

- 武田 伸一: AAV ベクターを用いた筋ジストロフィーに対する遺伝子治療, 日本人類遺伝学会第 54 回大会, 東京, 9.24, 2009
- 58) 青木 吉嗣, 横田 俊文, 齊藤 崇, 永田 哲也, 中村 昭則, 武田 伸一: mdx52 マウスを用いたモルフオリノによるジストロフィン遺伝子エクソン 51 スキップの前臨床研究, 日本人類遺伝学会第 54 回大会, 東京, 9.24, 2009
- 59) Ishii A, Shin JH, Katakai Y, Ono F, Okada T, Takeda S: Effective AAV8 vector-mediated microdystrophin transduction of skeletal muscles in normal primate, Japan Society of Gene Therapy The 15th Annual Meeting 2009, Osaka, 7.11, 2009
- 60) Kasahara Y.N, Kinoh H, Shin JH, Nishiyama A, Hosoyama SO, Maeda MW, Nakamura A, Okada T, Takeda S: Cell therapeutic approach to duchenne muscular dystrophy using myogenic differentiation of multipotent mesenchymal stromal cells in dog, Japan Society of Gene Therapy The 15th Annual Meeting 2009, Osaka, 7.11, 2009
- 61) 中村 昭則, 小林 正典, 武田 伸一: 筋ジス犬新生仔劇症型の病態機序に関する検討, 第 50 回日本神経学会総会, 仙台, 5.19, 2009
- 62) 青木 吉嗣, 横田 俊文, 齊藤 崇, 中村 昭則, 武田 伸一: Mdx52 を用いたジストロフィン遺伝子エクソン 51 スキッピングの前臨床研究, 第 50 回日本神経学会総会, 仙台, 5.19, 2009
- 63) Sunada Y, Ohsawa Y, Fujino M, Okada T, Hayashi S, Rikimaru M, Murakami T, Nishimatsu S, Nohno T, Nagao M : Wound-healing MRL-MpJ phenotype improves outcome of dystrophin deficient mdx mice. XII International Congress on Neuromuscular Diseases, Naples, Italy, 2010
- 64) 砂田芳秀: nNos は caveolin-3 欠損症の病態を抑制する. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 5.21.2010
- 65) 砂田芳秀: 筋ジストロフィーの分子病態. 第 28 回日本神経治療学会総会, 横浜, 7.16.2010
- 66) 砂田芳秀, 大澤 裕, 岡田只士, 西松伸一郎, 石崎雅俊, 菅 智宏, 内野 誠, 濃野 勉, 野地澄晴, 土田邦博: 筋ジストロフィーに対する抗 myostatin 治療薬の開発, 厚生労働省精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーおよびその関連疾患の分子病態解明、診断法確立と薬物治療の開発に関する研究」平成 22 年度「砂田班」班会議, 東京, 12.3.2010
- 67) 土田邦博: 骨格筋と脂肪細胞の相互作用解析と筋疾患治療への応用 (独) 東京都健康長寿医療センター研究所、理研播磨研究所合同公開カンファレンス 東京、4 月 1 2 日(2010)
- 68) Tsuchida K. Neuromuscular diseases and behavior of progenitor cells. The 3rd Pan Pacific Symposium on Stem Cells Research. Taiwan, April 16-19, 2010
- 69) 常陸圭介、土田邦博 マイオスタチン欠損骨格筋肥大におけるマイクロ RNA の役割 第 2 回日本 RNAi 研究会 広島、8 月 2 6-2 8 日(2010)
- 70) 上田洋司、井ノ口馨、土田邦博 新しい躁鬱病モデル動物を用いたプロテオミクス解析 Neuro2010 第 3 3 回日本神経科学大会 神戸、9 月 2-4 日(2010)
- 71) 土田邦博、中谷直史、常陸圭介、上住聡芳、上田洋司、武田伸一、大澤裕、砂田芳秀 骨格筋の増殖分化調節因子の生理作用を基にした筋ジストロフィーの病態解明と治療法の開発 厚労省精神・神経疾患研究 砂田班班会議 東京、1 2 月 3-4 日(2010)
- 72) 村上達也, 土田邦博, Wassana WIJAGKANALAN, 橋田 充, 姜 舜徹, 今堀 博 高比重リポタンパク質のメゾ制御 BMB2010 第 3 3 回日本分子生物学会年回、第 8 3 回日本生化学会大会 合同大会 神戸、1 2 月 7-1 0 日(2010)
- 73) Ishikawa M, Nishijima N, Shiota J, Sakagami H, Tsuchida K, Mizukoshi M, Fukuchi M, Tsuda M, Tabuchi A. Actin-binding coactivator MKL is involved in activin-induced transcriptional activity and alteration of dendritic morphology in rat cortical neurons. BMB2010 第 3 3 回日本分子生物学会年回、第 8 3 回日本生化学会大会 合同大会 神戸、1 2 月 7-1 0 日(2010)

- 74) 土田邦博:骨格筋と脂肪細胞の臓器間クロストークによる脂肪細胞の動態解析 第7回宮崎サイエンスキャンプ 宮崎、2月25-27日 (2011)
- 75) Kawakami E, Kinouchi N, Adachi T, Ohsawa Y, Ishimaru N, Ohuchi H, Sunada Y, Hayashi Y, Tanaka E, Noji S: Special processed collagen-mediated application of myostatin-siRNA for muscular atrophy diseases. 88th IADR, July 14-17, 2010, Barcelona, Spain.
- 76) Kinouchi N, Kawakami E, Ohsawa Y, Ishimaru N, Ohuchi H, Sunada Y, Hayashi Y, Tanaka E, Noji S: Atelocollagen-mediated systemic administration of myostatin siRNA improves muscular dystrophy. 88th IADR, July 14-17, 2010, Barcelona, Spai
- 77) Takeda S: Treatment in Muscular Dystrophy: Exon Skipping. 10th Annual Meeting of the Asian Oceanian Myology Center (AOMC), Auckland, New Zealand, 2.26, 2010
- 78) Takeda S: Advances in Molecular Therapy Research for Muscular Dystrophy. Lecture for Neurologists in Gangnam Severance Hospital, Yansei University College of Medicine, Soul, Korea, 2.8, 2011
- 79) Takeda S: Antisense oligos therapy for muscular dystrophy. Lecture at the Symposium of the Rehabilitation, Yansei University College of Medicine, Soul, Korea, 2.7, 2011
- 80) Takeda S: Molecular and cellular control of muscle satellite cells, 2010 FASEB Summer Research Conference Skeletal Muscle Satellite & Stem Cells, Arizona, USA, 7.19, 2010
- 81) Uezumi A, Fukada S, Yamada H, Takeda S, Tsuchida K: Mesenchymal progenitors distinct from muscle satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle, Keystone Symposia, Santa Fe, USA, 2.2, 2011
- 82) Imamura M, Matsumoto H, Inaba Y, Mannen H, Takeda S: Generation of transgenic mouse expressing mutated wwp1 gene responsible for chicken muscular dystrophy. The American Society For Cell Biology, 50th Annual meeting, Philadelphia, USA, 12.14,2010
- 83) Ono Y, Luisa Boldrin, Paul Knopp, Jennifer E. Morgan, Peter S. Zammit, Yuko Miyagoe-Suzuki, Takeda S: Molecular aspects of functional heterogeneity in muscle satellite cells. BIT Life Sciences' 3rd Annual World Congress of regenerative medicine & Stem Cells. Shanghai, China , 12.5, 2010
- 84) Nakamura H, Nishino I, Komaki H, Mori M, Ooya Y, Motoyoshi Y, Matsumura T, Takeda S, Kawai M: REMUDY—DMD/BMD patient registry in Japan.15th International Congress of World Muscle Society (WMS), Kumamoto, 10.15, 2010
- 85) Shimizu Y, Saito T, Aoki Y, Yokota T, Nagata T, Nakamura A, Osawa M, Takeda S: Skipping of exons 6 and 8 of the DMD gene has been achieved in myogenic cells from an exon-7 deleted DMD patient: direct application of antisense sequences found in study with canine muscular dystrophy.15th International Congress of World Muscle Society (WMS), Kumamoto, 10.15, 2010
- 86) Kanagawa M, Omori Y, Kobayashi K, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S, Endo T, Furukawa T, Toda T: Disruption of dystroglycan-pikachurin interaction underlies the molecular pathogenesis of eye abnormalities in dystroglycanopathy.15th International Congress of World Muscle Society (WMS), Kumamoto, 10.13, 2010
- 87) Wang B, Segawa M, Hrano C, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S : Impact of age on generation of iPSCs from mdx mouse fibroblast cells, ISSCR 8th Annual Meeting, CA, USA, 6.19, 2010
- 88) Ito M, Suzuki Y, Okada T, Fukudome T, Yoshimura T, Masuda A, Takeda S, Krejci E, Ohno K : rAAV8-mediated prtein-anchoring therapy for targeting collagen Q-tailed acetylcholinesterase to the neuromuscular junction. American society of gene & cell therapy 13th Annual meeting, Washington, DC, USA, 5.22, 2010
- 89) Kinoh H, Yugeta N, Okada H, Kasahara Y, Okada T, Takeda S: Induction of oral

