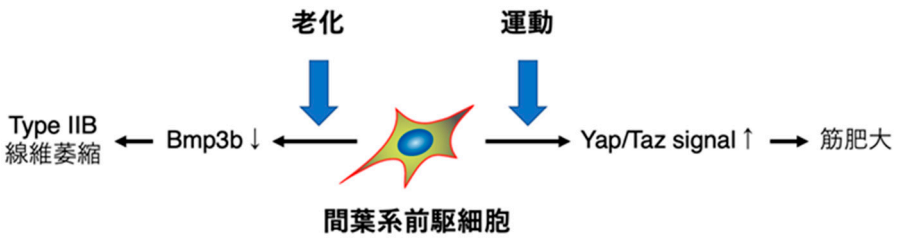
5　運動免疫連関による筋の代謝リプログラミング機構解明	上住　聡芳

【目的】運動は身体に様々な有益効果をもたらす。運動による身体適応の代表に骨格筋の機能強化があり、筋量・筋力が増し、エネルギー代謝機構のリプログラミングも起こる。運動による筋の機能強化は、糖尿病をはじめとした生活習慣病予防に有効であり、また、体力・持久力が向上することからサルコペニアやフレイルといった老年症候群に対しても有効である。しかし、運動を感知し骨格筋の適応のトリガーとなる機構、言い換えれば、運動が直接的に影響する最も上流の部分は依然として謎に包まれている。我々は、骨格筋の間質に、筋の幹細胞である筋衛星細胞とは異なる間葉系前駆細胞を発見し、本細胞が筋の脂肪化や線維化の起源になることを明らかにしてきた。また最近、間葉系前駆細胞を特異的に欠損するマウスを作製し、欠損マウスの表現型の解析から、本細胞が筋の恒常性維持に必須であることを明らかにした。さらに、間葉系前駆細胞特異的因子 Bmp3b を同定し、Bmp3b の発現低下を含む本細胞の加齢変化がサルコペニア発症に寄与することを示した。間葉系前駆細胞が筋の老化に深く関わるというこの結果を受け、老化とは逆に筋に有益効果をもたらす運動にも間葉系前駆細胞が関与しているのではないかという仮説に至った。そこで本研究では、運動時における間葉系前駆細胞の役割について調べることを目的とした。

【方法】マウスの運動モデル（代償性筋肥大モデル）を用いて、運動と間葉系前駆細胞の関連を調べた。間葉系前駆細胞特異的欠損マウスや、関連シグナル遺伝子のコンディショナルノックアウト（cKO）マウスを用いて、運動時の間葉系前駆細胞の役割を精査した。また、老化は運動とは逆に筋に悪影響をもたらすが、老化で間葉系前駆細胞において発現低下する Bmp3b に注目し、間葉系前駆細胞特異的 Bmp3b トランスジェニック（Tg）マウスを作製し、筋老化に及ぼす影響を調べた。

【結果】効率的な筋肥大には、筋衛星細胞が増殖し、筋衛星細胞が新しい筋核を供給する必要があるが、間葉系前駆細胞欠損マウスでは、代償性筋肥大刺激に応じた筋衛星細胞の増殖が効率的に起こらず、筋肥大も起こらなかった。間葉系前駆細胞で運動刺激に応答して発現変動する遺伝子を RNAseq によって調べた結果、代償性筋肥大刺激時に間葉系前駆細胞で Yap シグナル関連遺伝子の発現が増加することが明らかとなった。次に、間葉系前駆細胞特異的な Yap/Taz cKO マウスを作製したところ、代償性筋肥大刺激に応じた筋衛星細胞の増殖や筋肥大が起こらなかった。Yap/Taz シグナルの下流標的の解析を進め、Thbs1 が間葉系前駆細胞において Yap/Taz シグナル依存的に誘導されること、Thbs1 が筋衛星細胞表面に発現する CD47 を刺激し、その増殖とそれに続く筋肥大を促進することを明らかにした。一方、間葉系前駆細胞特異的 Bmp3b Tg マウスを作製し、骨格筋の老化への影響を調べるため、28〜30 ヶ月齢まで飼育した。その結果、Tg マウスでは老化による筋量低下、および、速筋線維であるタイプⅡB 線維の萎縮がコントロールマウスと比較して緩和された。

