

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25560367

研究課題名(和文)骨格筋由来の免疫抑制分子の同定

研究課題名(英文)Identification of muscle derived immune suppressive factor

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) 3,000,000円

研究成果の概要(和文):我々は急性の筋傷害モデルとLPS投与による急性炎症モデルを組み合わせることで、筋傷害を受けた際には、LPSによる炎症性サイトカインの発現が顕著に抑制される事を明らかにした。さらに、筋ジストロフィーモデルマウスを用いた検討においても、同様の結果が得られた。ストレスで誘導されるグルココルチコイドは免疫抑制作用があるために、これら筋傷害を受けたマウスでは、ストレスの影響で免疫応答が抑制される可能性があったため、ストレスマーカーの発現を検討した。その結果、筋傷害とストレスマーカーには相関はなく、我々の仮説「骨格筋由来の分子が免疫応答を抑制する」を支持した。

研究成果の概要(英文):In general, moderate exercise enhances immune system. However, hard exercise, such as a triathlon, is often accompanied by the impairment of immune system. During the time of immune impairment, bacteria or virus are allowed to infect our body easily. In other word, a window is opened for a virus by hard exercise. Therefore, this model is referred to as the open window theory. Using acute and chronic muscle-injured model, we found that muscle regeneration suppresses LPS-mediated inflammatory cytokine expression. We could deny the effect of stress, because stress maker was not increased in these models.

研究分野：幹細胞生物学

キーワード：骨格筋 筋傷害 炎症性サイトカイン 筋ジストロフィー

1. 研究開始当初の背景

適度な運動は免疫系を活性化するが、過度な運動は一時的に免疫機能を低下させる。興味深い結果として Duathlon (5km running, 40km cycling, 5km running) 後のアスリートの血清中では IL-17 の増加や好中球の活性化マーカーの増加が観察されており (Exerc. Immunol Rev. 18: 116-27, 2012)、近年「運動」と「免疫」の関係は非常に注目を集めている。この「運動の激しさ」と「免疫」の関係は 10 年以上前から提唱されており Pederson の Open window theory として知られている (J. Sci. Med. in Sport 2(3): 234-52: 1999)。さらに、筋ジストロフィー患者では呼吸器感染のリスクが高い事も知られている。これらの事実は、骨格筋組織が壊れる事で、免疫系に対して抑制的に働く物質が放出され、免疫能が低下している可能性を示唆している。しかし、そのような働きを持つ骨格筋由来免疫抑制分子は明らかになっていない。

申請者は骨格筋再生の研究をこれまで勢力的に行ってきた。一方免疫系の研究においては、免疫細胞の一種マクロファージが筋再生に必須であることや、神経ペプチドの一つカルシトニン関連ペプチドが皮膚炎症や自己免疫疾患に生理的に働いていること明らかにしてきた。双方の知識と経験を融合することで、通常は傷害で放出されるものは danger 因子として、免疫能を亢進させると考えられるが、筋傷害に関しては全く逆のセオリーが働いていると期待し、検討を行った。

2. 研究の目的

申請者は、激しい運動をすることで筋組織から免疫抑制物質が遊離し、これが樹状細胞の機能に影響を与え、免疫機能全体が抑制されているのではないかと仮説をたてた。これまでの骨格筋研究と免疫研究の両方の経験・知識を統合し、「骨格筋から、免疫機能を低下させる分子が放出されている」との仮説を立てた。本申請課題では、この仮説の検証を行うとともに、正常骨格筋由来の抽出物と樹状細胞を用いた実験により、筋由来抽出物から樹状細胞の機能を抑制する分子の単離・同定を目的とした。本目的が達成されれば、筋ジストロフィー患者や、過度な運動後の感染予防に役立つと期待できた。

3. 研究の方法

計画 1:
C57BL/6 マウスに蛇毒であるカルジオトキシンを投与する群と対照群を準備し、LPS を腹腔内投与した。その後、経時的に血液を採取し、炎症性サイトカイン濃度を測定した。

計画 2:
筋ジストロフィーモデルマウスである mdx マウスと対照群を準備し、LPS を腹腔内投与した。その後、経時的に血液を採取し、炎症性サイトカイン濃度を測定した。

