

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 矢田 英理香

筋線維上には筋衛星細胞とよばれる細胞が存在し、筋線維が損傷すると活性化され、分裂増殖を開始する。活性化された筋衛星細胞は筋芽細胞となり、融合し多核の筋管細胞となる。このことから、筋衛星細胞は筋細胞になることが運命づけられた組織特異的幹細胞であると考えられてきたが、近年の研究により、特定の培養条件下では脂肪細胞、骨細胞、軟骨細胞へも分化する、多能性幹細胞としての性質をも併せもつことが明らかとなっている。しかし、生体内で筋衛星細胞の多分化能がいかんして制御されているかについては不明である。そこで本研究では、筋衛星細胞の多分化能のうち、特に脂肪分化能に着目し、生体内におけるその制御機構を明らかにすることを目的とした。

まず第1章では、初代培養筋衛星細胞の脂肪分化能を定量的に評価する系を確立することを目的として実験を行った。成熟雄ラットの背部及び後肢骨格筋から採取した筋衛星細胞を通常培地で培養した場合、その90%以上が筋細胞マーカーを発現し、培養期間の経過とともに多核の筋管細胞が多数出現した。一方、脂肪分化誘導培地で10日間培養すると、多くの細胞は筋管細胞へと分化したものの、脂肪細胞のマーカー(PPAR γ 、C/EBP α)を発現し、オイルレッドO陽性の脂肪滴を含む細胞が新たに出現した。また、トログリタゾンを脂肪分化誘導培地に添加して筋衛星細胞を培養したところ、オイルレッドO、PPAR γ 、C/EBP α 陽性細胞のいずれもが有意に増加した。一方、筋衛星細胞由来の細胞株であるC2C12およびL6を脂肪分化誘導培地にて培養した場合には、トログリタゾン存在下であっても脂肪細胞の出現は見られなかった。

次に、筋衛星細胞を通常培地で48時間培養することにより活性化、筋細胞への決定を誘導してから、脂肪分化誘導を行った。この実験条件下でも脂肪細胞は依然として出現し、その出現率も採取直後の筋衛星細胞を脂肪分化誘導した場合と同程度であった。この結果から、筋衛星細胞の初代培養には脂肪分化能を有するものや筋分化能しか有さないものといった、潜在的に異なる分化能を持つ細胞集団が混在していることが示唆された。

第2章では、筋衛星細胞の脂肪分化が由来する骨格筋により異なるかどうかについてまず検討した。背部骨格筋(背筋)、ヒラメ筋、長趾伸筋、前脛骨筋、大腿四頭筋それぞれから筋衛星細胞を採取し、脂肪分化誘導培地中で培養した結果、ヒラメ筋由来の筋衛星細胞で最も高頻度に脂肪細胞が出現し、背筋と長趾伸筋由来での出現は中頻度、前脛骨筋、大腿四頭筋由来では低頻度であった。各骨格筋の筋線維型の分布を調べたところ、遅筋型筋線維の割合と脂肪細胞の出現率には高い相関が見られた。そこで、最も高い脂肪細胞の出現率が観察されたヒラメ筋由来の筋衛星細胞と、脂肪細胞の出現率が低かった前脛骨筋由来の筋衛星細胞を7日間通常培地で培養し、形成された筋管細胞の筋線維型を遅筋型、速

筋型ミオシン重鎖を認識する抗体を用いてそれぞれ免疫染色した。その結果、ヒラメ筋由来の筋衛星細胞から形成された筋管細胞では遅筋型、速筋型が同程度であったのに対して、前脛骨筋に由来する筋衛星細胞から形成された筋管細胞では、ほぼすべてが速筋型であった。以上の結果から、筋管細胞に由来する液性因子を介して筋衛星細胞の脂肪分化が制御されている可能性が示された。

次に、ヒラメ筋から筋衛星細胞を採取し、そのクローニングを試みたところ複数のクローンが得られた。得られたクローンのなかでも特に 2G11 クローンは、脂肪分化誘導なしでも一部の細胞が脂肪分化マーカーを発現するという特徴を有していたため、これを用いて、筋衛星細胞の脂肪分化が筋管細胞に由来する液性因子により制御される可能性について検討した。その結果、前脛骨筋由来の筋衛星細胞から形成された筋管細胞の培養上清添加により C/EBP α 陽性細胞の割合は著しく減少した。一方、ヒラメ筋由来の筋衛星細胞から形成された筋管細胞の培養上清添加は、逆に C/EBP α 陽性細胞の割合を著しく増加させた。

以上、本研究により、骨格筋内に存在する筋衛星細胞は脂肪分化能という点において異なった集団から構成されていることが示された。また、脂肪分化能を有する筋衛星細胞の脂肪分化制御には、周囲に存在する筋線維の筋線維型が大きく関与し、その機構の一つが筋線維に由来する何らかの液性の脂肪分化制御因子によるものであることが判明した。本研究の結果は、筋ジストロフィーや加齢に伴う骨格筋減弱症等の各種筋疾患で見られる間質の脂肪化の阻止や、霜降り肉の効率的な生産など幅広い分野への応用が期待できると考えられ、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものとして認めた。