immunotolerance to rAAV9-microdystrophin in canine X-linked muscular dystrophy. American Society of Gene & Cell Therapy 13th Annual Meeting, Washington, DC, USA, 5.22, 2010

90) Aoki Y, Yokota T, Saito T, Nakamura A, Nagata T, Okazawa H, Takeda S : Feasibility and effectiveness of exon 51 skipping in human-like mdx mutation. American society of gene & cell therapy 13th Annual meeting, Washington DC, USA, 5.21, 2010

91) Kasahara Y, Kinoh H, Okada H, Shin JH, Nishiyama A, Hosoyama S, Maeda M, Nakamura A, Okada T, Takeda S: Cell therapeutic approach to Duchenne muscular dystrophy using myogenic differentiation of multipotent mesenchymal stromal cells. American society of gene & cell therapy 13th Annual meeting, Washington DC, USA, 5.20, 2010

92) Yokota T, Saito T, Urasawa N, Nagata T, Nakamura A, Kole R, Sazani P, Partridge T, Takeda S, Hoffman E : Multiple exon-skipping using cell-penetrating morpholinos for dystrophic dogs. American society of gene & cell therapy 13th Annual meeting, Washington DC, USA, 5.20, 2010

93) Hoffman E , Yokota T, Lu QL, Partridge T, Takeda S : Systemic anti-sense in DMD: Progress, and hurdles facing clinical implementation of exon-skipping. The Ottawa conference on new directions in biology & disease of skeletal muscle, Ottawa, Canada, 5.6, 2010

94) Segawa M, Wang B, Harano C, Suzuki Y, Matsuda R, Takeda S: Generation and muscle differentiation of induced pluripotent stem (iPS) cells from adult mdx mice. (poster) Keystone Symposia: Stem cell differentiation and dedifferentiation. , Keystone Resort, Keystone, Colorado, February 15 - 20, 2010

95) 武田伸一, 伊藤尚基, 鈴木友子 : nNOS は筋萎縮と筋肥大を制御するメカノセンサーである. 第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生科学会大会合同大会, 神戸, 12.7, 2010

96) Takeda S : Molecular Characterization of Stem

Cells in Skeletal Muscle. 8th RCGM International Symposium of Academic Frontier, Saitama , 11.3,2010

97) 武田伸一 : 筋ジストロフィーに対するエクソン・スキップ治療. 厚生労働科学研究費 成果発表シンポジウム, 埼玉, 10.23, 2010

98) 武田伸一 : 特別講演 筋ジストロフィーに対する治療は、どこまで近づいているのか. 世界筋学会熊本開催記念・筋ジストロフィー治療市民公開講座, 熊本, 10.11, 2010

99) 武田伸一 : 特別講演 筋ジストロフィーに対する新しい治療戦略. 第121回信州小児臨床談話会, 松本, 10.2, 2010

100) 武田伸一 : The significance of exons skipping therapy in the treatment of Duchenne muscular dystrophy. Japan-Canada Joint Mini-Symposium; "Translational Neurosciences; current topics and future perspectives", Neuro 2010 第33回日本神経科学大会, 第53回日本神経化学学会大会, 第20回日本神経回路学会大会 合同大会, 神戸, 9.2, 2010

101) 武田伸一 : 筋ジストロフィーに対する新たな治療の展開. 愛媛大学プロテオ医学研究センター学術講演会, 松山, 8.30, 2010

102) 武田伸一 : 独立行政法人国立精神・神経医療研究センターと筋ジストロフィーの治療法開発, 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーの臨床試験実施体制構築に関する研究班」(主任研究者: 川井充)平成22年度 ワークショップ, 東京, 8.7, 2010

103) 武田伸一 : 筋ジストロフィー症の新しい治療戦略. 第28回日本神経治療学会総会, 横浜, 7.15, 2010

104) 武田伸一 : Advances of molecular therapy research on dystrophin-deficient muscular dystrophy. 第16回日本遺伝子治療学会, 栃木, 7.1, 2010

105) 武田伸一 : Duchenne 型筋ジストロフィーに対する分子治療学の進歩. 第52回日本小児神経学会総会, 福岡, 5.21, 2010

106) 武田伸一 : 筋萎縮と筋肥大の分子機構を巡って Molecular mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy. 第3回上肢の神経機能回復セミナー,

秋田, 5.14, 2010

107) 伊藤尊仁, 米田智廣, 清水菜津子, 上住聡芳, 土田邦博, 鈴木友子, 武田伸一, 山元弘, 辻川和文, 深田宗一郎: PDGFR α 陽性間葉系前駆細胞は病態形成・再生促進の2つの作用を有する. 第10回日本再生医療学会総会, 東京, 3.2, 2011

108) 兼先宏典, 高橋永幸, 亀谷修平, 高橋浩, 工藤明, 鈴木友子, 武田伸一: POMGnT1 欠損型マウスではアストロサイトの増殖に伴って網膜剥離が生ずる. 第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生科学会大会合同大会, 神戸, 12.10, 2010

109) 伊藤尚基, 工藤明, 鈴木友子, 武田伸一: 骨格筋神経型一酸化窒素合成酵素 (nNOS) 過負荷によって活性化され, タンパク質合成の活性化を介して筋肥大の進行を制御している. 第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生科学会大会合同大会, 神戸, 12.8, 2010

