

## 骨格筋再生過程における Myostatin および関連蛋白の検討

研究協力者：村田顕也

共同研究者：高橋麻衣子、中山宜昭、森めぐみ、伊東秀文

和歌山県立医科大学 神経内科

### A：研究目的

Myostatin (MSTN)は、骨格筋に特異的に発現する TGF $\beta$  スーパーファミリーに属するサイトカインである。MSTN は、activin receptor IIB (ActR IIB)と結合後、Smad 依存性/非依存性経路を活性化し、筋分化や筋肥大を誘導する遺伝子群の発現を抑制し、筋線維萎縮を促す。

今回、私たちは、Cardiotoxin (CTX)による骨格筋損傷マウスモデルと炎症性ミオパチーの生検筋の筋再生過程における MSTN と ActR IIB の発現を病理学的に検討し、その臨床的意義を解明した。

### B：研究方法

生後 8-12 週の C57BL/6 マウスの大腿内転筋群に CTX (10  $\mu$ M) を投与し、筋損傷マウスモデルを作製した。CTX 投与 1,2,3 週後に sacrifice し、損傷部の病理学的変化を、MSTN, ActRIIB, myosin-heavy chain slow (MHC-s), myosin-heavy chain developmental (MHC-d) 抗体を用い検討した。CTX の代わりに生食を投与したマウスを対照群とし同様の検討を行った。

炎症性ミオパチー(封入体筋炎、皮膚筋炎)の生検筋を用いて同様の病理学的検討を行った。

### C：研究結果

#### 筋損傷モデル

CTX 非投与群：MSTN と ActR IIB は、Type 1 陰性の萎縮筋線維の筋細胞膜と筋細胞質に発現していた。(図 1)

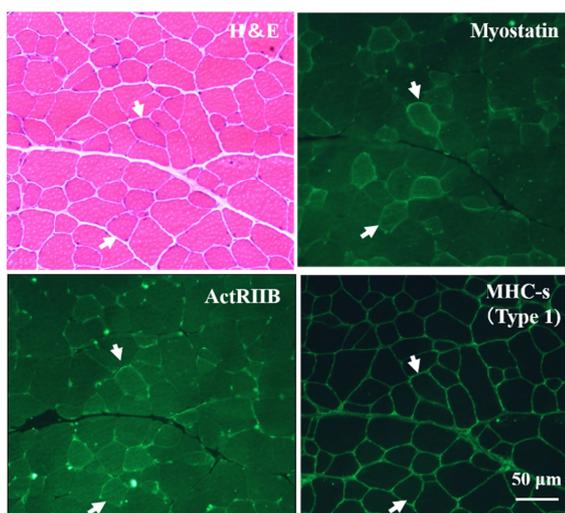


図 1 . 正常対象の病理学的検討

CTX 投与群：CTX 損傷後 1 週間目には、MSTN と ActR IIB の発現は軽度であったが（図 2）、CTX 損傷後 3 週間目には、MSTN と ActR IIB は、MHC-d 陽性の再生過程の筋線維の内在核と筋細胞質に発現していた（図 3、4）。

