

# iPS 細胞由来骨格筋細胞機能比較に基づく 骨格筋機能変化の探索

順天堂大学 野中里紗  
(共同研究者) 同 斉木臣二

## Comparison of Skeletal Muscle Function Based on iPS Cell-Derived Skeletal Muscle Cell

by

Risa Nonaka, Shinji Saiki  
*Department of Neurology, Juntendo University,  
School of Medicine*

### ABSTRACT

Skeletal muscle tissue is known to play an important role in not only motor function but also metabolic function in the body. It is considered that the metabolic rate in the female body is estimated about 70% of male, due to skeletal muscle mass difference. However, the mechanism, which causes skeletal muscle mass difference by gender, have not been completely clarified yet. In this study, we hypothesized that such difference in muscle mass by gender is caused by the difference in differentiation ability of muscle cell lineage. Therefore, we differentiated both female and male derived-iPSCs into skeletal muscle cells using a forced expression of h*MyoD1*. Both female and male iPSCs expressed Skeletal Muscle Actin by 9 days after h*MyoD1* overexpression. To evaluate muscle cell differentiation in both iPSCs, we continuously quantified the expression of myosin heavy chain (MHC), a marker of skeletal muscle cells, by western blotting. During the differentiation from iPSCs into muscle cells, male derived-cells began to express MHC earlier and expressed increased amount of MHC

at 9 days after h*MyoD1* overexpression compared to female derived-cells. These data may suggest that the differentiation potential into skeletal muscle might be accelerated in male-derived cells compared to female-derived cells and such characteristics might result in skeletal muscle mass difference by gender.

## 要 旨

骨格筋組織は、生命活動に重要な役割を果たすことが知られており、骨格筋量低下は運動能力低下のみならず全身性の代謝調節に影響を与える。女性の代謝調節機能は、男性の約70%と少なく、これは骨格筋量に依存すると考えられるが、性別による骨格筋量変化の機構は完全には明らかになっていない。本研究では、性差規定される筋分化能の差異を解析することを目的とし、女性由来および男性由来 iPS 細胞に h*MyoD1* 遺伝子を遺伝子導入し、既報の骨格筋細胞分化誘導法を行った。作製した女性由来および男性由来 iPSCs-MyoD 細胞においても、約9日で骨格筋細胞に発現する Skeletal Muscle Actin の発現を認め、骨格筋細胞への分化が検討可能であった。骨格筋細胞マーカーである Myosin Heavy Chain を指標とし、分化誘導過程における変化を比較検討した。その結果、女性由来細胞と比較し、男性由来細胞は早い段階から Myosin Heavy Chain (MHC) 発現を認め、経時的な増加を認め、骨格筋分化誘導能が高い傾向が示された。iPS 株数および iPS 株種の追加や更なる詳細検討により、骨格筋機能維持・強化の一助となる知見が得られることを期待する。

## 緒 言

成人の身体重量の約40%を占める骨格筋組織は、関節運動の円滑な動きや姿勢の維持の他に、熱産生による体温維持やインスリン標的組織として血糖調節などの内分泌器官として、生命活動に重要な役割を果たす為、骨格筋量低下は運

動能力低下のみならず細胞内ミトコンドリアによるエネルギー産生や血糖調節などの全身性の代謝調節に影響を与える<sup>1)</sup>。女性は男性と比較し、筋力やミトコンドリアによる代謝調節機能などが約70%と少ないが、これらは骨格筋量に依存する（一部性ホルモンとの関連が示唆されている）と考えられるものの、性別による骨格筋量変化の分子機構は完全には明らかになっていない。また、女性の骨格筋量が少ない為、加齢による骨格筋量減少とそれに伴う筋力低下を示すサルコペニアの影響を受けやすく、さらに成人期の筋力強化・維持についても男性とは異なる方法論が必要になる可能性がある。近年、骨格筋分化制御因子 *MyoD1* (Myogenic differentiation Differentiation 1) を、ヒト iPS 細胞に遺伝子導入することにより、筋芽細胞・骨格筋細胞を約2週間の培養期間で約90%近くの高効率で再現性よく得る方法が報告され<sup>2)</sup>、この方法を用いた進行性・致死性筋肉変性疾患などの疾患・病態解析が行われている<sup>3)</sup>。また iPS 細胞由来骨格筋細胞を解析に用いることで性ホルモンの影響を受けずに年齢、性差背景に規定される骨格筋細胞機能の差異を解析することが可能であると考えられる。そこで本研究では、女性由来および男性由来 iPS 細胞に h*MyoD1* 遺伝子を遺伝子導入し、骨格筋細胞分化誘導法を行い、その分化誘導過程における骨格筋細胞マーカーの変化を比較検討することで性差背景のみに規定される筋分化能の差異を解析することを目的とした。