

## 間質細胞の臓器特異性から探るフレイルのメカニズム

代表研究者 東京都健康長寿医療センター研究所 研究副部長 上住聡芳

共同研究者 東京都健康長寿医療センター研究所 研究員 上住円

### 【まとめ】

骨格筋の老化であるサルコペニアは身体的フレイルの中核を成し、超高齢社会を迎えた我が国において解決しなければならない課題である。筋組織の恒常性維持に間質細胞が必須であることが明かされたことを受け、本研究では様々な臓器の間質細胞の特性解析を行い、サルコペニア・フレイルのメカニズム解明を目指した。その結果、様々な臓器の間質細胞に共通する加齢変化、及び、各臓器固有の加齢変化を明らかにすることができた。

### 1. 研究の目的

フレイル（加齢に伴う脆弱性の増加）は、身体的側面だけでなく社会的・精神的側面も含んだ概念であるが、臨床では身体的フレイルが運用しやすく、その評価基準の妥当性と有用性が示されている。骨格筋の量と機能の低下を指すサルコペニアは、全身の衰弱を招き、フレイルサイクルと呼ばれる負の連鎖を加速させるため、身体的フレイルの中核を成している。しかし、サルコペニア・フレイルの発症機序は未だ不明である。最近、筋組織に存在する間質細胞が筋の恒常性維持に必須であり、その加齢変化がサルコペニアの引き金になることを代表研究者らは明らかにしている（1）。筋組織に存在するものに似た間質細胞は種々の臓器にも存在するため、「間質が組織恒常性を維持する」という図式は全身の臓器に通ずる共通概念と考えられる。そこで本研究では、様々な臓器に存在する間質細胞の特性とその加齢変化を分子レベルで解析し比較する。

#### 1-1 老化マウスの各臓器由来間質細胞のトランスクリプトーム解析

様々な臓器に存在する間質細胞の特性、および、加齢変化を解析するため、本研究では老化個体における種々の臓器由来間質細胞のトランスクリプトーム解析を実施する。本研究開始前に、若齢個体を用いた解析は実施済みである。

#### 1-2 筋組織の間質細胞に特異的な老化関連因子の機能解析

研究項目 1-1 で得たデータと、既に取得済みの

若齢個体由来間質細胞のデータを統合し、バイオインフォマティクス解析を実施する。種々の臓器由来の間質細胞について各臓器間、および若齢・老化個体間で比較解析し、臓器間で共通の、または、各臓器固有の維持・老化機構の解明を目指す。サルコペニアのメカニズム解明が目標の一つのため、特に筋組織固有の変化の解析を優先して進める。

### 2. 研究方法と経過

#### 2-1 老化マウスの各臓器由来間質細胞のトランスクリプトーム解析

各臓器に存在する間質細胞は PDGFR $\alpha$  という受容体をマーカーとして用いることで特異的に同定可能である。PDGFR $\alpha$  をマーカーに用いたセルソーティングによる間質細胞の純化法は確立している（2、3）。本方法により、老化マウスの様々な臓器から PDGFR $\alpha$  陽性間質細胞をセルソーターを用いて純化し、トランスクリプトーム解析を行う。

#### 2-2 筋組織の間質細胞に特異的な老化関連因子の機能解析

2-1 で得た結果と、既に得ている若齢個体由来間質細胞の結果を統合し、バイオインフォマティクス解析を実施する。種々の臓器由来の間質細胞について、各臓器間、および若齢・老化個体間で比較解析を行う。老化に伴い、各臓器の間質細胞で共通して起こる遺伝子発現変化を絞り込む。また、骨格筋の間質細胞に固有の加齢変化についても絞り込む。

### 3. 研究の成果

#### 3-1 老化マウスの各臓器由来間質細胞のトランスクリプトーム解析

老化マウス（28ヶ月齢）の骨格筋、心臓、肝臓、肺、脂肪、小腸から PDGFR $\alpha$  陽性間質細胞をセルソーターによって純化し、RNA を精製した。老化個体では若齢個体に比べ、得られる細胞数が少ない傾向にあったが、精製した RNA の量・品質ともに問題なく、RNAseq を行うことが可能であった。

