



骨・運動器領域のトップランナーが一堂に会し、国内外の動向、次の展望についてグローバルレベルに議論！

**BONE
SUMMIT**
今、そして次へ！



メンバー（五十音順）

青木 吉嗣 Yoshitsugu Aoki

国立精神・神経医療研究センター神経研究所 遺伝子疾患治療研究部 部長

上住 聡芳 Akiyoshi Uezumi

九州大学生体防御医学研究所 細胞不均一性学分野 教授

二川 健 Takeshi Nikawa (司会)

徳島大学医学部 医科栄養学科 生体栄養学分野 教授

深田 宗一郎 So-ichiro Fukada

大阪大学大学院薬学研究科 再生適応学分野 教授

骨格筋制御メカニズム研究の最前線



二川 健 先生(司会)



青木 吉嗣 先生



上住 聡芳 先生



深田 宗一郎 先生

はじめに

二川(司会) 本日は、骨格筋の研究でご活躍の先生がたと一緒に、「骨格筋制御メカニズム研究の最前線」というテーマでディスカッションしたいと思っています。

近年、この分野は、解析技術の進歩とも相まって、サルコペニアなどの病態メカニズムの解明や診断・治療の開発が目覚ましく発展しています。今回この座談会企画のお話をいただいたとき、深田先生、青木先生、上住先生のことパッと頭に浮かび、声をかけさせていただきました。先生がたはそれぞれ研究室の運営を任されており、今後の骨格筋研究を先頭に立って引っ張っていかれる立場におられると思っています。皆様、ご快諾いただきまして本当にありがとうございます。

項目としては、骨格筋の増殖・分化・再生のメカニズムについての最近の知見、シングルセル解析・シングル核解析といった新たな筋研究解析法による新たな知見、サルコペニアや筋ジストロフィーなどの骨格筋疾患の病態・臨床の状況や治療法の展望について、自由かつ闊達な議論をお願いします。

最初にご研究の中心的なテーマを含めて自己紹介をお願いします。

まず、深田先生、お願いします。

深田 大阪大学大学院薬学研究科の深田です。このような機会に誘っていただきありがとうございます。私の専門は、骨格筋の細胞をつくる基となる筋サテライト細胞（筋衛星細胞）と呼ばれる幹細胞の研究です。よろしくお願いします。

二川 ありがとうございます。続いて、

青木先生、お願いします。

青木 国立精神・神経医療研究センター神経研究所の青木です。本日はお招きいただきありがとうございます。私はもともと脳神経内科医で、現在は筋ジストロフィー等の神経筋疾患を対象とした研究を進めています。よろしくお願いします。

二川 ありがとうございます。続きまして、上住先生、お願いします。

上住 九州大学生体防御医学研究所の上住です。今日はこのような機会をいただき、ありがとうございます。私は骨格筋の再生や老化を専門としていまして、骨格筋の中にある、非骨格筋細胞である間葉系前駆細胞の機能に注目しながら、その再生や老化について研究しています。よろしくお願いします。

1. 骨格筋の増殖・分化や再生の制御メカニズムについての最近の知見

二川 まず最初に、先生がたの研究分野における、骨格筋の増殖、分化、再生の制御メカニズムの研究動向やトピックスなどについて、ざっくりばらんにお話しいただければと思います。現在、一番盛んに行われているのは筋再生といった筋サテライト細胞の制御であると思いますので、深田先生からその知見について提案していただけると幸いです。

●筋サテライト細胞のアクティベーションを促す因子について

深田 この10年ほどの間、筋サテライト細胞に関するトピックは、骨格筋の中で筋サテライト細胞がどのようにして維持されるかといった静止期に関することだったと思います。それについてはいろいろ分かってきたので、ここ5年ほどは、静的状態からいかにして活性化状態になるかということがトピックになってきていると思います。私たちも骨格筋から筋サテライト細胞を取ってきて遺伝子とかを見てきた中で、筋サテラ

イト細胞は、筋線維から剥がすだけで活性化状態になるプログラムがすぐに作動することが分かってきました。また、スタンフォード・メディカル・センターのThomas Randoたちが報告したように¹⁾、ある骨格筋を壊したり何か障害が起こったりすると障害が起こっていない骨格筋の筋サテライト細胞の中で何かが起きたような状態になったりすることも分かっています。そうした知見があって、現在では、いかに静止期から活性化状態に変化するかという分野を研究しているが多いです。

増殖因子に関して、*in vitro*ではHGF (Hepatocyte Growth Factor), Basic FGF (Fibroblast Growth Factor)など多くが分かっていますが、*in vivo*では、例えばHGFの受容体であるc-Metを筋サテライト細胞だけ無くして再生誘導してもほとんど重篤な表現型は出ません。また、ドイツのCarmen Birchmeierはc-Metの変異と、もう一個別のCxCR4というシグナルを欠損すると筋サテライト細胞

にシビアな異常が出る²⁾と報告していますが、それは筋サテライト細胞の細胞死に対する抵抗性のシグナルを与えているのであって、筋サテライト細胞の増殖を誘導するものではありません。STAT3のようなシグナル系の欠損では結構シビアな表現型が出るので、STAT3を動かす因子が重要だと思いますが、1つの分子かどうかはわかりません。(図1)

二川 深田先生は、静的状態から活性化状態になるときに、特に老化との兼ね合いで、筋サテライト細胞を見られていると思いますが、老化のメカニズムに迫るような筋サテライト細胞の役割について知見はおありでしょうか。

深田 上住先生がマウスで示されたようにカルシトニン受容体の発現低下は加齢性の骨格筋幹細胞減少に寄与しますし、ヒトの筋サテライト細胞に発現しているカルシトニン受容体は高齢の人では発現が低下しますので、ある維持シグナルが老化のステージになると低下して骨格筋における筋サテライト細胞の数の減

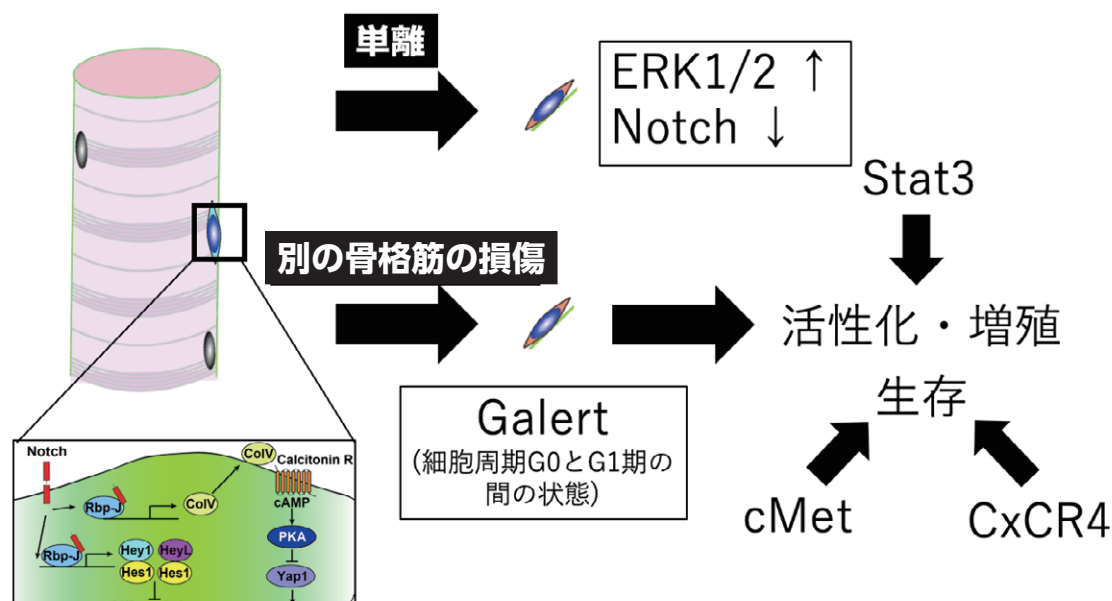


図1 筋サテライト細胞のアクティベーションを促す因子

複数のシグナル経路により静止期 (G0期) で維持されている筋サテライト細胞は、筋線維から剥がすだけで、ERK1/2の活性化およびNotchシグナルの低下が起きる。また、別の骨格筋が損傷をうけても、血液を介して、G0期とG1期の中間の状態-Galert-となる。Galert状態になるとG0期よりも速やかに細胞周期に入ることができる。実質的な筋サテライト細胞の増殖にはStat3が重要であり、c-Met/CxCR4は増殖中の筋サテライト細胞の生存シグナルとして機能している。(深田宗一郎先生ご提供)

少につながるということは十分に考えられます。おそらく、骨格筋の中での特異性という意味では今でもカルシトニン受容体が最も静止期の筋サテライト細胞に特異的な分子ではあると思います。他に、筋サテライト細胞の維持に働くNotch系シグナルが老化サテライト細胞内で減少すると言っている人もいますが、その辺のコンセンサスはあまり得られていません。

二川 そういう筋サテライト細胞独自のシグナルを制御することによって、フレイルあるいはサルコペニアといった治療薬の開発などにつながりそうですか。

深田 筋サテライト細胞は骨格筋の再生、肥大、成長の3つには間違いなく必要です。しかし、生体マウスで筋サテライト細胞をなくして老化のような症状が出てくるかと言えば、全く出ないという論文もありますし、少し表現型が出るという論文もあります。どちらにしても、筋サテライト細胞を無くしても、上住先

生が示された筋間質の間葉系前駆細胞欠損までの強い表現型はでないですね³⁾。

まだ論文になっていませんが、骨格筋を構成する多核細胞である筋線維の核の数が少ないと老化が促進するという報告があります。筋サテライト細胞は筋線維核を供給できる唯一の細胞なので、そういう意味では、筋サテライト細胞がなければ結果的に筋線維の核が少なくなり老化する、それゆえ筋サテライト細胞を使って筋線維の核を増やすことができれば、老化に対する抵抗性を獲得できる可能性はあります。しかし、筋サテライト細胞の数を増やしたからといって老化が改善するというロジックにはならないのです。眠っていて働かない筋サテライト細胞を増やしてもあまり老化に対する治療にはならないかなと思います。大事なものは、筋サテライト細胞を使って、筋線維の核を増やすことです。そのためにも、先ほどの筋サテライト細胞の増殖を制御

する因子の研究は重要になってきます。一方で、老化すると骨格筋の再生能が落ちるので筋サテライト細胞の数を増やすことは骨格筋の細胞が壊れる場合にはある程度意味がありますが、骨格筋の細胞はどんどん日常的に入れ替わりが起きている組織ではないので、必ずしも治療に繋がらないのです。

二川 なるほど。今のお話ですと、筋サテライト細胞だけでは老化のメカニズムの全体像を捉えるのにはまだ難しいと？

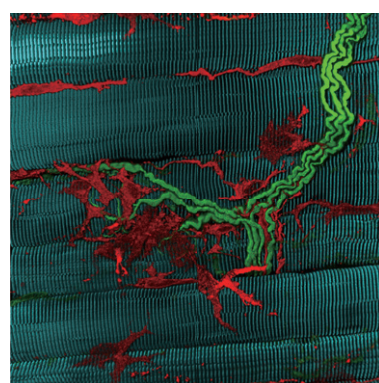
深田 もちろんそうです。それは老化に限らず、発生も再生も含めて全てについて言えます。もちろん実質細胞を作る上では筋サテライト細胞が重要な働きをしているのは間違いありませんが、上住先生が研究されている間葉系前駆細胞が非常に重要な働きをしている場合もあります。

二川 ありがとうございます。

2. 間葉系前駆細胞研究の可能性について

二川 それでは、間葉系前駆細胞を研究しておられる上住先生にうかがいたいと思います。上住先生の研究分野における最近の進歩についてご紹介いただけますでしょうか。

上住 筋サテライト細胞は1960年代に発見されてからの長い研究の歴史があるのに比して、間葉系前駆細胞は私とカナダのFabio M.V. Rossiらのグループが2010年に報告しましたのでまだ10余年です^{4), 5)}。間葉系前駆細胞は筋の脂肪化や線維化の起源となり筋の病的な症状に関与する細胞ですので、そのような研究はかなり進んできた一方で、生理的役割についてはよく分かっていませんでした。最近の技術進歩によってこの2～3年でようやく間葉系前駆細胞が正常状態の筋組織を維持する上で必須の役割をしている(図2)ことや、老化のときにこの細胞が変化してサルコペニア様の症状が出てくることなどがわかってきました。ですので、この細胞の生理的な状態での役割



間葉系前駆細胞 運動神経 筋線維

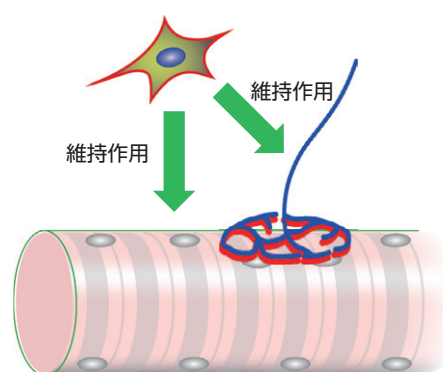


図2 間葉系前駆細胞は筋の維持に必須の役割を果たす

間質の間葉系前駆細胞は筋線維や神経系に作用し、筋組織の維持に必須の働きをしている。間葉系前駆細胞欠損マウスでは、筋萎縮や神経筋接合部の変性が進み早死にする。(上住聡芳先生ご提供)

について研究を深めていくことが今、私がいる領域での大きな方向性だと思います。

最近、シングルセル解析という、1個1個の細胞を解析する技術が創出され、一言で間葉系前駆細胞といってもいろいろあることが分かってきているので、詳

細な subpopulation heterogeneity (細胞集団の不均一性) を解析していくことで、より厳密な機能がこれから分かってくると思いますし、私はそれをやらなければならないと思っているところです。

二川 ありがとうございます。間葉系

前駆細胞には何種類もあるということでしたが、最初に上住先生たちが発見されたのはPDGFR α 陽性細胞^[後注1]で⁴⁾、その後いくつか発見されていますが、間葉系前駆細胞は何種類くらいあるのでしょうか。

上住 臓器ごとの間葉系前駆細胞を比較すると、臓器の種類だけ分かれると思います。

二川 骨格筋の間葉系前駆細胞に関してはいかがですか。

上住 どこまで解析を深めるかによります。他臓器と比較したとき、骨格筋の間葉系前駆細胞は他臓器のものとの違いの方が際立つので、骨格筋の間葉系前駆細胞だけで深く解析していくとさらに分かります。分かれ方は解析法によりますが、大きく2つに分かれるとするグループもあれば、9種類ぐらいに分かれるという報告もあります。私たちの研究では5種類程に分かれることが見えてきています。繰り返しになりますが、どこまで解像度を上げるかによりますね。

今のシングルセル解析は遺伝子発現のプロファイルによって細胞を種類分けするのですが、シングルセル解析からわかることはそこ止まりです。種類分けされた細胞集団がそれぞれ生体内でどういった生物学的な意義を持っているかということまではまだ詰められていません。シングルセル解析の次のステージで詰めていかなければなりません。どの種類の間葉系前駆細胞が生物学的に意味があるのか分かってくることで、何種類あるのかという点についてコンセンサスが得られていくものだと思います。免疫系でヘルパー

T細胞、細胞性T細胞やレギュラトリート細胞のように、生体内での機能・役割に基づいて細胞subpopulation（集団）が特徴づけられていくと、何種類という結論が得られるのではないかなと思います。今はまだその前の段階です。

●サルコペニアと間葉系前駆細胞の関連

二川 深田先生は、筋サテライト細胞だけを制御してもなかなかサルコペニアのメカニズムの全体像は捉えにくいということで間葉系前駆細胞の重要性を言われましたが、間葉系前駆細胞はサルコペニアにどれぐらい関与されているとお考えですか。

上住 非常に重要な働きをしていると思っています。マウスに間葉系前駆細胞を無くす遺伝子操作をすると、骨格筋が非常に痩せて3ヵ月程で死んでしまうのです³⁾。つまり、間葉系前駆細胞が無いと骨格筋を維持できないしマウスは生きていけないので、これは非常に劇的な表現型だと思っています。間葉系前駆細胞がサルコペニアの上流に関わってくるのは間違いないと思っていますが、ただ、間葉系前駆細胞自身が何かを作り出すということはあまり無く、他の細胞に働きかけて組織なり生体に調和をもたらしているというのが本当の姿です。結局、骨格筋が最終的に痩せたり個体が死んでしまったことは、直接的な影響もあるかもしれませんが、他に影響が及んで出てきている表現型だとも思っています。そういう意味で重要な細胞であることは間違いありませんが、どれくらいか数値化するとなるとなかなか難しいですね。

●間葉系前駆細胞が良い働きをする条件

二川 筋サテライト細胞と間葉系前駆細胞はいろいろ関連しながら働いていると思うのですが、ある条件下では間葉系前駆細胞が非常に良い働きをするけれども、ある条件下では悪いことをするというを上住先生は言われています。その条件について、どこまで分かっているのでしょうか。例えば、線維化する条件、脂肪化する条件、変性する条件といったようなものは分かっているのでしょうか。

上住 分かってくつつあります。先ほどの、シングルセル解析による研究とも関わってくるのですが、脂肪化しやすい間葉系前駆細胞とそうでない間葉系前駆細胞に分かれるという報告も出ています⁶⁾。ただ、一方だけが脂肪分化し、他方が脂肪分化しないというほどの切れ味の良い結果ではないです。細胞のsubpopulationによってどこまで厳密に分けられるかは、もう少し詰めていかなければならないと私は思っています。

二川 そうした制御機構が分かれば、筋変性の予防や治療に近づけることができるのでしょうか。

上住 そうですね。シングルセル解析の結果に基づき、細胞のsubpopulationの病的・生理的機能の理解が進めば、疾患において本当に問題となるsubpopulationが分かってくると期待でき、それは予防や治療法開発を行う上で重要な標的になってくると思います。

二川 ありがとうございます。

3. 筋ジストロフィーの病態解明の現状

二川 次に、筋変性疾患についての研究をされ、筋ジストロフィーの治療という臨床に一番近いところにおられる青木先生にうかがいます。筋サテライト細胞や間葉系前駆細胞の制御に関する研究が進歩している現在、そうした基礎研究の成果は臨床にどのように生かされている

でしょうか。筋ジストロフィーは骨格筋細胞のジストロフィン遺伝子の欠損が原因であるということが分かっていますが、筋サテライト細胞や間葉系前駆細胞の研究が筋ジストロフィーの病態解明などにも役立っていますでしょうか。

青木 もちろん役立っています。私は

医学研究者なのでどうしても疾患の観点から老化を見ているのですが、私たちが着目しているものは、疾患と老化に共通する分子病態です。特に、疾患骨格筋および老化骨格筋では、Type II fiber（速筋線維）がType I fiber（遅筋線維）と比べて顕著に萎縮することに着目して、その背

