

## 免疫制御受容体による骨格筋の損傷修復・再生制御機構の解析

### [1] 組織

代表者：坂本 譲

(東北工業大学)

対応者：高井 俊行

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費30万円

### [2] 研究経過

骨格筋は身体活動を行う際の主要な器官であり、運動や外傷などによる損傷に対しては速やかな修復再生が行われるが、加齢や先天性・後天性疾患等による修復再生不良により身体活動は制限され、また quality of life (QOL) の低下は著しい。よって骨格筋の制御機構を理解することは単に身体活動の維持だけでなく生涯にわたる QOL の維持に重要であると考えられる。

骨格筋の損傷修復・再生過程については近年多くの知見が報告されてきており、骨格筋幹細胞である筋衛星細胞、炎症細胞である好中球や単球・マクロファージ、これら細胞から分泌されるサイトカインやケモカインなど多種の細胞や液性因子が筋損傷部位において統合的協調的に関与した事象であるが、その全容についてはいまだ不明な点が多い。

一方、アレルギーや自己免疫疾患、炎症応答などの免疫応答については、免疫グロブリン様受容体 (Paired immunoglobulin-like receptor: PIR) や Fc 受容体などのように活性化型および抑制型を免疫細胞上に同時に発現するペア型の免疫制御受容体の協働により制御されていることがこれまでに報告されており、骨格筋においても損傷修復・再生過程や恒常性の維持は、筋細胞、筋衛星細胞そして炎症細胞の相互作用とこれら細胞のペア型免疫制御受容体を介したシグナルバランスにより精密に制御されている可能性が考えられる。

そこで本研究では免疫制御受容体の骨格筋損傷修復・再生過程への関与の可能性を検証するため、活性化型および抑制型の免疫制御受容体遺伝子欠損マウス (FcRγ<sup>-/-</sup>、DAP12<sup>-/-</sup>、PIR-B<sup>-/-</sup>) を用いて蛇毒

Cardiotoxin (CTx) による薬理的な骨格筋損傷に対する修復・再生の予備検討を行ったところ、野生型マウスと比較して骨格筋の損傷修復・再生過程に異常を示す結果を得た。予備検討の結果を受け、本共同研究ではこれら受容体に着目し、骨格筋損傷に伴う炎症応答及び骨格筋の損傷修復・再生過程における免疫制御受容体を介した制御機構について検討することを目的として研究を行った。

以下、研究活動状況の概要を記す。

### [研究活動状況]

本共同研究は、東北大学加齢医学研究所遺伝子導入研究分野で実施した。また、研究費は全て物件費とし、おもに研究に必要な試薬、抗体、キット等の購入費用として使用した。研究の進捗状況および実験結果に関する打合せ等については高井教授の研究室もしくは E-mail を利用し、他の関係する研究者も交えて適宜実施した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

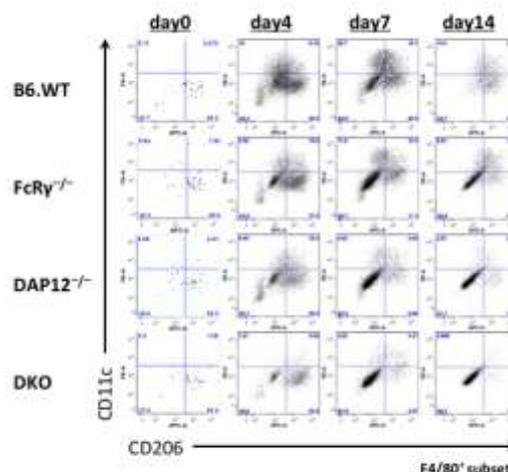


Fig. 1. Muscle injury-induced M1/M2 differentiation of F4/80<sup>+</sup> cells.

まず第1に、これまでに観察された再生遅延の原因について検討するため、CTxによる筋損傷後、損傷部位に局在する F4/80 陽性細胞に注目し FACS を

用いて CTx 投与後の F4/80 陽性細胞の経時的観察を行った。その結果、損傷筋の再生遅延の見られた DAP12 欠損マウスおよび FcR $\gamma$ /DAP12 二重欠損マウスでは、損傷筋に動員される F4/80 陽性細胞の細胞数のピークが野生型のそれと比較して遅延していた。また、F4/80 陽性細胞の M1/M2 極性については、FcR $\gamma$ 欠損マウスでは M1/M2 細胞の割合は共に野生型と同様の経時変化を示したのに対して、DAP12 欠損マウスおよび FcR $\gamma$ /DAP12 二重欠損マウスでは、M1、M2 どちらの細胞タイプも同時点での細胞数は約 1/2~1/3 程度であることが観察された (Fig. 1)。

第 2 に、筋損傷後の骨格筋における損傷修復・再生関連遺伝子の発現の変化を qPCR により検討した。その結果、DAP12 欠損マウスおよび FcR $\gamma$ /DAP12 二重欠損マウスにおける IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  の遺伝子発現は、CTx 投与 1~3 日後では野生型での発現よりも低値を示しているが、CTx 投与 7~14 日後では野生型と比較して 5 倍程度高値を示しており、筋損傷後の修復遅延の状況と一致する結果であった。また、これらの結果から損傷筋の再生遅延の原因として F4/80 細胞の局在異常及び M1/M2 タイプへの分化・増殖異常の可能性が示唆され、骨格筋損傷に伴う炎症応答及び骨格筋の損傷修復・再生過程への活性化型免疫受容体、特に DAP12 を介した活性化シグナル関与の可能性が示唆される。

### (3-2) 波及効果と発展性など

骨格筋の損傷修復・再生制御に関する研究はこれまでに多くの検討が行われているものの筋衛星細胞の知見を含め骨格筋細胞の損傷修復・再生制御に関する分子機序については、未だその全容は解明されていない。本共同研究では、これまでに免疫細胞の恒常性維持に機能し、様々なアレルギーや自己免疫疾患等を制御することが報告され、またその分子機序についても解明が進んでいる PIR や Fc 受容体などの活性化型および抑制型の免疫制御受容体の協働による細胞活性制御が、非リンパ組織である骨格筋において筋の損傷修復・再生機構や恒常性の維持に関与するのかどうかを解明しようとする点で学術的な特色および独創的な点がある。本研究が所定の成果を得られれば骨格筋の損傷修復・再生過程に関与する細胞の新規な制御機構を提示し、分子機序のさらなる理解に繋がることが期待される。

## [4] 成果資料

- (1) 坂本 譲, 飛内章子, 遠藤章太, 高井俊行.  
骨格筋制御機構への免疫制御受容体の関与,  
第 69 回日本体力医学会 (長崎) 2014