

京都大学	博士（医学）	氏名	堀 新 平
論文題目	PDH-mediated metabolic flow is critical for skeletal muscle stem cell differentiation and myotube formation during regeneration in mice （PDHを介する代謝の流れは、マウスの筋再生過程での骨格筋幹細胞の分化および筋管形成において重要である）		
（論文内容の要旨）			
<p>骨格筋の再生において主要な働きをする幹細胞である骨格筋衛星細胞 (skeletal muscle stem cell: SMSC) は、通常静止状態にあり転写因子 Pax7 を発現しているが、筋損傷などの際に活性化されると転写因子 myogenin を発現する筋細胞に分化し、再生筋を作る。同時に、更なる損傷に備えて幹細胞の供給源を維持するために自己複製も行う。正常酸素濃度で SMSC を培養すると、これらは分裂に伴い効率的に筋細胞へと分化する。それに対し、低酸素状態では自己複製が優位となり、未分化状態を維持しやすいことが知られる。しかし、このような SMSC の分化を制御する仕組みには未解明なところが大きい。本研究では、SMSC の分化を促進させる仕組みを探求した。</p> <p>まず SMSC を単離し培養する際に培地にピルビン酸を添加すると、SMSC の増殖と分化が促進されることを見出した。ピルビン酸は低酸素条件下でも効果を発揮し、Pax7 陽性未分化 SMSC を減少させ、myogenin 陽性筋細胞の産生を促進した。ピルビン酸は、解糖系代謝産物である乳酸の産生と、ピルビン酸デヒドロゲナーゼ (PDH) によってアセチル CoA を産生し TCA 回路から酸化的リン酸化 (TCA-OxPHOS) に至るミトコンドリアエネルギー産生経路との分岐点に位置する。この分岐点から TCA 回路への入り口は、PDH がピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ (PDK) によりリン酸化・不活性化されることにより閉じられ、一方ピルビン酸は、PDK 活性を阻害することが知られる。実際、SMSC では、PDK1 の発現が低酸素により顕著に誘導され、ピルビン酸添加により SMSC で発現する PDH の脱リン酸化が観察された。このことから、PDH 活性化を介する解糖系から TCA 回路へのエントリーが、SMSC の未分化性を解除し、分化を進展させるのではないかと考えた。</p> <p>そこで、SMSC 分化における PDH の機能を解析するため、Pax7 遺伝子プロモーターを利用した誘導型 Cre (Pax7-CreERT2) マウスと PDH-flox マウスをかけ合わせ、tamoxifen 依存的に SMSC 特異的に PDH 機能が阻害されるコンディショナルノックアウト (PDH-cKO) マウスを作成した。PDH 欠損 SMSC を培養すると、未分化細胞が増加し、筋細胞が減少した。続いてその細胞分裂パターンに注目したところ、PDH 欠損 SMSC では、細胞分裂に際して自己複製が優位となり分化細胞の産生が低下した。また、分化培地では筋管形成が低下することも見出された。さらに PDH 欠損 SMSC では有意に細胞増殖能が低下しており、PDH 機能が増殖・分化の両方に影響を与えることが示唆された。マウスの前脛骨筋の損傷実験では、PDH-cKO マウスにおいて筋再生は起こるものの、再生筋の筋径が有意に小さく、筋再生が不十分であることが見出された。慢性的に骨格筋の損傷と再生を繰り返すデュシェンヌ型筋ジストロフィー症(DMD)のモデルマウスでは、SMSC 特異的な PDH 欠損はその骨格筋の症状を悪化させた。</p> <p>最後に PDH 機能阻害が及ぼす、解糖系から TCA-OxPHOS に至る代謝の変化を検討した。PDH 欠損 SMSC では、確かにミトコンドリアの機能が低下する一方、乳酸産生が増加していることがわかり、PDH 機能阻害により解糖系が優位になることが示唆された。以上の結果より、PDH が介する解糖系から TCA 回路への代謝の変化が、SMSC の分化を促進する一つの要因であることが明らかとなった。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>骨格筋幹細胞 (skeletal muscle stem cell: SMSC) は通常静止状態にあるが、筋損傷などの際には筋細胞に分化し再生筋を作ると同時に自己複製も行う。申請者は SMSC の分化促進の仕組みを探求した。まず、培養の際にピルビン酸を添加すると SMSC の増殖と分化が促進された。ピルビン酸添加によりピルビン酸デヒドロゲナーゼ (PDH) が活性化されたことから、PDH による解糖系から TCA 回路へのエントリーが SMSC の細胞分化を進行させるのではないかと考えた。そこで SMSC 特異的に PDH 機能が阻害されるコンディショナルノックアウト (PDH-cKO) マウスを作成し、SMSC の増殖・分化・筋再生における PDH の役割を検討した。単離 PDH 欠損 SMSC では未分化細胞の増加と分化筋細胞の減少が見られ、自己複製が優位となり、筋管形成能が低下した。また筋損傷モデルを用いた実験により、正常な筋再生に PDH が必要であることが示された。PDH 欠損 SMSC ではミトコンドリア機能低下と乳酸産生増加がみられ解糖系優位になることも示唆された。以上より、PDH が介する解糖系から TCA 回路へのエントリーが SMSC の分化促進の一つの要因であることが明らかとなった。</p> <p>以上の研究は、SMSC の増殖と分化・筋再生に対する PDH を介する糖代謝制御の有用性・必要性を示したことにより基礎医学に貢献し、今後の骨格筋疾患の病態解明や治療に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 元年 9 月 2 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
--

要旨公開可能日： 年 月 日以降