【綜 説】

骨 格 筋 肥 大 機 構 の 新 た な 可 能 性
組織幹細胞の関与及び他のシグナル伝達系との関係を中心に

駒 澤 純 山 田 茂

NOVEL POSSIBILITIES OF SKELETAL MUSCLE HYPERTROPHY MECHANISM
CONTRIBUTION OF STEM CELLS AND RELATIONSHIP OF OTHER SIGNALING PATHWAYS

JUN KOMAZAWA and SHIGERU YAMADA

Abstract

This review explores novel possibilities of skeletal muscle hypertrophy mechanism based on previous studies. Hypertrophy and/or regeneration of skeletal muscles are caused by activation of satellite cells, induced by mechanisms such as growth factors and cytokines. Many unsolved problems, however, yet remain concerning signaling pathways, activated by such substances, and regulation of transcriptional factors and cell cycles.

In recent years, possible involvement of not only satellite cells but also tissue-specific stem cells in skeletal muscle hypertrophy has been reported from studies made on stem cell transplantation in muscle regeneration.

It has been elucidated that differentiation plasticity of tissue-specific stem cells contributes to hypertrophy and/or regeneration of skeletal muscles. Moreover, satellite cells have come to be regarded as one kind of tissue-specific stem cells, since they have been known to exhibit diversity, by their differentiating into not only skeletal muscle cells but also other tissue cells, as well as self renewal capacity.

This review also summarizes findings on signaling pathways based on ligand receptor characterization. Among the various signaling pathways, focus was especially placed on the possibilities of Wnt signaling pathway and Notch signaling pathway on skeletal muscle hypertrophy, indicating that Wnt expression in adult muscle stem cells leads to regulation of skeletal muscle hypertrophy.

It has also become evident that Notch signaling pathway is associated with the activation of satellites cells, and that functional decline of such signaling pathway causes a decline in the activation of satellite cells. Such functional decline of Notch signaling pathway has also been revealed as the reason for the decline of regenerative capacity of skeletal muscles due to advancing age. Further discussion on the involvement of Notch signaling pathway in skeletal muscle hypertrophy is made based on these results. As indicated above, the roles of ligands and/or receptors of canonical growth factors, signaling pathways, and transcriptional factors contributing to skeletal muscle hypertrophy were reexamined in this review, after which the contribution of tissue-specific cells to skeletal muscle hypertrophy was discussed based on the results of muscle regeneration studies. Furthermore, focus was centered on Wnt and Notch signaling pathways, both of which are attracting renewed attention, and study was made on the possibility of the involvement of these pathways in skeletal muscle hypertrophy process.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 2006, 55 : 367~384)

key word : Stem cell, Satellite cell, Wnt, Notch, Aging

I . はじめに 骨格筋の肥大の捉え方

本稿では骨格筋の肥大に対する幹細胞の貢献という点から、新たな骨格筋の肥大機構の可能性につい

て論じる。この肥大機構を論じるにあたって、骨格筋の「再生」と「肥大」の定義を明らかにしておく必要がある。

筆者は生物学関係の辞典等に基づいて¹⁾筆者等に

表1. 骨格筋の再生と肥大の異同

再生	肥大
①サテライト細胞及び幹細胞の活性化	○
②筋細胞への分化(筋細胞の形成)	○
③新たな筋細胞の成長(幹細胞やサテライト細胞同士の融合)	○
④筋細胞の成熟(傷害を受けなかった正常細胞程度、細胞核、細胞の長さ、太さは既存の細胞並みに成長。さらに既存の正常筋細胞には幹細胞・サテライト細胞の融合は見られない)	④筋線維の増加・筋細胞核の増加(既存の正常筋細胞に幹細胞・サテライト細胞の融合が起こる)
⑤筋組織の形成(既存のものと置き換わる)	⑤新たな筋線維の形成(幹細胞やサテライト細胞同士の融合)
×	⑥筋組織の増大