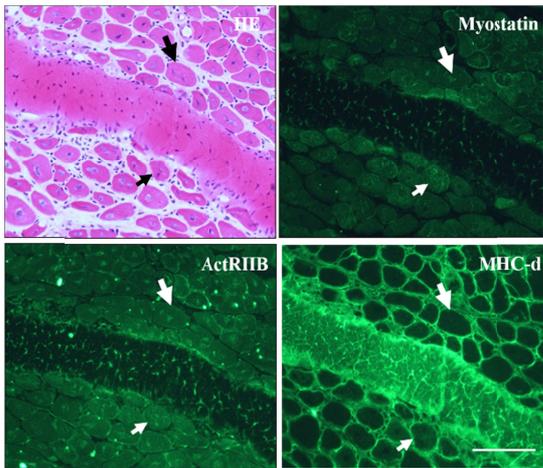


図 2 1week post CTX injury

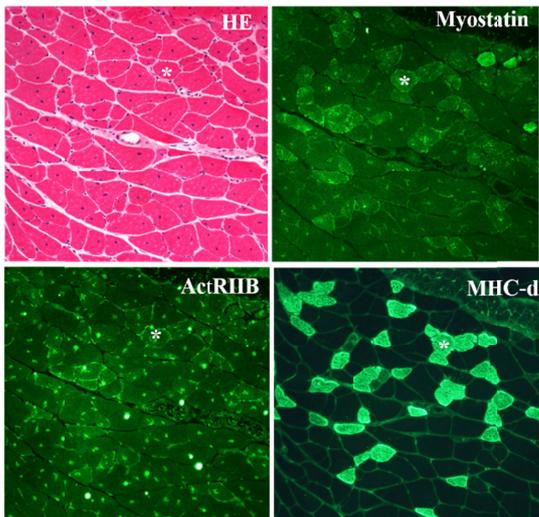


図 3 3week post CTX injury

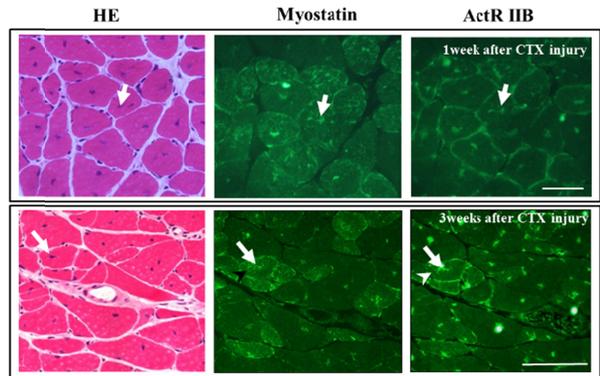


図 4 Post CTX injury

再生筋線維に占める MSTN 陽性線維の割合は損傷後の時期を問わず 42-49%であった。

また、ActR IIB 陽性筋線維は、常に MSTN 陽性を呈したが、再生筋線維に占める MSTN-ActR IIB 共陽性線維の割合は、損傷 1 週後は 8.4%、2 週後は 24.1%、3 週後は 18.3% と経時的に変化した（表 1）。

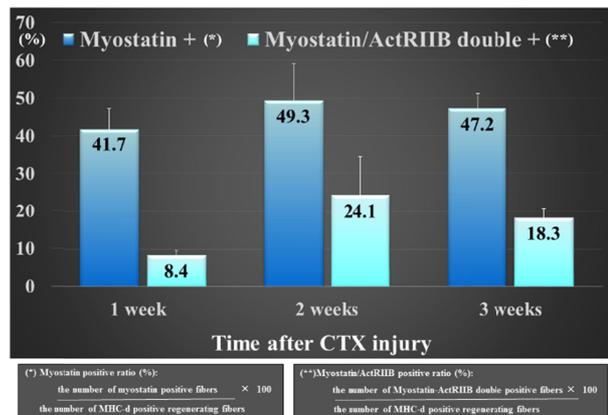


表 1 Myostatin, Myostatin/ActRIIB 陽性線維の割合

## 生検筋

s-IBM : MSTN と ActRIIB は、MHC-d 陽性の再生筋線維で発現していたが Rimmed-vacuole を有する筋線維では発現していなかった(図5)。MHC-d 陰性の高度に萎縮した筋線維でも MSTN と ActRIIB は共陽性を示した(図6)。

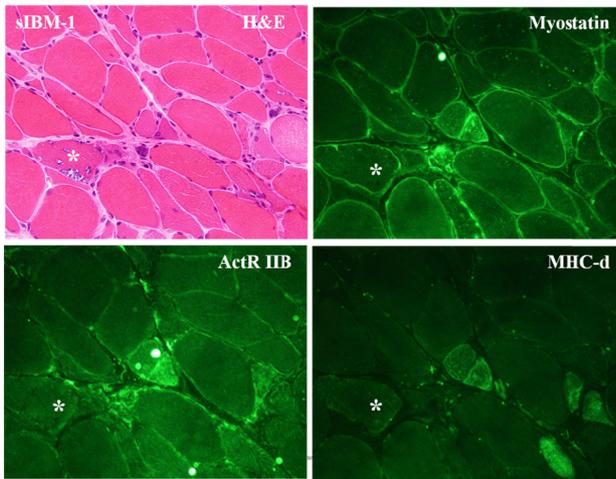


図5 s-IBM

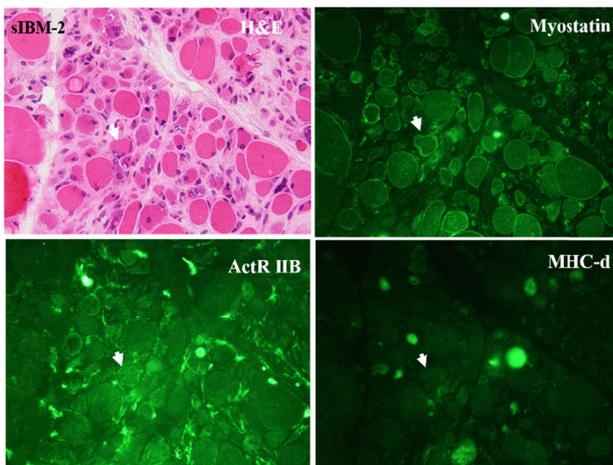


図6 s-IBM (高度萎縮部分)

