

間葉系間質細胞による骨格筋組織の健全性維持機構

上住 聡芳

1. はじめに

骨格筋は体重の約3割を占める人体最大の臓器であり、収縮することにより運動や身体活動をつかさどるだけでなく、全身のエネルギー代謝において中心的な役割を果たし、さらには生理活性物質を産生する内分泌的機能も有するなど、健康の維持・増進に欠くことのできない機能を担っている。不活動や老化、種々の筋疾患などによって骨格筋の量および機能は低下するが、それは activities of daily living (ADL: 日常生活動作) や quality of life (QOL) を低下させ、ひいては生命予後にも影響を及ぼすため、公衆衛生上のきわめて大きな問題となる。特に超高齢社会にある先進各国において、老化による筋の衰弱 (サルコペニア) は大きな社会問題となっている。本邦におけるサルコペニアの有病率は80歳以上の男性で約3割、女性では約半数とされており、サルコペニアになると死亡、要介護化のリスクがいずれも約2倍になる。サルコペニアは、より広い疾患概念である身体的フレイルの中核をなす病態であり、健康長寿を実現するには骨格筋の維持が鍵になるといえる。しかし、サルコペニアを含む骨格筋の萎縮や機能低下をみる疾患に対して有効な薬剤や治療法は現時点ではない。この現状を打破するには、骨格筋の維持メカニズムを理解し、何が筋萎縮や機能低下を来す病的コンディションで問題となっているのかを明らかにする必要がある。本稿では、我々が発見し研究してきた間葉系間質細胞について紹介し、最近明らかになってきた本細胞の骨格筋維持における重要性を解説する。

2. 筋の脂肪化, 線維化, 骨化の起源となる細胞の発見

骨格筋は筋線維 (骨格筋の実質細胞) が束をなした構造をしている。筋線維は発生過程で単核の筋芽細胞が融合することで形成される巨大な細胞で、数百から千を超える核を有する多核細胞である。筋線維は最終分化し収縮のために高度に特殊化した細胞で分裂能を持たない。にもかかわらず骨格筋は優れた再生能力を有しており、その再生は筋衛星細胞が担っている。筋衛星細胞とは筋線維の表面に付着している単核の細胞で、通常は静止状態で存在しているが、筋線維が損傷を受けると活性化して分裂を開始し、分化、融合を経て新しい筋線維を形成することで骨格筋を再生する。筋衛星細胞は成体において筋系譜細胞を生み出すことができる唯一の細胞で、自己複製により一部は未分化状態にとどまり自らの細胞集団を枯渇しないように保つ。このように筋衛星細胞は骨格筋の幹細胞として機能する。こうした優れた再生システムがあるにもかかわらず、老化や筋疾患などの病的環境化では、骨格筋内に脂肪細胞が形成されたり (脂肪化)、線維性の結合組織が肥厚したり (線維化) する可能性がある。また、骨格筋内に異所性の骨が形成される (骨化) 疾患もある。このような異所性の組織は収縮能がないため筋力低下につながるだけでなく、残存している筋線維にも悪影響を及ぼし、骨格筋組織の健全性が損なわれる。脂肪化、線維化、骨化といった病態がどのようにして生じるのか詳細は不明であったが、筋衛星細胞が分化異常を起こし脂肪細胞や骨細胞へ分化してしまう説が提唱されていた^{1,2)}。しかし我々は、骨格筋の間質に筋衛星細胞とは異なり、platelet-derived growth factor receptor α (PDGFR α) を特異的に発現する細胞を発見し、本細胞が筋の脂肪化、線維化の起源となっていることを明らかにした^{3,4)}。また、その後の研究によって、PDGFR α (+)細胞が筋の骨化の起源にもなることが示された⁵⁾。PDGFR α (+)細胞は脂肪細胞や線維性細胞、骨細胞への分化能を有するが、筋系譜に分化することはなかった。一方、筋衛星細胞が脂肪化、線維化、骨化に寄与することはなく、筋衛星細胞はあくまで骨格筋系譜の幹細胞として機能することが確認された。