①②③は再生・肥大に共通して見られる過程。④⑤は再生と肥大において異なる過程。
 ⑥は肥大独自にみられる過程である。(①→⑥の流れでそれぞれの過程が進行する。
 ○は肥大にも共通して見られる過程, ×は再生には見られない過程を示す。)

よる骨格筋の再生と肥大の定義を表1に示す。以下簡潔に再生と肥大の特徴を述べる。

再生とは個体の一部分が何らかの理由で失われた際にそれに該当する現象と定義される¹⁾。従って、失われた組織や器官を補うことが再生である。一方肥大は既存の組織に対して物理的・化学的な負荷により、その容積が増大することである。以上のような視点で肥大を考えると細胞の増殖や細胞核の融合など再生と類似の過程を辿る部分も存在する。従って、捉え方にもよるが筋肥大は再生機構と同時に細胞の肥大機構が同時にあるいは時間をおいて進行するものと考えられる。組織学的には同じような経緯で再生や肥大を捉えることができるが、生化学的・分子生物学的にそれらを誘導する機構が異なる可能性を視野に入れ骨格筋肥大機構を捉えなければならない。

II. 骨格筋肥大におけるシグナル伝達と転写機構

A. 骨格筋再生・肥大機構におけるサテライト細胞の役割

骨格筋の肥大は、1970年代に入るまで骨格筋細胞の個々の肥大であると考えられてきた。このように長らく考えられてきた背景には1897年に Morpurgo²⁾の行った実験結果が影響を与えてきたことにある。そして当時は、細胞数を数える以外には筋細胞

の増殖機構を確認する科学的方法がなかったために、骨格筋の肥大は個々の筋細胞の肥大であると結論付けるに至った。その後、欧米で骨格筋の肥大の研究は細胞生物学の分野を中心に研究が進展し、1970年代以降、筋肥大を誘導する因子に着目され研究が行われた。

1961年に Mauro³⁾によってサテライト細胞がカエルの骨格筋中に発見された。このことが骨格筋の再生や肥大の研究を大きく推進した。事実、サテライト細胞が発見されて以来、骨格筋再生や肥大に際してこの細胞の関与が数多く報告されている^{4~7)}。しかしながら、どのような機序でサテライト細胞が活性化され組織構築に関与するのか、その機序に関しては十分に解明されていない。おそらく再生や肥大では一部の筋細胞が壊死を起こし、その壊死細胞をマクロファージが除去し、それを補うかたちで静止状態にあったサテライト細胞が活性化して新しい筋芽細胞が形成し、新たな筋細胞形成や既存の筋細胞への融合が行われ、組織構築が行われるものと考えられている⁸⁾。事実マクロファージが欠損したマウスにおいては十分な肥大が起こらないことも確認されている⁹⁾。

1980年以降になるとモノクローナル抗体の活用により、ミオシンをはじめ収縮タンパク質のアイソフォームが相次いで発見され、新たな筋繊維の形成過

程が明らかにされた¹⁰⁾。

サテライト細胞は解剖学的には筋形質膜と基底膜の間に存在して、神経との接合部やシュワン細胞の近傍に多く分布している⁸⁾。さらにサテライト細胞の分布は筋繊維のタイプで異なり、速筋繊維よりも遅筋繊維でその3～4倍多く存在する¹²⁾。また生後から成体にいたるまでの時期と、それから老齢期に入るまでの二段階の過程で減少していくことも明らかにされた¹²⁾。

このようなサテライト細胞の減少は高齢者の筋肥大の能力を低下させることを示唆する。しかしながら実際に高齢者でもレジスタンス・トレーニングを行うことにより、十分な筋肥大が起こる¹³⁾ことからサテライト細胞以外の細胞の関与が示唆される。実際、筋肥大が起こる時に、アルブミン等の肝臓由来の指標が肥大筋で増加することや、肝幹細胞をマウスに注入して代償性肥大を起こさせると、実際に肥大筋に肝幹細胞が取り込まれることが確認されている^{14,15)}。現在のところ加齢による変化が組織幹細胞の分化能・増殖能に与える影響は全く分かっていない¹⁶⁾。従って幹細胞がどのような機序で骨格筋の肥大に貢献しているかは不明である。

