

霜降り形成を分泌性因子の観点から解明する

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門畜産物研究領域・上級研究員 尾嶋 孝一

■ 目的

食肉の主体である家畜骨格筋は骨格筋細胞および脂肪細胞などで構築され、その量と分布が食肉の品質である脂肪交雑(霜降り)に直接影響する。生体内では骨格筋細胞および脂肪細胞が協調あるいは競合することで霜降りが形成されるが、霜降り形成メカニズムには不明な点が多い。そこで本研究では、生体骨格筋組織のように骨格筋細胞と脂肪細胞が共存した場合の相互作用を検証するために、同一環境内で脂肪細胞と骨格筋細胞を培養し、脂肪細胞から骨格筋細胞へ及ぼす影響を遺伝子発現レベルで解析することを目的とした。

■ 方法

骨格筋細胞と脂肪細胞を同一環境下での生育モデル系として両細胞の共培養法を用いた。細胞が放出する液性因子に焦点を絞るため、骨格筋細胞を生育させた培養ディッシュに脂肪細胞を播種したインサートを入れた共培養系を用いることで異種細胞同士の接触刺激を排除した。24時間共培養した後に骨格筋細胞からRNAを精製し、マイクロアレイチップにて網羅的な遺伝子発現変化を解析した。共培養しない細胞を対照群と比較して、2倍以上、あるいは0.5倍以下の発現比が確認された遺伝子を用いてGene Ontology(GO)解析した。GO解析で着目した遺伝子に関しては定量的PCR(qRT-PCR)にて発現レベルを確認した。

■ 結果および考察

脂肪交雑形成過程のモデルとして二つの共培養モデルを考えた。一つ目は「未分化脂肪細胞と成熟した骨格筋細胞」の組み合わせ、二つ目は「成熟した脂肪細胞と未分化骨格筋細胞」の組み合わせである。未分化脂肪細胞と共培養することで成熟した骨格筋細胞において、計29,898個の遺伝子のうち2倍以上の変動があった遺伝子は745個、0.5倍以下の変動があった遺伝子は726個であった。GO解析した結果、低酸素応答、細胞接着等に関する遺伝子の変動が見出された。qRT-PCRによる低酸素応答および細胞接着に関する代表的な遺伝子の発現結果はマイクロアレイの結果と一致した。さらに、共培養することで速筋型ミオシン重鎖の発現レベルが上昇した。一方、成熟した脂肪細胞と共培養することで未分化骨格筋細胞では、2倍以上の変動があった遺伝子は1204個、0.5倍以下の変動があった遺伝子は925個であった。GO解析した結果、低酸素応答、細胞接着、細胞増殖等に関する遺伝子の変動が見出された。代表的な低酸素応答、細胞接着、および細胞外マトリクス(ECM)成分に関する遺伝子発現はqRT-PCRにおいてもマイクロアレイの結果と一致した。さらに、共培養することで筋分化のマスターレギュレータである*MyoD*および*Myogenin*の発現レベルが上昇した。

■ 結語

本研究では、同一環境内で脂肪細胞と骨格筋細胞が共存し、異種間の細胞が接触しない条件で、脂肪細胞から骨格筋細胞へ及ぼす影響を遺伝子発現レベルで解析した。「未分化脂肪細胞と成熟した骨格筋細胞」の組み合わせで共培養した骨格筋細胞では、低酸素応答に関与する遺伝子の発現が上昇した。また、共培養することで速筋型ミオシン重鎖の発現上昇し、骨格筋細胞の質的な変化をもたらした。「成熟した脂肪細胞と未分化骨格筋細胞」で共培養した場合、骨格筋細胞では骨格筋分化マーカーの発現レベルが高くなり骨格筋分化が進むとともにECMのリモデリングも進むことが示唆された。