110) 矢島浩, 小野悠介, 鈴木友子, 武田伸一: Six 遺伝子群による筋衛星細胞の増殖・分化制御. 第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生科学会大会合同大会, 神戸, 12.8, 2010

111) 清水宣明, 吉川賢忠, 丸山崇子, 田形勇輔, 竹鼻健司, 伊藤尚基, 武田伸一, 佐野元昭, 福田恵一, 森本幾夫, 田中廣壽: グルココルチコイドによる転写因子 KLF15 の骨格筋特異的発現活性化の意義. 第33回日本分子生物学会年会, 第83回日本生科学会大会合同大会, 神戸, 12.7, 2010

112) 小野悠介, 伊藤尚基, 鈴木友子, 武田伸一: 筋衛星細胞集団から自己複製細胞を予期的に同定分離する方法. 第65回日本体力医学会大会, 千葉, 9.17, 2010

113) 伊藤尚基, 鈴木友子, 武田伸一: 骨格筋神経型一酸化窒素合成酵素(nNOS)は過負荷によって活性化され, タンパク質合成の制御を介して筋肥大を促進する. 第65回日本体力医学会大会, 千葉, 9.16, 2010

114) 正水 芳人, 岡田 尚巳, 川寄 圭祐, 石橋 英俊, 武田 伸一, 湯浅 茂樹, 長谷川 功, 中原 潔: 霊長類中枢神経系への遺伝子導入: アデノ随伴ウイルスベクターによる神経細胞への順行性および逆行性感染. *Neuro* 2010, 神戸, 9.2, 2010

115) 王博, 伊藤尚基, 鈴木友子, 武田伸一: Impact of age on generation of iPSCs from mdx mouse fibroblast cells 第31回日本炎症・再生医学会, 新宿, 8.5, 2010

116) 伊藤尚基, 工藤明, 鈴木友子, 武田伸一: 骨格筋神経型一酸化窒素合成酵素は過負荷によって活性化され, タンパク質合成・分解の制御を介して筋肥大を促進する. 第31回日本炎症・再生医学会, 新宿, 8.5, 2010

117) Wang B, Segawa M, Hrano C, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S: Impact of age on generation of iPSCs from mdx mouse fibroblast cells: Poster, The 8th Stem cell research symposium, Awaji, 5.14, 2010

<その他>

【欧文著書】

1) Uezumi A, Tsuchida K: Roles of mesenchymal progenitors, distinct from satellite cells, in muscle pathology and physiology. *Muscle Cell Physiology*, Osaka University Press, Osaka Japan, 2009, 109-119

2) Okada T., Takeda S: Advances in molecular therapy research on dystrophin-deficient muscular dystrophy. In, *Gene Therapy and Regulation* (ed. by Roger Bertolotti), World Scientific, NJ. 2010, 5(1), pp113-123.

3) Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S: Mechanobiology in skeletal muscle: conversion of mechanical information into molecular signal. *Mechanosensing Biology* (ed. Masaki Noda), Springer Japan, pp1-219, 2010

【欧文総説】

1) Miyagoe-Suzuki Y, Uezumi A, Takeda S: Side population (SP) cells and skeletal muscle differentiation. *Recent Advances of Skeletal Muscle Differentiation*, Ed. Kunihiro Tsuchida and Shin'ichi Takeda, pp61-78, Research Signpost

【和文著書】

1) 砂田芳秀：筋ジストロフィーの分子病態. 神経治療学, Vol.27, No.6, PP781-784, 2010

2) 武田伸一：筋ジストロフィーの新しい治療戦略. 神経治療学, Vol.27, No.6, PP788-790, 2010

3) 鈴木友子, 武田伸一：筋ジストロフィーモデルマウス. 完全版マウス・ラット疾患モデル活用ハンドブック, 株式会社羊土社, PP378-393, 2011

4) 青木 吉嗣, 武田 伸一：研修医のための神経内科診療, 新興医学出版社, 東京, 2010, pp248-252

5) 鈴木 友子, 武田 伸一：骨格筋, 炎症・再生医学事典, 朝倉書店, 東京, 2009, pp453-456

【和文総説】

1) 小林正典, 武田伸一：筋ジストロフィーのエクソン・スキップによる分子治療. 医学のあゆみ (in press)

2) 鈴木友子, 武田伸一：筋ジストロフィー. 総合リハビリテーション, Vol.39, No.1, pp25-29, 2011

3) 青木吉嗣, 武田伸一：デュシェンヌ型筋ジストロフィーのエクソン・スキッピング療法. 神経難病の最新治療法 [第1部], 難病と在宅ケア, Vol.16, No.6, PP6-9, 2010

4) 清水裕子, 武田伸一：筋ジストロフィーの分子治療. —遺伝子診断の進歩とゲノム治療の展望—, 遺伝子診療学 (第2版) 68巻 増刊号 8, PP650-653, 2010

5) 武田 伸一：モルフォリノをもちいた Duchenne 型筋ジストロフィーの治療, 臨床神経学, 49: 856-858, 2009

6) 武田 伸一：筋ジストロフィーの遺伝子治療—エクソン・スキッピングを中心に—, 神経治療学, Vol.26, No.6, 715-718, 2009

7) 永田 哲也, 武田 伸一：筋ジストロフィーとエクソン・スキッピング, 生物の科学遺伝, Vol.63, No.5, 84-89, 2009

8) 鈴木 友子, 武田 伸一：筋ジストロフィーに対する先端治療法の開発, ゲノム医学, Vol.9, No.3,

195-198, 2009

9) 矢田 英理香, 武田 伸一：iPS 細胞を用いた筋ジストロフィー治療の展望, 難病と在宅ケア, vol.15, No.1, 2009

10) 武田伸一, 青木吉嗣, 清水裕子, 横田俊文, 中村昭則, 永田哲也：モルフォリノが筋線維に取り込まれる分子機構の解明. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーに対するトランスレーショナル・リサーチ」(主任研究者 武田伸一) 平成 22 年度班会議, 東京, 12.14, 2010

11) 武田伸一, 喜納裕美, 弓削田直子, 岡田浩典, 笠原優子, 千代智子, 岡田尚巳：AAV ベクターを用いた筋ジストロフィー犬胎仔遺伝子導入と機能解析. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーに対するトランスレーショナル・リサーチ」(主任研究者 武田伸一) 平成 22 年度班会議, 東京, 12.14, 2010

12) 裏出良博, 有竹浩介, 鎌内慎也, 永田奈々恵, 小林正典, 武田伸一：筋ジストロフィーの進行性軽減療法の開発～プロスタグランジン(PG)D2 情報伝達制御による筋ジストロフィーの2次炎症軽減と尿中PGD2代謝物を対象とした病態進行マーカーの開発～. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーに対するトランスレーショナル・リサーチ」(主任研究者 武田伸一) 平成 22 年度班会議, 東京, 12.14, 2010

13) 武田伸一, 小林正典, 中村昭則, 湯浅勝敏, 弓削田直子, 岡田尚巳, 永田哲也, 高橋明男：筋ジストロフィー犬新生仔の蘇生前後の分子病態に関する研究. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーに対するトランスレーショナル・リサーチ」(主任研究者 武田伸一) 平成 22 年度班会議, 東京, 12.14, 2010

