

【総説】

骨格筋再生と老化制御：筋サテライト細胞の役割

町田 修一、船越 智子

順天堂大学大学院スポーツ健康科学研究科

要約

加齢に伴い骨格筋の筋肉量および筋力は低下する。しかし、この加齢性筋肉減弱症（サルコペニア）がどのような機序で発症するかについてはよく知られていない。骨格筋は再生能力の高い組織と考えられているが、加齢に伴い筋再生能は低下する。近年、骨格筋の再生において中心的な役割を担う骨格筋幹細胞である筋サテライト（衛星）細胞の機能変化について興味深い報告がなされている。本稿では、骨格筋の再生における筋サテライト細胞の役割と機能の加齢変化に焦点をあて、サルコペニアの機序について概説する。

1. 高齢期骨格筋の特徴

ヒトでは、30歳を過ぎると10年毎に約5%前後の割合で下肢の筋肉量が減少し、60歳を超えるとその減少率は加速することが知られている[1]。骨格筋の萎縮は、加齢以外にも不活動（ベッドレスト、ギプス固定）や除神経、疾病（がん、カヘキシー、敗血症、糖尿病等）、低栄養等によっても認められる[2, 3]。全ての筋萎縮に共通して認められる現象は、筋の収縮および構造タンパク質の合成（再生）と分解（崩壊）のアンバランスによる筋タンパク質の減少が、結果として一本一本の筋線維の萎縮（筋線維の断面積の減少）を引き起こしていることである。

骨格筋は筋線維の集合体である。筋線維は、その収縮特性から速筋線維（Fast-twitch fiber, タイプ II）と遅筋線維（Slow-twitch fiber, タイプ I）に分類される[4]。加齢性の筋萎縮の場合、速筋線維に選択的な萎縮が認められるのが特徴である[1]。さらに、加齢性の筋萎縮は、単に筋線維の萎縮だけにとどまらず、筋線維数が半分近くまで減少することが他の萎縮と異なる特徴である（図1）[1]。一般的に、サルコペニアの主要因として加齢に伴う身体活動量の低下が挙げられる。しかし、不活動性による筋萎縮の場合、筋線維数には変化が認められないこと、さらに速筋線維よりも遅筋線維で顕著に萎縮が認められることから筋線維組成が速筋化することが知

られている[4]。そのため、サルコペニアで認められる骨格筋組織の表現型とは明らかに異なる。

2. 加齢に伴う骨格筋再生能の低下

1) 骨格筋再生と筋サテライト細胞

骨格筋は本来、再生能力の高い組織と考えられている。しかし、加齢に伴い筋再生能は低下する。サルコペニア発症の要因のひとつとして、怪我等による筋損傷からの再生が補いきれないために顕在化するという考えがある[5]。すなわち、上述した通り、筋再生能の低下による筋線維数の減少がサルコペニア発症に関与している（図2）。骨格筋は多核の筋線維から構成されているが、筋線維の筋形質膜と基底膜の間には筋サテライト（衛星）細胞と呼ばれる単核の細胞が存在する。骨格筋に内在する核のうち、大多数は筋核で占められており、筋サテライト細胞はわずか1-5%である[6, 7]。筋核は最終分化しているため分裂することができない。骨格筋には筋サテライト細胞の他に、Side population (SP) 細胞、血管幹細胞や造血幹細胞などの筋細胞への分化が可能な非筋幹細胞の存在が報告されており、筋再生過程においても筋サテライト細胞以外の幹細胞の関与が示唆されている。しかし現在のところ、筋の再生能力の大半は筋サテライト細胞によって担われていると考えられている[7]。

骨格筋が損傷や過負荷（筋力トレーニング）等を受けると、筋サテライト細胞は増殖因子やサイトカイン等の刺激で活性化されて増殖を開始し、筋前駆細胞（筋芽細胞）となる。通常、筋サテライト細胞は細胞周期の静止期の状態で骨格筋に存在している。静止期の筋サテライト細胞はPax7という転写因子を発現している。筋損傷により筋サテライト細胞が活性化されると筋分化制御因子のひとつであるMyoDを発現し、筋芽細胞とな

