

[成果情報名] プロテオミクスによる骨格筋細胞分泌因子の解析

[要約] 骨格筋細胞が分泌するタンパク質およびペプチドは、増殖から分化に至る過程でその種類と量に変化し、分泌量が分化直後にピークに達するものが多い。これらには、骨格筋組織を構築する筋・脂肪・神経・内皮細胞の増殖や分化を活性化する因子が含まれる。

[キーワード] 骨格筋、分泌性因子、網羅的解析、生理活性因子

[担当] 加工流通プロセス・品質評価保持向上

[代表連絡先] 電話 029-838-8685

[研究所名] 畜産草地研究所・畜産物研究領域

[分類] 研究成果情報

[背景・ねらい]

分泌性の増殖因子は細胞の増殖や分化の調節因子として作用する。骨格筋は運動を司る組織であるため、これまでは骨格筋細胞自体が増殖因子等の生理活性因子を積極的に分泌するとは考えられなかった。一方、骨格筋量の調節、特に筋肥大に関してはインスリン様増殖因子、ミオスタチンなどの様々な分泌性の因子が関与していることが報告されている。そこで、家畜の枝肉格付に寄与する赤身肉の歩留向上と増産を目指し、骨格筋細胞由来の分泌性因子に着目した。マウス由来の培養骨格筋細胞をモデルとして増殖から分化、成長に至る過程で分泌される因子について、プロテオームの手法を用いて網羅的発現解析を行い、発現プロファイルを作成したものである。

[成果の内容・特徴]

1. 作成された分泌因子プロファイルは、合計 8814 本の MS シグナル全てを解析して得られた 437 個のタンパク質/ペプチドからなり、そのうち約 8% が分泌性シグナルペプチドを持つタンパク質である。これらの中には成長因子に関連する分子、細胞外マトリックス構成成分、内在性タンパク質分解酵素阻害因子などを含む。
2. 細胞増殖期の発現量を基準として、各過程での発現量を標準化し相対定量を行い、発現パターンを解析すると、(1) 分化につれて分泌量が増加するパターン、(2) 分化につれて分泌量が減少するパターン、(3) 分化直後に分泌量がピークに達するパターンがあり、(3) のパターンを取る因子が多い。
3. 得られたプロファイルとこれまでの各因子の機能に関する知見から、骨格筋細胞の分泌因子について以下の特徴が挙げられる。骨格筋細胞は増殖期において脂肪細胞分化を抑制する因子、および神経細胞の誘引を忌避する因子を分泌し、分化、成長が進むにつれて筋分化や成長を促す因子、血管内皮細胞を誘引する因子、および神経細胞を誘引する因子を分泌する (表 1、図 1)。

[成果の活用面・留意点]

1. プロテオミクスの手法により作成した発現プロファイルは効率的に骨格筋肥大をもたらす因子を見いだすための研究基盤として活用できる。
2. 骨格筋細胞の分泌因子プロファイルは、増殖から分化に至る過程の培養マウス骨格筋細胞において得られたものである。
3. 図 1 は発現プロファイルの結果から得られたモデルである。見出した分泌性因子の各細胞に与える具体的な効果 (細胞増殖活性化・分化促進・成長促進など) は推定であり、確認する必要がある。

[具体的データ]

表 1. 骨格筋細胞が分泌し各細胞の増殖・成長に及ぼす因子の変動

Name (Gene ID)	G/G	D30h/G	D72h/G	D120h/G	標的候補となる細胞
<i>Lgals1</i>	1.00	1.18	1.70	1.43	骨格筋
<i>Sparc</i>	1.00	1.56	0.84	0.58	骨格筋・脂肪・内皮
<i>Psap</i>	1.00	1.52	1.74	1.46	骨格筋・神経
<i>Hmgb1</i>	1.00	1.55	1.78	1.15	骨格筋・内皮
<i>C1qtnf3</i>	1.00	3.24	3.11	2.84	脂肪
<i>Sema7a</i>	1.00	0.82	0.37	0.20	神経
<i>Ppia</i>	1.00	1.27	1.29	0.83	神経
<i>Hdgf</i>	1.00	1.46	1.52	1.00	神経・内皮
<i>Serpinf1</i>	1.00	1.01	1.19	0.78	神経・内皮
<i>Thbs1</i>	1.00	2.47	1.93	1.30	内皮

増殖から分化、成長に至る過程の骨格筋細胞の培養上清を試料とし質量分析計にて測定した。データベース検索によりタンパク質やペプチドを同定後、分泌性因子の発現プロファイルを作成した。G: 増殖期、D30h: 分化後 30 時間、D72h: 分化後 72 時間、D120h: 分化後 120 時間を示し、各時期の発現量を G の値で標準化し、1.5 倍以上の上昇を示すものは赤色、0.67 倍以下の変動を示すものは青色で示している。標的細胞は分泌性因子が作用すると考えられる細胞を示す。

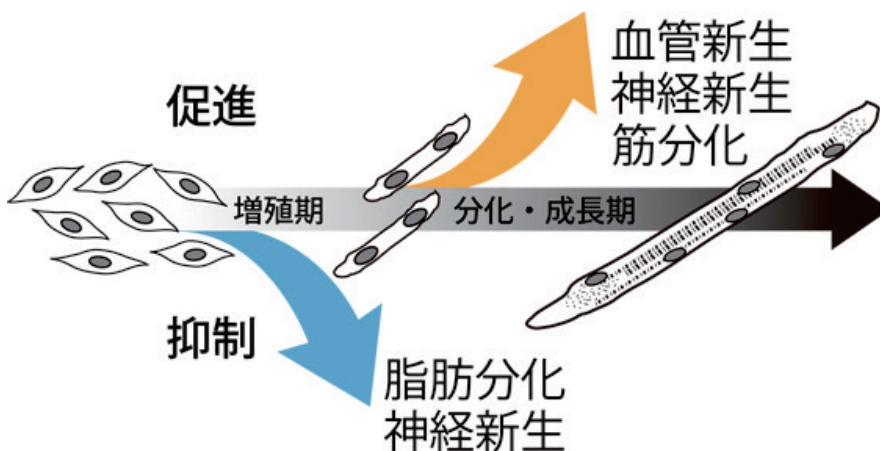


図 1 骨格筋細胞が増殖から分化、成長に至る過程で分泌する因子が他の細胞に及ぼす影響を示すモデル

(尾嶋孝一)

[その他]

中課題名：農畜産物の品質評価・保持・向上技術の開発

中課題番号：330a0

予算区分：競争的資金（科研費）

研究期間：2012～2014 年度

研究担当者：尾嶋孝一、大江美香、中島郁世、柴田昌宏、千国幸一、室谷進、西邑隆徳（北大院農）

発表論文等：Ojima K. et al. (2014) EuPA Open Proteomics 5:1-9