

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：12102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2023

課題番号：20K23283

研究課題名（和文）骨格筋幹細胞の移植効率の向上を目指した筋組織内微小環境の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the Skeletal Muscle Microenvironment to Improve Transplantation Efficiency of Muscle Stem Cells

研究代表者

藤田 諒 (Fujita, Ryo)

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：60770435

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、骨格筋幹細胞の移植効率を向上させるため、その微小環境（ニッチ）に焦点を当てました。骨格筋幹細胞は筋再生に不可欠で、サルコペニア（加齢による筋力低下）や筋ジストロフィー（遺伝性筋疾患）の治療に期待されています。しかし、移植効率の低さが課題です。本研究では、骨格筋幹細胞の維持に重要な因子GPR116を特定しました。GPR116の欠損により、幹細胞の数が減少し、休止期を維持する能力が低下することが判明しました。この成果は、新しい治療法の開発に貢献し、将来的には筋疾患の治療に役立つことが期待されます。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、骨格筋幹細胞の移植効率向上を目指し、骨格筋幹細胞の微小環境（ニッチ）に注目しました。骨格筋幹細胞は筋肉の再生に重要で、加齢による筋力低下（サルコペニア）や遺伝性筋疾患（筋ジストロフィー）の治療に役立つと期待されています。研究の結果、GPR116という因子が骨格筋幹細胞の維持に重要であることを発見しました。骨格筋幹細胞のGPR116が欠けると、微小環境との相互作用が低下し、その結果幹細胞の数が減少し、休眠状態を保つ力が弱まります。この分子の発見により、骨格筋幹細胞のGPR116の発現を保つための微小環境を整えることで、より効果的な幹細胞移植を目指せると考えます。

研究成果の概要（英文）：This research focused on improving the transplantation efficiency of skeletal muscle stem cells by examining their microenvironment, niche. Skeletal muscle stem cells are crucial for muscle regeneration and are expected to be used in treating sarcopenia (age-related muscle loss) and muscular dystrophy. However, the low efficiency of transplantation has been a challenge. In this study, we identified GPR116 as a key factor for maintaining skeletal muscle stem cells. It was found that the absence of GPR116 leads to a decrease in the number of stem cells and reduces their ability to maintain a quiescent state. These findings contribute to the development of new treatments and are expected to aid in the future treatment of muscle disease.

研究分野：骨格筋生物学

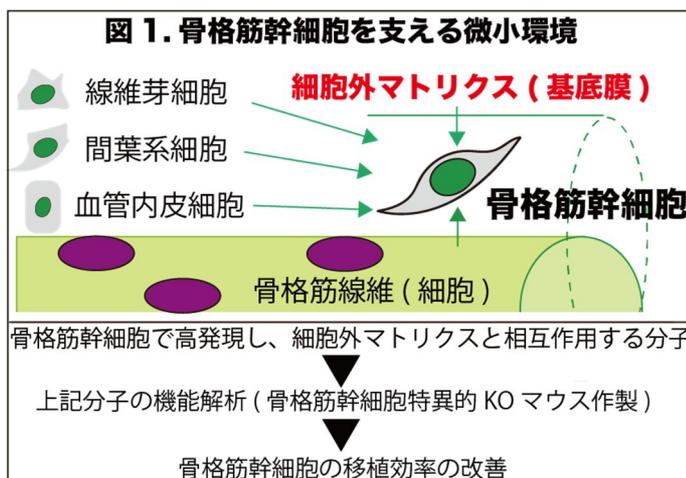
キーワード：骨格筋幹細胞 骨格筋 細胞移植 幹細胞ニッチ 遺伝性筋疾患 サルコペニア 筋ジストロフィー 筋再生

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

超高齢化社会に足を踏み入れた日本は、いかに健康で老いるか、が極めて重要になっている。加齢とともに骨格筋の量と質は徐々に低下し、要介護の原因となるため、骨格筋を健康に保つための分子基盤の解明はサルコペニアや筋ジストロフィーなどの筋疾患治療の鍵となる。骨格筋を健康に保ち、種々の筋疾患の予防・治療には、骨格筋幹細胞による筋再生・形成機構の関わる包括的な分子基盤の解明が重要である。骨格筋は多核の筋線維から構成され、筋線維の細胞膜と基底膜との間には単核の骨格筋幹細胞が存在する (Mauro, A. J Biophys Biochem Cytol. 1961)。骨格筋の強靱な可塑性はこの骨格筋幹細胞によって担われている (von Maltzahn J. et al. PNAS. 2013)。骨格筋幹細胞は筋損傷等がない状態では眠った状態 (休止期) で存在しているが、筋損傷等による異常を感知すると、細胞周期へ入り増殖を繰り返す。その後ほとんどの細胞は後期の筋分化へ移行し、互いに融合し、筋線維を形成する。一方、活性化した一部の細胞は、自己複製をすることによって幹細胞としての数の減少を防ぐ。骨格筋幹細胞のこの精密な制御機構は加齢や筋疾患等により乱れ、次第に幹細胞数や機能の低下を引き起こし、結果として筋恒常性の破綻を招く。このような骨格筋幹細胞の数及び性質維持機構として、コラーゲン V などの細胞外マトリクス (Baghdadi et al. Nature. 2018) をはじめとしたな微小環境 (ニッチ) が重要であることが報告されている (図 1)。