連絡先：町田修一 〒270-1695

千葉県印西市平賀学園台1-1

順天堂大学大学院スポーツ健康科学研究科

TEL：0476-98-1001

FAX：0476-98-1030

E-mail：machidas@juntendo.ac.jp

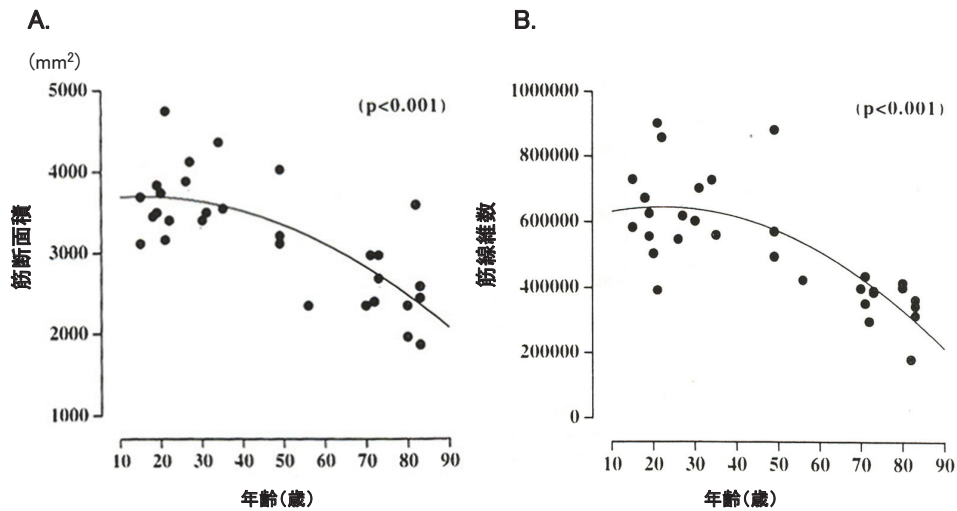


図1 加齢に伴うヒト骨格筋（大腿部）の筋断面積（A）と筋線維数（B）（Lexellら [1] より引用改変）

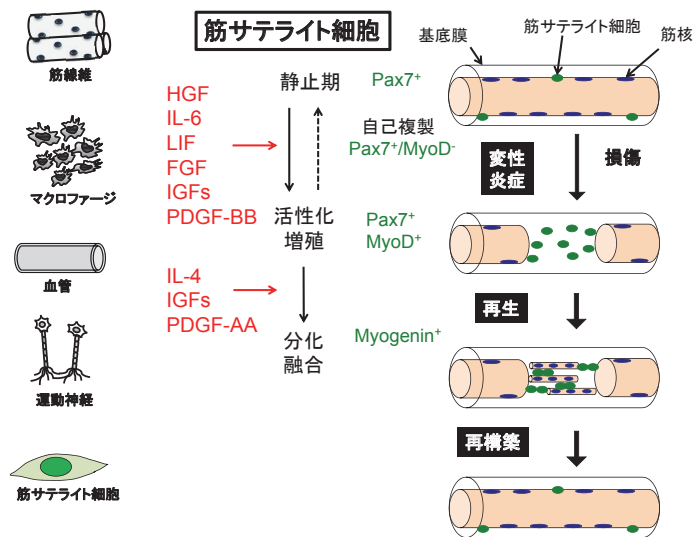


図2 筋損傷・再生過程における筋サテライト細胞を取り巻く環境

る。筋芽細胞は筋再生に必要な細胞数を確保するために細胞周期に入り、細胞周期の進行に関連するタンパク質（サイクリンD等）を発現して必要な細胞数が得られるまで増殖を繰り返す。その後、増殖を止めて筋分化の転写因子 myogenin を発現することで運命決定される（図2）。筋分化した細胞は、相互に、あるいは既存の筋線維と細胞融合することによって筋組織を再構築し再生を促す。一方、一部の筋芽細胞は、筋サテライト細胞が組織幹細胞として枯渇しないように自己複製プログラムに入り、Pax7の発現を維持したまま MyoDの発現を低下させ、再び静止期の筋サテライト細胞に戻ることが知られている。そのため、骨格筋に内在する筋サテライト数は損傷後においても厳密にコントロールされている。しかし、加齢に伴い筋サテライト数が減少することがヒト、マウス、ラットにおいて報告されている[7]。すなわち、

本来、保持すべき筋サテライト細胞の自己複製機構が加齢に伴い機能低下している可能性が考えられる [8]。

Verdijkら（2007）は、平均年齢71歳と20歳男性の外側広筋を対象に、免疫組織化学染色法を用いて筋サテライト細胞数が加齢に伴い速筋線維（タイプII）で減少する一方、遅筋線維（タイプI）では減少しなかったことを報告した [9]。このことは、サルコペニアの表現型として加齢に伴い速筋線維（タイプII）が優位に萎縮するひとつのメカニズムを説明するかもしれない。すなわち、張力発揮にも優れた速筋線維（タイプII）に怪我等が生じた際、筋サテライト細胞数の減少および諸機能の低下により、筋再生が補いきれないために速筋線維の消失が引き起こされる可能性がある。

2) 筋サテライト細胞の増殖能の加齢変化

筋サテライト細胞は加齢に伴い数の減少および緒機能(増殖能など)が低下することが知られている。加齢に伴う筋サテライト細胞の増殖能低下が細胞自身(内因性)の変化によって生じるのか、それとも筋サテライト細胞を取り巻く環境(外因性)の変化に起因するかについては様々な報告がある[10,11]。筋サテライト細胞の内因性の増殖能を検討するために、サルコペニアの表現型を示す30ヶ月齢以上のラット骨格筋から単離した初代培養細胞の報告では、加齢に伴う増殖能の低下が認められている[12,13]。その際、30ヶ月齢の筋サテライト細胞では、増殖能が高い3ヶ月齢の筋サテライト細胞と比較して、細胞周期抑制因子であるサイクリン依存性キナーゼ(cdk)抑制因子p27^{Kip1}およびp21^{Cip1}や転写因子であるFOXO1やp53の核内蓄積が認められたことが報告されている[12]。また最近では、28ヶ月齢のマウス筋サテライト細胞でのp16^{Ink4a}の発現増加が増殖能や自己複製能の低下に関与していることが報告された[14]。したがって、これらの結果は、細胞を取り巻く環境(外因性)の変化だけでなく、筋サテライト細胞自身の内因性の変化によって増殖能が低下していることを示唆している。

3) 筋サテライト細胞を取り巻く環境

筋再生は、筋サテライト細胞の活性化、増殖、分化そして融合を促進または抑制する因子によって、巧みに制御されている[15,16]。骨格筋が損傷を受けると、組織変性、そして炎症反応によって損傷部位に集積している好中球やマクロファージ等の炎症細胞から肝細胞増殖因子(HGF)、血小板由来成長因子(PDGF)、インスリン様成長因子(IGF-I)、線維芽細胞増殖因子(FGF)、トランスフォーミング増殖因子-β(TGF-β)、インターロイキン-6(IL-6)等の増殖因子やサイトカインが分泌され、筋サテライト細胞の活性化、増殖、分化、そして融合が修飾される[7,16]。また、炎症細胞からだけでなく、筋線維[HGF、一酸化窒素(NO)、間質細胞由来因子(SDF-1)]、血管[内皮細胞増殖因子(VEGF)、PDGF、IGF-I、FGF、HGF]、運動神経(神経伝達物質、神経栄養因子)、さらには筋サテライト細胞自身(IGF-I、HGF、FGF、TGF-β)からも、筋サテライト細胞の機能に影響を及ぼす液性因子が分泌され、筋再生が円滑に進行することが分かっている[7](図2)。しかし、最近の研究成果から、30ヶ月齢のラット骨格筋では筋損傷後に分泌される上記増殖因子やサイトカインの多くが、3ヶ月齢の骨格筋と比較して、減少もしくは欠如していることがわかってきた(町田、未発表)。