皮膚筋炎 : perifascicular atrophy を来した筋線維のうち、MHC-d 陰性の萎縮筋線維において MSTN と ActRIIB は共陽性を示した(図7)

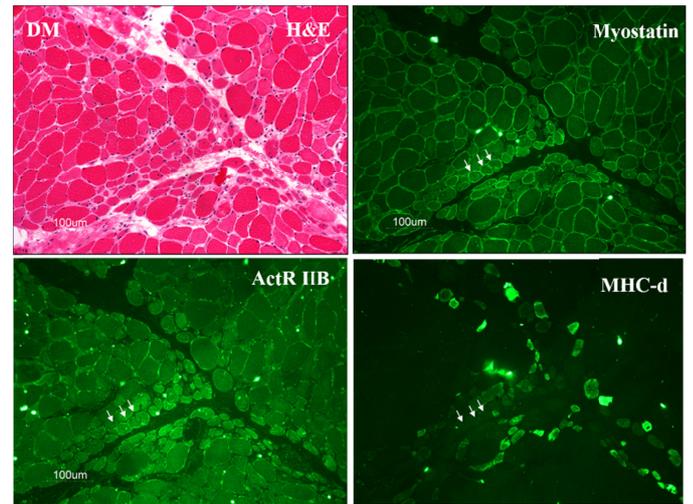


図7 皮膚筋炎

## 【考察】

Myostatin (MSTN)は、骨格筋に特異的に発現する TGF スーパーファミリーに属するサイトカインで、activin receptor IIB(ActR IIB)と結合後、Smad 依存性/非依存性経路を活性化し、筋分化や筋肥大を誘導する遺伝子群の発現を抑制し筋萎縮を促す(図8)。

MSTN は、Type 2 線維に発現するとの既報告はあるが、その受容体である ActRIIB の局在についての報告はなされていない。

今回の CTX の筋損傷モデルから、筋再生時の MSTN と ActRIIB の発現パターンは、経時的に変化し、MSTN と ActRIIB は必ずしも同一の筋線維に発現するとは限らず、double-positive 線維の割合が経時的に変化することが判明した。

また、生検筋の検討から、MHC-d 陽性再生筋線維は、MSTN 陽性と陰性群に大別され、MSTN 陽性群は更に ActR IIB 陽性と陰性群に大別された。一方、MHC-d 陰性線維は、筋萎縮を免れた MSTN 陽性・ActR IIB 陰性 Type 1 線維と MSTN 陽性・ActR IIB 陽性筋線維に大別できた。この MSTN ActR IIB double positive 線維は、皮膚筋炎の perifascicular atrophy や sIBM の高度の萎縮した筋線維で発現していた。(図 9)

以上のことから、筋傷害後、再生過程にある筋線維でまず、MSTN が発現し、その後 ActR IIB が発現した筋線維が最終的に萎縮に陥ることが推測された。

### E：結論

MSTN と ActR IIB は筋線維萎縮に関係しているが再生過程の筋線維における両者の発現は必ずしも一致していない。筋萎縮の進行の予測には共陽性再生筋線維の割合を検討することが重要である。

### Myostatin および関連蛋白の発現パターン

	1	2	3	4
Myostatin	-	+	+	+~±
ActR IIB	-	-/+	-	+
MHC-d	+	+	-	-
	再生筋線維		萎縮を免れた Type 1筋線維	高度な萎縮筋線維 (perifascicular atrophy)

### F：健康危険情報

なし

### G：研究発表

#### 論文発表

村田顕也, 伊東秀文：封入体筋炎の病態と原因.

Brain and Nerve 66, 1385-1394, 2014

### H：知的所有権の取得状況（予定を含む）

1：特許取得 2：実用新案登録

3：その他 なし

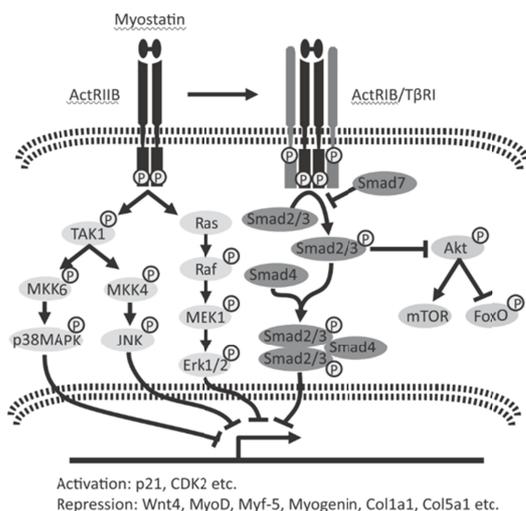


図 8 Myostatin と ActRIIB の作用機序