

## 疲労しにくい筋肉（抗疲労性筋線維）の形成の仕組みを発見

九州大学大学院農学研究院の辰巳隆一准教授、水野谷航助教、中村真子准教授らの研究グループは、筋組織幹細胞（衛星細胞）が合成・分泌するタンパク質 セマフォリン3A (Sema3A) によって抗疲労性筋線維の形成が誘導されることを初めて見出すと共に、細胞膜受容体に始まる細胞内シグナル伝達軸を明らかにしました（参考図を参照）。

骨格筋の疲労耐性やエネルギー代謝（糖と脂肪酸のどちらを使うか）などの特性は、“筋線維”と呼ばれる細長く大きな筋細胞のタイプによって決まります。筋線維には、抗疲労性筋線維（別名：遅筋型；マラソン選手に特に多い）と易疲労性筋線維（速筋型）の2つのタイプがありますが、筋の成長や再生の過程でどちらのタイプになるかを決定する機構はこれまで不明でした。

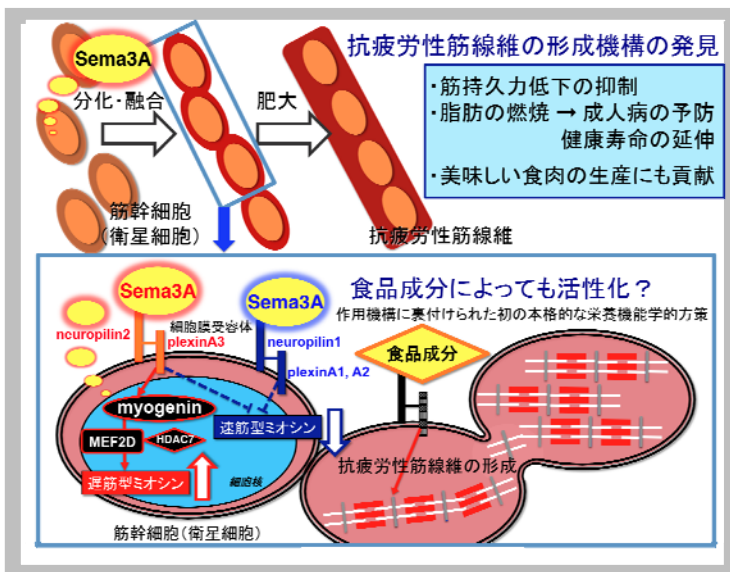
本研究では、衛星細胞の Sema3A 遺伝子だけを不活化すると、抗疲労性筋線維がほぼ完全に消失することから、生体内において Sema3A が強力な初期決定因子として働いていると着想しました。この Sema3A による制御機構の重要な特徴の1つは、Sema3A が細胞膜受容体に結合すると動き出すことにあり、このことは Sema3A 以外の受容体結合因子によって抗疲労性筋線維の形成を促進できることを意味します。事実、ある種の食品成分が受容体結合因子であることを見出しており、この食品成分をサプリメントとして摂取すると抗疲労性筋線維が増える可能性があります。

**<社会的効果と今後の展開>** 上述のサプリメント摂取法は、加齢や寝たきりなどの不活動に伴う筋持久力低下の抑制方法への適用が期待されます。適度な運動や分岐鎖アミノ酸の摂取が推奨されていますが、作用機構に裏付けられた初の本格的な栄養機能学的方策となると期待されます。また、脂肪酸をエネルギー源とする抗疲労性筋線維の増加は脂肪の燃焼を促進するので、肥満や糖尿病などの成人病の予防にもつながり、健康寿命の延伸（QOLの改善）にも貢献できます。さらに、抗疲労性筋線維は食肉の軟らかさや脂肪交雑および旨味や機能性成分（ヘム鉄やカルニチン）の含量と相関していることから、“より美味しい食肉”の生産科学にも応用が期待されます。

