

【目的】 骨格筋は損傷しても速やかに修復することのできる再生能力に富んだ組織である。筋再生の主役は骨格筋の体性幹細胞であるサテライト細胞である。サテライト細胞は損傷刺激を受けると活性化し、増殖、分化を経て筋線維を修復する。サテライト細胞の機能は筋再生のみならず、筋量の維持に重要であることから、その機能調節機序の理解が求められている。我々はこれまで、マウスの骨格筋から採取したサテライト細胞を培養し、その増殖能力を評価できるアッセイ系を構築してきた。その過程で、サテライト細胞はグルコース濃度の高い環境におかれると増殖能力が低下することを発見した。細胞増殖にはエネルギーが必要なため、ほとんどの細胞の場合、グルコースは増殖を促進させるように働き、枯渇すれば細胞は死滅してしまう。しかしサテライト細胞の場合は逆で、グルコースが多いほど増殖が抑制され、グルコースが少ないほど増殖が活発になる。以上の知見から、血糖値の高い疾患である糖尿病で骨格筋が萎縮するのは、高血糖によってサテライト細胞の増殖能力が低下するためであるという仮説が立てられたが、その機序は明らかにされていない。本研究の目的は、高濃度のグルコースがサテライト細胞の増殖力を抑制する分子機序を解明することである。

【方法】 マウスの骨格筋（長指伸筋）から筋線維を単離し、酵素処理によってサテライト細胞を播種した。高グルコース培地（最終濃度 19 mM）と低グルコース培地（最終濃度 2 mM）をそれぞれ調製し、グルコース濃度の異なる条件で培養した。培養 3、4、5、6 日目に細胞を 4%PFA で固定し、筋分化のステージを同定するためにそれぞれの段階のマーカー・タンパク質の免疫染色を行った。また、エネルギー・センサーである AMP キナーゼ (AMPK) の関与を検証するために、AMPK 活性化薬である AICAR を添加し、AMPK のリン酸化と細胞増殖を評価した。さらに、グルコースがサテライト細胞の増殖および自己複製に及ぼす影響の分子機序を明らかにするために、培養 6 日目の細胞から RNA を回収し、RNA シーケンス解析を行った。

【結果】 低グルコースで培養すると 6 日目の時点で高グルコース条件より細胞数が有意に増加し、高濃度のグルコースは細胞の増殖を抑制することが示された。また、Pax7 と MyoD を共染色した結果、Pax7 陽性かつ MyoD 陰性の細胞集団の割合が、高グルコースより低グルコース条件で有意に増加した。AICAR を 200 μ M の濃度で高グルコース培地に添加し 6 日間培養したところ、AMPK のリン酸化の上昇が認められた。しかしながら、低グルコースで培養した細胞では AMPK のリン酸化の上昇が確認されなかった。また、同条件のサンプルを用い、培養 6 日目の細胞数を計測した結果、通常培養と AICAR 添加培養で細胞数に差は認められなかった。すなわち、低グルコース培養で生じるサテライト細胞の増殖亢進は、AMPK を薬理的に活性化しても再現されることはなかった。培養 6 日目の細胞で RNA シーケンス解析を行った結果、グルコース濃度で発現量が 2 倍以上変化する遺伝子を 1,207 個同定した。

グルコース濃度によるサテライト細胞の増殖と運命決定の変化