3. PDGFR α (+)細胞=間葉系間質細胞

PDGFR α (+)細胞の呼び方について整理したい。カナ

九州大学生体防御医学研究所細胞不均一性学分野 (〒812-8582 福岡市東区馬出3-1-1)

Mechanisms of skeletal muscle health maintenance by mesenchymal stromal cells

Akiyoshi Uezumi (Division of Cell Heterogeneity, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi, Fukuoka 812-8582, Japan)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2023.950828

© 2023 公益社団法人日本生化学会

ダのRossiらは我々と同時期に筋の脂肪化の元となる細胞を報告し、線維性細胞、脂肪細胞に分化するが骨分化能はないとしてfibro/adipogenic progenitors (FAPs)と名づけた⁶⁾。しかしその後、上述のように本細胞が骨分化能を有することが証明されたので、FAPsという呼び方は本細胞の特性を正確に表しているとはいえず適切ではない。最近の単一細胞RNA sequence (scRNA-seq)の研究では、PDGFR α (+)細胞集団は間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells: MSCs) や線維芽細胞 (fibroblasts) とラベルされている^{7,8)}。MSCsは培養によって得られる細胞集団につけられた名称で広く使用されている。しかし、「幹細胞」の基礎科学的な定義は「分化した子孫細胞を生み出す能力と自己複製能を併せ持つ細胞」であるが、MSCsの自己複製能を厳密に証明した研究はなく、幹細胞と呼ぶには問題がある。事実、MSCsの名づけ親であるCaplan博士自身が幹細胞とは呼べないため、この呼び名を撤回したいと述べている⁹⁾。fibroblastsは100年以上前につけられた歴史のある呼び名であるが、創傷治癒時の活性化状態にある細胞の形態学的特徴に基づいており、「blast」という接尾辞は活発にタンパク質を合成するさまを指している。しかし、本細胞が生体内で常に活性化状態にあるわけではない。また、MSCsを取り上げた論文の中には、分化能を持つMSCsと差別化を図るためfibroblastsには分化能がないとするものもあるが、これは間違いで脂肪細胞などの間葉系譜を生み出す能力はもともとfibroblastsの基本特性に含まれる¹⁰⁾。こうしたことからfibroblastsという名称も混乱を招く可能性が高い。現時点でPDGFR α (+)細胞は「間葉系間質細胞」と呼ぶのが最も正確で理性的と思われ、本稿ではこの呼び名で統一する。

4. 間葉系間質細胞の生理的役割とサルコペニアへの関与

上述のように、間葉系間質細胞は筋の脂肪化、線維化、骨化の元になる細胞として同定された。その後、間葉系間質細胞の病的動態のメカニズムや本細胞を標的とした治療法開発研究は進んだ。一方で、そもそも本細胞が何のために存在するのかという、その本質的な存在意義については不明なままであった。そこで我々は、PDGFR α (+)細胞でタモキシフェン依存性Creを発現するPdgfra-CreERマウスとCre発現細胞が選択的に死滅するR26-DTAマウスを交配することにより、間葉系間質細胞を特異的に欠損するマウスを作製することで、その生理的重要性を調べた¹¹⁾。本マウスでは、タモキシフェン投与により間葉系間質細胞が激減したが、重要なことに、それに伴って筋量・筋力も顕著に低下した。また、間葉系間質細胞の一部が運動神経の軸索や神経筋接合部 (neuromuscular junction: NMJ) に近接して存在することを見だし、間葉系間質細胞欠損マウス

