

## 筋肉の幹細胞が増幅する仕組みを解明 ～筋力低下や筋ジストロフィー治療に期待～

私たちの筋肉（骨格筋）は非常に高い再生能力を持っています。激しい運動や打撲などで損傷が起きた場合でも、骨格筋組織内にある骨格筋幹細胞の働きで、速やかに再生することが可能です。骨格筋はまた、私たちの体の動きを司るだけでなく、全身のエネルギー代謝を制御する組織としても大切な働きをしています。我が国は人生100年時代に突入したとも言われますが、骨格筋を一生涯にわたり健全に保つことは、健康で長生きする秘訣であると考えられます。

しかし、加齢や病気により、筋肉の再生が上手くいかない状態が生じます。それは骨格筋組織内に存在する幹細胞の機能や数が低下するからです。このような変容を抑制し、骨格筋を正常に保つためには、骨格筋幹細胞の増幅や性質を維持するメカニズムを明らかにすることが欠かせません。

本研究では、骨格筋幹細胞が増幅する仕組みの一端を明らかにしました。骨格筋幹細胞は、生体外で培養すると、そのほとんどが自発的に骨格筋系の細胞に分化し、増殖が止まってしまう。しかし、一部の細胞は、自分自身の分身を作り出す（自己複製）ことで増殖能を維持します。骨格筋幹細胞の自己複製能力を高めたり、自己複製する細胞集団を増やしたりすることができれば、生体内外でより多くの骨格筋幹細胞を増幅させることが可能となります。

本研究グループは、タンパク質の翻訳に関わる eIF2 $\alpha$  という分子のリン酸化が自己複製細胞で強く誘導されていることをヒントに、骨格筋幹細胞の自己複製を制御する新たな分子メカニズムを同定しました。eIF2 $\alpha$  のリン酸化は一般的にタンパク質翻訳を抑制することが知られていましたが、私たちは例外的に eIF2 $\alpha$  のリン酸化によって逆にタンパク質翻訳が亢進される分子 TACC3 を同定しました。この eIF2 $\alpha$  のユニークなタンパク質翻訳メカニズムの解明と TACC3 の同定により、従来まで難しいとされていた長期的な骨格筋幹細胞の生体外培養が可能となり、加齢による筋肉量や筋力の減少（サルコペニア）や筋ジストロフィー症などの治療法開発に貢献することが期待されます。

### 研究代表者

筑波大学医学医療系／トランスポーター医学研究センター（TMRC）

再生医学分野

藤田 諒 助教（卓越研究員）

## 研究の背景

骨格筋は、私たちの体の中でも非常に可塑性が高い組織として知られています。例えば、骨折や寝たきり、あるいは老化などによって筋活動が低下すると萎縮し、反対に運動や筋力トレーニングなどで筋活動が増加すると肥大します。更に、筋力トレーニングや挫傷などによって筋損傷が起きた場合でも、速やかに再生することが可能です。この筋再生の中心的な役割を担っているのが、骨格筋の組織内に存在する骨格筋幹細胞<sup>注1)</sup>です。この骨格筋幹細胞がいるおかげで、私たちの筋肉は壊れてもすぐに再生され、筋肉組織の恒常性が保たれます。しかし、骨格筋幹細胞の能力は老化や慢性的な疾患などで徐々に低下し、その結果、筋肉量や筋肉の質の低下、そして世界的な社会問題となっているサルコペニア（加齢性筋肉減弱症）<sup>注2)</sup>を引き起こす可能性が唆されています。また、骨格筋は生体内最大のエネルギー代謝組織として全身の代謝を制御することも知られています。そのため、本研究チームは、骨格筋組織の再生・形成を担う骨格筋幹細胞を維持するメカニズムを解明することで、骨格筋の恒常性維持につなげることを目指しています。

## 研究内容と成果

今回、本研究チームは骨格筋幹細胞が自己を複製し、増幅する仕組みの一端を明らかにしました。骨格筋幹細胞が長期的に増幅する方法を開発するための鍵となる研究結果で、サルコペニアや遺伝性筋疾患などの治療に役立つ可能性があります。

骨格筋幹細胞は通常、損傷などがない状態では眠った状態（休止期）で存在しています。しかし、運動などによって筋肉が損傷を受けると、骨格筋幹細胞はそれを感じ、筋分化制御因子を発現して活性化、増殖します。この増殖した細胞のほとんどが後期の筋分化へ移行し、お互いに融合することで新しい筋肉を形成していきます。一方、増幅した一部の骨格筋幹細胞は筋分化へ移行せず、自己複製を行っただけで休止期の状態に戻るということが知られています。この自己複製は骨格筋幹細胞の数を長期的に維持する上で最も重要なプロセスであると考えられていますが、その分子レベルでのメカニズムに関しては未だ不明な点が多く残されています。

