

myogenin が衛星細胞の分化へ与える影響を骨格筋種で比較する

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発講座 細胞組織生物学 有松 里央

1. はじめに

筋肥大や再生には、筋幹細胞（衛星細胞）の寄与が不可欠である。休止状態にある衛星細胞は特異的に転写因子 Pax7 を発現しており、活性化すると筋分化転写制御因子（MRFs）である MyoD, Myf5, myogenin および MRF4 を段階的に発現して分化することが明らかにされている。近年、衛星細胞は均一な細胞集団ではなく、骨格筋種により異なる動態を示すという知見が報告されている。しかし、その詳細な機構は不明な点が多い。この要因を探るため、由来とする骨格筋種が異なると、衛星細胞における MRFs の機能に差異が生じる可能性に着目した。特に、myogenin は胚発生過程における欠損では筋形成不全による致死性を示す。一方、出生後の欠損では表現型への影響は少ないが、横隔膜でのみ異常な萎縮が生じることが報告されている。そこで本研究では、衛星細胞における myogenin の生理機能が横隔膜と他の骨格筋では異なると予想し、筋分化過程における衛星細胞の筋管形成能、自己複製能および筋線維型制御に関する比較検証を行なった。

2. 方法

2ヶ月齢の雄 C57BL/6 マウスの横隔膜、腓腹筋および脊柱起立筋よりそれぞれ衛星細胞を単離し、約 50%コンフルエントになるまで増殖させ、分化誘導開始とともに myogenin 発現抑制 (Knockdown; K.D.) または過剰発現 (overexpression; O.E.) 処理を行った。まず、K.D.処理後 72 時間目における筋管の融合率および直径、Pax7 および MyoD 陽性細胞数の割合を、それぞれ蛍光免疫染色を用いて測定した。続いて、遅筋型ミオシン重鎖 (slow MyHC) および速筋型ミオシン重鎖 (fast MyHC) のタンパク質発現量を、K.D.処理後 120 時間目においては Western Blotting により、また O.E.処理後 120 時間目においては蛍光免疫染色を用いて検証した。

3. 結果と考察

まず、筋管形成能および自己複製能を検証した。筋管の融合率および直径は、いずれの骨格筋種においても K.D.によって対照 (CN) と比較して有意に低下した。単核細胞における Pax7 陽性細胞数の割合を測定したところ、横隔膜の K.D.においてのみ CN と比較して有意な増加が認められた。一方、MyoD はいずれの骨格筋種でも CN と K.D.の間に有意な差は認められなかった。よって、myogenin K.D.により、横隔膜においては筋管形成が阻害され、かつ Pax7 を発現して自己複製を行う衛星細胞が増加したのに対し、腓腹筋と脊柱起立筋においては筋管形成が単に遅延したことが示唆された。次に、K.D.後の筋管の筋線維型組成を調べたところ、全ての骨格筋種において slow MyHC の発現量が減少した。O.E.後には、腓腹筋と脊柱起立筋において slow MyHC の発現量が増加し、さらに脊柱起立筋のみで fast MyHC の発現量が低下した。よって、横隔膜の衛星細胞では myogenin による筋線維型組成に対する関与は少ないが、腓腹筋においては遅筋型筋管の形成促進、脊柱起立筋においては遅筋型筋管の形成促進および速筋型筋管の形成抑制をすることが示唆された。

4. まとめ

本研究結果より、myogenin は衛星細胞による筋管形成には必須だが、横隔膜では自己複製能を、腓腹筋および脊柱起立筋では筋線維型組成をそれぞれ制御する可能性が明らかとなった。