で脱神経やシュワン細胞の変性が亢進することを明らかにした。驚くべきことに、間葉系間質細胞の欠損を誘導後、約3か月でほとんどのマウスが死亡した。これらのことから、間葉系間質細胞は定常状態の筋の維持に必須の役割を果たしており、ひいては、個体の生存にも必要な細胞であることが明らかとなった。間葉系間質細胞欠損マウスでは、全身のPDGFR α (+)細胞が欠損または減少すると考えられる。そこで筋組織の間葉系間質細胞の重要性を確かめるため、我々は、間葉系間質細胞欠損マウス骨格筋への間葉系間質細胞の移植を行った。その結果、移植筋特異的に筋量の回復がみられた。スタンフォード大学のグループも同様の方法で間葉系間質細胞欠損マウスを報告したが、彼らはタモキシフェンを前脛骨筋局所に投与し投与筋だけが萎縮することを示した¹²⁾。これらから、少なくとも間葉系間質細胞欠損マウスの骨格筋の表現型は、筋組織の間葉系間質細胞の欠損によるもので、筋維持における筋局所の間葉系間質細胞の重要性が示された。間葉系間質細胞欠損マウスでみられた筋量・筋力の低下やNMJ、シュワン細胞の異常といった表現型が、サルコペニアに酷似していることに注目し、間葉系間質細胞とサルコペニアの関係を追究した。間葉系間質細胞欠損マウス骨格筋で変動する遺伝子、および、老化マウス由来間葉系間質細胞で変動する遺伝子の統合解析により、老化によって間葉系間質細胞で発現が変化する機能的な筋維持遺伝子の同定を試みた。その結果、間葉系間質細胞特異的に発現し、老化によって顕著に発現低下するBmp3b [bone morphogenetic protein 3b, 別名growth differentiation factor 10 (GDF10)]を同定した。Bmp3b欠損マウスの表現型を精査したところ、間葉系間質細胞欠損マウスと比べ程度は弱い筋量・筋力の低下やNMJ、シュワン細胞の異常といった表現型が確認され、間葉系間質細胞による筋維持機構の一部はBmp3bによって担われていると考えられた。さらに、老化マウスにBmp3bを投与したところ、非投与老化マウスと比べて筋量・筋力が増加した。これらのことから、間葉系間質細胞特異的に発現するBmp3bの発現低下はサルコペニア発症の一因になっていると考えられた (図1)。しかし、Bmp3b投与による筋量・筋力の回復の度合いは、若齢マウスのレベルにまでは達しなかったことから、Bmp3bの発現低下以外の間葉系間質細胞の加齢変化もサルコペニアに寄与している可能性が示唆された。

5. 筋の適応における間葉系間質細胞の役割

骨格筋は筋力トレーニングのような過度な物理的負荷によって肥大する。筋肥大の実体は個々の筋線維が太くなる現象である。この適応はある程度までは筋衛星細胞非依存的に起こりうるが、さらなる肥大には筋衛星細胞が必要に

なる。すなわち、物理的負荷に応じて筋衛星細胞が活性化・増殖し、筋線維へ融合して新しい筋核を供給することで効率的な筋肥大が可能になる。このとき、筋線維に損傷はみられない。筋がダメージを負ってそこから回復することで筋肥大が起こるとよくいわれるが、それは間違いである。筋肥大時には損傷非依存的に筋衛星細胞が増殖して筋線維へ寄与する機構があり、それは筋線維が損傷を受け再生するときの筋衛星細胞の制御機構とは異なる¹³⁾。つまり、筋再生と筋肥大は異なる現象である。この筋肥大のメカニズムにはいまだ不明な点が多い。上述したように、間葉系間質細胞が筋の維持に生理的にきわめて重要な役割を果たすことが判明したことから、筋肥大においても本細胞が重要になるのではと考え、その関連を調べた¹⁴⁾。マウスの腓腹筋とヒラメ筋（またはそれらの腱）を切除することで協働筋である足底筋に代償性筋肥大を誘導する実験を、間葉系間質細胞欠損マウスを用いて行ったところ、野生型マウスでみられる筋衛星細胞の増殖、そして、それに続く筋核の供給・筋肥大が著しく阻害された。つまり、物理的負荷による筋肥大に間葉系間質細胞が必要であることが明らかとなった。代償性筋肥大時の間葉系間質細胞の