本研究グループは、これまでに骨格筋幹細胞の休止期維持及び自己複製プロセスにおける重要な分子基盤の一端を解明してきました（Crist et al. PNAS. 2009; Zismanov et al. Cell Stem Cell. 2016; Fujita et al. Skeletal Muscle. 2017）。今回はその中でも、eIF2 $\alpha$  という分子のリン酸化によるタンパク質翻訳機構に着眼して、研究を進めました。

eIF2 $\alpha$  がリン酸化を受けると、一般的に細胞内のタンパク質翻訳が全体的に抑制されることが知られています。休止期及び自己複製中の骨格筋幹細胞において、eIF2 $\alpha$  のリン酸化状態が高く維持されタンパク質の翻訳が抑えられることで、細胞内のエネルギー産生状態が低いままとなり、骨格筋幹細胞の休止期及び自己複製が制御されていることが明らかになっています（Zismanov et al. Cell Stem Cell. 2016）。しかし、非常に興味深いことに、eIF2 $\alpha$  のリン酸化によってタンパク質翻訳が抑制されず、反対にタンパク質翻訳が亢進する分子が一部存在することが知られていました。そこで本研究では、eIF2 $\alpha$  のリン酸化時に選択的に翻訳亢進される分子が骨格筋幹細胞の自己複製能を制御しているのではないかとの仮説を立て、その分子の同定と骨格筋幹細胞におけるその機能の解析を行いました。

初めに eIF2 $\alpha$  リン酸化時に mRNA レベルの変動を介さず、タンパク質レベルで発現が上昇する分子を同定するため、eIF2 $\alpha$  リン酸化レベルを上昇させる低分子化合物である sal003 を骨格筋幹細胞に作用させ、変動するタンパク質と mRNA を網羅的に解析しました。そして、eIF2 $\alpha$  リン酸化によって mRNA レベルの変動介さず、タンパク質レベルで有意に発現が上昇する分子 Transforming Acidic Coiled-Coil Containing Protein 3 (TACC3) を同定しました。

続いて、骨格筋幹細胞における TACC3 の機能を明らかにするため、骨格筋幹細胞特異的に薬剤（タモキシフェン）によって *Tacc3* 遺伝子を欠損できるマウスを作成しました。このマウスから骨格筋幹細胞を分離し培養し、野生型マウスと比較したところ *Tacc3* を欠損した骨格筋幹細胞は骨格筋幹細胞維持に重要な遺伝子である PAX7 の発現が有意に低下し、幹細胞のコロニーを作る能力が顕著に低下していました。次に *Tacc3* を欠損した骨格筋幹細胞にレンチウイルスを用いて *Tacc3* 遺伝子を導入する実験を行ったところ、PAX7 の発現が元に戻り、骨格筋幹細胞の自己複製と増幅が正常化することを確認しました。これらの実験から、TACC3 が培養下 (*In vitro*) における骨格筋幹細胞の自己複製と幹細胞の増幅に重要であることを明らかにしました。

次に、マウス生体内の骨格筋幹細胞における TACC3 の機能を探索するため、骨格筋幹細胞特異的に *Tacc3* 遺伝子を欠損したマウスの骨格筋に薬剤を注入して損傷を誘導し、骨格筋幹細胞の機能及び筋再生を野生型マウスと比較しました。その結果、*In vitro* の結果と一致し、*Tacc3* 遺伝子を欠損した骨格筋幹細胞は損傷後に増幅することができず、明らかな筋再生不全を呈することが判明しました。

本研究グループは先行研究において、sal003 による eIF2 $\alpha$  のリン酸化レベルの上昇によって骨格筋幹細胞の自己複製が高まることを報告していました (Lean et al. Regen Medicine Frontiers. 2019)。もしこの現象に TACC3 が関与するならば、sal003 による骨格筋幹細胞の増幅は *Tacc3* を欠損した場合には起こらないことが予想されました。そこで、私たちは野生型の骨格筋幹細胞と *Tacc3* 欠損骨格筋幹細胞を分離後、*In vitro* でそれぞれ sal003 を作用させたところ、*Tacc3* 欠損骨格筋幹細胞では sal003 による骨格筋幹細胞の増幅が起こらないことを明らかにしました。