4) 筋再生能低下に関与するシグナル

高齢期骨格筋では、上述のように筋サテライト細胞の増殖を促進する因子が減少する。Musaroら(2001)は、骨格筋特異的にIGF-1を強制発現させた22ヶ月齢のマウスでは、筋損傷後の再生能力の回復を認め、その際、筋サテライト細胞の増殖機能が亢進していることを示した[17]。IGF-1が筋サテライト細胞の増殖を亢進させ

るメカニズムとして、ホスファチジルイノシトール3キナーゼ(PI3K)/Aktの細胞内シグナル伝達系の活性化、それに伴って細胞周期抑制因子であるサイクリン依存性キナーゼ(cdk)抑制因子p27^{Kip1}の転写活性がFOXO1のリン酸化によって抑制されることが提示された[18]。

Conboyら(2003)は、個体発生において重要な機能をもったNotch分子のシグナルが、高齢期骨格筋再生能の重要な因子であることを示した[19]。彼女らは、筋損傷後の再生能力の低下が認められた23ヶ月齢のマウス骨格筋では、筋サテライト細胞の増殖能の低下およびNotchシグナルのリガンドであるDeltaの発現量が低下することを報告した。そして、若年期骨格筋においても、Notchシグナルを抑制すると筋再生が高齢期骨格筋同様に障害を受けること、さらにNotchシグナルを強制的に活性化させた高齢期骨格筋では、筋サテライト細胞の増殖能の増加と筋再生能の回復が認められたことを報告した。また、同じグループから、加齢に伴うWntシグナルの増強が筋サテライト細胞の線維芽細胞への分化転換を引き起こすことによって筋再生能が低下することが報告されている[20]。さらにWntシグナルについては、筋サテライト細胞が脂肪細胞へと分化転換する際にも重要な役割を担っている可能性が報告されている[21,22]。

5) 慢性炎症と筋サテライト細胞機能

インターロイキン-6(IL-6)は炎症性サイトカインで様々な生体反応に関わる多機能性を示し、自己免疫疾患やがん細胞の増殖制御に関わるということが知られている。骨格筋におけるIL-6刺激は、Jak2/Stat3経路を介して細胞周期促進因子・サイクリンD1の発現を調節することで筋サテライト細胞の増殖を促進し、筋肥大に関与する[23]。一方、高齢期ではIL-6の血中濃度が高値にも関わらず、筋サテライト細胞の増殖能は低下することから、慢性的な高濃度IL-6への暴露が筋サテライト細胞の機能に影響している可能性がある。実際、高濃度のIL-6を加えて筋サテライト細胞を培養すると増殖が抑制されることを確認している[23]。Jak2/Stat3経路の活性化は細胞周期促進因子・サイクリンD1の発現を促進するだけでなく、細胞周期抑制因子・p27^{Kip1}およびp21^{Cip1}の遺伝子発現も調節することが知られている[24]。そのため、IL-6/Jak2/Stat3経路を介したシグナルに対する筋サテライト細胞の応答性が加齢に伴って抑制される可能性がある。

最近、マウス筋サテライト細胞の遺伝子発現プロファイルからJak2/Stat3シグナルが高齢期の筋サテライト細胞で亢進していることが報告された[25](図3)。この研究では、18ヶ月齢の骨格筋から単離した単一筋線維上の筋サテライト細胞に対して、Jak2もしくはStat3の阻害剤による処置がPax7陰性/MyoD陽性細胞の減少を引き起こすことが報告された[25](図3)。さらに、生体において、RNA干渉(RNAi)法によって、Jak2もしくはStat3の遺伝子発現が抑制された筋サテライト細胞では、再生筋に対する移植効率が上がるということが報告されている[25]。また、Pax7陽性細胞、すなわち筋サ