筋疾患への治療戦略として、骨格筋幹細胞移植が挙げられる。しかし、移植細胞の生着効率の低さから治療効果を得るには現状至っていない (Gussoni et al. Nature. 1992)。原因の一つは、培養時に多くの骨格筋幹細胞が幹細胞の性質を失ってしまうことが移植効率の低下を招くと考えられている (Zismanov et al. Cell Stem Cell. 2016)。もう一つの原因は幹細胞移植を受けるレシピエントの状態が幹細胞生着に大きく影響を及ぼすと考えられる。現在まで、多くの研究者が骨格筋幹細胞の幹細胞性を維持するための培養法の開発を試みている一方で、幹細胞移植におけるレシピエントの筋組織内のどのようなニッチが幹細胞生着にとって重要であるか? という問いに関してその分子機序は多くが不明のままである。つまり、骨格筋幹細胞が細胞外マトリクス等とどのような分子を介して制御されているのか、そして、それがどのように移植細胞の生着に関与しているかは不明である。



2. 研究の目的

骨格筋の可塑性を制御する骨格筋幹細胞は生体内で唯一骨格筋線維を再生できる幹細胞であることからサルコペニアや筋ジストロフィーなどの筋疾患への細胞治療が高く期待されている。しかし移植効率の低さから治療効果は現在までのところ得られていない。これまでの多くの研究が骨格筋幹細胞自体の性質に着眼したものが多く、本研究は骨格筋幹細胞と相互作用する微小環境に焦点を当てる。具体的には、細胞外マトリクスと相互作用し、骨格筋幹細胞の維持に重要な因子を同定することを目指す。そして、同定した分子あるいは

分子シグナルを制御することで移植細胞の生着効率及び、筋疾患に対する治療効果を高めることを目的とする。

3. 研究の方法

1. 骨格筋幹細胞の休止期に高発現する遺伝子のうち、細胞外マトリクスなどの微小環境と相互作用する分子の同定。

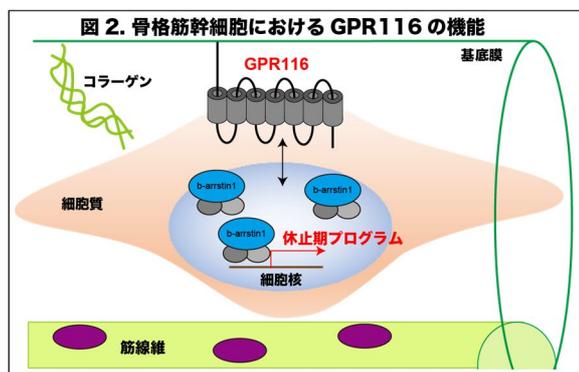
2. 骨格筋幹細胞特異的に同定した分子を欠損させるマウスを作成し、その影響を解析する。

3. 骨格筋幹細胞特異的に同定した分子を欠損させた細胞を移植することで、移植後の細胞の生着効率や筋再生能を評価する。

4. 研究成果

本研究では、骨格筋幹細胞の維持に重要な因子 GPR116 を特定した (図 2)。GPR116 が細胞外に突出した細胞外ドメインで、細胞外マトリクスと相互作用することが知られています。骨格筋幹細胞特異的に GPR116 を欠損させると、骨格筋幹細胞の休止状態を保つ能力が低下することが明らかとなった。そのため、GPR116 が欠損した状態が続くと、骨格

筋幹細胞数が顕著に低下し、筋再生不全に陥ることがわかった。また、GPR116 の下流分子として b-arrestin1 を同定した (図 2)。骨格筋幹細胞において微小環境から受ける GPR116 を介したシグナルは、b-arrestin1 へと伝達されるため、今後このシグナルを強化した骨格筋幹細胞や、もしくはこのシグナルを強化する GPR116 のリガンド分子を同定することで、さまざまな筋疾患に対するより効果的な幹細胞治療法の開発に繋がることを期待される。