14) Takeda S, Wang B, Ito N, Ono Y, Kawaguchi N, Kanasaki H, Suzuki Y: Generation of Induced Pluripotent Stem Cells from muscle-derived fibroblasts at different ages of mdx mice. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーに対するトランスレーショナル・リサーチ」(主任研究者 武田伸一) 平成 22 年度班会議, 東京, 12.13, 2010

15) 上住聰芳, 深田宗一朗, 山本直樹, 山田治基, 西野一三, 武田伸一, 土田邦博：骨格筋内在性間葉

系前駆細胞の筋ジストロフィー病態への関与. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーに対するトランスレーショナル・リサーチ」(主任研究者 武田伸一)平成 22 年度班会議, 東京, 12.13, 2010

16) 深田宗一郎, 山口賢彦, 小久保博樹, 小川 遼, 上住聡芳, 伊藤尊仁, 辻川和丈, 山元 弘, 鈴木友子, 武田伸一: 骨格筋幹細胞移植実現を目指した基盤的研究~Hesr1/3 は骨格筋幹細胞の成立・維持に必須である~ 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーに対するトランスレーショナル・リサーチ」(主任研究者 武田伸一)平成 22 年度班会議, 東京, 12.13, 2010

17) 二川 健, 河野尚平, 原田晃子, 松尾侑季, 中屋豊, 東端 晃, 奥村裕司, 武田伸一: SPORTS ラット(自発性高運動ラット)の筋肉特性と宇宙実験(MyoLab)の途中経過. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーに対するトランスレーショナル・リサーチ」(主任研究者 武田伸一)平成 22 年度班会議, 東京, 12.13, 2010

18) 川上潔, 矢嶋浩, 佐藤滋, 池田啓子, 小野悠介, 鈴木友子, 武田伸一: Six 遺伝子群による筋衛星細胞の増殖・分化の制御および筋再生へのかかわり. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーおよびその関連疾患の分子病態解明、診断法確立と薬物治療の開発に関する研究」(主任研究者 砂田芳秀)平成 22 年度班会議, 東京, 12.4, 2010

19) 土田邦博, 中谷直史, 常陸圭介, 上住聡芳, 上田洋司, 武田伸一, 大澤裕, 砂田芳秀: 骨格筋の増殖分化調節因子の生理作用を基にした筋ジストロフィーの病態解明と治療法の開発. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーおよびその関連疾患の分子病態解明、診断法確立と薬物治療の開発に関する研究」(主任研究者 砂田芳秀)平成 22 年度班会議, 東京, 12.3, 2010

20) 松村喜一郎, 斉藤史明, 萩原宏毅, 金川基, 兼先宏典, 大熊文美, 池田美樹, 真先敏弘, 鈴木友子, 武田伸一, 戸田達史, 清水輝夫: Large に関連する α -dystroglycan のプロセッシングとその効用. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーおよびその関連疾患の分子病態解明、診断法確立と薬物治療の開発に関する研究」(主任研究者 砂田芳秀)平成 22 年度班会議, 東京, 12.3, 2010

21) 遠藤玉夫, 萬谷博, 赤阪啓子, 鈴木友子, 武田伸一: α -ジストログリカノパチーの病態解明に関する

研究. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーおよびその関連疾患の分子病態解明、診断法確立と薬物治療の開発に関する研究」(主任研究者 砂田芳秀)平成 22 年度班会議, 東京, 12.3, 2010

22) 青木正志, 高橋俊明, 鈴木直輝, 堅山真規, 割田仁, 八木沼智香子, 早坂美保, 佐藤仁美, 菅原瞳, 伊藤真理子, 阿部恵美, 吉岡勝, 今野秀彦, 小野寺宏, 武田伸一, 林由起子, 西野一三, 糸山泰人: ジスフェルリノパチー病態の解明およびその治療に関する研究. 精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーおよびその関連疾患の分子病態解明、診断法確立と薬物治療の開発に関する研究」(主任研究者 砂田芳秀)平成 22 年度班会議, 東京, 12.3, 2010

23) 武田伸一: DMD 筋ジストロフィーの最新治療. 第 7 回筋ジストロフィーのピアカウンセラー養成講座—デュシェンヌ型を中心として—, 東京, 10.31, 2010

24) 喜納裕美, 岡田浩典, 笠原優子, 千代智子, 岡田尚巳, 武田伸一: AAV ベクターを用いた筋ジストロフィー犬胎児遺伝子導入と機能解析. 第 5 回 筋ジストロフィー治療研究発表会, 鳴子, 10.30, 2010

25) 青木吉嗣, 清水裕子, 横田俊文, 永田哲也, 武田伸一: モルフォリノが筋線維に取り込まれる分子機構の解明. 第 5 回 筋ジストロフィー治療研究発表会, 鳴子, 10.30, 2010

26) 王 博, 伊藤尚基, 兼先宏典, 川口奈奈子, 鈴木友子, 武田伸一: 筋ジストロフィーモデルマウスからの iPS 細胞の誘導. 第 5 回 筋ジストロフィー治療研究発表会, 鳴子, 10.30, 2010

27) 武田伸一: 近未来に迫った筋ジストロフィー治療, 第 30 回全国筋ジストロフィー東京浅草大会 ~平成 22 年度患者と家族の研修会~, 東京, 10.8, 2010

28) 武田伸一: 筋ジストロフィー研究の最前線. 第 6 回国立精神・神経医療研究センター神経内科短期臨床研修セミナー, 東京, 7.14, 2010

29) 武田伸一: 筋疾患に対するマイオスタチン阻害療法の臨床応用基盤の確立. リサーチミーティング, 厚生労働科学研究費補助金 障害者対策総合研究事業 (主任研究者: 砂田芳秀), 平成 22 年度リサーチミーティング, 岡山, 6.4, 2010

30) 武田伸一: 筋ジストロフィーに対する治療研究

を臨床に展開するための統括的研究。 社団法人日本筋ジストロフィー協会 第47回全国大会, 新宿, 5.16, 2010

31) 武田伸一: 筋ジストロフィーに対する治療法の開発を目指して。 鍋島陽一教授退職記念シンポジウム。 京都, 5.9, 2010

32) 武田伸一: TMC (トランスレーショナル・メディカルセンター) について。 平成22年度国立精神・神経医療研究センター病院 新採用者オリエンテーション, 東京, 4.1, 2010

33) 高橋 明男, 小林 正典, 八幡 由美子, 北 秀樹, 市川 慎一, 弓削田 直子, 中村 昭則, 武田 伸一: イヌ血清 CRP 値を用いた早期妊娠診断および胎仔数との関連性, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究 (武田班), 12.4, 2009

34) 万年 英之, 松本 大和, 笹崎 晋史, 藤原 哲, 市原 伸恒, 菊池 建機, 中村 昭則, 今村 道博, 武田 伸一: ニワトリ筋ジストロフィー原因遺伝子の同定と発症機序の解明, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究 (武田班), 12.4, 2009

