

semaphorin 3A が異なる筋線維型由来の衛星細胞に及ぼす影響

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学講座 細胞組織生物学 福地達貴

1. 背景と目的

骨格筋の筋線維型は、筋収縮タンパク質であるミオシン重鎖 (MyHC) のアイソフォームによって I 型 (遅筋型) と II 型 (速筋型) に大別される。特に II 型においては、中間型の特性を有する IIa 型から、より速筋型の IIx 型および超速筋型である IIb 型に分類される。最近、筋幹細胞 (衛星細胞) において合成・分泌される多機能性の細胞外因子 semaphorin 3A (Sema3A) は、衛星細胞が互いに融合して新生筋線維 (筋管) を形成する過程で MyHC I 型の発現を誘導し、遅筋型筋管の形成を促進する可能性が明らかとなった。しかし、Sema3A による筋管の遅筋化誘導作用は、MyHC I 型の発現を特異的に増加させることに起因することであるか、または II 型の発現を抑制して I 型へ変換するかは不明である。そこで本研究では、MyHC I 型または IIx 型に特異的な蛍光タンパク質で標識したノックインマウスを用いて、Sema3A 発現抑制処理下における各筋線維型の筋管形成様相を観察した。

2. 方法

本研究では、MyHC I 型に緑色蛍光タンパク質 GFP をノックインしたマウス (GFP-Myh7) , および GFP-Myh7 と MyHC IIx 型に橙色蛍光タンパク質 Kusabira-Orange (KO) をノックインしたマウス (KO-Myh1) を交配させて作出したダブルノックインマウス (dKI) を用いた。まず、GFP-Myh7 の全身骨格筋より単離した衛星細胞由来の筋芽細胞において、分化誘導後の Sema3A および各筋線維型 MyHC アイソフォームのタンパク発現量の継時的変化を調べた。次に、GFP-Myh7 および dKI から単離した筋芽細胞を用いて、分化誘導開始とともに RNAi 法による Sema3A 発現抑制処理を行い、各蛍光タンパク質に陽性筋管の融合率 (Fusion Index) を測定した。さらに、dKI から GFP に陽性筋線維のみを摘出して播種し、筋線維より遊走した衛星細胞を増殖させた後に、同様に Sema3A 発現抑制処理を行い Fusion Index を測定した。

3. 結果と考察

GFP-Myh7 から単離した筋芽細胞では、分化誘導後に各筋線維型 MyHC アイソフォームの発現が認められ、特に分化初期においては Sema3A の発現増加が確認された。次に、GFP-Myh7 および dKI それぞれの筋芽細胞において Sema3A 発現を抑制すると、MyHC I 型のタンパク発現量が減少して II 型が増加した。その際、GFP または KO 陽性筋管の Fusion Index には変化が認められなかった。全身の骨格筋由来の衛星細胞において、Sema3A は MyHC I 型のタンパク質合成を促進するが、各筋線維型に特異的な筋管の融合への関与が確認されなかった。しかし、Sema3A による筋管の遅筋化誘導は、MyHC I 型の筋線維のみを由来とする衛星細胞の融合に作用する可能性も予想した。そこで、GFP 陽性筋線維由来の衛星細胞を準備した。まず、分化誘導を行ったところ GFP 陽性の筋管は確認されず、KO 陽性の筋管が多数形成された。実際に Sema3A 発現抑制処理を行うと、KO 陽性筋管の Fusion Index が対照区よりも有意に増加した。よって、Sema3A の存在下では MyHC IIx 型が I 型へ変換される可能性が推測された。