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 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Fujita Ryo, Mizuno Seiya, Sadahiro Taketaro, Hayashi Takuto, Sugasawa Takehito, Sugiyama Fumihiro, Ono Yusuke, Takahashi Satoru, Ieda Masaki	4. 巻 26
2. 論文標題 Generation of a MyoD knock-in reporter mouse line to study muscle stem cell dynamics and heterogeneity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 106592 ~ 106592
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2023.106592	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 Senechal Charlotte, Fujita Ryo, Jamet Solene, Maiga Arhamatoulaye, Dort Junio, Orfi Zakaria, Dumont Nicolas A., Bouvier Michel, Crist Colin	4. 巻 41
2. 論文標題 The adhesion G-protein-coupled receptor Gpr116 is essential to maintain the skeletal muscle stem cell pool	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 111645 ~ 111645
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2022.111645	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 Tani Hidenori, Sadahiro Taketaro, Yamada Yu, Isomi Mari, Yamakawa Hiroyuki, Fujita Ryo, Abe Yuto, Akiyama Tatsuya, Nakano Koji, Kuze Yuta, Seki Masahide, Suzuki Yutaka, Fujisawa Manabu, Sakata-Yanagimoto Mamiko, Chiba Shigeru, Fukuda Keiichi, Ieda Masaki	4. 巻 147
2. 論文標題 Direct Reprogramming Improves Cardiac Function and Reverses Fibrosis in Chronic Myocardial Infarction	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 223 ~ 238
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.058655	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 Takeda Kohei, Takemasa Tohru, Fujita Ryo	4. 巻 2640
2. 論文標題 High Throughput Screening of Mitochondrial Bioenergetics in Myoblasts and Differentiated Myotubes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 89 ~ 98
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-1-0716-3036-5_7	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 Hayashi Takuto, Kudo Takashi, Fujita Ryo, Fujita Shin-ichiro, Tsubouchi Hirona, Fuseya Sayaka, Suzuki Riku, Hamada Michito, Okada Risa, Muratani Masafumi, Shiba Dai, Suzuki Takafumi, Warabi Eiji, Yamamoto Masayuki, Takahashi Satoru	4. 巻 4
2. 論文標題 Nuclear factor E2-related factor 2 (NRF2) deficiency accelerates fast fibre type transition in soleus muscle during space flight	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	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/s42003-021-02334-4	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 Isomi Mari, Sadahiro Taketaro, Yamakawa Hiroyuki, Fujita Ryo, Yamada Yu, Abe Yuto, Murakata Yoshiko, Akiyama Tatsuya, Shu Tsugumine, Mizukami Hiroaki, Fukuda Keiichi, Ieda Masaki	4. 巻 143
2. 論文標題 Overexpression of Gata4, Mef2c, and Tbx5 Generates Induced Cardiomyocytes Via Direct Reprogramming and Rare Fusion in the Heart	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 2123 ~ 2125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.052799	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 Fujita Ryo, Sadahiro Taketaro, Ieda Masaki	4. 巻 37
2. 論文標題 Direct Reprogramming as a Novel Approach for Cardiovascular Regeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery	6. 最初と最後の頁 10 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.9794/jspccs.37.10	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 Isomi Mari, Sadahiro Taketaro, Fujita Ryo, Abe Yuto, Yamada Yu, Akiyama Tatsuya, Mizukami Hiroaki, Shu Tsugumine, Fukuda Keiichi, Ieda Masaki	4. 巻 560
2. 論文標題 Direct reprogramming with Sendai virus vectors repaired infarct hearts at the chronic stage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 87 ~ 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.04.121	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 Fujita Ryo, Jamet Solene, Lean Graham, Cheng Harry Chun Man, Hebert Steven, Kleinman Claudia L., Crist Colin	4. 巻 148
2. 論文標題 Satellite cell expansion is mediated by P-eIF2 dependent Tacc3 translation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Development	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) 10.1242/dev.194480	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

[学会発表] 計5件(うち招待講演 2件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 藤田諒
2. 発表標題 骨格筋幹細胞と微小環境をつなぐ接着型Gタンパク質共役型受容体の役割
3. 学会等名 第8回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤田諒
2. 発表標題 接着型Gタンパク質共役型受容体による骨格筋幹細胞維持メカニズム
3. 学会等名 第8回 Matricell フォーラム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤田諒
2. 発表標題 サルコペニア・筋疾患治療へ向けた骨格筋幹細胞の可能性
3. 学会等名 BioJapan2021
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 藤田諒
2. 発表標題 Gタンパク質共役型受容体における骨格筋幹細胞の幹細胞性維持機構
3. 学会等名 第76回日本体力医学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 藤田諒
2. 発表標題 骨格筋幹細胞の機能とサルコペニア
3. 学会等名 第7回日本サルコペニア・フレイル学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>筋肉の幹細胞が眠る仕組みを解明-筋疾患治療法の開発に貢献- https://www.tsukuba.ac.jp/journal/medicine-health/20221117140000.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

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