これらのことから、骨格筋幹細胞は eIF2 $\alpha$  のリン酸化を介して細胞全体のタンパク質翻訳を抑制しながら、TACC3 を選択的に翻訳誘導することで、骨格筋幹細胞の自己複製と増幅を制御する可能性が示唆されました。

#### 今後の展開

本研究は骨格筋幹細胞を長期的に維持するために必須である自己複製の分子基盤の一端を明らかにしました。今回の報告は、eIF2 $\alpha$  のリン酸化が、細胞全体のタンパク質翻訳を抑制することで細胞のエネルギー産生状態を低く保ち、長期的に生体内の組織幹細胞を維持することに加え、特定の分子を選択的に翻訳することで幹細胞性を制御しているというユニークなコンセプトを提唱するものです。

本研究では、eIF2 $\alpha$  のリン酸化状態の変動や TACC3 タンパク質の発現低下が加齢に伴う骨格筋幹細胞の機能低下やサルコペニアのトリガーになっているかは不明です。しかし、骨格筋幹細胞での eIF2 $\alpha$  のリン酸化が、選択的翻訳機構による TACC3 の発現上昇を介して、骨格筋幹細胞の増幅に関わることが本研究で明らかになりました。今後、TACC3 をターゲットにした骨格筋幹細胞の増幅方法などの開発が期待されます。本研究グループは現在、骨格筋幹細胞の自己複製に関わる新たな分子の同定及び自己複製細胞を同定するツールの開発などを行っており、更に詳細に骨格筋幹細胞の性質を明らかにしていく予定です。