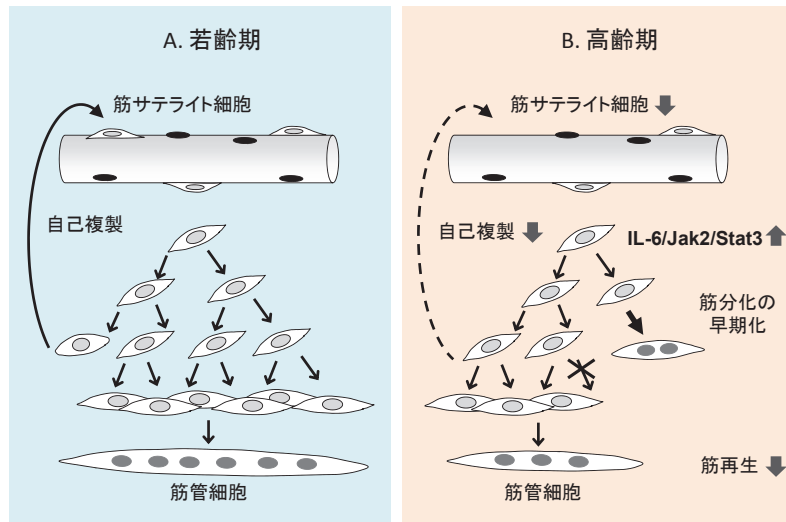


図3 加齢に伴う筋再生能低下とその要因

テライト細胞特異的に Stat3 をノックダウンすると、筋再生過程における Pax7 陽性細胞数が増加すること [26]、さらに同様な筋再生過程における Jak2 もしくは Stat3 の阻害剤の直接投与によって筋線維サイズや筋サテライト細胞数、筋力の回復が促進されたことが報告された [25, 26]。これらの結果は、加齢に伴う筋サテライト細胞の増殖や自己複製の機能低下が Jak2/Stat3 シグナルと関連していることを示唆している。我々も増殖能が低下している 30 ヶ月齢のラット筋サテライト細胞の核内に活性型 Stat3 が蓄積している現象を見出しており、サルコペニアとの関連が示唆される (町田、未発表)。したがって、Jak2、Stat3 の発現抑制による筋サテライトの自己複製能の回復効果はサルコペニア予防への応用が期待される。

おわりに

サルコペニアの機序について、筋再生において中心的な役割を担う筋サテライト細胞の老化制御に焦点をあてて述べてきた。サルコペニアの場合、他の筋萎縮モデルと異なり、長期的に様々な要因が関与するため、そのメカニズムを解明することは容易ではない [27]。しかし、既に 2013 年には 4 人に 1 人が 65 歳以上の超高齢社会を迎えた本邦において、ひとりひとりが高齢になっても自由で自立した生活を営めることが鍵となる。そのためには、サルコペニアのメカニズムを解明し、その改善および予防のための対策を講じることは今後益々重要となる。

引用文献

1. Lexell J, Taylor CC, and Sjostrom M. What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J Neurol Sci* **84**: 275-294, 1988.
2. Greenlund LJ and Nair KS. Sarcopenia-

consequences, mechanisms, and potential therapies. *Mech Ageing Dev* **124**: 287-299, 2003.

3. Roubenoff R. Sarcopenia: effects on body composition and function. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **58**: 1012-1017, 2003.
4. 町田修一. 筋線維タイプの発現をタンパク質・遺伝子レベルで探る, 運動とタンパク質・遺伝子 (柳原大, 内藤久士 編), ナップ社, 東京, 2004, p.80-100.
5. Grounds MD. Age-associated changes in the response of skeletal muscle cells to exercise and regeneration. *Ann N Y Acad Sci* **854**: 78-91, 1998.
6. Zammit PS. All muscle satellite cells are equal, but are some more equal than others? *J Cell Sci*, **121**: 2975-2982, 2008.
7. Hawke TJ and Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J Appl Physiol* **91**: 534-551, 2001.
8. Day K, Shefer G, Shearer A, *et al*. The depletion of skeletal muscle satellite cells with age is concomitant with reduced capacity of single progenitors to produce reserve progeny. *Dev Biol* **340**: 330-343, 2010.
9. Verdijk LB, Koopman R, Schaart G, *et al*. Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **292**: E151-E157, 2007.
10. Dumont NA, Wang YX, Rudnicki MA. Intrinsic and extrinsic mechanisms regulating satellite cell function. *Development* **142**: 1572-1581, 2015.
11. Blau HM, Cosgrove BD, Ho AT. The central role of muscle stem cells in regenerative failure with aging. *Nat Med* **21**: 854-862, 2015.
12. Machida S and Booth FW. Increased nuclear proteins in muscle satellite cells in aged animals as compared to young growing animals. *Exp*