景となるメカニズム研究を行っています。

●筋細胞のミトコンドリア (Ndufs8) が重要

青木 中でも、数日前に当研究部からプレスリリースした「高齢骨格筋で筋幹細胞の数が減少するメカニズムを解明～NAD⁺ (ニコチンアミドジヌクレオチド) 添加によるミトコンドリア機能活性化が筋萎縮予防の鍵～」(https://www.ncnp.go.jp/topics/2023/20231019p.html) について紹介します。これは、マウスを対象に、様々な骨格筋のサテライト細胞において先ほど深田先生が言われた静止期にあるサテライト細胞、いわゆる reserve cell (予備細胞) が、加齢とともにどれだけ機能維持されていくかという観察から始まりました。骨格筋の中でも、ヒラメ筋では比較的サテライト細胞数が保たれていることを見出し、その原因が何かを研究した成果です。

まず、筋サテライト細胞の中のミトコンドリアの機能の重要性が分かりました。特にミトコンドリア複合体を形成する Ndufs8 (NADH:ubiquinone oxidoreductase core subunit S8) ^[後注2] の発現レベルが、筋サテライト細胞数の維持に重要です。ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD⁺) といいますと、今井眞一郎先生らから「NADワールド」といった概念が提唱されています。当研究部の本橋紀夫らは、NAD⁺の前駆体であるニコチンアミドモノヌクレオチド投与によりサーチュイン活性を上昇させアセチル化p53量を減少させることが、ミトコンドリア機能回復と筋サテライト細胞数の維持に貢献することを報告しました⁷⁾。(図3)

この研究成果から単純に、加齢に伴う筋や筋線維、筋サテライト細胞の変容について理解することはできないと思いますが、もしかしたら既存のサプリメントのようなものを使ってある程度、抗加齢に働くようなアプローチができるのではないか、そうした治療可能性を示した研究であると考えています。

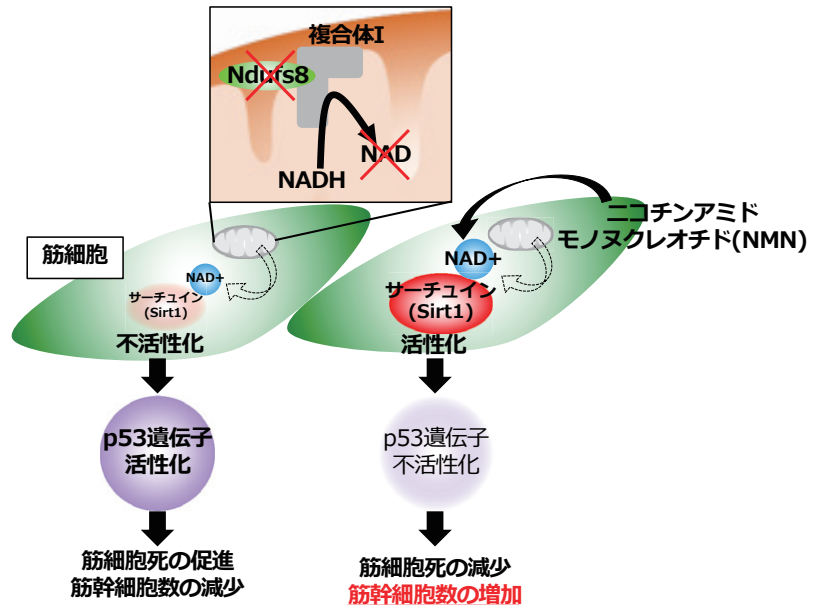


図3 NMNによるサーチュイン活性化は筋幹細胞の産生を促進する

老化した筋細胞ではミトコンドリア複合体Iを形成するNdufs8の発現が低下する。その結果、NAD⁺産生の低下とサーチュインの不活性化が生じ、筋幹細胞数の減少につながる。NAD⁺の前駆体であるニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) を添加すると、サーチュインは活性化し、筋幹細胞の増加につながることから、NMN投与は筋幹細胞の維持に有効である可能性が考えられる。(本橋紀夫博士ご提供)

二川 なるほど。筋細胞の老化抑制にはミトコンドリアが大事だということですか。

青木 そうです。私たちは他にも筋ジストロフィーマウスを使って骨格筋を対象としたプロテオミクス解析をたくさん行って、少なくとも筋ジストロフィーが欠損するタイプの筋ジストロフィーマウスではミトコンドリア関連の代謝関連酵素と全てのcomplexの発現レベルが一様になが下がることを確認しています。自験例と既報告から、筋ジストロフィーの骨格筋では筋ジストロフィー欠損により代謝異常が起きていると考えられます。中でも、私たちはミトコンドリアの代謝機能改善による、筋ジストロフィーの疾患修飾治療研究を、幾つかのアプローチで行っているところなんです。少なくとも、筋サテライト細胞のミトコンドリア代謝機能の回復は、老化に対する治療法になり得るのではないかと考えています。

●サルコペニアに対する応用

青木 ただ、あくまでこれは根本治療ではなく、症状の緩和を目的とする治療

法です。サルコペニアに当てはめれば、筋サテライト細胞でNdufs8の発現レベルがあまり高くないようなケースでの抗老化、あるいは骨格筋における reserve cell (予備細胞) の数を維持することに役に立つかもしれないと考えています。

二川 タイトルにある「筋幹細胞」は筋サテライト細胞のことと考えればよろしいですか。

青木 はい。筋サテライト細胞、特に静止期の細胞のことを言っているつもりです。

二川 筋サテライト細胞か間葉系の細胞かは言えないですが、サルコペニアでも筋のミトコンドリアの機能がかなり重要な働きをしているということですね。

青木 ミトコンドリアの形態や数は代謝機能を反映すると考えられています。骨格筋の筋線維では、加齢に伴いミトコンドリアの形態や数は変化し、次第に融合してかなり大きなミトコンドリアになることが知られています。この変化は、加齢に対する代償的な変化でもあり得ると思われ、ミトコンドリアは一つの治療ターゲットと考えられます。ただし、既