#### 3-2 筋組織の間質細胞に特異的な老化関連

## 因子の機能解析

3-1の結果と、既に取得済みの若齢個体由来間質細胞の結果から、骨格筋、心臓、肝臓、肺、脂肪、小腸の6臓器由来の間質細胞の遺伝子発現プロファイルを、若齢、および、老化個体の両方について得ることができた。

これらのデータを用いて、まず、加齢に伴い全ての臓器由来間質細胞で共通して起こる遺伝子発現変化を明らかにした。老化によって発現上昇する遺伝子群には免疫・炎症関連の遺伝子が多くリストアップされ、間質細胞の加齢変化が老化に伴う臓器の慢性炎症に寄与していることが示唆された。老化によって発現低下する遺伝子群としては細胞外基質関連遺伝子が多く、老化によるグローバルな間質機能の劣化が示唆された。

次に、臓器特異性に注目し解析を行った。サルコペニアのメカニズム解明の観点から、骨格筋の間質細胞にフォーカスした解析を進めた。まず、加齢に伴い骨格筋の間質細胞で発現低下する遺伝子を絞り込んだ。これらの中には、若齢時に筋組織の維持に機能する遺伝子が含まれると考えられる。これらの遺伝子から、若齢個体の他臓器由来間質細胞との比較によって骨格筋の間質細胞得意的な 142 遺伝子を抽出した (図 1)。

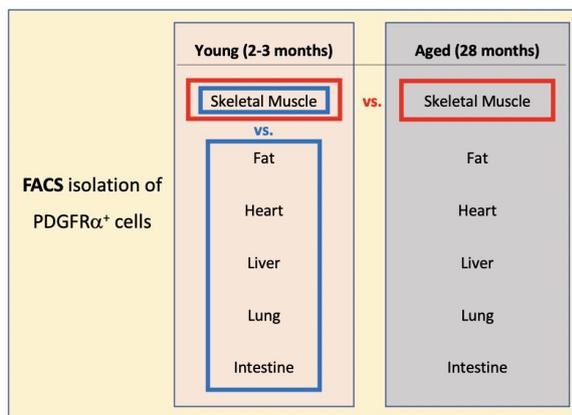


図 1. 骨格筋間質細胞に固有の加齢変化を特徴づける遺伝子の絞り込み

この 142 遺伝子の発現をヒートマップとして可視化したものを図 2 に示す。これらの中には特徴的な細胞外基質が複数含まれていた。

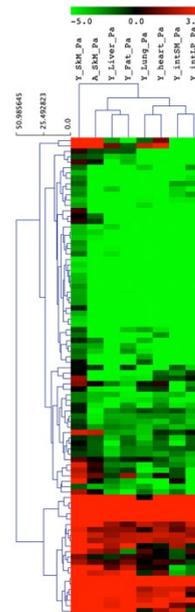


図 2. 骨格筋間質細胞に固有の加齢変化を特徴づける遺伝子のヒートマップ

## 4. 今後の課題

本研究で明らかになった、骨格筋間質細胞に固有の加齢変化を規定する遺伝子群には、特徴的な細胞外基質が含まれていた。そのノックアウトマウスの導入を終えたので、今後、ノックアウトマウスを用いた機能解析を進める予定である。

## 5. 研究成果の公表方法

上記の研究成果、および、今後の課題で述べた機能解析の結果をまとめ、研究論文として投稿・発表する予定である。

## 6. 文献

(1) Uezumi et al., Mesenchymal Bmp3b expression maintains skeletal muscle integrity and decreases in age-related sarcopenia. *J Clin Invest.* 2020, 139617

(2) Uezumi et al., Identification, Isolation, and Characterization of Mesenchymal Progenitors in Mouse and Human Skeletal Muscle. *Methods Mol Biol.* 2016, 1460:241-253

(3) Uezumi et al., Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nat Cell Biol.* 2010, 12(2):143-152

以上