35) 武田 伸一, 瀬川 亮, 本橋 紀夫, 王 博, 矢田 英理香, 増田 智, 松田 良一, 鈴木 友子: 人工多能性幹細胞からの骨格筋幹細胞の誘導, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究 (武田班), 12.4, 2009

36) 山元 弘, 深田 宗一郎, 森川 大亮, 伊藤 尊仁, 山口 賢彦, 辻川 和丈, 鈴木 友子, 武田 伸一: mdx の病態・機能に与える遺伝背景の影響, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究 (武田班), 12.4, 2009

37) 上住 聡芳, 深田 宗一郎, 山元 弘, 山田 治基, 武田 伸一, 土田 邦博: 骨格筋に内在する間葉系前駆細胞の解析, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究 (武田班), 12.4, 2009

38) 裏出 良博, 有竹 浩介, 鎌内 慎也, 林 正裕, 永田 奈々恵, 小林 正典, 中村 昭則, 武田 伸一: 筋ジストロフィーの進行性軽減療法の開発, ~プロ

スタグランジン D2 をターゲットとした筋ジストロフィーの2次炎症軽減と尿中代謝物を対象とした病態進行マーカーの開発~, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究 (武田班), 12.4, 2009

39) 武田 伸一, 喜納 裕美, 岡田 浩典, 笠原 優子, 岡田 尚巳, 9 型 AAV ベクターを用いた筋ジストロフィー犬胎児・新生児への遺伝子導入, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究 (武田班), 12.4, 2009

40) 武田 伸一, 齊藤 崇, 中村 昭則, 清水 裕子, 青木 吉嗣, 横田 俊文, 永田 哲也, 大澤 真木子: 筋ジストロフィーモデル犬のマルチエクソンススキッピングに有効であったアンチセンスオリゴヌクレオチドの DMD 患者細胞への応用, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究 (武田班), 12.3, 2009

41) 横田 俊文, Qi-long Lu, Terence Partridge, 小林 正典, 浦澤 延幸, 中村 昭則, Ryszard Kole, Peter Sazani, Hong Moulton, Eric Hoffman, 武田 伸一: 新世代モルフォリノによる筋ジストロフィー治療, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究 (武田班), 12.3, 2009

42) 若尾 義人, 高野 裕史, 藤井 洋子, 弓削田 直子, 中村 昭則, 武田 伸一: Speckle Tracking Echocardiography を用いた CXMDJ 犬および保因犬の左室心筋局所機能評価, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究 (武田班), 12.3, 2009

43) 喜納 裕美, 岡田 浩典, 笠原 優子, 岡田 尚巳, 武田 伸一: 9 型 AAV ベクターを用いた筋ジストロフィー犬胎児・新生児への遺伝子導入, 第4回筋ジストロフィー研究合同発表会, 倉敷, 10.31, 2009

44) 齊藤 崇, 中村 昭則, 清水 裕子, 青木 吉嗣, 横田 俊文, 大澤 真木子, 武田 伸一: 筋ジストロフィーモデル犬のマルチエクソンススキッピングに有効であったアンチセンスオリゴヌクレオチドの DMD 患者細胞への応用, 第4回筋ジストロフィー研究合同発表会, 倉敷, 10.31, 2009

45) 瀬川 亮, 本橋 紀夫, 王 博, 矢田 英理香, 増田 智, 松田 良一, 鈴木 友子, 武田 伸一: 人工多能性幹細胞からの骨格筋幹細胞の誘導, 第 4 回筋ジストロフィー研究合同発表会, 倉敷, 10.31, 2009

46) 武田 伸一: RNA splicing を標的とした神経筋疾患の治療戦略, 厚生労働省化学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)「筋萎縮性側索硬化症の病態に基づく画期的治療法の開発」班, 平成 21 年度ワークショップ, 東京, 7.31, 2009

47) 武田 伸一: 筋ジストロフィーの治療研究の進歩, 筋ジストロフィーという病気をもっと知ろう, 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費筋ジストロフィー集学的治療と均てん化に関する研究 (神野班), 特別講演, 平成 21 年度 第一回筋ジストロフィーに関する市民公開講座, 名古屋, 7.18, 2009

48) 青木 吉嗣, 横田 俊文, 齊藤 崇, 中村 昭則, 武田 伸一: mdx52 マウスを用いたモルフォリノによるジストロフィン遺伝子エクソン 51 スキップの前臨床研究, 第 13 回 3 施設合同研究発表会, 東京, 6.16, 2009

49) 武田 伸一: 筋ジストロフィーに対する治療研究を臨床に展開するための統括的研究, 第 46 回筋ジス協会全国大会, 東京, 5.17, 2009

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

特許出願:

発明の名称: 放射線照射コラーゲン様ペプチドを用いた核酸導入法

発明人: 野地澄晴、足立太郎

出願番号: 2010-172711

出願日: 2010年7月30日

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表
(参考資料一覧表)

別紙4

研究成果の刊行に関する一覧表 (1)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Uezumi A, Tsuchida K	Roles of mesenchymal progenitors, distinct from satellite cells, in muscle pathology and physiology.	Ohira Y	Muscle Cell Physiology	Osaka University Press	Osaka Japan	2009	109-119
鈴木 友子, 武田 伸一	骨格筋	松島 綱治, 西脇 徹	炎症・再生医学事典	朝倉書店	東京	2009	453-456
青木 吉嗣, 武田 伸一	筋ジストロフィー, 多発筋炎	阿部 康二	研修医のための の神経内科診療	新興医学出版社	東京	2010	248-252

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohsawa Y, Okada T, Kuga A, Hayashi S, Murakami T, Tsuchida K, Noji S, Sunada Y.	Caveolin-3 regulates myostatin signaling.	Acta Myol.	27	19-24	2008
Tsuchida K.	Targeting myostatin for therapies against muscle-wasting disorders.	Curr.Opin.Drug Discov.Devel.	11(4)	487-494	2008
Tsuchida K.	Myostatin inhibition by a follistatin-derived peptide ameliorates the pathophysiology of muscular dystrophy model mice.	Acta Myologica	27(1)	14-18	2008
Kinouchi N, Ohsawa Y, Ishimaru N, Ohuchi H, Sunada Y, Hayashi Y, Tanimoto Y, Moriyama K, Noji S.	Atelocollagen-mediated local and systemic applications of myostatin-targeting siRNA increase skeletal muscle mass.	Gene Ther.	15(15)	1126-1130	2008
Tsuchida K, Nakatani M, Hitachi K, Uezumi A, Sunada Y, Ageta H, Inokuchi K.	Activin signaling as an emerging target for therapeutic interventions.	Cell Commun. Signal	7(1)	15	2009
田中伸吾, 高田温行, 森口隆彦, 濃野 勉	Wnt4 による筋分化促進作用と今後の創傷治癒への展望	皮膚の科学	8巻11号	21-24	2009
Matsumoto H, Maruse H, Sasazaki S, Fujiwara A, Takeda S, Ichihara N, Kikuchi T, Mukai F, Mannen H	Expression Pattern of WWP1 in Muscular Dystrophic and Normal Chickens	J. Poult. Sci	46	95-99	2009

研究成果の刊行に関する一覧表 (2)