本研究成果は、2017年5月7日（米国時間）に、米国学術誌 STEM CELLS のオンライン版に掲載されました。

（参考図）

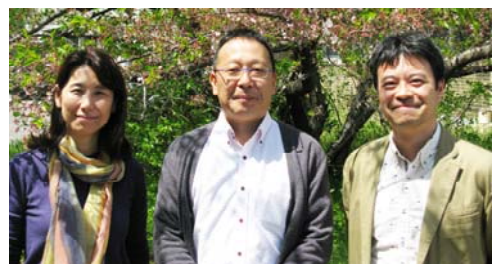
本研究で解明した「筋組織幹細胞（衛星細胞）合成・分泌因子セマフォリン3A (Sema3A) による抗疲労性筋線維の形成誘導機構」および「期待されるシルバー科学・健康科学・食肉科学への貢献」



◆衛星細胞が分化・融合し筋線維を形成する時期に Sema3A を合成・分泌する。

◆Sema3A → 細胞膜受容体 neuropilin2-plexinA3 複合体 → 転写制御因子群 myogenin-MEF2D-HDAC7 → 抗疲労性ミオシン（遅筋型ミオシン）の細胞内シグナル伝達軸により抗疲労性筋線維に初期決定され、その数が増加する。

◆また、受容体 neuropilin2-plexinA3 と neuropilin1-plexinA1, A2 は易疲労性ミオシン（速筋型ミオシン）の発現を抑制し、抗疲労性筋線維の形成を助長する。



**研究者からひとこと：**

本研究は、“偶然”と“ひらめき”から始まり、研究成果も全く予想していませんでした。骨の折れる実験にも学生はついてきてくれました。諸氏に感謝。

【お問い合わせ】 農学研究院 准教授 辰巳隆一

電話：092-642-2950；FAX：092-642-2951

Mail: rtatsumi@agr.kyushu-u.ac.jp

## ◆研究の背景

骨格筋の疲労耐性(疲労に強いかどうか)やエネルギー代謝(糖と脂肪酸のどちらを使うか)などの特性は、“筋線維”と呼ばれる細長く大きな筋細胞のタイプによって決まります。筋線維には、抗疲労性筋線維(別名:遅筋型筋線維あるいはI型筋線維)と易疲労性筋線維(速筋型筋線維あるいはII型筋線維)の2つのタイプがありますが、筋の成長や再生の過程で形成される筋線維がどちらのタイプになるかを決定する機構はこれまで全く不明でした。

一方、筋線維は、筋組織幹細胞(衛星細胞)が活性化・増殖・分化・融合して形成されます。本研究グループの先行研究により、衛星細胞が分化・融合期に至るとセマフォリン3A(Sema3A)と呼ばれるタンパク質を大量に合成・分泌することを見出しましたが、その生理機能は未解明のままでした(Tatsumi *et al.* 2009, Suzuki *et al.* 2013, *Int. J. Biochem. Cell Biol* など; p.3-4の論文リストをご参照ください)。このSema3Aが筋線維タイプを決定する重要な因子であると着想し、2010年から実験を開始しました。

## ◆研究成果の概要

増殖・分化した筋組織幹細胞(衛星細胞)が合成・分泌するSema3Aによって抗疲労性筋線維の形成が誘導されることを初めて見出すと共に、Sema3Aの細胞膜受容体に始まる細胞内シグナル伝達軸(Sema3A→細胞膜受容体 neuropilin2-plexinA3→遺伝子転写制御因子群 myogenin-MEF2D-HDAC7→抗疲労性ミオシン)を明らかにしました。また、Sema3Aは別の細胞膜受容体 neuropilin1-plexinA1,2にも結合し易疲労性筋線維の形成を阻害するシグナルを発生することにより、抗疲労性筋線維の形成を助長していることも明らかにしました。

これらの知見は、培養衛星細胞のsiRNA実験(培養細胞に各種siRNAを導入しmRNAの翻訳機能を阻害する実験)および衛星細胞特異的Sema3Aコンディショナルノックアウトマウス(Sema3A-cKOマウス)を用いた筋損傷・再生実験によって得られたものです。特に、後者の実験系において、衛星細胞のSema3A遺伝子だけを不活化すると、抗疲労性筋線維がほぼ完全に消失し筋の疲労耐性が有意に低下したことは、生体内においてSema3Aは抗疲労性筋線維の形成を誘導する強力な因子として働いていることを示す有力な根拠となっています。