運動による筋肥大、および、加齢による筋の老化を仲介する間葉系前駆細胞



5. 運動免疫連関による筋の代謝リプログラミング機構解明

上住　聡芳

*東京都健康長寿医療センター研究所 筋老化再生医学研究

Key words：骨格筋，運動，老化，間葉系前駆細胞

緒　言

運動が健康に良い影響を及ぼすことは、経験的に知られているだけでなく、様々な研究によっても実証されている。運動による身体適応の代表に骨格筋の機能強化があげられる。運動により筋力・筋量が増強するだけでなく、エネルギー代謝機構のリプログラミングも起こる。骨格筋は人体で最大の代謝性臓器であることから、運動によるその代謝リプログラミングは予防医学の観点からも非常に重要となる。心血管系疾患や糖尿病といった生活習慣病予防に極めて有効であり、また、体力・持久力が向上することから骨格筋の老化であるサルコペニアやフレイル（虚弱）といった老年症候群に対しても有効である。哺乳類の筋細胞（筋線維）はミオシン重鎖アイソフォームによってタイプⅠ、Ⅱa、Ⅱd/x、Ⅱbの4つに細分され、酸化的リン酸化代謝能はタイプⅠ線維が最も高く順に低下する一方、無酸素解糖系代謝能はタイプⅠ線維で最も低く順に高くなる。筋収縮の速度、および、発揮できるパワーに関しては、タイプⅠ線維で最も小さくタイプⅡb線維で最も大きい。運動によってこうした骨格筋の代謝特性や収縮特性が改善・強化される。一方、老化は筋に対して運動とは逆の影響をもたらす。すなわち、老化によって代謝能は落ち、筋量・筋力は低下する。特に、老化では速筋（タイプⅡ）が選択的に萎縮し、遅筋（タイプⅠ）は影響を受けにくいといった特徴がある。運動は上述のように老化に抗する最も有効な手段として知られているが、運動を感知し骨格筋の適応のトリガーとなる機構、言い換えれば、運動が直接的に影響する最も上流の部分は依然として謎に包まれている。

我々は、骨格筋の間質に、筋の幹細胞である筋衛星細胞とは異なる間葉系前駆細胞を発見し、本細胞が筋の脂肪化や線維化の起源になることを明らかにしてきた［1，2］。本細胞の生理的機能は不明であったが、最近、間葉系前駆細胞を特異的に欠損するマウスを作製し、その表現型の解析から、本細胞が筋の恒常性維持に必須であることも明らかにした［3］。さらに、間葉系前駆細胞特異的因子 Bmp3b を同定し、Bmp3b の発現低下を含む本細胞の加齢変化がサルコペニア発症に寄与することを示した［3］。間葉系前駆細胞が筋の老化に深く関わるというこの結果を受け、老化とは逆に筋に有益効果をもたらす運動にも間葉系前駆細胞が関与しているのではないかという仮説に至った。そこで本研究では、運動時における間葉系前駆細胞の役割について調べることを目的とした。

方法および結果

1. 運動における間葉系前駆細胞の役割解明

運動時における間葉系前駆細胞の役割について調べるため、まず、間葉系前駆細胞欠損マウス［3］に、代償性筋肥大モデルを適応した。効率的な筋肥大には、筋幹細胞である筋衛星細胞が増殖し、筋衛星細胞が新しい筋核を供給する必要があるが、間葉系前駆細胞欠損マウスでは、代償性筋肥大刺激に応じた筋衛星細胞の増殖が効率的に起こらず、筋肥大も起こらなかった。すなわち、運動による筋肥大に間葉系前駆細胞が必要であることが明らかとなった［4］。