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kobayashi M, Nakamura A, Hasegawa D, Fujita M, Orima H, Takeda S	Evaluation of dystrophic dog pathology by fat-suppressed T2-weighted imaging	Muscle Nerve	40巻 5号	815-826	2009
Nakamura A, Takeda S	Exon-skipping therapy for Duchenne muscular dystrophy	Neuropathology	29巻 4号	494-501	2009
Yokota T, Lu QL, Partridge T, Kobayashi M, Nakamura A, Takeda S, Hoffman E	Efficacy of Systemic Morpholino Exon-Skipping in Duchenne Dystrophy Dogs	Ann Neurol.	65巻 6号	667-676	2009
Miyagoe-Suzuki Y, Masubuchi N, Miyamoto K, Wada MR, Yuasa S, Saito F, Matsumura K, Kanesaki H, Kudo A, Manya H, Endo T, Takeda S	Reduced proliferative activity of primary POMGnT1-null myoblasts in vitro	Mech Dev	126巻 3-4号	107-116	2009
Yokota T, Takeda S, Lu QL, Partridge TA, Nakamura A, Hoffman EP	A Renaissance for Antisense Oligonucleotide Drugs in Neurology: exon skipping breaks new ground	Arch Neurol.	66巻 1号	32-38	2009
Ohshima S, Shin JH, Yuasa K, Nishiyama A, Kira J, Okada T, Takeda S	Transduction efficiency and immune response associated with the administration of AAV8 vector into dog skeletal muscle	Mol Ther.	17巻 1号	73-80	2009
Hayashi S, Ohsawa Y, Takahashi T, Suzuki N, Okada T, Rikimaru M, Murakami T, Aoki M, Sunada Y	Rapid Screening for Japanese Dysferlinopathy by Fluorescent Primer Extension.	Int.Med.	49		2010
砂田芳秀	筋ジストロフィーの分子病態	神経治療学	Vol.27 No.6	781-784	2010
Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N, Takeda SI, Tsuchida K.	Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle.	Nature Cell Biology	12(2)	143-152	2010
Adachi T, Kawakami E, Ishimaru N, Ochiya T, Hayashi Y, Ohuchi H, Tanihara M, Tanaka E, Noji S.	Delivery of small interfering RNA with a synthetic collagen poly(Pro-Hyp-Gly) for gene silencing <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> .	Dev Growth Differ.	52(8)	693-699	2010

研究成果の刊行に関する一覧表 (3)

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
野地澄晴、足立太郎、川上恵実、田中栄二	RNA干渉法による治療を実現するための研究	中・四国矯正歯科学会雑誌	22巻	3-8	2010
Saito T, Nakamura A, Aoki Y, Yokota T, Okada T, Osawa M, Takeda S	Antisense PMO Found in Dystrophic Dog Model Was Effective in Cells from Exon7-Deleted DMD Patient	PLoS One	5巻 8号	e12239	2010
武田 伸一	筋ジストロフィーの新しい治療戦略	神経治療学	Vol.27 No.6	787-790	2010
Nakatani M, Kokubo M, Ohsawa Y, Sunada Y, Tsuchida K.	Follistatin-derived peptide expression in muscle decreases adipose tissue mass and prevents hepatic steatosis.	Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.	300(3)	E543-553	2011
Kawakami E, Kinouchi N, Adachi T, Ohsawa Y, Ishimaru N, Ohuchi H, Sunada Y, Hayashi Y, Tanaka E, Noji S.	Atelocollagen-mediated systemic administration of myostatin-targeting siRNA improves muscular atrophy in caveolin-3-deficient mice.	Dev Growth Differ.	53(1)	48-54	2011
Yokota T, Hoffman E, Takeda S	Antisense oligo-mediated multiple exon skipping in a dog model of duchenne muscular dystrophy	Methods Mol Biol	709	299-312	2011
Nakamura A, Takeda S	Mammalian models of duchenne muscular dystrophy: pathological characteristics and therapeutic applications. J Biomed Biotechnol	In press			

別紙4 - (2)

参考資料

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Ageta H, Tsuchida K	Multifunctional Roles of Activins in the Brain	Litwack G.	Activins and Inhibins, Vitamins and Hormones Vol 85	Elsevier Inc.	London, UK	2011	185-206

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Gilson A, Schakman O, KallistaS, LauseP, Tsuchida K, Thissen JP.	Follistatin induces muscle hypertrophy through satellite cell proliferation and inhibition of both myostatin and activin.	Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab	297(1)	E154-164	2009
Oshima Y, Ouchi N, Shimano M, Pimentel DR, Papanicolaou KN, Panse KD, Tsuchida K, Lara-Pezzi E, Lee SJ, Walsh K.	Activin A and follistatin-like 3 determine the susceptibility of heart to ischemic injury.	Circulation	120(16)	1606-1615	2009
Ageta H, Ikegami S, Miura M, Masuda M, Migishima R, Hino T, Takashima N, Murayama A, Sugino H, Setou M, Kida S, Yokoyama M, Hasegawa Y, Tsuchida K, Aosaki T, Inokuchi K.	Activin plays a key role in the maintenance of long- term memory and late- LTP.	Learning and Memory	17(4)	176-185	2010
Lee SJ, Lee YS, Zimmers TA, Soleimani A, Matzuk MM, Tsuchida K, Cohn RD, BartonER.	Regulation of Muscle Mass by Follistatin and Activins	Mol.Endocrinol.	24(10)	1998-2008	2010
上住聡芳、中谷直史、 常陸圭介、土田邦博	老化や疾患における骨格 筋の萎縮と治療への応用	基礎老化研究	34(4)	5-11	2010

Ⅲ. 研究成果の刊行物・別刷
(参考資料)

Roles of mesenchymal progenitors, distinct from satellite cells, in muscle pathology and physiology

Akiyoshi Uezumi and Kunihiro Tsuchida

Division for Therapies against Intractable Diseases, Institute for Comprehensive Medical Science,
Fujita Health University, 1-98 Dengakugakubo, Kutsukake, Toyoake, Aichi 470-1192, Japan.

E-mail: uezumi@fujita-hu.ac.jp

Abstract

Adult skeletal muscle has a remarkable ability to regenerate following muscle damage. This regenerative capacity is attributed to a muscle stem cell compartment known as satellite cells. Despite such a high regenerative potential, skeletal muscle is occupied by fatty and fibrous tissue in several pathological conditions. Because the occurrence of fatty and fibrous tissue is usually associated with loss or extreme atrophy of muscle, a hypothesis has emerged that dysregulation of the fate-switch of satellite cells between muscle and other lineages may underlie these pathological changes. However, there is no direct evidence that satellite cells convert their fate to a non-myogenic fate *in vivo*. In this review, we discuss the role of mesenchymal progenitors that are distinct from satellite cells, and focus on their contribution to pathological changes of skeletal muscle.

Key words: satellite cells, mesenchymal progenitors, degeneration, adipogenesis

Introduction

The principal roles of skeletal muscle are the generation of force and the control of body movement by contraction. Skeletal muscle is anatomically located immediately beneath the skin and acts as a physical safeguard for other organs. Because of such functional roles, skeletal muscle sometimes suffers damage. Therefore, regeneration from damage is an essential property of skeletal muscle. Satellite cells, which reside between the sarcolemma and the basal lamina of myofibers, are the major contributor to muscle regeneration. In response to various regenerative stimuli, satellite cells rapidly become activated and proliferate, and then differentiate and fuse with each other or with pre-existing myofibers to regenerate the muscle (6).