これまでに、運動神経刺激(電氣的シグナルの強度と頻度)や細胞核内PPARデルタ-PGC1アルファ転写制御系によって筋線維型が維持・調節されていることが知られています。本研究で見出したSema3A制御系は、これら2つの既知の制御システムが筋線維に出来上がるより早い時期に、筋線維を抗疲労性タイプへと誘導するものです。本研究では、これを“コミットメント(初期決定)”と名付けました。衛星細胞が分化・融合期に、特異的に合成・分泌する因子によって、筋線維タイプを自ら自律的に初期決定する巧みな仕組みが解明されました。

## ◆今後の展開

骨格筋の成長期においても、本研究で見出したSema3A依存的なシグナル伝達軸によって抗疲労性筋線維の形成が誘導されていることを明らかにする必要があります(現在、実験を進めており良好な結果を得ています)。また、Sema3Aの細胞膜受容体に結合しシグナルを発生させる物質(アゴニスト)を食品成分に見出していますので、これをサプリメントとして給餌すると抗疲労性筋線維の形成が促進されることを実証することも重要です。更には、この食品成分の立体構造を模した薬剤を開発することもこれからの課題です。筋線維タイプと関係がある重篤な筋疾患(ALSやDMDなど)の治療法の開発に資すると期待されます。

## ◆研究グループ および 研究資金

本研究は、九州大学大学院農学研究院 辰巳隆一准教授、水野谷航助教、中村真子准教授、および同大学院博士後期課程学生 鈴木貴弘氏(現 北海道大学大学院農学研究院 助教)らの研究グループによって行われました。主要な研究費は、日本学術振興会(JSPS)科学研究費補助金(基盤研究B 22380145, 25292164; 基盤研究 24248045, 16H02585)、公益財団法人伊藤記念財団研究助成金、公益財団法人上原記念生命科学財団研究助成金などです。

## ◆用語解説

### 筋線維：

骨格筋を構成する主要な細胞。細長く大きな多核細胞なので“筋線維”と呼ばれる。古くは“筋繊維”と表記されていたが、現在は“筋線維”と表記するのが一般的である。また、“筋細胞”と呼ばれることがあるが、筋線維および筋組織幹細胞などの筋系細胞を含めて“筋細胞”と呼ぶのが正しい。筋線維には運動神経末端が接着し電気的シグナルを受容する他、毛細血管がその周囲に配向している。筋線維の細胞質は“筋原線維”と呼ばれる収縮装置が充満している。

### 抗疲労性筋線維：

遅筋型筋線維あるいはI型筋線維とも言う。易疲労性筋線維（速筋型筋線維、II型筋線維；IIa, IIx, IIb型に細分化）に比べて収縮速度は遅いが疲労耐性は高い。姿勢維持などの持久的運動を担う骨格筋に多く存在する。エネルギー源として主に脂肪酸を使う。直径が小さく、細胞周囲に脂肪が沈着しやすい他、旨味成分およびヘム鉄含有タンパク質ミオグロビンやカルニチンなどの機能性成分の含有量が多いことが特徴である。従って、食肉の品質とも密接に関係する。

### 筋組織幹細胞（筋幹細胞）：

衛星細胞とも呼ばれる。筋線維の細胞膜と基底膜の間隙に多数存在し、活性化・増殖・分化・融合し筋線維を形成する。筋の成長や再生に不可欠な幹細胞である。

### 衛星細胞特異的 Sema3A コンディショナルノックアウトマウス（Sema3A-cK0 マウス）：

衛星細胞の Sema3A 遺伝子だけを不活化した遺伝子改変マウス（他の細胞の Sema3A 遺伝子は正常に機能している）。コントロールマウスと比較することにより、衛星細胞が合成・分泌する Sema3A の生理機能を直接的に実証することができる。マウスの腹腔内に薬剤タモキシフェンを投与すると Sema3A-cK0 が起こるように設計されている。従って、本研究では極めて強力な実験ツールであると言える。