間葉系前駆細胞が運動刺激に応答して筋肥大を誘導するメカニズムを精査するため、RNAseq によって代償性筋肥大モデルにおける間葉系前駆細胞の遺伝子発現解析を行った。その結果、代償性筋肥大刺激時に間葉系前駆細胞で Yap シグナル関連遺伝子の発現が増加することが明らかとなった。Yap は機械刺激のセンサー分子として知られており、機械刺激に応答して Taz と複合体を形成し核内に移動し標的遺伝子の発現を活性化する。そこで、代償性筋肥大モデルに

*現在の所属：徳島大学 大学院医歯学研究部

おいて Yap の局在を精査した結果、代償性筋肥大刺激に応じて、間葉系前駆細胞で Yap が核内に移行していることが明らかとなった（図 1）。運動時の間葉系前駆細胞における Yap シグナルの意義を調べるため、間葉系前駆細胞特異的に Yap/Taz を欠損する cKO マウスを作製した。Yap/Taz cKO マウスでは、代償性筋肥大刺激に応じた筋衛星細胞の増殖や筋肥大が生じず、間葉系前駆細胞による筋肥大の誘導は Yap/Taz シグナルに依存していることが明らかとなった［4］。

次に、Yap/Taz シグナルの下流標的の解析を進め、Thbs1 が間葉系前駆細胞において Yap/Taz シグナル依存的に誘導されること、Thbs1 が筋衛星細胞表面に発現する CD47 を刺激し、その増殖とそれに続く筋肥大を促進することを明らかにした［4］。

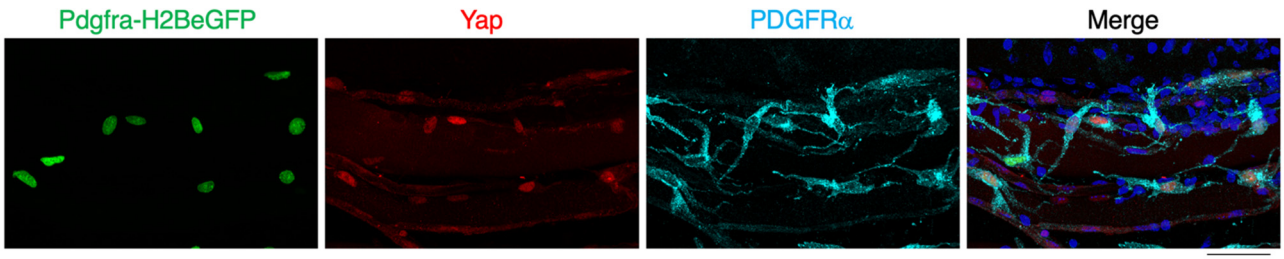


図 1. 運動刺激に応答して間葉系前駆細胞で核内移行する Yap

Pdgfra-H2BeGFP マウス（間葉系前駆細胞の核が EGFP で標識される）に代償性筋肥大モデルを適応し、Yap と PDGFRa の免疫蛍光染色を行った。PDGFRa 陽性間葉系前駆細胞の核に Yap が局在していることがわかる。スケールバー：50 μm。

2. 老化における間葉系前駆細胞の役割解明

これまでに、間葉系前駆細胞が筋の健全性維持に必須で、その加齢変化がサルコペニア発症に寄与することを明らかにしている［3］。上述のように、運動は抗老化作用を発揮し、運動による筋の増強効果は間葉系前駆細胞によって仲介されることも明らかとなってきた。これらから、加齢によって間葉系前駆細胞で生じる変化で、運動により維持予防できるものに、抗老化作用があると予想される。そこで、間葉系前駆細胞において加齢に伴い発現低下する Bmp3b に注目し、間葉系前駆細胞特異的 Bmp3b Tg マウスを作製した（図 2）［5］。マウスでは筋量減少を含むサルコペニア症状は 24 ヶ月齢以降で顕著に現れてくるため、Bmp3b Tg マウスを 28～30 ヶ月齢の超高齢になるまで維持・飼育した（図 2）。