に老化したミトコンドリア機能を薬剤等により過剰に高めても、骨格筋機能の回復に必ずしもつながらないとのデータも

あります。もしかしたら、老化したミトコンドリア機能を少しだけ高めてあげることは、過剰に高めるよりも抗老化に働

く可能性はあるかなと思います。

二川 ありがとうございます。

4. 技術革新の活用について：シングルセル解析，シングル核解析

二川 先生がたが研究を進められておられる中で、技術的な革新が役立っているかと思います。特に最近の目覚ましい進歩としては、シングルセル解析（シングルセル遺伝子発現解析）、シングル核解析（シングル核遺伝子発現解析）があります。それらは先生がたのご研究でどのような新しい知見の獲得につながったのかご紹介いただくことはできますか。深田先生、いかがですか。

●シングルセル解析活用の現況

深田 以前は、筋サテライト細胞でも何十匹ものマウスを使って比較したものです。たくさん使える骨格筋だったら良いのですが、局所的にオペをするような骨格筋であればほとんど細胞が取れないので解析するための細胞の確保が難しかったのですが、そういうことが一遍にできるという意味で我々もシングルセル解析を用いています。シングルセル解析のおかげで得られる情報が格段に増えたことは確かですし、細胞間の相互作用によって遺伝子発現を推定するインタラクトーム解析もすぐにできます。しかし、それによって何かすごく新しいことが分かるかという点、どうでしょうか。先生がたもご存じのように、シングルセル解析で新しい細胞集団が見つかったという論文がたくさん出ていますが、本当かな？というものもありますよね。

筋サテライト細胞の領域では、2019年のシングルセル解析で、インテグリン $\alpha 7$ 陽性VCAM陰性細胞が同定されました⁸⁾。インテグリン $\alpha 7$ はもともと筋原細胞（Myogenic cell）に特異的なインテグリンで、筋サテライト細胞はインテグリン $\alpha 7$ 陽性VCAM陽性なので、この細胞は筋サテライト細胞とは別の新しい筋原性の細胞集団となります。我々も別の

目的で解析すると実際にそういう細胞集団がありましたが、それが筋サテライト細胞とどのような関係があるのかはよく分からないですし、アルゴリズム的にたまたま分けられたのかもしれない。本当にそれが正しいかどうかは確かめる必要があるでしょう。あくまでも1つの便利なツールとして捉え、全部鵜呑みにするのではなく、さらに別の検討方法で確かめることが大事だと思います。

二川 ありがとうございます。

上住先生はいかがですか。

上住 私も同じような印象を持っています。これまでの方法では途方もない時間とマンパワーを要したことが、今はキットとか実験系がプラットフォームとしてできているので、実験としては本当に1日あれば終わり、あとはシーケンスだけですから、かなりの情報を早く得られるというように、非常にパワフルな実験系ではあると思います。ただ、深田先生がおっしゃったように、得られる情報を全て鵜呑みにしていいか。そこは多分これまでの実験と同じで、注意すべき点です。

シングルセル解析で検出されたデータであれば、ある程度良いと思いますが、検出されないから発現していないかという点、それは違います。我々の場合は、もともとある細胞集団を染色・標識できることが分かっているシングルセル解析を行いました。古典的な染色やin situハイブリダイゼーションは見ている標的は一つですが、実は、シングルセルレベルで空間的な情報なども得ています。シングルセル解析は多くの情報を一気に得るという利点はあると思いますが、従来の染色のような方法も合わせて丁寧に行い、結果を解釈し

ていくことが重要です。ですから、いろいろな点に注意しながら活用しなければならないと思います。

シングルセル解析によって一気にいろいろな情報がざっくりと得られますが、その中から本当に意味があるものまでたどり着けるかどうかはわかりません。今まではざっくり広く得ることすら大変だったので、情報の広さ多さを見せつけるような報告が多く出てきましたが、これからは丁寧に生物学的・生理学的な意義を詰めていかなければならない段階に進むのではないかと思います。

二川 ありがとうございます。

ちなみに、シングルセル解析ではなく、例えば普通のホモジネート、あるいはファイバーごとの解析では駄目なのですか。変な質問をして申し訳ありませんが。

上住 骨格筋の場合、ファイバーごとにシングルファイバー解析を行うのは多分とても難しいことです。シングルファイバーにばらして1本1本、例えば100個のチューブに分注して解析したとしても、たかだか100です。千単位や万単位の筋線維を1個ずつ解析することは人間のパワーとして無理です。

二川 Sandriらのグループが、ファイバーをばらばらにして分けて次世代シーケンスにかけて興味深い知見を報告⁹⁾されていますが？

上住 シングルファイバーに分けて1個1個のファイバーの遺伝子発現やプロテオームを解析することはできますが、そのスループットはおそらく数千とか数万は行っていないと思います。それは無理でしょう。シングルセル解析では数千、数万の細胞集団や細胞を、それぞれどういう遺伝子発現をしているのか、どういう細胞なのか、それら細胞間の相互作用はどうなのか素早く解析できます。筋線

維の場合は特殊でとても大変なので核に
するという方法があります。核にすると1
つの筋線維の中の個々の核まで分かるの
です。これらはシングル核解析ならではの
パワフルな効用と思います。

二川 細かくて申し訳ありませんが、
核からサンプルを調整するよりファイ
バーからの方がより生理的な状態に近い
かなと思ったりしますが？

上住 いや、逆です。核にするとき
は一気にホモジネートしてしまうので。核
は比較的丈夫なので、凍結筋組織からも
核を取って解析できるところはシングル
核解析の利点です。凍結筋組織について
は青木先生が十八番と思いますが、本当
に迅速に凍結させないと骨格筋が駄目に
なってしまふことは周知の通りです。で
すので、サンプルの持つ生物学的な情報
は非常に生体内に近いと考えられます。
一方、シングルファイバーではすごく時
間をかけて処理をして1個1個の筋線維に
ばらしていきますが、その間にもいろい
ろな変化が起こっているはずですから、
瞬間に凍らせてそこから核を取った方が
より生体に近い情報が得られると思いま
す。その一方で、核にしてしまうと得ら
れるRNAは非常に減りますから、解析
深度としては浅くなります。したがって、
あらゆる面で一番良い方法というものは
生物の実験にはなく、それぞれが注目す
るポイントで優先すべきことに適した方
法があればそれで、別のポイントであれ
ば別の方法で行うというように技の組合
せになっていくと思います。

●筋ジストロフィーの病態理解に一投石

二川 先般の日本筋学会学術集会
(2023年8月)で国立精神・神経医療研究
センターの林先生から、筋ジストロフィー
の患者さんをタイムスケールでシングル
核解析した内容について発表がありまし
た。シングルセル解析をしたことによっ
て、筋ジストロフィーに関して何か新し
い知見は得られそうなのですか。そこは
まだ発表に至っていませんか？

