

脂肪細胞が産生する細胞外マトリックス成分

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学講座 食肉科学 新井 拓実

1. 目的

骨格筋中で筋細胞によって分泌されたミオスタチンが近傍に存在する脂肪細胞に作用する際には、脂肪細胞が産生・分泌して構築される細胞外マトリックス (ECM) がミオスタチンの動態に影響すると予想される。しかし、脂肪細胞が分化過程でどのような ECM 成分を産生・分泌しているか、また、分泌された ECM 分子がどのように高次構造を形成するかについての報告は少ない。そこで、本研究では、脂肪前駆細胞、分化し脂肪滴を蓄え始めた脂肪細胞および大きな脂肪滴を蓄えている成熟脂肪細胞の各ステージにおける脂肪細胞が産生する ECM 成分について検討した。

2. 方法

3T3-L1 脂肪前駆細胞を 10%FBS-DMEM (増殖培地) にて 4 日間培養後、分化誘導培地に切り替え、さらに 2 日間培養した。その後、分化維持培地に切り替え、さらに 14 日間培養した。脂肪前駆細胞、脂肪滴を蓄え出した脂肪細胞、および大きな脂肪滴を有する成熟脂肪細胞の各ステージの脂肪細胞をホルマリン固定し、1% BSA-PBS でブロッキング後、ECM 成分である I 型コラーゲン、III 型コラーゲン、IV 型コラーゲン、V 型コラーゲン、フィブロネクチン、ラミニンおよびデコリンを抗原とする一次抗体および FITC 標識二次抗体と反応させ、Hoechst で核染色し蛍光顕微鏡で観察した。また、ミオスタチン溶液をセルカルチャーインサート内に添加し、経時的にインサート下の液体のミオスタチン濃度を ELISA で測定しその拡散性を調べた。

3. 結果と考察

脂肪前駆細胞、脂肪滴を蓄え出した脂肪細胞、および大きな脂肪滴を有する成熟脂肪細胞、いずれにおいても、細胞内に I 型コラーゲン、III 型コラーゲン、IV 型コラーゲン、V 型コラーゲン、フィブロネクチン、ラミニンおよびデコリンの局在が認められ、いずれのステージの脂肪細胞もこれらの ECM 成分を産生していることが示唆された。また、これらのデコリン以外の ECM 分子は、脂肪細胞の分化が進むに伴って細胞外に線維状の構造を形成しているのが観察された。脂肪細胞周辺で構築された ECM 構造は細胞の支持組織として働くとともに、パラクリンあるいはエンドクリンで脂肪細胞近傍に運ばれてきたミオスタチンなどの増殖因子を捕捉したり、その移動や拡散を抑制したりするかもしれない。本研究では、ミオスタチンの拡散性に及ぼす I 型コラーゲンの影響を検討する実験系を確立することはできなかったが、今後さらに条件を検討し実験系を確立して、各種 ECM 成分がミオスタチンの移動・拡散に及ぼす影響を明らかにすることが必要である。