B. サテライト細胞と幹細胞の増殖と分化を促す物質

従来、骨格筋の肥大時に関与する物質としてホルモンに関心が払われていたが、FGFの関与が明らかにされて以来¹⁷⁾、従来着目されたホルモンに代わって成長因子やサイトカイン等が注目されるようになった。これまで、サテライト細胞と幹細胞の増殖と分化を促す成長因子やサイトカイン等が数多く報告されている。主なものとして、FGFs¹⁸⁾、MGH¹⁹⁾、PDGF²⁰⁾、炎症性サイトカイン²¹⁾、TGF β ²²⁾、TNF α ²³⁾、IFN γ ²⁴⁾、ミオスタチン²⁵⁾、IL-15²⁶⁾、PF-4²⁷⁾などがある。これらの物質が自己分泌、傍分泌機構によってサテライト細胞や幹細胞の増殖と分化を制御している。

FGFは最初にサテライト細胞に対する成長因子として確認されたもので、TGF β によって細胞増殖をなくした条件下で筋の分化を抑制できる²⁸⁾。

骨格筋細胞の増殖や分化に対する成長因子は明らかに反対の機能を示す場合がある。FGF-8またはTGF β は培養条件やその濃度によって分化を誘導す

ることができる²⁹⁾。IGF-1は単一の受容体に結合し、最初は増殖を引き起こすが、その後、筋芽細胞の分化も引き起こす³⁰⁾。このように同じ物質が増殖及び分化といった働きを示す。このような働きが骨格筋の発達や再生過程で、どのような機序で起こるのか不明である。このような働きを明らかにするためにはin vivoにおいて、それらの物質の更なる解析が要求される。

組織構築または組織再構築にプログラム細胞死であるアポトーシスが生理的な役割を担っていることは良く知られている³¹⁾。特に胎児の発生時や筋再生においては必須の現象である。これらのプロセスにも成長因子が深く関与している。FGF-2、IGFs、PDGF-BB、インスリン、スロンピンなどは、筋芽細胞をアポトーシスから守り、TNF α は筋芽細胞のアポトーシスを促進することが知られている^{32,33)}。

様々な環境のもとで、筋組織が変化することは基本的に成長因子の活性化に働く関連する要因が変化したためと理解されている³⁴⁾。

細胞株や様々な動物からの筋芽細胞に対するサイトカインの働きに関しては十分な研究がなされていない。初代培養で胎児の筋芽細胞を用いたときにはTGF β は抑制的な作用を示さない³⁵⁾。HGFは生体においては筋形成時に、筋芽細胞の移動に関与していることが報告されている³⁶⁾。このようにサイトカインは筋芽細胞のサブタイプに対して、あるいは筋芽細胞の活動に対して様々な働きがあることと、そのタイミングがあることが理解される。従って、骨格筋の肥大で見られる再生過程もこのような視点から行わなければならない。

C. 骨格筋再生・肥大とおもなシグナル伝達系

筋の再生・肥大が起こる際、成長因子・サイトカイン等のリガンドがそれぞれ固有の受容体と結合した後、細胞内の様々なシグナル伝達系を経て核内の転写因子に働きかけ、増殖・分化の調整を行う。

再生と肥大の大部分は共通なシグナル伝達経路を通じて行われると共に、当然異なる過程を持ち独自のシグナル伝達系を持っていると思われるが、現時点ではその異同を明確に示した研究は見当たらない。ここでは受容体に着目し3つの情報伝達系について述べる。

第1は成長因子が受容体に結合されて活性化する経路であり, その主なシグナル伝達系には①MAPキナーゼ伝達系, ②PI3(ホスファチジルイノシトール3キナーゼ)伝達系の二つが挙げられる。成長因子による筋再生・肥大は, これらの伝達系を経たシグナルが核内の筋特異的転写因子を活性化させ, 筋細胞の増殖・分化に関わる遺伝子発現の結果生じる(伝達系の詳細は Fig. 1 を参照)。