青木 林先生の研究ですので私がコメ

ントする立場ではないのですが、林先生
は特にデュシェンヌ型筋ジストロフィー
の骨格筋の核と野生型のものを比較した
結果、デュシェンヌ型筋ジストロフィー
の骨格筋の核で起こる変化を、新たに捉
えたと言っておられました。

深田 私も同意見です。林先生のデー
タには興味深い点がたくさんありました。

上住 私も深田先生と一緒にです。すご
く示唆に富んだ結果だと思いました。こ
の場で詳細は述べられませんが、全体を
網羅的に捉えることで、これまで見えて
こなかったことが見えるようになってき
ました。これはまさにシングルセル(核)
解析の“力”と言えるでしょう。そして、
そのような新しい知見を我々自身の研究
に応用することができることになるわけ
です。より大きなインパクトを与え
ることになるかもしれません。

●AIを利用した骨格筋研究について

二川 先生がたの新しい発見に接する
ときの問題意識、発想、インスピレシ
ョンのようなものに感服します。近年、医
学の分野でもAI(人工知能)の開発が著
しいです。そこで、AIをシングルセル
解析で得たデータを機械学習させるプロ
グラムにかけたらさらに新しいことがわ
かってくるものでしょうか。先生がたも
AIを使っておられると思いますが、その
あたりについてはいかがお感じですか？

深田 今はまだこちら側がある知見を
分かった上でAIに指示しているの、そ
れを超えてということはどうなのでしょう
うか。人間が気付かないようなものに気
付いたり、生み出したりということはま
だ……。ChatGPTのような指令でもそ
うではないですかね。診断にはいいかも
しれませんが、それもある程度学習する
材料があつての話で、何も無いような状
態からはどうですかね。あまり詳しくな
いので分かりませんが。

上住 私もAIに詳しいわけではないで
すが、AIでは教師となる情報をいかにた
くさんたたき込むかということが重要に
なるので、変な情報をいっぱい入れたら

間違った答えを返してくる可能性があり
ますよね。作業としてAIにやらせること
はできると思いますが、人が作業として
やっていて絶対に気づかないものをAIが
見つけるようになるかという、それは
また違うのではないかなと思います。効
率化という意味ではできますが、効率化
であれば別にAIを使わなくても他にも方
法はあります。

AIの話から離れるかもしれませんが、
それぞれの研究者が人生をかけて研究を
してきて、自分の興味とか面白いと思う
ことがあるから、他人が見ない視点で見
られたりすると思います。それが研究者
の生き残る道ではないかなと思っていま
すから、そこまでAIに乗っ取られたら、
世界中の研究者は用済みになってくる
と思います。AIはたくさん得た情報の中か
ら聞かれた内容の答えをうまく返すこと
が得意なのでしょうけれども、自分から
何かを面白いと思うようなことはできな
いと思いますので、そこに人間が行う研
究の強みがあると思います。その人の人
生で蓄積してきたもののの中に、独自に面
白かったり興味を持ったりすることがエ
ネルギーに変わっていくと思いますし、
それはどこまで行ってもAIにはでき
ないのではないかなと思います。

深田 上住先生が言われたように、与
えられた情報の全てが正しければいいの
ですが、そうはいかないですね。上住先
生が間葉系前駆細胞を見つけるまでには、
筋サテライト細胞が脂肪になるというよ
うな間違った情報はいっぱいありました。
我々の研究においては、それは本当かな
と疑うところから始まります。この定説
は違うんじゃないかと疑うような何かし
らのデータを持ったところから研究の
始まりです。

二川 そうですね。深田先生、上住先
生のお言葉を聞いて嬉しく思いました。
正直、今すごい勢いでAIも解析技術も進
歩していったら、ともすれば研究者が要ら
ないような時代が来るのかなという危機
を抱いていましたから。

上住 確実にAIに任せた方が良いでしょう

なものも出てきているので使いようだと思います。AIは駄目だから使わないというのも絶対に駄目で、うまく使っていく。

多分AIが人の代わりに研究をやるほどにはならないと思いますが、もしそうなったら我々は違う道や就職先を探さなければ

ならないですが(笑)、多分我々が生きている間は大丈夫だとは思っています。

5. 今後の展望・目標について

二川 先生がたは骨格筋研究を進めておられる中で、退職するまでに、あるいは研究生活が終わるまでにここまでは絶対にやりたいという考え方をお持ちかと思っています。その状況とか最終的な目標についておうかがいできたらと思います。いかがですか、深田先生。

●人工的に筋サテライト細胞を増やせたら

深田 いくつかあります。1つは、長年筋サテライト細胞の基礎研究をしてきた延長線上で何か応用したいと思っています。とくに興味があるのは、先ほどお話ししたように、骨格筋を壊したり運動したりすると筋サテライト細胞が増えますが、筋サテライト細胞の静止期を研究してきた者としては、運動も損傷もない状態で筋サテライト細胞を人工的に増やしたいと思っています。最終的に人工的に増やすことができれば、例えば遺伝子治療で筋サテライト細胞に遺伝子を入れる際の効率も上がるでしょうし、人工的に増殖させた筋サテライト細胞はそのまま筋線維と融合するので筋線維の核を人工的に増やすことも可能になります。それがどれだけ治療効果があるかどうかは別として、人工的に筋サテライト細胞を増やすことはおそらく誰も手がけていないので、挑戦したいと思います。

2つ目は、なぜ筋ジストロフィーが進行性の病態をとるのかを明らかにすることです。一般的には、筋サテライト細胞の疲弊による筋再生能力の低下と書かれています。しかし、よくよく見ると、そんな証拠は1つもないのです。一方で、我々は筋サテライト細胞は全く正常なはずなのに、どんどん再生能力が落ちるようなモデルマウスを持っています。このマウスの解析により、骨格筋の再生や筋サテライト細胞の能力を阻害するような

ものが見つければ、筋ジストロフィーの治療法になると期待できます。その時々自分の興味を基に動きたい自分ですから明日何に興味を持つかは分かりませんが、今挙げた2つはずっと取り組んできたこともあるので何とか形にはしたいと思っています。