### セマフォリン 3A（Sema3A）：

多機能性細胞制御因子。衛星細胞での合成・分泌は、当研究グループの先行研究によってはじめて報告されたが（Tatsumi *et al.* 2009, Suzuki *et al.* 2013, Int. J. Biochem. Cell Biol）、その生理機能は不明であった。Sema3A の細胞膜受容体は neuropilin と plexinA の 2 つのタンパク質から構成されている。neuropilin は Sema3A の結合を、plexinA はシグナル発生を担っていることが知られている。neuropilin には 1 と 2 の 2 種、plexinA には 1, 2, 3, 4 の 4 種があるので、それらの組み合わせによって発生するシグナルは異なると考えられる。本研究では、neuropilin2-plexinA3 が抗疲労耐性筋線維を形成するシグナルを発生していることを明らかにした。また、neuropilin1-plexinA1, 2 が易疲労耐性筋線維の形成を阻害することも合わせて見出した。これら 2 つのシグナルによって抗疲労耐性筋線維の形成が効率良く進むと考えられる。

### 肝細胞増殖因子（HGF）：

種々の細胞でその発現が知られている多機能性因子。衛星細胞における Sema3A の合成を誘導することを先行研究で見出した（Tatsumi *et al.* 2009, Do *et al.* 2011, Am. J. Physiol. Cell Physiol.; Do *et al.* 2012, Anim. Sci. J.）。筋損傷・再生においては、衛星細胞が分化・融合期に至る時期に M2 マクロファージ（代替的活性化マクロファージ）が浸潤し HGF を大量に合成・分泌することも明らかにしたので（Sakaguchi *et al.* 2014, Int. J. Biochem. Cell Biol.; Sawano *et al.* 2014, Anim. Sci. J.）、衛星細胞と M2 マクロファージとの時系列的・機能的連携が抗疲労性筋線維の形成に重要であると考えられる。

## ◆論文に関する情報

<掲載誌> **STEM CELLS**; Tissue-Specific Stem Cells section, Research Article,  
AlphaMed Press, Durham, NC, USA; Editor-in-Chief: Dr. Jan A. Nolte;  
2014 IF: 6.523; ISI Ranking 2015: 3/21 (CELL & TISSUE ENGINEERING)  
2017年2月1日 投稿；同年4月25日 掲載受理

<タイトル> Slow-Myofiber Commitment by Semaphorin 3A Secreted from Myogenic Stem Cells

<著者> Ryuichi Tatsumi,<sup>a,\*</sup> Takahiro Suzuki,<sup>a,b,c,\*</sup> Mai-Khoi Q. Do,<sup>a,\*</sup> Yuki Ohya,<sup>a,\*</sup> Judy E. Anderson,<sup>d</sup> Ayumi Shibata,<sup>a</sup> Mai Kawaguchi,<sup>a</sup> Shunpei Ohya,<sup>a</sup> Hideaki Ohtsubo,<sup>a</sup> Wataru Mizunoya,<sup>a</sup> Shoko Sawano,<sup>a</sup> Yusuke Komiya,<sup>a</sup> Riho Ichitsubo,<sup>a</sup> Koichi Ojima,<sup>e</sup> Shin-ichiro Nishimatsu,<sup>b</sup> Tsutomu Nohno,<sup>b</sup> Yutaka Ohsawa,<sup>f</sup> Yoshihide Sunada,<sup>f</sup> Mako Nakamura,<sup>g</sup> Mitsuhiro Furuse,<sup>a</sup> Yoshihide Ikeuchi,<sup>a</sup> Takanori Nishimura,<sup>c</sup> Takeshi Yagi,<sup>h</sup> Ronald E. Allen<sup>i</sup>

<sup>a</sup> Department of Animal and Marine Bioresource Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka, Japan;

<sup>b</sup> Department of Molecular and Developmental Biology, Kawasaki Medical School, Kurashiki, Okayama, Japan;

<sup>c</sup> Cell and Tissue Biology Laboratory, Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido, Japan;

<sup>d</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada;

<sup>e</sup> Muscle Biology Research Unit, Division of Animal Products Research, NARO Institute of Livestock and Grassland Science, Tsukuba, Ibaraki, Japan;