IGF-1のシグナル伝達系を例にとると次のようになる。IGF-1受容体はチロシンキナーゼ群に属しているが, 4量体をとる特徴的な構造をなしている。MAPキナーゼ系では, IGF-1が受容体に結合すると細胞内にあるRasタンパクがリン酸化されて活性化し, Raf(MAPキナーゼキナーゼキナーゼ), Erk(MAPキナーゼキナーゼ)を次々とリン酸化して活性化し, 最後にMek(MAPキナーゼ), p38やJNKが活性化され核内に移動して筋特異的転写因子に働きかけ骨格筋の増殖・分化を調節する。一方PI3伝達系では, IGF-1が受容体(IGFR)に結合すると, 自らをリン酸化しIRS1をリン酸化する。そしてリン酸化されたIRS1はPI3Kを活性化する。PI3KはPIP₂と結合しPIP₃となる。PIP₃はPDK-1をリン酸化することによってPDK-1はセリン・スレオニンキナーゼであるAkt1を活性化し, Akt1はmTORをリン酸化しp70S6Kのリン酸化, 4EBP1のリン酸化によるeIF-4Bの抑制によって細胞増殖・分化の転写因子の遺伝子が働き, 骨格筋の再生・肥大を促進する³⁷⁾。

近年Akt1は筋萎縮の経路にも関わっていることが解明された。Akt1はFOXOファミリーという転写因子をリン酸化して, その下流にあるユビキチンリガーゼであるMuRF1とMAFbx(Atrogin-1)に働きかけることによってタンパク合成を低下させる³⁸⁾。このように骨格筋の肥大は萎縮と共有した経路を持っており, 特にAkt1を通じたタンパク合成と分解のバランスが重要である。

第2はサイトカインを受容して活性化するシグナル経路である。代表的なサイトカインであるLIF, ILは, Jakと呼ばれる受容体に結合し, STATというシグナルタンパク質を介して核内の転写因子に働き骨格筋の再生・肥大・萎縮などにかかわっている³⁹⁾。第3はTGF- β によって活性化されるシグナル経路で, TGF- β のII型受容体がI型受容体と結

合して二量体を形成すると, リン酸化されたI型受容体がSmadヘシグナルを伝える。筋形成で重要であるこのグループの一つであるミオスタチンは, 細胞増殖・分化を抑制する因子として注目されている⁴⁰⁾。

以上3種類の筋の再生・肥大にかかわるシグナル経路を概観したが, 実際にはそれぞれのシグナル経路は完全に独立したものではなく, クロストークというかたちで相互に複雑に作用しあっている。

D. 骨格筋再生・肥大における核内転写因子と細胞周期の調節

骨格筋細胞におけるペプチド成長因子によるシグナリング・カスケードの重要な最終目的は, 筋特異的遺伝子を調節する転写機構と細胞周期を調節する機構に二つに働きかけることである。

サテライト細胞が筋管細胞や筋繊維へ最終分化する過程は, 筋細胞特異的転写調節因子である後述するMyoD1が1987年に発見⁴¹⁾されて以来, そのメカニズムが詳細に解析されるようになった。筋形成の筋細胞への決定と分化を調整する上で必須のものは, 筋特異的転写因子のMRFファミリーとMEF2ファミリーである。

MRFファミリーはベーシック・ヘリックス・ループ・ヘリックス(bHLH)構造を持つ。そしてこのファミリーはMyoD, Myf5, myogeninとMRF4の4つからなる^{42~44)}。

一方MEF2ファミリーは, MEF2A, B, C, Dの4つサブグループからなりMRFファミリーと協同して転写を行う⁴⁵⁾。

筋発生時にMyoDとMyf5の遺伝子のいずれかを欠くと, 発生過程の進行が遅れるものの, 長期的には筋発生の進行には大きな影響をもたらさない^{46,47)}。しかしMyoDとMyf5の両方の転写因子の遺伝子を欠損した場合には, 骨格筋は形成されない⁴⁸⁾。またmyogeninを欠損したマウスにも筋形成が十分に行われない⁴⁹⁾。経時的に見るとMyf5とMyoDは筋芽細胞増殖時に発現する。続いて筋芽細胞の分化の初期にmyogeninが発現し, MRF4は分化の最終段階で発現する。