3つ目として、筋線維核同士のコミュニケーションが面白いなとは思っています。特に元々の存在する筋線維核と、肥大時にできる筋サテライト細胞由来の新しい筋線維核同士のコミュニケーションに特に興味があります。肥大時の筋線維核膜は、通常の核膜より大きなタンパク質を通過できるということがあるので、筋サテライト細胞に何か遺伝子を導入することでその影響を隣接する筋線維核にも到達させ、オセロのように筋サテライト細胞の核に挟まれた元々の筋線維核の性質を若返らせたり、直したりできたらいいですね。明日は別のことに興味を持つかも知れませんが、これも長年にわたり研究してきて持つに至った考えです。少なくとも自分が興味を持っていることでなければ、一緒にやっている学生にも面白さは伝わらないと思いますから。

二川 ありがとうございます。上住先生はいかがですか。

●「間葉系前駆細胞ワールド」の確立を

上住 私は間葉系前駆細胞を発見してその研究を進め、組織としては骨格筋をずっと標的にしてきたので、骨格筋と間葉系前駆細胞というキーワードを軸に研究を続けていきたいと思っています。先ほどもお話ししましたが、もともと脂肪化とか線維化のような病的な側面の研究は進んでいましたが、生理的にとても大事であることが分かってきました。当初、自分のイメージでは、組織に障害がない

ところの細胞はそれほど反応しないのではないかと思っていましたが、運動や明らかな組織の破壊や再生がない状況でもこの細胞は結構反応しています。深田さんと発表した筋肥大に関する論文でも、間葉系前駆細胞は運動刺激や生理的な刺激に応じて反応して筋肥大に必要であることや、栄養や運動でも遺伝子発現を変化させることが分かってきており、それはおそらく遺伝子発現だけではなく、その後の生体への適用にも機能的に関わっていると思います。

また、間葉系前駆細胞はもともと何をしているのかよく分からない細胞であり、この細胞を研究する研究者もあまりいませんでしたし、今でも決してメジャーな細胞ではないと思います。というのも、間葉系前駆細胞は骨格筋自体を作るわけではなく、どちらかと言えば脇役だからです。ただ、脇役だからこそ、パッと見では分からない大事で面白いことをしているはずなので、そういったことを明らかにして、この細胞を研究する若い人たちを増やしたいと思っています。

間葉系前駆細胞は骨格筋以外にもいろいろな臓器に存在していて、それぞれ大事なことをしているはずなので、「間葉系前駆細胞ワールド」のようなものをいろいろな研究者の先生と一緒に確立していけたらと思っています。すると、免疫系や心血管系などの研究学術領域に匹敵するような新しい領域になるのではないかと考えています。

二川 上住先生はこのたび「細胞不均一性学分野」という名の新しい分野の教授になられました。不均一性という意味を読者の人たちに説明していただければありがたいです。

上住 私たちの体には様々な種類の細胞が存在し、1つの臓器も多様な細胞種

で構成されています。また、これまでは1つの種類と考えられてきた細胞も均一ではなく、不均一な集団であることがわかってきています。科学的に考えたら、均一であることの方が難しく、不均一の方が自然ですし、ある秩序を生み出す上で不均一の方が有利であることはおそらく真実です。生物にとってもいろいろなバリエーションがある方が生存に有利だと思います。今まで分かっていたなかった不均一性を研究することで新しい生態・生物の理解が得られるのではないかと思います。

二川 それは、diversity (多様性) という意味で捉えてもいいですか。

上住 そうですね。多様性と不均一性は似ている側面もあると思います。

二川 ありがとうございます。

青木先生はどのような目標、方針をお持ちですか。

●様々な研究領域の総合化と筋ジストロフィーに対する新しい治療法を

青木 私は疾患研究成果の創薬応用か

ら研究の世界に足を踏み入れたのですが、最近ではより基礎的な研究の方に関心が向かっています。私は、臨床研究と基礎研究の両方に従事する機会を頂きましたが、両研究領域の境界は曖昧になってきているように感じますので、筋学・筋病態学の中で、総合研究を確立したいと思っています。

また、私は難病の筋ジストロフィーを克服するという目的で研究者になったので、まずは筋ジストロフィーの新しい治療法になりそうなものを見つけ出したいと思っています。さらには、例えば核酸医薬を用いたエクソン・スキップ等の研究基盤は、他の疾患にもある程度応用できると考えています。様々な神経・筋疾患に対して、研究の基盤や成果を横展開(共用)することが、私がなすべきことだろうと思いついて進めています。

二川 ありがとうございます。武田伸一先生がエクソンスキップを誘導する人工核酸によるデュシェンヌ型筋ジストロフィー治療薬を開発されました¹⁰⁾が、それを超えるような薬はお考えになってい

ますか？

青木 エクソン・スキップは、アンチセンス核酸医薬を用いて、短縮型ジストロフィンをスプライシングの調整によって発現回復させる治療法です^{11), 12)}。回復するジストロフィンは、タンパク質の構造部分を一部欠損することになるので、ジストロフィンの機能は不完全であると考えられています。その壁を克服するために私達が取り組んでいることは、新型コロナウイルス等で脚光を浴びたmRNA医薬により、全長型ジストロフィンを骨格筋に発現回復(補充)させる研究です。全長型ジストロフィンのmRNAを脂質ナノ粒子等に封入して、それを経静脈全身投与するわけです。本研究は、日本医療研究開発機構(AMED)から資金をいただいで進めています。もしかしたらこれは、エクソン・スキップを超える医薬品開発につながるかもしれません。

二川 それが成功すると、極めて革新的な治療になります。頑張ってくださいね。

6. 骨格筋の研究に関心のある若い先生たちへ

二川 最後に、今後骨格筋を研究しようとしている後進の若い研究者あるいは医師に向けてメッセージをいただいて、本日の座談会を締められたらと思います。すでに少しいただきましたが、もう一言いただけるとありがたいです。

深田先生、お願いします。

深田 青木先生のように、臨床から基礎をやっていた方でも絶対に必要です。今いろいろな問題があって医師の研究者が少ないこともあります。基礎研究者は基礎研究者としての難しさがありますが、研究者になったらこれだけ良いことがあるんだよということを我々が日々示すしかないように思います。ですから、あまり忙しくしていたら駄目ですよ。いろいろなところに行ったりして、楽しいところを見せないと医師が研究者にはなってもらえないですよ。全然答えになっ