<sup>f</sup> Department of Neurology, Kawasaki Medical School, Kurashiki, Okayama, Japan;

<sup>g</sup> Graduate School of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka, Japan;

<sup>h</sup> KOKORO-Biology Group, Laboratories for Integrated Biology, Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, Suita, Osaka, Japan;

<sup>i</sup> The School of Animal and Comparative Biomedical Sciences, University of Arizona, Tucson, Arizona, USA

\* 等しい貢献をした共著者 4 名

#### ◆本研究グループの先行論文リスト(本研究に関連する論文)

1. Tatsumi, R., Sankoda, Y., Anderson, J. E., Sato, Y., Mizunoya, W., Shimizu, N., Suzuki, T., Yamada, M., Rhoads, R. P., Jr., Ikeuchi, Y., and Allen, R. E.  
Possible implication of satellite cells in regenerative motoneuritogenesis: HGF up-regulates neural chemorepellent Semaphorin 3A during myogenic differentiation.  
*American Journal of Physiology-Cell Physiology* 297, C238-C252 (2009).  
Editorial Focus に選定
2. Yamada, M., Tatsumi, R., Yamanouchi, K., Hosoyama, T., Shiratsuchi, S., Sato, A., Mizunoya, W., Ikeuchi, Y., Furuse, M., and Allen, R. E.  
High concentrations of HGF inhibit skeletal muscle satellite cell proliferation *in vitro* by inducing expression of myostatin: a possible mechanism for re-establishing satellite cell quiescence *in vivo*.  
*American Journal of Physiology-Cell Physiology* 298, C465-C476 (2010).  
Editorial Focus および The 50 Most-Frequently Read Articles に選定
3. Do, M.-K. Q., Sato, Y., Shimizu, N., Suzuki, T., Shono, J.-I., Mizunoya, W., Nakamura, M., Ikeuchi, Y., Anderson, J. E., and Tatsumi, R.  
Growth factor regulation of neural chemorepellent Semaphorin 3A expression in satellite cell cultures.  
*American Journal of Physiology-Cell Physiology* 301, C1270-C1279 (2011).  
Key Scientific Articles of Global Medical Discovery に選定; ScienceAlerts.com に掲載
4. Do, M.-K. Q., Suzuki, T., Gerelt, B., Sato, Y., Mizunoya, W., Nakamura, M., Ikeuchi, Y., Anderson, J. E., and Tatsumi, R.  
Time-coordinated prevalence of extracellular HGF, FGF2 and TGF- $\beta$ 3 in crush-injured skeletal muscle.  
*Animal Science Journal* 83, 712-717 (2012).  
Key Scientific Articles of Global Medical Discovery に選定; ScienceAlerts.com に掲載
5. Suzuki, T., Do, M.-K. Q., Sato, Y., Ojima, K., Hara, M., Mizunoya, W., Nakamura, M., Furuse, M., Ikeuchi, Y., Anderson, J. E. and Tatsumi, R.  
Comparative analysis of semaphorin 3A in soleus and EDL muscle satellite cells *in vitro* toward understanding its role in modulating myogenin expression.  
*International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 45, 476-482 (2013).
6. Sato, Y., Do, M.-K. Q., Suzuki, T., Ohtsubo, H., Mizunoya, W., Nakamura, M., Furuse, M., Ikeuchi, Y., and Tatsumi, R.  
Satellite cells produce neural chemorepellent semaphorin 3A upon muscle injury.

*Animal Science Journal* 84, 185-189 (2013).