計画 3:
Invitro で、樹状細胞が LPS によって産生する炎症性サイトカインに対して、骨格筋抽出物や筋傷害マウス血清が及ぼす影響を検討した。

4. 研究成果

申請者はカルジオトキシンを用いた急性の筋傷害モデルとリポポリサッカライド (LPS) を組み合わせる方法により、筋傷害と LPS による誘導される炎症性サイトカインの関連を測定した。その結果、筋傷害を誘導することで、LPS で誘導される血液中炎症性サイトカインの量が、顕著に抑制される事を明らかにした。さらに、筋ジストロフィーモデルマウスである mdx マウスを用いて、同様の検討を行った場合においても、同様の成果が得られた。ストレスで誘導されるグルココルチコイド等は、免疫抑制作用がある事が知られているため、カルジオトキシンモデルでのグルココルチコイド濃度を測定したが、コントロールと違いがなかったため、我々の仮説通り、筋傷害に伴って遊離された因子が免疫能に対して抑制的に働く事を実験的に証明する事ができた。因子同定の為に、骨格筋抽出物や筋傷害血清が樹状細胞の炎症性サイトカイン産生に対する影響を検討した。その結果、骨格筋抽出物では抑制作用が観察されたが、血清では効果を観察する事が困難であった。また骨格筋抽出物の場合では、極めて高濃度を用いる必要があった。

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. Pessina P, Kharras Y, Jardi M, Fukada S, Serrano S, Perdiguero E, Munoz-Canovas P: Fibrogenic cell plasticity blunts tissue regeneration and aggravates muscular dystrophy *Stem Cell Reports*, 2015, in press

2. Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Tsuchida K, Fukada S, Yamamoto H, Yamamoto N, Shiomi K, Hashimoto N: Pro-IGF-II

ameliorates age-related inefficient regenerative response by orchestrating self-reinforcement mechanism of muscle regeneration

Stem Cells, 2015, in press

3. Ogawa R, Ma Y, Yamaguchi M, Ito T, Watanabe Y, Ohtani T, Murakami S, Uchida S, De Gaspari P, Uezumi A, Nakamura M, Miyagoe-Suzuki Y, Tsujikawa K, Hashimoto N, Braun T, Tanaka T, Takeda S, Yamamoto H,

Fukada S:

Doublecortin marks a new population of transiently amplifying muscle progenitor cells and is required for myofiber maturation during skeletal muscle regeneration.

Development. 2015 Jan 1;142(1):51-61

4. Uezumi A, **Fukada S**, Yamamoto N, Ikemoto-Uezumi M, Nakatani M, Morita M, Yamaguchi A, Yamada H, Nishino I, Hamada Y, Tsuchida K.

Identification and characterization of PDGFR α + mesenchymal progenitors in human skeletal muscle

Cell Death & Disease, 2014, 5:e1186.

5. Doi R, Endo M, Yamakoshi K, Yamanashi Y, Nishita M, **Fukada S**, Minami Y:

Critical role of Frizzled1 in age-related alterations of Wnt/ β -catenin signal in myogenic cells during differentiation

Genes to Cells, 2014, 19(4): 287-96

6. Mikami N, Sueda K, Ogitani Y, Otani I, Takatsuji M, Wada Y, Watanabe K, Yoshikawa R, Nishioka S, Hashimoto N, Miyagi Y, **Fukada S***, Yamamoto H, Tsujikawa K: Calcitonin Gene-Related Peptide Regulates Type IV

Hypersensitivity through Dendritic Cell Function

PLoS One. 2014, 9(1):e86367 (*corresponding author)

7. **Fukada S**, Ma Y., and Uezumi A; Adult stem cell or mesenchymal progenitors theories for aging.

Frontiers in Cell and Development, 10.3389/fcell.2014.00010, 2014

〔学会発表〕(計2件)

1. 第14回 CMBR、基調講演、「骨格筋幹細胞の基礎研究から応用研究にむけて」、深田宗一朗、静岡、ラフォーレ修善寺ホテル、2014年11月22日

2. 第29回 日本整形外科学会基礎学術集会、シンポジウム「筋肉のエイジング・アンチエイジング」、「筋骨格系の共通制御因子としてのカルシトニン受容体の可能性」深田宗一朗、鹿児島 城山観光ホテル 2014年10月10日

3. スポーツ医科学コアセンター特別セミナー 骨格筋について考える、「骨格筋維持に必要な筋幹細胞発現遺伝子の解析」深田宗一朗、東北大学医学部、2014年2月21日

〔図書〕(計0件)

〔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0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：

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 宗一郎 (FUKADA So-ichiro)
大阪大学・薬学研究科・招聘准教授
研究者番号：20432445

(1) 研究分担者

研究者番号：

(1) 連携研究者

研究者番号：