

## 筋衛星細胞由来 Netrin-1 による速筋型筋線維形成誘導の検証

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 森 愛華

### 1. 背景と目的

骨格筋は、主に筋細胞（細長い巨大な細胞なので“筋線維”と呼ばれる）から構成される。筋線維は、収縮特性や代謝特性等の違いによって遅筋型または速筋型といった筋線維型で分類される。これまで、筋線維型は成熟した筋線維に接着する運動神経刺激によって制御されると考えられてきた。しかし最近、骨格筋の成長や再生の過程において、筋幹細胞である筋衛星細胞（衛星細胞）が互いに融合して形成する新生筋線維（筋管）の筋線維型は、自律的に決定される新規制御機構の存在が着目されている。すなわち、遅筋由来の衛星細胞において速筋よりも多量に合成・分泌される多機能性の細胞外因子 semaphorin 3A (Sema3A) が、筋管の遅筋化を誘導することが明らかになっている。そこで本研究では、Sema3A とは反対に速筋化誘導作用を有する衛星細胞由来の候補制御因子として、神経系および骨系において Sema3A と拮抗した生理機能を発揮すると報告されている Netrin family (Netrin-1, 3 および 4) に着目した。本研究では、衛星細胞の初代培養系を用いて、Netrin family と受容体の発現パターンおよび Netrin-1 発現抑制処理による筋管の筋線維型組成の変化を調べた。

### 2. 方法

8-9 週齢雄マウスの全身骨格筋より単離した衛星細胞を、50%コンフルエントになるまで増殖させ、分化誘導培地に切り替えて 72 時間目まで培養した。まず、培養過程における Netrin family および Sema3A の mRNA 発現量の変化を調べた。次に、速筋（長趾伸筋；EDL）および遅筋（ヒラメ筋；soleus）からそれぞれ衛星細胞を単離し、分化誘導 72 時間目における Netrin family および Netrin 受容体 (neogenin, BOC, CDO, Unc5A-D および DCC) の mRNA およびタンパク質発現量を比較した。さらに、衛星細胞由来の筋芽細胞において RNAi 法を用いた Netrin-1 発現抑制処理を行い、筋管が十分に形成される分化誘導 120 時間目における筋線維型ミオシン重鎖 (myosin heavy chain; MyHC) アイソフォームの mRNA およびタンパク質発現量を検討した。

### 3. 結果と考察

まず衛星細胞の初代培養系において、分化誘導開始とともに Netrin-1, 3, 4 および Sema3A のいずれも発現量が増加傾向を示した。次に、EDL から単離した衛星細胞では soleus よりも Netrin-1 の mRNA およびタンパク質発現量が有意に高かった。なお、それぞれの衛星細胞において Netrin family の受容体 neogenin, CDO, BOC, Unc5B および 5C は発現していたが、有意な差は認められなかった。さらに、Netrin-1 の発現を抑制すると、速筋型 (II 型) MyHC のタンパク質発現量の減少が認められ、特に超速筋型である II b 型 MyHC の mRNA 発現が減少していた。以上より、分化誘導後の速筋由来の衛星細胞において遅筋よりも多量に合成される Netrin-1 は、速筋型筋管の形成を誘導することが示唆された。よって、衛星細胞は Netrin-1 または Sema3A を介して自律的に筋線維型を制御することが可能であると考えられる。