変化を調べた結果、間葉系間質細胞で機械シグナル伝達経路である Yap/Taz (Yes-associated protein/transcriptional co-activator with PDZ-binding motif) シグナルが活性化しており、間葉系間質細胞特異的 Yap/Taz 二重欠損 (cdKO) マウスでも筋衛星細胞の増殖、それに続く筋核の供給・筋肥大が著しく阻害された。そこで、代償性筋肥大時の cdKO と野生型マウスの間葉系間質細胞を比較することで Yap/Taz シグナルの下流を探索したところ、Thrombospondin-1 (Thbs1) の発現が cdKO 間葉系間質細胞で顕著に低下していた。一方、Thbs1 の受容体である CD47 は代償性筋肥大時に筋衛星細胞で高発現していることを見いだした。間葉系間質細胞で発現する Thbs1 と筋衛星細胞で発現する受容体 CD47 の間で伝達されるシグナルの重要性を明らかにするため、筋衛星細胞特異的 CD47 欠損マウスを作製したところ、やはり、代償性筋肥大時の筋衛星細胞の増殖、それに続く筋核の供給・筋肥大が阻害された。以上から、物理的負荷に応答する間葉系間質細胞を起点として、筋衛星細胞との間で Thbs1-CD47 軸からなるシグナル伝達経路が活性化されることが、効率的な筋肥大に必要なことが明らかとなった (図2)。

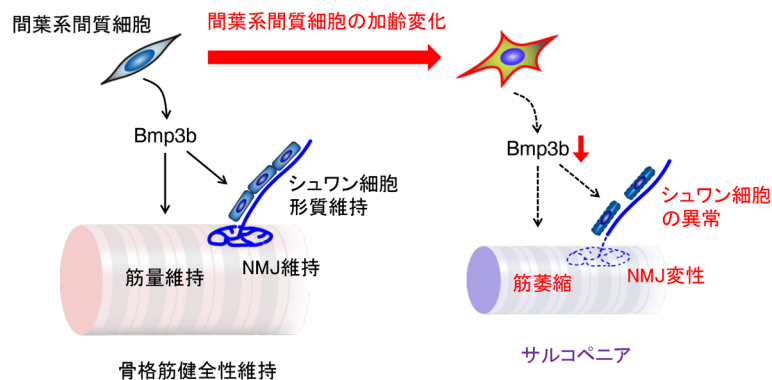


図1 間葉系間質細胞の加齢変化によるサルコペニアの誘発

間葉系間質細胞は筋の維持に必須の役割を果たし、この役割の一端は Bmp3b が担っている。Bmp3b の発現低下を含む間葉系間質細胞の加齢変化はサルコペニアの引き金になる。文献11からの改変。

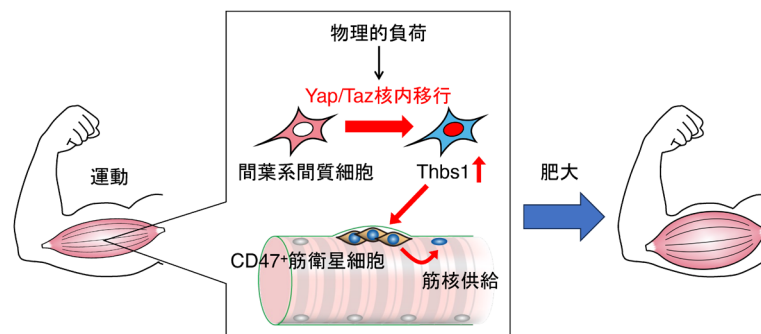


図2 物理的負荷による筋肥大における間葉系間質細胞の役割

物理的負荷に応答して間葉系間質細胞で Yap/Taz シグナルが活性化し Thbs1 が発現上昇する。Thbs1 は筋衛星細胞に発現する CD47 を刺激し、増殖とそれに続く筋核供給を促進し筋肥大を導く。