Despite such an exquisite regeneration system, skeletal muscle is occupied by fatty and fibrous tissue in several pathological conditions where muscle integrity has been debilitated. The most striking accumulation of adipocytes is seen in advanced cases of Duchenne muscular

dystrophy (DMD), where a muscle may be almost entirely replaced by adipose tissue (4). Excess fat accumulation also occurs in severe neurogenic atrophy, type II diabetes, obesity and aging-related sarcopenia (9, 15, 16, 42). Pathological fibrosis develops through a variety of conditions such as trauma, ischemia, physical strain, and neurological dysfunction as well as myopathies (4, 22). The mechanisms by which such pathological responses of skeletal muscle are elicited are poorly understood.

Because the occurrence of fatty and fibrous tissue is usually associated with loss or incomplete regeneration of muscle, the idea that dysregulation of the fate-switch of satellite cells between muscle and other lineages may underlie these pathological changes has been emerged. This hypothesis is based on studies showing that cultured satellite cells can transdifferentiate into non-myogenic cells *in vitro* (3, 8, 35, 43). However, there is no direct evidence that satellite cells contribute to the formation of fatty and fibrous tissue *in vivo*.

In this review, we discuss the role of mesenchymal progenitors that are distinct from satellite cells. We focus on the contribution of mesenchymal progenitors to pathological changes of skeletal muscle and emphasize the importance of the interaction between muscle cells (parenchymal cells) and mesenchymal progenitors (stromal cells) on muscle homeostasis.

Satellite cells: myogenic stem cells or multipotent stem cells?

Satellite cells were first identified on the basis of their anatomical location. They reside in the specific niche beneath the basal lamina covering myofibers (24). Since their discovery, satellite cells have been considered as monopotent precursors that give rise only to cells of myogenic lineage and are the major source of adult myogenic cells (6).

However, several studies have shown that satellite cells can differentiate into cells of non-myogenic lineages when using satellite-derived myoblast culture or single myofiber culture (3, 35, 43). In myoblast culture experiments, myoblasts are usually purified by a preplating technique or by culturing muscle-derived cells at the density that selectively promotes myogenic colony formation, while non-myogenic cells grow poorly. These methods require relatively long culture periods to obtain pure myogenic culture. However, long-term culture or clonal expansion can elicit spontaneous transformation and lead to the generation of myogenicity-defective cells that commonly appear in myogenic cell lines (23). Moreover, only a few rounds of passage significantly reduce muscle reconstitution activity of satellite cells (19, 25). Therefore, the obtained myogenic cells may have undergone considerable changes during the culture period, and thus can not be considered equivalent to satellite cells. Single myofiber culture is a method to isolate single myofibers with their associated satellite cells by appropriate enzymatic preparation. Even with this sophisticated technique, the possibility of contamination with non-satellite cells cannot be ruled out (36). Contamination with only a few non-satellite cells will have a considerable impact because each single myofiber carries a small number of

satellite cells (approximately 10–20 cells depending on the muscle from which the myofiber is derived) (10). Therefore, such conventional culture experiments make direct interpretation of the *in vivo* relevance of satellite cell multipotency difficult.

The introduction of fluorescence activated cell sorting (FACS)-based prospective cell isolation has improved the ability to isolate specific cell types. Using combinatorial expression of cell surface markers or genetically-engineered mice that express reporter gene in satellite cells, satellite cells can now be directly isolated with high purity (7, 11, 12, 25, 32, 37). With these procedures, the status of satellite cells was further established as the major contributor to adult myogenesis and as the ‘true’ adult muscle stem cells that can self-renew (32, 37). Importantly, freshly sorted satellite cells show quite high myogenicity but there is no report that sorted satellite cells convert their phenotype to non-myogenic cells. Moreover, freshly sorted satellite cells differentiate only into myotubes, even under non-myogenic culture condition (11). Thus satellite cell multipotency remains unclear.

Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells

To clarify the origin of the cell population involved in adipogenesis in skeletal muscle, we conducted a comprehensive survey of cells that reside in skeletal muscle using a FACS-based cell isolation technique. As a consequence, we identified PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors (under submission). PDGFR α ⁺ cells isolated by FACS readily differentiate into adipocytes, osteoblasts, and smooth muscle-like cells under appropriate culture conditions, but have a limited myogenic potential. Freshly isolated PDGFR α ⁺ cells are strongly positive for CD29, CD44, CD90, and Sca-1; moderately positive for CD13 and CD34; and negative for c-kit. Thus they have similarities to mesenchymal stem cells (MSCs) in terms of their surface phenotypes as well as differentiation potentials. These PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors reside in the muscle interstitium, and therefore represent a cell population that is distinct from satellite cells (Figure 1A). Mesenchymal progenitors were more frequently observed in the perimysium than in the endomysium, particularly in the perivascular space (Figure 1B). Upon muscle damage, mesenchymal progenitors rapidly enter the cell cycle and significantly increase in number (Figure 1C). They do not originate from bone marrow, but instead represent a cell population that is resident in skeletal muscle.

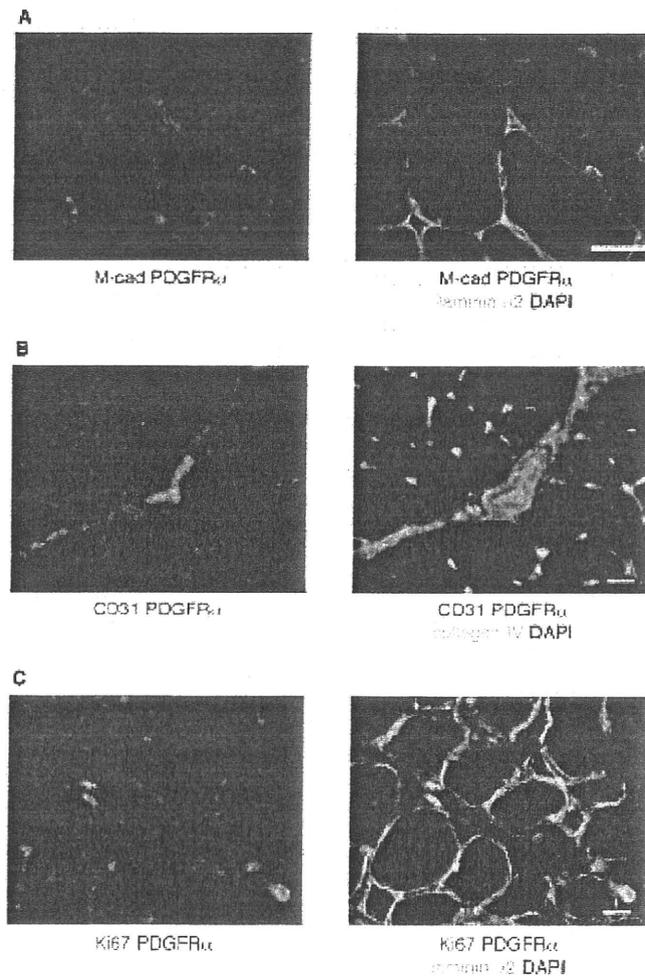


Figure 1: Localization of PDGFR α ⁺ cells in adult skeletal muscle (A and B). Tibialis anterior or gastrocnemius muscle sections were stained with antibodies against M-cadherin (M-cad), PDGFR α and laminin α 2 (A); and CD31, PDGFR α and collagen IV (B). (C) Two days after cardiotoxin injection, muscle sections were stained with anti-Ki67, anti-PDGFR α and anti-laminin α 2 antibodies. Nuclei were counterstained with DAPI. The scale bars represent 20 μ m.

