

【助成 39-39】

培養皿の中で運動を再現する

- 培養骨格筋への電気刺激システムの開発を通じた運動応答遺伝子の解析

代表研究者 東北大学 加齢医学研究所 助教 久保 純

〔研究の概要〕

運動は個体レベルでは多方面へと影響を与えるため、実験動物を用いた個体レベルの研究では、純粋に筋肉のみに与えられる影響を解析することは不可能である。そこで本研究では、培養皿上にて形成した培養筋肉に対して、運動神経を模倣した電気刺激を与える装置を開発した。この装置は任意の刺激パターンをプログラムすることが可能である。生体の筋肉の運動に相当する電気刺激条件の探索を行った。速筋パターンと遅筋パターンとでは、異なる筋収縮の様子が観察された。培養条件の最適化も併せて行い、成熟した筋繊維に対して培養皿上で収縮運動を起こすことに成功した。この装置を用いて運動に応答する遺伝子の同定を行った。

〔研究経過および成果〕

サルコペニアとは加齢による骨格筋の萎縮のことであるが、実際には30歳前後から骨格筋量は減少し始め、70歳になるとピーク時の70%程度まで低下すると言われている。この骨格筋量の減少に対して、運動が効果的であることは感覚的、経験的には理解できるものの、どのようなメカニズムが骨格筋維持に働いているのかは未だ完全には分かっていない。

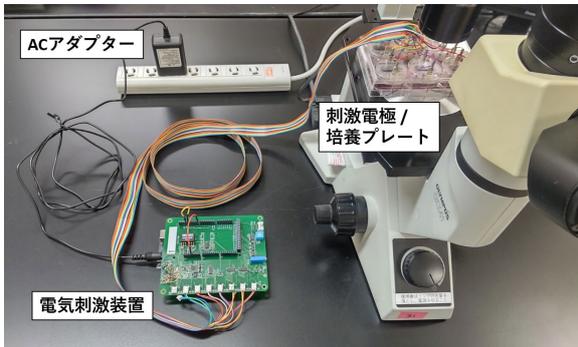
これまでに運動によって活性化されるシグナル伝達経路がいくつか同定されているが、運動時に骨格筋細胞内で起こる変化についてはまだまだ未解明な点が多く、効率的に解析を行っていく必要がある。一般的に運動を解析する方法として、マウスを用いた動物実験が行われている。しかし、動物実験に頼る方法では、実施に長期間を要し、労力、費用の面から効率が悪い。さらにはマウスとヒトの種の違いが存在しているため、マウスで得られた知見が必ずしもヒトでは当てはまらないという懸念もある。一方、動物実験を代替する実験系として、培養皿上に形成させた培

養筋肉に電気刺激を加え、強制的に収縮させる電気刺激装置が市販されている。しかし、培養骨格筋に電気刺激を加えた際の遺伝子発現などの応答が、生体の筋肉の運動への応答と一致しないことがあり、完全に運動を代替できる実験系とは言い難いという問題点がある。そこで本研究では培養皿上で形成させた培養筋肉に対し、効率的に電気刺激を加えることのできる装置の開発を行い、また生体の運動に近い刺激条件の探索を行った。さらに運動に応答する遺伝子について調べ、その機能解析も行った。

(1) 培養筋肉への電気刺激システムの改良

我々が開発した電気刺激装置の外観を図1に示す。AC100Vのコンセントから電源を取り、筋管を培養している培養皿に対して電気パルスを発生させる。電気パルスは電子基板により制御されており、任意の刺激パターンをプログラムすることが可能である。以上の装置については、特許出願済みである(特願2022-46893)。

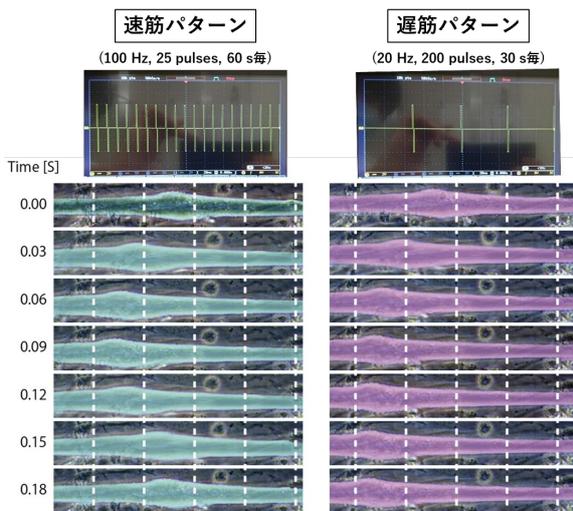
図1 電気刺激装置の外観



(2) 生体の運動に匹敵する電気刺激条件の探索

(1)で作製した電気刺激装置を使用して、生体の運動に相当する電気刺激条件の探索を行った。図2では、刺激パターンの一例として速筋パターンと遅筋パターンをそれぞれ示している。同一の筋管に速筋パターンと遅筋パターンでの刺激を行い、筋管の収縮の様子を観察した。速筋パターンでは力強い収縮の後、ただちに弛緩する様子が観察された。一方で、遅筋パターンでは絞り込むように収縮が起こり、刺激している間、収縮が継続していた。

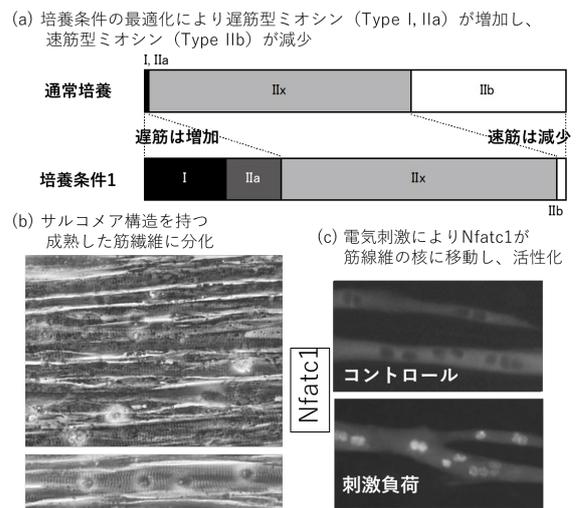
図2 刺激パターンの一例



次に培養筋管の培養条件の最適化を行った。培養筋管としてC2C12細胞を分化させたものがよく用いら

れているが、この筋管由来の培養筋管は未成熟であることが知られている。そこで、培養条件の最適化を行い、培養皿上で成熟した筋繊維を作り出した。図3に示すように、通常培養と比べて、培養条件1では、速筋繊維であるタイプIIBが減少し、遅筋繊維であるタイプIとタイプIIaが増加していた。また通常の筋管では観察されないサルコメア構造を確認することができた。このような成熟した筋管に対して、電気刺激を負荷したところ、転写因子の核移行などの変化が観察された。図3(c)では一例としてNfatc1の例を示す。

図3 成熟筋繊維への電気刺激



(3) 新規運動応答遺伝子の同定と機能解明

最後に、In vitroでの電気刺激を用いて同定した、電気刺激に応答する遺伝子が生体の運動においても応答するかどうかを調べた。マウスをトレッドミルで運動させ、運動後に後肢の筋肉を摘出し、細胞内タンパク質を回収した。電気刺激に応答する遺伝子のいくつかは生体の運動においても応答することが確認できた。現在、その機能解析を進めている。

[発表論文]

なし