

課題番号 52

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

(東北学院大学教養学部人間科学科)

対応者：高井 俊行

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 45 万円

[2] 研究経過

[研究目的]

骨格筋は身体活動を行うための重要な器官であり、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。しかし加齢や先天性・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、また生活の質 (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現在のよう高齢化社会においては生涯にわたる QOL の維持に重要であると考えられる。

骨格筋の損傷修復・再生過程は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、その全容は未だ不明な点が多い。

これまでにアレルギー、自己免疫疾患、炎症応答などの免疫応答について免疫細胞に発現する免疫グロブリン様受容体 (Paired immunoglobulin-like receptor: PIR) や Fc 受容体などの活性化型および抑制型を有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報告されていることから、骨格筋においても損傷修復・再生過程や恒常性の維持は、骨格筋細胞、筋衛星細胞そして炎症細胞の相互作用とこれら細胞の活性化型および抑制型受容体や関連分子群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、骨格筋損傷に伴う炎症応答お

よ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た。

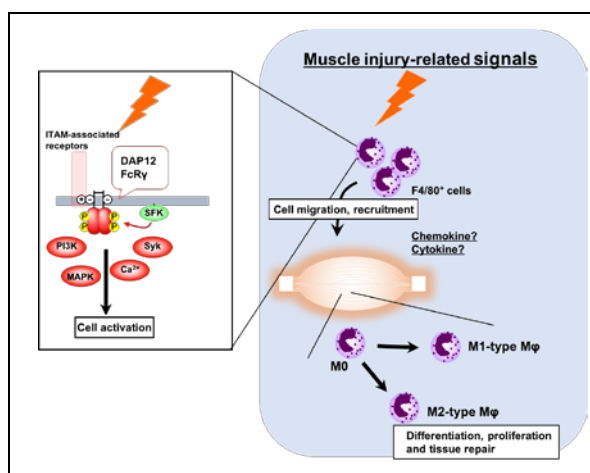


図1. 免疫制御受容体を介した骨格筋の損傷修復・再生制御

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において実施した。研究費は全て物件費として主に試薬、抗体、キット等の購入費用に使用した。研究の進捗および実験結果に関する研究打ち合わせ等は、研究課題の進捗状況に応じ E-mail もしくは同分野研究室において高井教授および関係する他の研究者と適宜実施した。

[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。これまでに蛇毒 Cardiotoxin (CTx) による薬理的筋損傷モデルを用いて骨格筋の損傷修復・再生過程への ITAM 含有アダプター分子 FcRγ および DAP12 (DNAX-activating protein of 12 kD) の関与について検討を行ったところ、FcRγ 欠損マウス、DAP12 欠損マウスおよび FcRγ/DAP12 二重欠損マウスにおいて損傷筋の再生遅延が観察された。そこで CTx による筋損傷後の損傷筋における炎症関連遺伝子の

発現と損傷筋に浸潤する細胞の状況について観察したところ、DAP12 欠損マウスおよび FcR γ /DAP12 二重欠損マウスでは炎症関連遺伝子の発現が損傷筋の修復再生過程の後期に発現上昇しており、野生型と比較して遺伝子発現が遅延している状態であった。さらに F4/80 陽性細胞の損傷部位への浸潤および M1/M2 極性にも差異が生じており、特に FcR γ /DAP12 二重欠損マウスにおいて F4/80 陽性細胞および M1 サブセット細胞数の顕著な減少が認められた。

これらの結果をもとに F4/80 陽性細胞の炎症応答や M1/M2 分化への FcR γ および DAP12 の関与の詳細について検討するため、野生型及び FcR γ 欠損マウス、DAP12 欠損マウス、FcR γ /DAP12 二重欠損マウス由来の骨髄細胞より培養マクロファージを誘導し、LPS 刺激後の炎症応答および M1/M2 関連遺伝子の発現を qPCR により検討した。その結果、DAP12 欠損マウスおよび FcR γ /DAP12 二重欠損マウスにおいて LPS 刺激後の炎症性サイトカイン (IL-6, IL-1 β , TNF- α) および M1 マーカー (iNOS, IL-12) の遺伝子発現は野生型と比較して増加傾向を示し、M2 マーカー (Arg-1) の発現は野生型と比較して低下傾向を示した。またケモカインレセプター (CCR2, CCR7) の発現は安静時および LPS 刺激後に顕著な差異が観察された (図 2)。

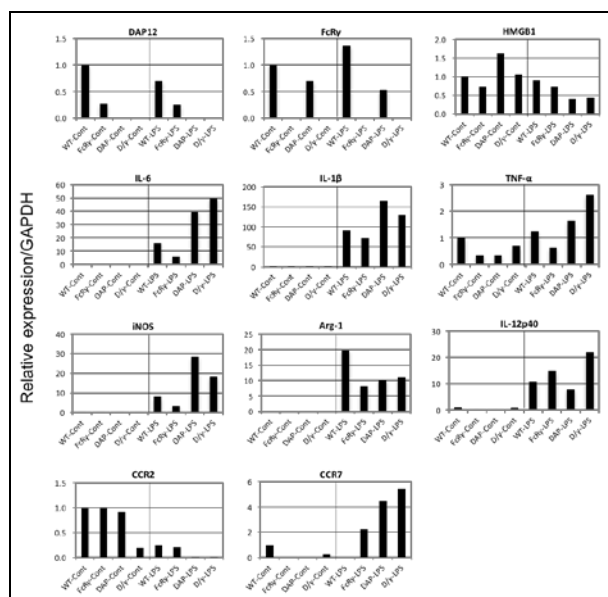


図2. 培養マクロファージにおける LPS 刺激による遺伝子発現の変化

これらの結果から、損傷筋の再生遅延の原因として F4/80 陽性細胞におけるケモカインレセプターの発現プロファイルの変化が損傷部位への浸潤遅延および局在異常を引き起こし、さらに浸潤細胞の過剰活性化および M1 タイプへの偏向が引き起こされる

ことで損傷筋の修復・再生遅延を引き起こしている可能性が示唆される。よって、FcR γ や DAP12 を介した活性化シグナルが骨格筋の損傷修復再生過程で生じるの細胞の炎症応答を制御し、その結果として適切な細胞応答が起こり損傷筋の修復再生へと繋がっていく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・再生制御に関与する細胞群とその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** 非リンパ組織における免疫制御受容体の働き. JSEI Spring Seminar 2014 (岡山) 2014
- (2) **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