ていないですが(笑)。

二川 いえいえ。先生は実際、研究をしていて楽しいのでしょうか。

深田 そうですね。でも、それ以外の仕事もいっぱいあるじゃないですか。

二川 確かにそうですね。私も基礎研究を行っているのですが、今では一日の大半を会議だけで終わってしまうことがよくあります(悲)。

上住先生、お願いします。

上住 研究に進む人が減っているのは事実だと思いますが、研究自体は面白いので、それを紹介していけたらと思います。骨格筋は非常に大事な臓器です。身近なところでは運動で骨格筋を強くできたりして健康な日常生活にも関わりますので、入り口としては、あまり難しく考える必要はないと思います。疾患では未解決なこともいっぱいあります。そ

うした身近で、大事で、未解決なものが骨格筋です。私自身は、自分が見つけた間葉系前駆細胞の研究をしていますが、必ずしも間葉系前駆細胞の研究をしなくても必要はなくて、間葉系前駆細胞の観点からその面白さを発信できたらと思います。

二川 ありがとうございます。

青木先生、お願いします。

青木 お二人がすでに詳しく述べていますが、研究者という職業は個性を活かせる、やりがいのある仕事だと考えています。しかし、研究の過程で、特に若手研究者がやりがいを搾取されるような状況に遭遇することもあります。そのため、待遇改善など、次世代の研究者のためのより良い環境作りに積極的に取り組む必要があると私たちは感じています。

二川 ありがとうございます。

本日は先生方からたくさんの貴重なお話をいただきましてありがとうございます。また、先生方のご研究の益々の発展を期

待しております。

これで終了します。

[注釈]

◆ 1. PDGFR α 陽性細胞：骨細胞、脂肪細胞、軟骨細胞などの間葉系細胞への分化能力を示す間葉系前駆細胞の一種で、抗 PDGFR α (platelet-derived growth factor receptor alpha) 抗体で陽性に染まる細胞集団。

◆ 2. Ndufs8：この遺伝子のコードする蛋白質は、電子伝達系の複合体 I の鉄硫黄クラスターとの結合に関与しており、電子伝達プロセスに必須である。この遺伝子の変異はリ-症候群と関連している。

参考文献

1. Rodgers JT, King KY, Brett JO, Cromie MJ, Charville GW, Maguire KK, Brunson C, Mastey N, Liu L, Tsai CR, Goodell MA, Rando TA. mTORC1 controls the adaptive transition of quiescent stem cells from G0 to G(Alert). *Nature*. 2014 Jun 19;510(7505):393-6. doi: 10.1038/nature13255.
2. Lahmann I, Griger J, Chen JS, Zhang Y, Schuelke M, Birchmeier C. Met and Cxcr4 cooperate to protect skeletal muscle stem cells against inflammation-induced damage during regeneration. *Elife*. 2021 Aug 5;10:e57356. doi: 10.7554/eLife.57356.
3. Uezumi A, Ikemoto-Uezumi M, Zhou H, Kurosawa T, Yoshimoto Y, Nakatani M, Hitachi K, Hisateru Yamaguchi H, Wakatsuki S, Araki T, Morita M, Yamada H, Toyoda M, Kanazawa N, Nakazawa T, Hino J, Fukada S, Tsuchida K. Mesenchymal Bmp3b expression maintains skeletal muscle integrity and decreases in age-related sarcopenia. *J Clin Invest*. 2021 Jan 4;131(1):e139617. doi: 10.1172/JCI139617.
4. Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N, Takeda S, Tsuchida K. Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nat Cell Biol*. 2010; 12(2):143-52. doi: 10.1038/ncb2014. Epub 2010 Jan 17.
5. Joe AWB, Yi L, Natarajan A, Le Grand F, So L, Wang J, Rudnicki MA, Rossi FMV. Muscle injury activates resident fibro/adipogenic progenitors that facilitate myogenesis. *Nat Cell Biol*. 2010 Feb;12(2):153-63. doi: 10.1038/ncb2015. Epub 2010 Jan 17.
6. Fitzgerald G, Turie G, TGorski T, Soro-Arnaiz I, Zhang J, Casartelli NC, Masschelein E, Maffiuletti NA, Sutter R, Leunig M, Farup J, De Bock K. MME+ fibro-adipogenic progenitors are the dominant adipogenic population during fatty infiltration in human skeletal muscle. *Commun Biol*. 2023 Jan 27;6(1):111. doi: 10.1038/s42003-023-04504-y.
7. Motohashi N, Minegishi K, Aoki Y. Inherited myogenic abilities in muscle precursor cells defined by the mitochondrial complex I-encoding protein. *Cell Death Dis*. 2023;14:689.
8. Giordani L, He GJ, Negroni E, Sakai H, Law JYC, Siu MM, Wan R, Corneau A, Tajbakhsh S, Cheung TH, Le Grand F. High-Dimensional Single-Cell Cartography Reveals Novel Skeletal Muscle-Resident Cell Populations. *Mol Cell*. 2019 May 2;74(3):609-621.e6. doi: 10.1016/j.molcel.2019.02.026.
9. Murgia M, Ciciliot S, Nagaraj N, Reggiani C, Schiaffino S, Franchi MV, Pišot R, Šimunič B, Toniolo L, Blaauw B, Sandri M, Biolo G, Flück M, Narici MV, Mann M. Signatures of muscle disuse in spaceflight and bed rest revealed by single muscle fiber proteomics. *PNAS Nexus*. 2022;1(3):pgac086. doi: 10.1093/pnasnexus/pgac086. eCollection 2022 Jul.
10. Takeda S, Clemens PR, Hoffman EP. Exon-Skipping in Duchenne Muscular Dystrophy. *J Neuromuscul Dis*. 2021;8(s2):S343-S358. doi: 10.3233/JND-210682.
11. Tominari T, Aoki Y. Clinical development of novel therapies for Duchenne muscular dystrophy—Current and future. *Neurology and Clinical Neuroscience*. 2022 Dec; doi:10.1111/ncn3.12691.
12. Komaki H, Nagata T, Saito T, Masuda S, Takeshita E, Sasaki M, Tachimori H, Nakamura H, Aoki Y, Takeda S. Systemic administration of the antisense oligonucleotide NS-065/NCNP-01 for skipping of exon 53 in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Sci Transl Med*. 2018;10:eaan0713.

骨・軟骨・筋科学 Update 2024 年 春号 (第 6 号)

発行日：2024 年 3 月 8 日

発行：JSBMR 一般社団法人 日本骨代謝学会 The Japanese Society for Bone and Mineral Research

制作：国際医学出版株式会社