MyoDとMyf5は筋前駆細胞が筋系譜へ移行する際に働き, myogeninとMRF4は分化の初期と最終段階で, それぞれ必要とされる筋特異的遺伝子の発

Fig. 1. 骨格筋肥大・萎縮のシグナル伝達経路

①MAPキナーゼシグナル伝達経路は、リガンドが受容体に結合するとアダプタータンパクの Grb2 が Sos と結合し、その結果 Ras が活性化され、Raf(MAPKKK)のリン酸化が起き、次に MAPKK の Erk のリン酸化、MAPK の Mek, p38 のリン酸化がカスケード状に起き、核内にシグナルが伝達され核内で遺伝子の発現が起こる。②PI3シグナル伝達経路は、リガンドが受容体に結合すると PI3 キナーゼが活性化され PIP₂ が PIP₃ となる。これが PDK-1 をリン酸化し Akt1 の活性化が起きる。Akt1 が mTOR へ働きかけるとタンパク合成が起き、FOXO に働きかけるとタンパク分解が起きる遺伝子の発現がみられる。③Jak-STAT シグナル伝達経路は、リガンドの結合により Jak がリン酸化され STAT の SH2 ドメインをリン酸化し 2 量体化した STAT が核内に移行し遺伝子の発現が起こる。④TGF- β は II 型受容体にリガンドが結合すると I 型受容体と 2 量体化し Smad2.3 を集めてリン酸化し、Smad4 と複合体化し核内に移動して遺伝子を発現する。

現の調節を別々に行う⁵⁰⁾。MyoD と Myf5 は増殖している筋芽細胞に発現するため、早期の筋分化を防ぐようなネガティブに調節する機構が存在する^{51~56)}。MRFs の転写活動を調節する機構として、MyoD ファミリーは通常 E12, E47 とヘテロダイマーを形成して正常な転写が行われるが、Id1-4, Mist1, I-mf, OUT, や Stral3 等の E12 や E47 と構造の類似した転写阻害因子とヘテロダイマーを形成することによって転写活性が抑制される^{51~56)}。

また MyoD の働きを阻害する MyoR や MEF2 を抑制する ZEB などの筋分化を抑制するタンパク質も存在するが、これらが MRFs と MEF2 とが競合しあって Ebox の配列へ結合するために、MRFs や MEF2 が十分に機能しないことで通常の転写が制御される^{57,58)}。

MyoD は筋芽細胞増殖の際に過度にリン酸化されているが、筋芽細胞の分化の際にはリン酸化の程度をかなり低下させる⁵⁹⁾。過リン酸化した MyoD はプロテオゾーム依存経路を介して急速な代謝を引き起こすが、成長因子による MRFs のリン酸化機構は明らかではなく、MRFs の阻害をサイトカインがどのように調節しているかは不明である^{60,61)}。

MEF2 ファミリーは、直接 MRFs に働き筋特異的遺伝子を活性化させる。また成長因子の MEF2 のメンバーに対する働きは、MRFs に対する調節よりもはるかに優位であることが示されている^{62~64)}。

MEF2 ファミリーのメンバーである MEF2A と MEF2C は MAPKs の基質である。すなわち MAPKs による MEF2 のリン酸化は転写活動を調節している。

また IGFs は二つの独立したシグナル伝達経路で MEF2 を活性化する。その二つの経路が MAP キナーゼとカルモジュリン依存キナーゼを介してのものである (Fig. 2)。

MAPKs による MEF2 のリン酸化は、MEF2 が HDAC4・5 と結合することでその活動を阻害して、MRFs や MEF2 を経由した筋特異的遺伝子の発現を活性化していると考えられている⁶⁵⁾。

カルモジュリン依存キナーゼにおいても、カルモジュリンキナーゼによる HDAC4・5 のリン酸化が、MEF2 と HDAC の複合体の形成を妨げ HDAC を核外へ移動させるため、筋特異的遺伝子の発現を促していると考えられる⁶⁶⁾。