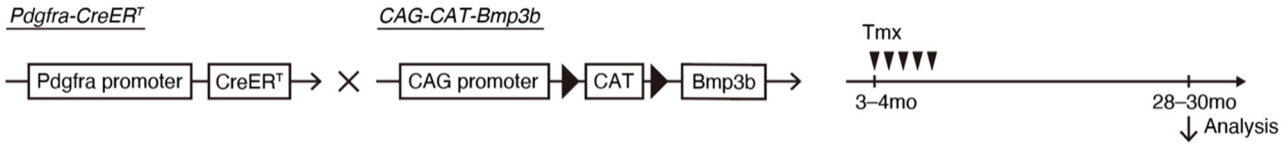


図 2. 間葉系前駆細胞特異的 Bmp3b Tg マウスの作製

間葉系前駆細胞特異的なタモキシフェン誘導性 Cre ドライバーマウスである Pdgfra-CreER マウスと、Cre の作用により Bmp3b を過剰発現する CAG-CAT-Bmp3b マウスを交配した。タモキシフェンで Bmp3b の発現を誘導後、28～30 ヶ月齢まで維持・飼育した。

Bmp3b Tg マウスでは筋重量がコントロールマウスと比べ有意に重かった［5］。筋線維タイプ別に筋線維断面積（CSA）を解析したところ、タイプⅡB 線維の CSA が Bmp3b Tg マウスで有意に大きかった（図 3）［5］。また、筋の線維化や神経筋接合部の脱神経などの筋の老化変化も、Bmp3b Tg マウスで緩和傾向にあった［5］。