Relevance of PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors to muscle pathology

In addition to their *in vitro* adipogenic potential, PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors participate in *in vivo* ectopic fat formation in skeletal muscle observed in muscle injury model (under submission). Of particular importance is that, of the muscle-derived cell populations, only PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors contribute to ectopic fat formation *in vivo*. In contrast, satellite cells only form myofibers, even in conditions that promote ectopic fat formation in skeletal muscle. Therefore, it is assumed that PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors are the sole source of adipocytes that ectopically develop in skeletal muscle. Additional support for the importance of cells other than satellite cells for adipogenesis in skeletal muscle comes

from *Pax7*^{-/-} mice. In muscles of the *Pax7* mutant, satellite cells are present at birth, but rapidly decrease in number as the mice mature, and are severely depleted in young adult mice (27, 30). The *Pax7* mutant shows severe defects in muscle regeneration with extensive adipocyte infiltration (21), suggesting that adipogenesis of non-satellite cells occurs at the expense of satellite cell-dependent myogenesis. From this viewpoint, the behavior of PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors in the *Pax7* mutant is of great interest. The pathological relevance of PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors is further supported by the results obtained with human muscles where these cells are frequently observed in proximity to ectopically formed adipocytes.

Because MSCs can give rise to both adipocytes and fibroblasts, we found that PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors participate in the formation of fibrous connective tissue. A striking increase in the number of PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors coincided with increased fibrous connective tissue in the *mdx* diaphragm where muscle fibrosis is prominent (Our unpublished data). Real-time quantitative PCR analyses revealed that the expression of fibrogenic genes is exclusively enriched in PDGFR α ⁺ cells. PDGFR α ⁺ cells in dystrophic muscle do not stain positive for α -smooth muscle actin, and therefore exhibit a fibroblastic phenotype instead of a myofibroblastic phenotype. Although myofibroblasts are well known to be involved in fibrosis of several organs such as the lung (28), kidney (31) and liver (5), one should consider that they are seldom identified in muscle diseases except for nodular fasciitis (44) and pseudomalignant myositis ossificans (29). PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors seem to be involved in diverse range of muscle diseases because an increase in fibrous connective tissue is the prominent pathologic change observed not only in DMD, but also in many other disease conditions where there is significant loss of muscle cells (4, 22).

PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors also appear to be involved in other muscle pathologies, such as the heterotopic ossification that develops in fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP). Overexpression of bone morphogenetic protein (BMP)-4 was reported in cell lines established from FOP patients (34). More recently, a recurrent mutation in activin receptor IA/activin-receptor like kinase 2 (ACVR1/ALK2), a BMP type I receptor, was reported in all sporadic and familial cases of classical FOP, making this one of the most highly specific disease-causing mutations in the human genome (38). Thus dysregulation of BMP signaling is a molecular mechanism that appears to underlie the pathogenesis of FOP. To investigate the possible contribution of PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors to FOP pathology, we treated PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors with BMP in parallel with other muscle-derived cells. PDGFR α ⁺ mesenchymal progenitors were the most sensitive cell population to BMP stimulation as they readily differentiated into alkaline phosphatase (ALP)⁺ osteoblasts expressing bone-related genes, even at a concentration of BMP of 100 ng/ml (Figure 2A and unpublished data).

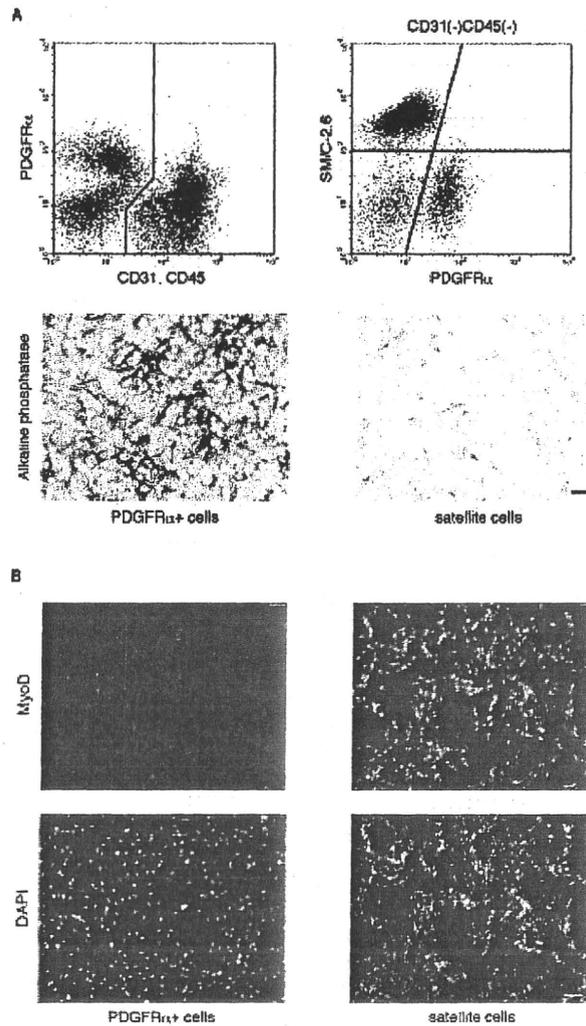


Figure 2: Osteogenic potential of muscle-derived cells. (A) Whole mononucleated cells enzymatically isolated from skeletal muscle were fractionated based on the expression of cell surface markers: CD31 as an endothelial marker, CD45 as a pan-hematopoietic marker, SM/C-2.6 as a marker for satellite cells, and PDGFR α . A mixed population of CD31⁺ and CD45⁺ cells did not proliferate in culture. CD31⁻CD45⁻SM/C-2.6⁻PDGFR α ⁻ cells proliferated poorly and became senescent. CD31⁻CD45⁻PDGFR α ⁺ cells and CD31⁻CD45⁻SM/C-2.6⁺ cells (satellite cells) proliferated actively. These two populations were treated with BMP-4 (100 ng/ml) and alkaline phosphatase activity was examined. (B) BMP-4-treated PDGFR α ⁺ cells and satellite cells were stained with anti-MyoD antibody. Nuclei were counterstained with DAPI. The scale bars represent 50 μ m.

In contrast, satellite cells responded poorly to 100 ng/ml BMP stimulation (Figure 2A) and almost all satellite cells strongly expressed the myogenic regulatory gene MyoD even after BMP treatment (Figure 2B), indicating that osteogenic conversion of satellite cells needs a relatively high concentration of BMP, as previously reported in the myogenic cell line C2C12 (20). Given that the ALK2(R206H) mutation found in FOP resulted in only mild activation of the receptor (14), the high sensitivity to BMP signaling raises the possibility that PDGFR α ⁺