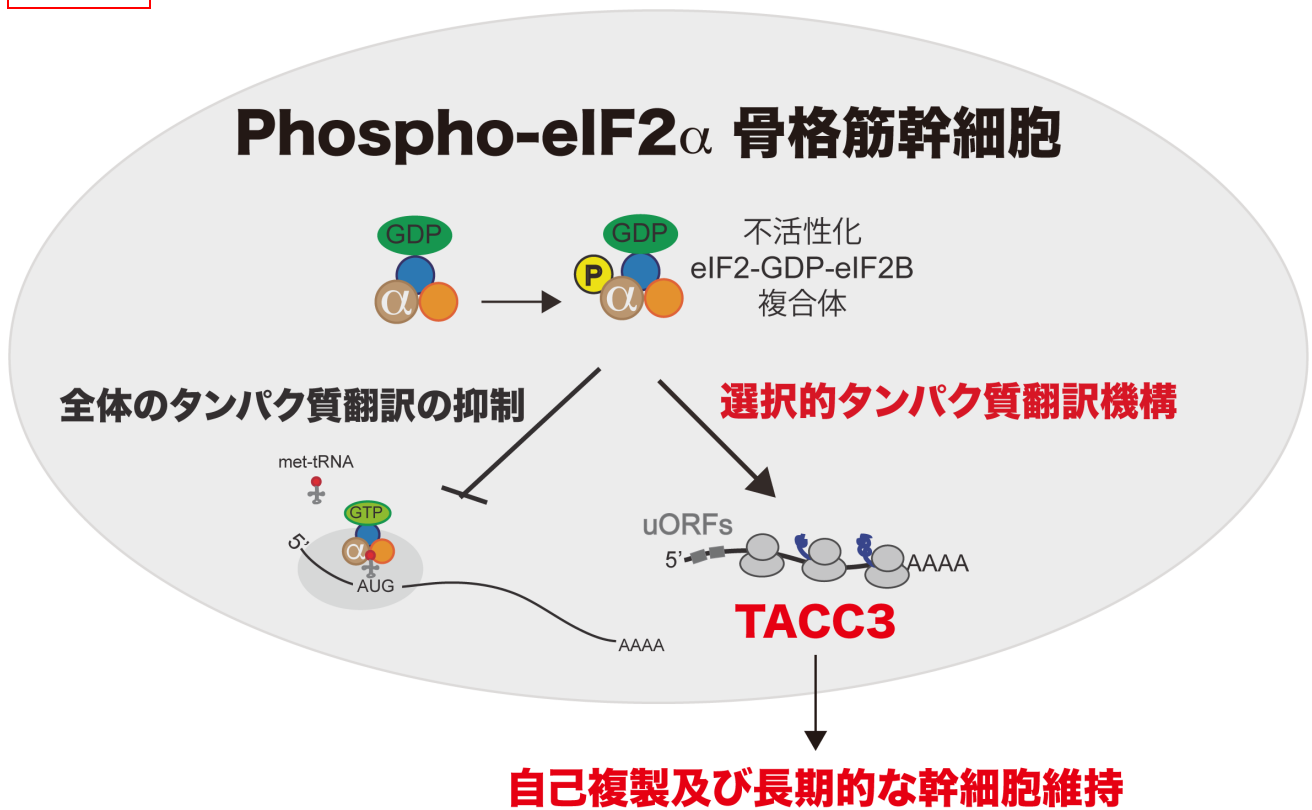


図 本研究結果のまとめ

休止期及び自己複製時に骨格筋幹細胞で誘導される eIF2 $\alpha$  のリン酸化 (Phospho-eIF2 $\alpha$ ) は細胞全体のタンパク質翻訳を抑制します。タンパク質翻訳を抑制することで細胞のエネルギー産生状態が低く保たれ、長期的な骨格筋幹細胞維持に関わると考えられています。一方で非常に興味深いことに、eIF2 $\alpha$  リン酸化は、骨格筋幹細胞の自己複製や幹細胞維持に必要な分子 (TACC3) のみを選択的に翻訳することで、骨格筋幹細胞の増幅を制御していることが明らかになりました。全体のタンパク質翻訳を抑制しながら、特定の因子のみを選択的に翻訳するこの eIF2 $\alpha$  のユニークな機構によって、長期的に骨格筋幹細胞の自己複製細胞が維持され、私たちの筋再生能を担っている可能性があると考えられます。

### 用語解説

#### 注1) 骨格筋幹細胞

骨格筋組織に存在する幹細胞で、骨格筋再生に必須の役割をする。サテライト細胞とも呼ばれる。筋肉の損傷がなく再生が必要ない状態では通常、筋線維と基底膜の間に位置し眠った状態 (休止期) で存在している。しかし、運動や打撲などの損傷刺激が入ると速やかに活性化し、増殖する。その後、増殖した細胞は骨格筋へと分化することで筋組織を再生する。骨格筋幹細胞が持つこの強靱な再生能から、サルコペニア<sup>注2)</sup> や、筋ジストロフィーなどの遺伝性筋疾患治療への応用が期待されている。

#### 注2) サルコペニア

加齢にともなう筋力・筋量減弱症のこと。超高齢社会に突入し、人生 100 年時代を迎えた我が国において、サルコペニア発症の分子機序やその予防策、治療方法の発見は喫緊の課題である。

#### 注3) 翻訳開始因子 eIF2 $\alpha$

$\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  の 3 つのサブユニットからなる 3 量体 G タンパク質 である eIF2 は eIF2B というグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) によって活性化されると、開始メチオニン tRNA とリボソームと複合体を形成することでタンパク質翻訳の起点となる。

#### 注4) eIF2 $\alpha$ リン酸化

一般的に細胞にストレスが掛かると eIF2 の  $\alpha$  サブユニットの Ser51 リン酸化が起こる。リン酸化を受けた eIF2 $\alpha$  は eIF2B の GEF としての機能を抑制するため、その結果タンパク質翻訳の抑制が起こる。哺乳類には eIF2 $\alpha$  をリン酸化する酵素（キナーゼ）が四つ（PERK, GCN2, PKR, HRI）がある。骨格筋幹細胞における eIF2 $\alpha$  のリン酸化には PERK が関与している。

#### 研究資金

本研究は、日本学術振興会海外特別研究員、上原記念生命科学財団、持田記念医学薬学振興財団及び、文科省卓越研究員事業のプロジェクトの一環として実施されました。

#### 掲載論文

【題名】 Satellite cell expansion is mediated by P-eIF2 $\alpha$  dependent Tacc3 translation.

（骨格筋幹細胞の増殖は eIF2 $\alpha$  依存的に翻訳される TACC3 によって制御される）

【著者名】 Ryo Fujita, Solene Jamet, Graham Lean, Harry Chun Man Cheng, Steven Hebert, Claudia L. Kleinman, and Colin Crist

【掲載誌】 Development

【掲載日】 2020年12月14日

【DOI】 10.1242/dev.194480

#### 問合わせ先

【研究に関すること】

藤田 諒（ふじた りょう）

筑波大学医学医療系／トランスポーター医学研究センター再生医学分野 助教（卓越研究員）

URL: <http://www.md.tsukuba.ac.jp/tmrc/members/fujita/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp