

5 運動筋ニッチが司る運動免疫ネットワーク制御の解明

神崎 展

【目的】本研究課題では、我々が最近に見出した運動筋ニッチ (exercise-governed favorable immune-metabolic niche) (Tsuchiya, M. et al. Cell Rep.2018) と、その現場における動員好中球などの免疫系細胞種、血管内皮細胞、そして運動筋線維からなる異種細胞間の機能連携に着目し、「運動筋ニッチがつかさどる運動免疫ネットワーク制御」の重要性を明らかにすることを目的とした。

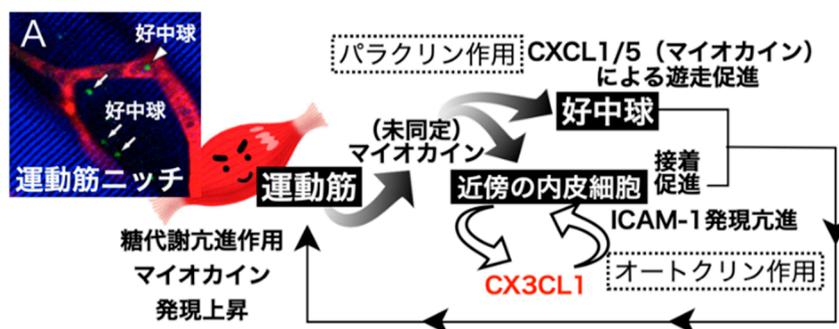
【方法】軽微な筋運動を負荷できるマウス咬筋咀嚼運動 (Gnawing) モデルを用い、一定期間の運動負荷の後に咬筋を採取して各種解析および 2 光子顕微鏡解析へと供した。筋糖代謝亢進の指標としてのインスリン反応性糖輸送担体 (GLUT4) を観察するため GLUT4-EGFP-tg マウスを用い、量子ドット (QD) 標識 Gr-1 抗体を予め投与して *in vivo* で好中球を免疫染色することで、運動筋ニッチにおける GLUT4 膜移行 (糖代謝亢進) と好中球動員 (免疫系賦活化) の連関状況を可視解析した。また、マウス筋組織内における異細胞種間の機能連携を培養系において再構成し、マウス筋細胞株 (C2C12) を用いた *in vitro exercise* モデルおよび血管内皮細胞培養系を活用した一連の実験を遂行した。

【結果】運動筋内における CX3CL1 の生理的役割を明らかにするために、CX3CL1 受容体 (CX3CR1) のアンタゴニストである AZD8797 投与による影響 (咬筋活動量・好中球動員量・筋糖代謝能) を Gnawing モデルにより調べた。その結果、(1) AZD8797 投与は、運動依存性の好中球動員を阻害し、咬筋活動量も減弱することを見出した。また、(2) 咬筋運動により、IL-6 や CXCL1、CX3CL1 および ICAM-1 の mRNA 発現が筋組織内で増加するが、AZD8797 投与は、運動依存性の IL-6、CXCL1 および ICAM-1 の mRNA 発現亢進を抑制することを見出した。一方、CX3CL1 発現亢進は AZD により抑制されず、他のマイオカイン類の調節機構と異なっていた。

(3) AZD8797 投与により運動依存性の筋糖取込および GLUT4 膜移行が有意に抑制された。(4) 免疫組織染色解析を行ったところ CX3CL1 と ICAM-1 は主に血管内皮細胞にて強い免疫染色性が認められ、筋線維自体では確認されなかった。(5) *in vitro exercise* モデルを用いた実験を行ったところ、筋細胞自体の CX3CL1 発現亢進は認められなかった。(6) 培養血管内皮細胞における CX3CL1 の mRNA 発現量は、上述の *in vitro exercise* モデルで得られた収縮筋細胞の条件培地により上昇した。

以上の結果から、運動骨格筋内の運動筋ニッチにおける異種細胞種間の機能連携の重要性を明らかにした。特に筋運動ニッチ内の収縮筋線維近傍に存在する血管内皮細胞が分泌する CX3CL1 は、運動依存性の好中球動員、さらには筋 GLUT4 膜移行と糖取込亢進と、マイオカイン類 (IL-6 や CXCL1) の発現亢進に不可欠であり、この運動筋ニッチ内での機能連携性の不全は、筋運動能力自体の低下を惹起することを明らかにした。本研究課題では比較的急性の効果について研究を行ったが、中長期的な筋適応性や、さらには加齢に伴う「運動筋ニッチ」の変容は筋可塑性の作動原理ともなり、そのシステム不全は筋機能、ひいては身体運動機能の弱体化にも関与する可能性が非常に高い。本研究成果に基づく上記の新視点からの包括的な筋運動研究は、超高齢化社会にある現代社会の喫緊の課題であると考えられる。

運動筋ニッチにおける異種細胞 (運動筋線維・内皮細胞・好中球) 連携の重要性



Chaweewannakorn, et al. Journal of Physiology. 598(1): 101-122, 2020.