

課題番号 60

免疫受容体を介した骨格筋再生制御への運動の影響

[1] 組織

代表者：坂本 譲

(東北学院大学)

対応者：高井 俊行

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 13 万円，旅費 0 円

[2] 研究経過

[目的・概要]

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。しかしサルコペニアや先天性・後天性疾患等による筋再生不良は身体活動を制限し、また著しく QOL を低下させる。このような運動器に起因する運動能力の低下はロコモティブシンドロームとも呼ばれ、自立した生活を障害しその後の生命予後を決定することから、超高齢化社会を迎えたわが国では大きな社会問題となっている。よって骨格筋再生制御機構の理解は、この問題に対する 1 つの解となる可能性がある。

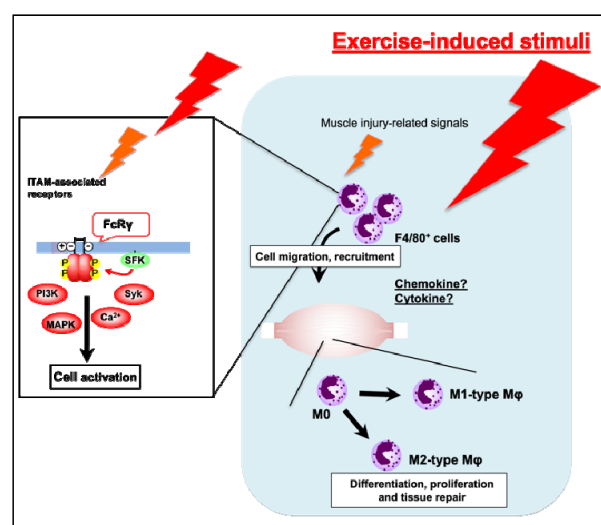
骨格筋の損傷修復・再生過程は、幹細胞である筋衛星細胞や炎症・修復に関わる免疫担当細胞の活性化、これら細胞から分泌されるサイトカインやケモカイン、さらには近年注目される筋や骨から分泌されるマイオカインやオステオカインを介した筋と骨などの臓器連関等、多種の細胞や組織、液性因子が統合的協調的に関与した事象であるが、その全容はいまだ明らかではない。

我々はこれまでに薬理的な筋損傷のモデル実験において免疫活性化モチーフ immunoreceptor tyrosine-based activating motif (ITAM) を有する免疫受容体が筋再生に影響を及ぼすことを見いだしたが、その分子機序については明らかではない。また、運動は筋再生を促進すること、筋収縮を伴う運動により骨格筋自体から様々な液性因子マイオカインが分泌され筋の恒常性に正負の影響を及ぼすことから、運動による筋恒常性の変化が筋再生へ影響を

及ぼす可能性も考えられる。そこで本研究では、筋損傷に伴う炎症応答及び筋再生における免疫受容体を介した制御機構について検討すること、また筋再生への運動の正負の効果について検討することを目的とした。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において実施した。研究費は全て物件費として主に試薬等の購入費用および加齢医学研究所において飼養する動物飼育費に使用した。なお旅費は計上していない。



本研究では、免疫受容体を介した骨格筋再生制御への運動の影響を検討するために、まず長期継続的な運動がサイトカイン等の液性因子に及ぼす影響の探索を行う計画を立てた。長期継続的な運動を行わせるため、対象動物である C57BL/6J 野生型 (B6.WT) および FcRγ 欠損マウス (*Fcer1g*^{-/-}; FcRγ) に対してマウス用回転ケージ (LCW-M4、メルクエスト) を用いた 2 ヶ月間の自発走運動を負荷し、その負荷前後に血清を採取し、炎症性サイトカイン産生の変化をフローサイトメトリー解析、ELISA 及び遺伝子発現解析を行い評価する計画とした。次に損傷筋の修復・再生過程に関連する炎症の惹起とその