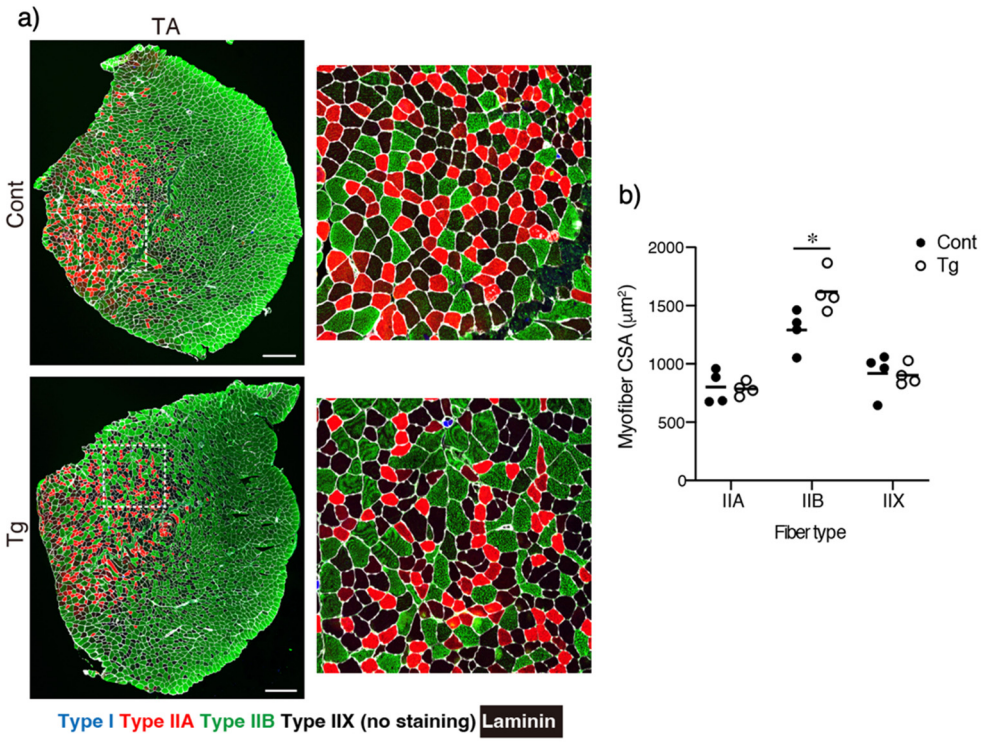


図 3. 間葉系前駆細胞特異的 Bmp3b Tg マウスの筋線維タイプの解析

28～30 ヶ月齢の間葉系前駆細胞特異的 Bmp3b Tg マウスおよびコントロールマウスの筋線維タイプの解析。

a) 前脛骨筋（TA）の各筋線維タイプの免疫蛍光染色。スケールバー：300 μm。

b) 筋線維タイプ別の筋線維横断面積（CSA）。t 検定、両側、対応なし。*p＜0.05。

考　察

運動は筋量や筋力の増加、代謝のリプログラミングなど、骨格筋に有益な変化をもたらす。本研究から、運動に対する骨格筋の応答に、筋間質の間葉系前駆細胞が必須であることが明らかとなった。間葉系前駆細胞は運動による物理刺激を感知し、筋に有益な変化を引き起こす。この間葉系前駆細胞の物理刺激感知センサーとしての役割は、これまで知られていなかった全く新しい機能であり、間葉系前駆細胞の生体内における存在意義に、新たな知見と洞察を与えるものである。また、サルコペニアでは速筋線維が選択的に冒され、遅筋線維は比較的保たれることが知られている。間葉系前駆細胞特異的因子で老化によって発現低下する Bmp3b のコンディショナル Tg マウスでは、速筋線維であるタイプⅡB 線維の萎縮が抑制された。このことは、間葉系前駆細胞が筋線維タイプ、ひいては、筋の代謝特性の制御にも機能していることを意味している。以上のように今回の研究から、運動や老化における筋の表現型制御に、間葉系前駆細胞が機能していることが明らかとなり、骨格筋を対象とした健康増進戦略において間葉系前駆細胞は重要な標的細胞になると考えられた。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、徳島大学大学院医歯薬学研究部生体栄養学分野の上住円、大阪大学大学院薬学研究科筋幹細胞創薬プロジェクトの深田宗一朗である。

文　献

1) Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N, Takeda S, Tsuchida K. Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. Nat Cell Biol. 2010 Feb;12(2):143-52. doi: 10.1038/ncb2014. Epub 2010 Jan 17. PMID: 20081842

2) Uezumi A, Ito T, Morikawa D, Shimizu N, Yoneda T, Segawa M, Yamaguchi M, Ogawa R, Matev MM, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S, Tsujikawa K, Tsuchida K, Yamamoto H, Fukada S. Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. J Cell Sci. 2011 Nov 1;124(Pt 21):3654-64. doi: 10.1242/jcs.086629. Epub 2011 Nov 1. PMID: 22045730

3) Uezumi A, Ikemoto-Uezumi M, Zhou H, Kurosawa T, Yoshimoto Y, Nakatani M, Hitachi K, Yamaguchi H, Wakatsuki S, Araki T, Morita M, Yamada H, Toyoda M, Kanazawa N, Nakazawa T, Hino J, Fukada SI, Tsuchida K. Mesenchymal Bmp3b expression maintains skeletal muscle integrity and decreases in age-related sarcopenia. J Clin Invest. 2021 Jan 4;131(1):e139617. doi: 10.1172/JCI139617. PMID: 33170806

4) Kaneshige A, Kaji T, Zhang L, Saito H, Nakamura A, Kurosawa T, Ikemoto-Uezumi M, Tsujikawa K, Seno S, Hori M, Saito Y, Matozaki T, Maehara K, Ohkawa Y, Potente M, Watanabe S, Braun T, Uezumi A, Fukada SI. Relayed signaling between mesenchymal progenitors and muscle stem cells ensures adaptive stem cell response to increased mechanical load. Cell Stem Cell. 2022 Feb 3;29(2):265-280.e6. doi: 10.1016/j.stem.2021.11.003.

5) Kurosawa T, Minato K, Ikemoto-Uezumi M, Hino J, Tsuchida K, Uezumi A. Transgenic Expression of *Bmp3b* in Mesenchymal Progenitors Mitigates Age-Related Muscle Mass Loss and Neuromuscular Junction Degeneration. Int J Mol Sci. 2021 Sep 23;22(19):10246. doi: 10.3390/ijms221910246.