ScienceAlerts.com に掲載

7. Shono, J.-I., Sakaguchi, S., Suzuki, T., Do, M.-K. Q., Mizunoya, W., Nakamura, M., Sato, Y., Furuse, M., Yamada, K., Ikeuchi, Y. and Tatsumi, R.  
Preliminary time-course study of antiinflammatory macrophage infiltration in crush-injured skeletal muscle.  
*Animal Science Journal* 84, 744-750 (2013).
8. Sakaguchi, S., Shono, J.-I., Suzuki, T., Sawano, S., Anderson, J. E. Do, M.-K. Q., Ohtsubo, H., Mizunoya, W., Sato, Y., Nakamura, M., Furuse, M., Yamada, K., Ikeuchi, Y., and Tatsumi, R.  
Implication of anti-inflammatory macrophages in regenerative moto-neuritogenesis: promotion of myoblast migration and neural chemorepellent semaphorin 3A expression in injured muscle.  
*International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 54, 272-285 (2014).
9. Sawano, S., Suzuki, T., Do, M.-K. Q., Ohtsubo, H., Mizunoya, W., Ikeuchi, Y., and Tatsumi, R.  
Supplementary immunocytochemistry of hepatocyte growth factor production in activated macrophages early in muscle regeneration.  
*Animal Science Journal* 85, 994-1000 (2014).
10. Tatsumi, R. Investigating muscle regeneration: the secret of Semaphorin 3A.  
*International Innovation* (published by ResearchMedia), 139, 89-91 (2014).  
<http://www.internationalinnovation.com/>
11. Mizunoya, W., Miyahara, H., Okamoto, S., Akahoshi, M., Suzuki, T., Do, M.-K. Q., Ohtsubo, H., Komiya, Y., Mu Lan, Waga, T., Iwata, A., Nakazato, K., Ikeuchi, Y., Anderson, J. E., and Tatsumi, R.  
Improvement of endurance based on muscle fiber-type composition by treatment with dietary apple polyphenols in rats.  
*PLoS ONE* 10(7), e0134303 (2015).
12. Do, M.-K. Q., Shimizu, N., Suzuki, T., Ohtsubo, H., Mizunoya, W., Nakamura, M., Sawano, S., Furuse, M., Ikeuchi, Y., Anderson, J. E., and Tatsumi, R.  
Transmembrane proteoglycans syndecan-2, 4, receptor candidates for the impact of HGF and FGF2 on semaphorin 3A expression in early-differentiated myoblasts.  
*Physiological Reports* 3, e12553 (2015).
13. Qahar, M., Takuma, Y., Mizunoya, W., Tatsumi, R., Ikeuchi, Y., and Nakamura, M.  
Semaphorin 3A promotes activation of Pax7, Myf5, and MyoD through inhibition of ephrin expression in activated satellite cells.  
*FEBS Open Bio* 6, 529-539 (2016).
14. Sawano, S., Komiya, Y., Ichitsubo, R., Ohkawa, Y., Nakamura, M., Tatsumi, R., Ikeuchi, Y., and Mizunoya, W.  
A one-step immunostaining method to visualize rodent muscle fiber type within a single specimen  
*PLoS ONE* 11, e0166080 (2016).
15. Mizunoya, W., Okamoto, S., Miyahara, H., Akahoshi, M., Suzuki, T., Do, M.-K. Q., Ohtsubo, H., Komiya, Y., Qahar, M., Waga, T., Nakazato, K., Ikeuchi, Y., Anderson, J. E., and Tatsumi, R.  
Fast-to-slow shift of muscle fiber-type composition by dietary apple polyphenols in rats: impact of the low-dose supplementation.  
*Animal Science Journal* 88, 489-499 (2017).
16. Anderson, J. E., Do, M.-K. Q., Daneshvar, N., Suzuki, T., Dort, J., Mizunoya, W., and Tatsumi, R.  
The role of semaphorin 3A in myogenic regeneration and the formation of functional neuromuscular junctions on new fibers.  
*Biological Reviews*, 印刷中 (2017).  
doi: 10.1111/brv.12286

#### ◆お問い合わせ先

<研究に関すること>

辰巳隆一 (TATSUMI Ryuichi)

九州大学 大学院農学研究院 資源生物科学部門 動物・海洋生物科学講座 畜産化学分野 准教授  
〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

電話 : 092-642-2950; FAX : 092-642-2951; Email : rtatsumi@agr.kyushu-u.ac.jp

<報道に関すること>

九州大学広報室

〒819-0395 福岡市西区元岡 744

電話 : 092-802-2130; FAX : 092-802-2139; Email : koho@jimu.kyushu-u.ac.jp