後の修復・再生に関与する免疫担当細胞への運動の影響を検討するため、これまでに関与の可能性が考えられている自然リンパ球（ILC）を含む自然免疫系細胞について、自発運動後の脾臓、骨髄、および関連組織中の免疫細胞を回収し、フローサイトメトリーを用いて検討した。また、加齢研の高井教授には、本研究課題遂行に関する御助言および遺伝子改変動物の提供、フローサイトメトリー等研究機器の使用に関して御助力いただいた。

〔3〕 成果

（3-1）研究成果

本研究では、以下に示す研究成果を得た。まず対象動物に対し2ヶ月間の長期継続的な運動を負荷し、負荷前後の血清中の炎症性サイトカインの変化について検討した。その結果、運動により IL-1 α 、IL-6、IFN- γ 、TNF- α 、MCP-1、IL-12p70、IL-23、IL-17A の血中濃度において変動が確認された。次に B6WT と FcR γ での運動による変動について比較検討したところ IFN- γ 、IL-12p70、IL-17A、TNF- α および IFN- β の血中濃度において運動前後の有意な変動の差異を観察した。

次に、損傷筋の修復・再生過程に関連する炎症の惹起とその後の修復・再生に関与する免疫担当細胞への運動の影響を検討するため、運動後の組織中の自然免疫系細胞の変化について検討した。その結果、運動により骨髄および脾臓の ILC サブセットの変動が確認された。B6WT と比較して FcR γ では骨髄中の ILC サブセットに差異が観察され、特に NKp46⁺ILC3(CD45⁺Lin⁻NKp46⁺NK1.1⁻CD127⁺)、CD4⁺IL3(CD45⁺Lin⁻NKp46⁻CD127⁺KLRG1⁻CD4⁺)、cNK (CD45⁺Lin⁻NKp46⁺NK1.1⁺CD127⁻)で顕著な変化が認められた。

これらの結果は、運動が骨髄中のリンパ球の発生に影響を及ぼす他者の報告を支持するものであり、また運動が免疫受容体を介して炎症の惹起に関与する自然免疫系細胞に影響を及ぼす可能性を示すものである。さらに、これまでに骨格筋の損傷修復・再生について検討した我々の先行研究結果からは B6.WT と比較し FcR γ では損傷筋の再生遅延やそれに伴う関連遺伝子群の発現に差異が観察されている。また、それら再生遅延の原因として筋損傷後の炎症応答および損傷筋への免疫担当細胞の動員への影響が考えられるが、今回の長期継続的な運動による血中の炎症性サイトカインの変動、特に炎症誘導やマクロファージ活性化に関与するサイトカインの産生亢進やケモカインの産生に変動が見られたことから、損傷筋の修復・再生に対して運動の影響が観察される可能性が示され、また運動による筋の修復・再生

への影響を及ぼす要因の一つとして、ITAM を有する活性化型免疫受容体を介した制御機構の関与の可能性が示唆された。

（3-2）波及効果と発展性など

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炎症応答、骨代謝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免疫活性化モチーフ ITAM を有する免疫受容体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再生機構や恒常性の維持にどのように関与するの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筋再生に関与する細胞の新規な制御機構とその分子機序、制御方法の可能性を提示し、さらには筋再生における筋-骨間の相互作用など臓器連関の理解に発展することが期待され、ひいては健康増進や健康寿命の延伸につながる可能性がある。

〔4〕 成果資料

（1）Itoi S, Takahashi N, Saito H, Miyata Y, Su M, Endo S, Fujii H, Harigae H, Sakamoto Y, Takai T. (2022.8) Myeloid immune checkpoint ILT3/LILRB4/ gp49B tether fibronectin with integrin on macrophages. *Int Immunol.* 34(8) 435-444. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxac023>

（2）坂本 譲 (2023.9) 運動によるアレルギー予防効果の検討 -好塩基球による Th2 免疫制御の観点から-, アレルギーの臨床 43(10): 55-58

（3）Sakamoto Y, Takai T. (2024.9) Effects of long-term voluntary running exercise on immunoreceptor-mediated regulation of allergy. 16th International Society for Exercise and Immunology Symposium (Vienna, AUS)