
筋サテライト細胞を用いた培養骨格筋細胞モデルによる 食品成分及び運動効果の解析

滋賀県立大学人間文化学部生活栄養学科・教授 中井 直也

■ 目的

骨格筋量の維持・増進はメタボリックシンドロームおよびロコモティブシンドロームに対して非常に有効な対策である。身体運動、特にレジスタンス運動は骨格筋におけるタンパク質合成を高める。さらに最近、食品成分による筋肥大作用が報告され、運動との相加・相乗作用が期待されている。筋タンパク質合成を高める新規食品成分の検索や、その分子メカニズムの解明には培養細胞モデルが強力なツールとなる。これまで、骨格筋研究には株化された培養細胞である C2C12 や L6 細胞が利用されてきたが、本研究ではマウス筋サテライト細胞による培養骨格筋細胞モデルの確立を目指した。筋サテライト細胞は骨格筋に存在する幹細胞であり、骨格筋の成長、再生、肥大に重要な役割を担っている。

本研究ではまず、当モデルの妥当性を検討した。近年、唐辛子の辛味成分であるカプサイシンの骨格筋肥大作用が報告された。そこで、野生型マウスおよびカプサイシン受容体である TRPV1 遺伝子欠損マウスの骨格筋から単離したサテライト細胞にカプサイシンが及ぼす影響を検討した。さらに、単離した筋サテライト細胞を増殖・分化させて筋管細胞を作成し、運動時の筋収縮を模した電気刺激誘導性の収縮(メカニカルストレス)を負荷し、タンパク質合成に及ぼす影響を解析した。

■ 方法

7～8週齢の C57/BL6 野性型マウス(WT)および TRPV1 ノックアウトマウス(KO)の長指伸筋(EDL)を採取し、コラゲナーゼ処理により単一筋線維を得た。増殖用培地で一定期間培養の後、トリプシン-EDTA 処理により筋サテライト細胞を単離した。さらに筋サテライト細胞を増殖させ、80～90%コンフルエンスの時点で分化誘導培地に交換し、実験に供した。分化誘導3日目に最終濃度が0, 1, 10, 100 μ M になるようカプサイシンを添加し、24時間後に細胞を回収した。また、分化誘導4日目には同様の濃度でカプサイシンを添加し、30分後に細胞を回収した。さらに、高周波電気刺激(10分間)または低周波電気刺激(1時間)を行った。ウエスタンブロット分析で、タンパク質合成促進シグナルの指標となる p70 S6 kinase(p70S6K)のリン酸化を検出した。

■ 結果および考察

WT と KO のサテライト細胞は両者とも24時間の高濃度(100 μ M)カプサイシン添加により、ウエルあたりの総タンパク質量が低下した。カプサイシンを0, 1, 10 μ Mの濃度で30分間添加してもp70S6Kのリン酸化には影響を及ぼさなかったが、100 μ Mでは有意に減少した。いずれの濃度においてもp70S6Kのリン酸化はWTとKOの間には有意な差が認められなかった。一方、高周波電気刺激はWTおよびKO共にp70S6Kのリン酸化レベルを増加させた。低周波電気刺激はコントロールと差を認めなかった。

■ 結語

カプサイシンはサテライト細胞由来の筋管細胞のタンパク質合成を刺激しないことが明らかとなった。また、高周波電気刺激によるタンパク質合成促進シグナルの上昇にはTRPV1は関与しない可能性が考えられた。