最近、運動適応における間葉系間質細胞の予想を超えた重要性が明らかになってきている。骨格筋と脂肪組織の scRNA-seq の研究で、肥満や運動時に起こる臓器内および臓器間適応に、間葉系間質細胞が中心となる細胞連関が寄与することが示されている¹⁵⁾。また、運動時に誘導される液性因子の由来を網羅的に解析した研究から、運動に最も鋭敏に反応して液性因子を分泌するのは間葉系間質細胞であることが示されている¹⁶⁾。運動による生体の適応を考える際、間葉系間質細胞は注目すべき重要な要素になると考えられる。

6. おわりに

間葉系間質細胞はこれまで単に隙間を埋める細胞と見なされあまり注目されてこなかった。しかし本稿で述べたように、定常状態の筋の維持や運動による適応といった生理的なコンディションできわめて重要な役割を果たすことが明らかとなってきた。間葉系間質細胞は骨格筋に限らず全身の臓器に広く存在し、scRNA-seq の研究によって実に多様性に富むことがわかってきている¹⁷⁾。骨格筋と同様に、さまざまな臓器やコンディションで間葉系間質細胞が重要な役割を果たす例が報告されてきているが、その最たる例は、我々が示した間葉系間質細胞がないと個体は生存できないという事実であろう。このように、その多様性や重要性は実質に匹敵するものがあり、今後の研究により、実質と対をなす「間葉系間質細胞ワールド」が展開されるであろうと期待される。