- Gerontol **39**:1521-1525, 2004.
13. Zwetsloot KA, Childs TE, Gilpin LT, et al. Non-passaged muscle precursor cells from 32-month old rat skeletal muscle have delayed proliferation and differentiation. *Cell Prolif* **46**: 45-57, 2013.
 14. Sousa-Victor P, Gutarra S, Garcia-Prat L, et al. Geriatric muscle stem cells switch reversible quiescence into senescence. *Nature* **506**: 316-321, 2014.
 15. Ciciliot S and Sciaffino S. Regeneration of mammalian skeletal muscle. Basic mechanisms and clinical implications. *Curr Pharm Des* **16**: 906-914, 2010.
 16. Kurosaka M and Machida S. Exercise and skeletal muscle regeneration. *J Physical Fitness Sports Med* **1**: 537-540, 2012.
 17. Musaro A, McCullagh K, Paul A, et al. Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. *Nat Genet* **27**: 195-200, 2001.
 18. Machida S, Spangenburg EE and Booth FW. Forkhead transcription factor FoxO1 transduces insulin-like growth factor's signal to p27^{Kip1} in primary skeletal muscle satellite cells. *J Cell Physiol* **196**: 523-531, 2003.
 19. Conboy IM, Conboy MJ, Smythe GM, et al. Notch-mediated restoration of regenerative potential to aged muscle. *Science* **302**: 1575-1577, 2003.
 20. Brack AS, Conboy MJ, Roy S, et al. Increased Wnt signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis. *Science* **317**: 807-810, 2007.
 21. Taylor-Jones JM, McGehee RE, Rando TA, et al. Activation of an adipogenic program in adult myoblasts with age. *Mech Ageing Dev* **123**: 649-661, 2002.
 22. Vertino AM, Taylor-Jones JM, Longo KA, et al. Wnt10b deficiency promotes coexpression of myogenic and adipogenic programs in myoblasts. *Mol Biol Cell* **16**: 2039-2048, 2005.
 23. Kurosaka M and Machida S. Interleukin-6-induced satellite cell proliferation is regulated by induction of the JAK2/STAT3 signalling pathway through cyclin D1 targeting. *Cell Prolif* **46**: 365-373, 2013.
 24. Kenneth C. Loh, Weng-In Leong, et al. Sphingosine-1-Phosphate Enhances Satellite Cell Activation in Dystrophic Muscles through a S1PR2/STAT3 Signaling Pathway. *PLoS One* **7**: e37218, 2012.
 25. Price FD, von Maltzahn J, Bentzinger CF, et al. Inhibition of JAK-STAT signaling stimulates adult satellite cell function. *Nat Med* **20**: 1174-1181, 2014.
 26. Tierney MT, Aydogdu T, Sala D, et al. STAT3 signaling controls satellite cell expansion and skeletal muscle repair. *Nat Med* **20**: 1182-1186, 2014.
 27. Machida S and Peake J. Sarcopenia – significance and possible mechanisms. In: *Muscle Cell Physiology*, edited by Ohira Y. Osaka: Osaka University Press, p.121-136, 2009.

The role of muscle satellite cells in muscle regeneration during aging

Shuichi Machida and Tomoko Funakoshi
 Graduate School of Health and Sports Science,
 Juntendo University,

Summary

Sarcopenia is the involuntary loss of skeletal muscle mass and strength that occurs with aging, resulting in physical frailty. However, the molecular mechanisms that mediate the process of sarcopenia are not well defined. Skeletal muscle repair capacity progressively declines with aging. Satellite cells are a population of adult muscle stem cells that play a key role in mediating muscle regeneration. Recent studies show that satellite cells progressively undergo cell-intrinsic alterations that profoundly affect stem cell regenerative function with aging. This review will focus on satellite cell characteristics and function in muscle regeneration during aging.

Keywords : Sarcopenia, muscle satellite cells, muscle regeneration, aging