

Title	シングルセル解析を用いた筋衛星細胞の質と量を制御する機構の解明
Sub Title	Single-cell analysis of skeletal muscle satellite cells in regenerative conditions
Author	西山, 崇比古(Nishiyama, Takahiko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>Duchenne型筋ジストロフィー(DMD)は骨格筋のみならず心筋細胞も傷害されることが知られており、心筋細胞と骨格筋細胞との連関を明らかにすることで、疾患の新規治療の開発を目指している。骨格筋の幹細胞である筋衛星細胞は、通常は静止期にあるが筋傷害に反応し活性化・増殖・分化し、筋芽細胞を経て融合し成熟骨格筋細胞となり、筋肉としての機能維持を担っている。この筋衛星細胞が成熟骨格筋細胞へ分化するために必要な分子メカニズムを、筋衛星細胞の発現マーカーである Pax7がGFP陽性となる遺伝子改変マウスを用いて単一細胞レベルで詳細に解析を行った。Pax7-GFP陽性の遺伝子改変マウスに、蛇毒 ( Cardiotoxin; CTX ) で傷害を与えたモデル、および筋ジストロフィー症モデルマウス (mdx マウス) を使用し解析を行った。傷害骨格筋より、筋衛星細胞をPax7-GFP陽性細胞としてFACSを用いて抽出し、シングルセルRNA-seq解析を行い、単一細胞レベルでの遺伝子発現解析の結果、新規遺伝子の筋衛星細胞での役割に注目している。更に、解析結果から、ネットワーク解析を用いてリガンドと受容体の発現様式の同定と、それに関与する転写因子や遺伝子解析を組みあわせ、新規の筋ジストロフィー症の治療標的の同定を行った。現在の解析結果から、マクロファージと中心とした炎症細胞の浸潤に伴い、筋芽細胞は線維芽細胞をはじめとして多種の細胞と連関関係になっていることが判明した。特にCD44を介したシグナルが筋衛星細胞と他細胞との連関に大きく関わっていることが判明した。CD44は筋芽細胞の遊走と分化は密接に関連しており、CD44は重要な調節因子であることがすでに知られているが、我々の解析の結果により具体的な炎症細胞や線維芽細胞との密な連携があることが詳細に示された。今後さらにこれらの連関機構を詳細に解析することによって、筋肉の炎症期における再生の向上につなげていく。</p> <p>Acute sterile injury models, such as CTX-induced injury, have afforded the ability to study the cellular, molecular, and immunologic responses that govern the normal regenerative process. Furthermore, devastating diseases such as inflammatory myopathies, muscular dystrophies, and age-related sarcopenia are similarly characterized by elements of chronic inflammation. The robust regenerative potential of skeletal muscle is imperative for the maintenance of tissue function across a host of potential insults including exercise, infection, and trauma. The highly coordinated action of multiple immune populations, especially macrophages, plays an indispensable role in guiding this reparative program. However, it remains unclear how skeletal muscle repair proceeds chronically. To address this question, we used a cardiotoxin injury model to challenge the reparative potential of muscle. In a mouse with Pax7-GFP positive, a skeletal muscle exhibited multiple indicators of delayed muscle repair including a divergent morphologic response to injury and dysregulated expression of myogenic regulatory factors. Further, using a single-cell RNA sequencing approaches, we show that macrophage heterogeneity due to the emergence of restorative subsets underlies tissue repair. These data suggest that myoblast migration and differentiation are closely linked and CD44 is a key regulator. Our findings highlight how the environment within tissue alters reparative immunity and ultimately the quality of tissue regeneration.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180338">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180338</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	助教(有期・医学部)	補助額	500 (特B)千円
	氏名	西山 崇比古	氏名 (英語)	TAKAHIKO NISHIYAMA		
研究課題 (日本語)						
シングルセル解析を用いた筋衛星細胞の質と量を制御する機構の解明						
研究課題 (英訳)						
Single-cell analysis of skeletal muscle satellite cells in regenerative conditions						
1. 研究成果実績の概要						
<p>Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)は骨格筋のみならず心筋細胞も傷害されることが知られており、心筋細胞と骨格筋細胞との連関を明らかにすることで、疾患の新規治療の開発を目指している。骨格筋の幹細胞である筋衛星細胞は、通常は静止期にあるが筋傷害に反応し活性化・増殖・分化し、筋芽細胞を経て融合し成熟骨格筋細胞となり、筋肉としての機能維持を担っている。この筋衛星細胞が成熟骨格筋細胞へ分化するために必要な分子メカニズムを、筋衛星細胞の発現マーカーである Pax7 が GFP 陽性となる遺伝子改変マウスを用いて単一細胞レベルで詳細に解析を行った。Pax7-GFP 陽性の遺伝子改変マウスに、蛇毒(Cardiotoxin; CTX)で傷害を与えたモデル、および筋ジストロフィー症モデルマウス (mdx マウス) を使用し解析を行った。傷害骨格筋より、筋衛星細胞を Pax7-GFP 陽性細胞として FACS を用いて抽出し、シングルセル RNA-seq 解析を行い、単一細胞レベルでの遺伝子発現解析の結果、新規遺伝子の筋衛星細胞での役割に注目している。更に、解析結果から、ネットワーク解析を用いてリガンドと受容体の発現様式の同定と、それに関する転写因子や遺伝子解析を組みあわせ、新規の筋ジストロフィー症の治療標的の同定を行った。現在の解析結果から、マクロファージと中心とした炎症細胞の浸潤に伴い、筋芽細胞は線維芽細胞をはじめとして多種の細胞と連関関係になっていることが判明した。特に CD44 を介したシグナルが筋衛星細胞と他細胞との連関に大きく関わっていることが判明した。CD44 は筋芽細胞の遊走と分化は密接に関連しており、CD44 は重要な調節因子であることがすでに知られているが、我々の解析の結果により具体的な炎症細胞や線維芽細胞との密な連携があることが詳細に示された。今後さらにこれらの連関機構を詳細に解析することによって、筋肉の炎症期における再生の向上につなげていく。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>Acute sterile injury models, such as CTX-induced injury, have afforded the ability to study the cellular, molecular, and immunologic responses that govern the normal regenerative process. Furthermore, devastating diseases such as inflammatory myopathies, muscular dystrophies, and age-related sarcopenia are similarly characterized by elements of chronic inflammation.</p> <p>The robust regenerative potential of skeletal muscle is imperative for the maintenance of tissue function across a host of potential insults including exercise, infection, and trauma. The highly coordinated action of multiple immune populations, especially macrophages, plays an indispensable role in guiding this reparative program.</p> <p>However, it remains unclear how skeletal muscle repair proceeds chronically. To address this question, we used a cardiotoxin injury model to challenge the reparative potential of muscle.</p> <p>In a mouse with Pax7-GFP positive, a skeletal muscle exhibited multiple indicators of delayed muscle repair including a divergent morphologic response to injury and dysregulated expression of myogenic regulatory factors.</p> <p>Further, using a single-cell RNA sequencing approaches, we show that macrophage heterogeneity due to the emergence of restorative subsets underlies tissue repair. These data suggest that myoblast migration and differentiation are closely linked and CD44 is a key regulator. Our findings highlight how the environment within tissue alters reparative immunity and ultimately the quality of tissue regeneration.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			