

Regenerative motoneuritogenesis promoted by axon-guidance cue semaphorin 3A secretion from resident myogenic stem cells

ド, マイ コイ クイ

<https://hdl.handle.net/2324/1500774>

出版情報：九州大学, 2014, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	ドクイマイコイ					
論文名	Regenerative motoneuritogenesis promoted by axon-guidance cue semaphorin 3A secretion from resident myogenic stem cells (骨格筋の再生において、筋幹細胞から分泌される神経軸索ガイダンス因子 semaphorin 3A によって運動神経末端の筋線維接着が制御されている)					
論文調査委員	主査	九州大学	職名	准教授	氏名	辰巳隆一
	副査	九州大学	職名	教授	氏名	池内義秀
	副査	九州大学	職名	教授	氏名	古瀬充宏
	副査	九州大学	職名	准教授	氏名	中村真子

論文審査の結果の要旨

運動神経支配の確立(運動神経末端の伸張と接着)は、筋の主体である筋線維の肥大・再生に不可欠である。また、食肉の品質(“キメ”の細かさや脂肪交雑の程度など)および機能性栄養成分の含量と深い関わりがある筋線維型も運動神経刺激の制御を受けることが知られている。従って、運動神経支配の確立を制御する分子機構を理解する意義は極めて大きく、食肉の生産量や品質の向上を目指す次世代型の食肉生産技術の開発に繋がると期待される。これまでに、骨肥大・再生の過程で活性化・増殖した筋幹細胞(衛星細胞)が分化初期に至ると、semaphorin 3A (Sema3A)と呼ばれる神経軸索ガイダンス因子を合成・分泌することを明らかにしたことから、衛星細胞が運動神経末端の伸張と筋線維への接着を能動的に制御する未知の分子機構が存在すると予想される。本研究では、これを解明することを目的として *in vitro*・*in vivo* 実験を行い、「衛星細胞における Sema3A 発現の調節機構」および「神経末端の伸張と接着に対する Sema3A の生理機能」を明らかにした。

具体的には、「衛星細胞における Sema3A 発現の調節機構」に関して、i) 成熟ラットの骨格筋から単離した衛星細胞の培養系を用いて、Sema3A の発現を誘導する細胞外リガンドが肝細胞増殖因子(HGF)および線維芽細胞増殖因子2 (FGF2)であること、ii) HGFとFGF2の細胞膜受容体が膜貫通型プロテオグリカン(シンデカン)-2, 4 であり、それぞれへパラン硫酸鎖とコンドロイチン硫酸鎖に結合することを明らかにした。iii) Sema3A の発現を阻害する因子としてトランスフォーミング増殖因子β3 (TGF-β3)を同定し、その効果はHGF・FGF2の1-2桁低い濃度で最大となることを明らかにした。HGF・FGF2存在下でもTGF-β3はSema3Aの発現を完全に抑制することから、発現誘導因子HGF・FGF2と抑制因子TGF-β3の濃度が上昇する時間差によってSema3Aの発現時期が調節されていると考えられた。事実、ラット後肢の下腿部筋を圧迫損傷させた筋再生モデルにおいて、衛星細胞周囲のHGF・FGF2濃度は損傷後2-8日目に増加するのに対し、TGF-β3の上昇は12日目以降であることを確認しており、このことは先のSema3A発現に関するHGF/FGF2/TGF-β3の時系列制御を支持している。

「神経末端の伸張と接着に対する Sema3A の生理機能」に関しては、まず、i) Sema3A 特異的 siRNA を分化初期の衛星細胞(筋芽細胞)にトランスフェクションし、Sema3A の発現を knockdown した状態で筋線維を形成させる培養系を作出した。ii) Sema3A 発現を抑制すると、神経末端の接着に不可欠なアセチルコリン受容体(nAChR)の発現およびその機能的凝集が阻害された。iii) アセチルコリン受容体の凝集に関与する細胞内因子 MuSK および rapsyn の発現には有意な変化がないことを見出した。これらの知見により、衛星細胞由来の Sema3A が運動神経末端の接着を制御していることが *in vitro* で実証された。Sema3A は忌避性のガイダンス因子であるので、衛星細胞から Sema3A が合成・分泌されている間は神経末端の伸張や接着は抑制される一方、筋線維上では nAChR の機能的凝集をはじめとする神経末端接着のための準備が進められていると予想された。この時系列制御モデルは、Sema3A により運動神経末端の接着時期と場所が調節されていること、即ち、衛星細胞が運動神経支配の確立に必須な役割を担っていることを提起するものである。このことは、衛星細胞特異的に Sema3A 発現をコンディショナルノックアウトしたマウス(Pax7CreER^{T2}-Sema3A^{fllox} マウス)を用いた *in vivo* 筋損傷・再生実験において、運動神経末端の異形成(過度の分枝と伸張)およびシナプス構造の未発達が観察されたことと符合した。

以上要するに本論文は、筋肥大・再生の過程で、HGF・FGF2・シグナリング受容体シンデカン-2, 4 依存的に衛星細胞が合成・分泌する神経軸索ガイダンス因子 Sema3A によって運動神経支配の確立が制御されていることをはじめ明らかにしたものである。受容体シンデカン-2, 4 の活性を食品成分で制御することで、筋肥大・再生や筋線維型組成を自在にコントロールできると期待される。従って、消費者の嗜好性に柔軟に対応しうる食肉生産科学や畜産食品科学をはじめ、筋疾患や加齢に伴う遅筋型筋線維の減少の予防・抑制、アスリートの運動能力の向上など、筋肉・食肉科学の発展に寄与する価値ある業績と認める。よって、本論文は博士(農学)の学位に値すると認める。