文 献

- Asakura, A., Komaki, M., & Rudnicki, M. (2001) Muscle satellite cells are multipotential stem cells that exhibit myogenic, osteogenic, and adipogenic differentiation. *Differentiation*, **68**, 245–253.
- Wada, M.R., Inagawa-Ogashiwa, M., Shimizu, S., Yasumoto, S., & Hashimoto, N. (2002) Generation of different fates from multipotent muscle stem cells. *Development*, **129**, 2987–2995.
- Uezumi, A., Fukada, S., Yamamoto, N., Takeda, S., & Tsuchida, K. (2010) Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nat. Cell Biol.*, **12**, 143–152.
- Uezumi, A., Ito, T., Morikawa, D., Shimizu, N., Yoneda, T., Segawa, M., Yamaguchi, M., Ogawa, R., Matev, M.M., Miyagoe-Suzuki, Y., et al. (2011) Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. *J. Cell Sci.*, **124**, 3654–3664.
- Wosczyzna, M.N., Biswas, A.A., Cogswell, C.A., & Goldhamer, D.J. (2012) Multipotent progenitors resident in the skeletal muscle interstitium exhibit robust BMP-dependent osteogenic activity and mediate heterotopic ossification. *J. Bone Miner. Res.*, **27**, 1004–1017.
- Joe, A.W., Yi, L., Natarajan, A., Le Grand, F., So, L., Wang, J., Rudnicki, M.A., & Rossi, F.M.V. (2010) Muscle injury activates resident fibro/adipogenic progenitors that facilitate myogenesis. *Nat. Cell Biol.*, **12**, 153–163.
- Tabula Muris Consortium. (2018) Single-cell transcriptomics of 20 mouse organs creates a Tabula Muris. *Nature*, **562**, 367–372.
- Muhl, L., Genové, G., Leptidis, S., Liu, J., He, L., Mocci, G., Sun, Y., Gustafsson, S., Buyandelger, B., Chivukula, I.V., et al. (2020) Single-cell analysis uncovers fibroblast heterogeneity and criteria for fibroblast and mural cell identification and discrimination. *Nat. Commun.*, **11**, 3953.
- Caplan, A.I. (2017) Mesenchymal stem cells: Time to change the name! *Stem Cells Transl. Med.*, **6**, 1445–1451.
- Plikus, M.V., Wang, X., Sinha, S., Forte, E., Thompson, S.M., Herzog, E.L., Driskell, R.R., Rosenthal, N., Biernaskie, J., & Horsley, V. (2021) Fibroblasts: Origins, definitions, and functions in health and disease. *Cell*, **184**, 3852–3872.
- Uezumi, A., Ikemoto-Uezumi, M., Zhou, H., Kurosawa, T., Yoshimoto, Y., Nakatani, M., Hitachi, K., Yamaguchi, H., Wakatsuki, S., Araki, T., et al. (2021) Mesenchymal Bmp3b expression maintains skeletal muscle integrity and decreases in age-related sarcopenia. *J. Clin. Invest.*, **131**, e139617.
- Wosczyzna, M.N., Konishi, C.T., Perez Carbajal, E.E., Wang, T.T., Walsh, R.A., Gan, Q., Wagner, M.W., & Rando, T.A. (2019) Mesenchymal stromal cells are required for regeneration and homeostatic maintenance of skeletal muscle. *Cell Rep.*, **27**, 2029–2035.e5.
- Fukada, S.I., Akimoto, T., & Sotiropoulos, A. (2020) Role of damage and management in muscle hypertrophy: Different behaviors of muscle stem cells in regeneration and hypertrophy. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.*, **1867**, 118742.
- Kaneshige, A., Kaji, T., Zhang, L., Saito, H., Nakamura, A., Kurosawa, T., Ikemoto-Uezumi, M., Tsujikawa, K., Seno, S., Hori, M., et al. (2022) Relayed signaling between mesenchymal progenitors and muscle stem cells ensures adaptive stem cell response to increased mechanical load. *Cell Stem Cell*, **29**, 265–280.e6.
- Yang, J., Vamvini, M., Nigro, P., Ho, L.-L., Galani, K., Alvarez, M., Tanigawa, Y., Renfro, A., Carbone, N.P., Laakso, M., et al. (2022) Single-cell dissection of the obesity-exercise axis in adipose-muscle tissues implies a critical role for mesenchymal stem cells. *Cell Metab.*, **34**, 1578–1593.e6.
- Wei, W., Riley, N.M., Lyu, X., Shen, X., Guo, J., Raun, S.H., Zhao, M., Moya-Garzon, M.D., Basu, H., Sheng-Hwa Tung, A., et al. (2023) Organism-wide, cell-type-specific secretome mapping of exercise training in mice. *Cell Metab.*, **35**, 1261–1279.e11.
- Lendahl, U., Muhl, L., & Betsholtz, C. (2022) Identification, discrimination and heterogeneity of fibroblasts. *Nat. Commun.*, **13**, 3409.

著者寸描

●上住 聡芳 (うえずみ あきよし)



九州大学生体防御医学研究所細胞不均一性学分野 教授. 博士 (障害科学).

■略歴 1997年東北大学工学部卒業. 2002年同大学院医学系研究科博士課程修了. 同年国立精神・神経医療研究センター博士研究員. 06年藤田医科大学助教. 14年同講師. 17年東京都健康長寿医療センター研究所専門副部長. 18年同研究副部長. 22年徳島大学大学院医歯薬学

研究部特任講師/さきがけ研究者. 23年九州大学生体防御医学研究所細胞不均一性学分野教授.

■研究テーマと抱負 間葉系間質細胞の生体内における機能に着目し, 臓器の維持システムを理解することを目指している. 全身の様々な臓器, コンディションにおいて重要な役割を果たす間葉系間質細胞を体系的に研究する学術領域を創り上げたい.

■ウェブサイト https://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/mib/divisions/summary_chdo_cellhetero.pdf

■趣味 ロードバイク, 温泉.