 発表標題 Behaviors of muscle stem cells in overloaded muscle
3. 学会等名 第18回幹細胞シンポジウム（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 深田 宗一郎
2. 発表標題 骨格筋は日常活動と運動の違いを どうやって感知しているのか？
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 深田宗一郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー・リサーチ	5. 総ページ数 326
3. 書名 骨格筋研究を核とした筋スマート社会「骨格筋の生理的な修復・再生・適応メカニズム」	

〔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
---------	---------