また筋分化プログラムの移動時は、細胞周期から

Fig. 2. 骨格筋の増殖・分化・特化に関わる転写因子及びその過程

図の左下の註に示した図形に従って、転写因子による増殖・分化・特化が促進・抑制される。中胚葉性の前駆細胞は、MyoD, Myf5 によって増殖する筋芽細胞へと誘導される。さらに Myogenin によって筋芽細胞は分化の過程に入り、MRF4 によって最終的に筋管細胞に分化する。Rb は筋芽細胞の増殖に関与するが、E2F と結合することでその能力を失う。また Cdk は Myo や Rb をリン酸化させ、これにより筋芽細胞は分化の方向へと細胞周期を移行させる。p21 や p57 は筋芽細胞の分化に働きかける。Myogenin, Cdk, E2F 及び MAPK とカルモジュリンキナーゼは MEF2 を活性化させ、筋分化を促進させる。

の不可逆的な離脱が生じている。MyoD が細胞周期の進行を阻害する正確な機構は解明されていないが、細胞が分化している間、MyoD と pRb との直接の相互作用によって細胞周期は停止している⁶⁷⁾。pRb は Cdk によって細胞周期特異的リン酸化を受け細胞増殖能を失う。そして pRb が転写因子 E2F と結合することでその増殖能を抑え、細胞周期を持続させている^{68~70)}。

MyoD の Cdk によるリン酸化は、筋芽細胞の増殖に関連する筋特異遺伝子を抑制し、急速にユビキチンを介したタンパク質の分解を引き起こし、MyoD が細胞周期からの離脱を引き起こさせる他の機構は、Cdk 阻害剤である p21 の誘導に因っている⁷¹⁾。

筋細胞株や初代培養において、血清濃度の減少やその無添加が分化を誘導し、この際細胞数の減少を伴うことが観察されている。

これと同様に最終の分化過程で起きているアポトーシスは IGF を加えることで防ぐことができる。すなわち、細胞周期の進行や筋分化に伴うアポトーシスの研究によれば、Cdk と G1 期移行に関与するサイクリン D の複合体が細胞の分化を阻害する。またアポトーシスを抑制したりや筋発生を促進するためには Cdk 阻害剤を用いることで達成される。この機構は成長因子をトリガーとし、Akt の活動を経由して起きていると考えられている^{72~80)}。

筋芽細胞の増殖や分化を調節しているシグナリング・カスケードの標的のいくつかは同定されているが、転写機構や特異的なシグナルの受容体に関する機構はまだ明らかでない。筋芽細胞の増殖、分化、生存の間の複雑な関係を解明することがこれからの課題である。

Ⅲ．幹細胞と骨格筋

A．幹細胞の種類 胚性幹細胞・組織幹細胞

幹細胞の分類は研究者によって分類方法が若干異なるが、日野ら⁸¹⁾は「胚性幹細胞」と「組織幹細胞」の二つに分類している。

胚性幹細胞とは、動物の受精卵が初期胚の段階になった時の胚盤胞に現れる胎児へと発生していく「内部細胞塊」(後に三胚葉全ての細胞に分化しうる可能性を持つ)と胎盤の形成に関与していく「栄養外胚葉」のうちの、内部細胞塊から得られる人為的

な幹細胞である。それ故自然には存在しない幹細胞ではあるが、後述するようにさまざまな細胞へと分化させるためには数多くの方法が試みられており、後述する組織幹細胞の分化機構を解明するうえでも重要である。

1981年に Evans & Kaufman によって⁸²⁾マウスの胚の内部細胞塊をフィーダー細胞(註1)の上で培養することによって初めて胚性幹細胞が作られた。その後1998年には Thomson et al.⁸³⁾によってヒトの胚性幹細胞をマウスと同じようにフィーダー細胞で培養することによって作り出した。

この胚性幹細胞は様々な細胞へと分化する能力を持つが、特別な条件なしに培養すると「胚葉体」を形成する。しかしこの胚葉体自身には分化を方向付ける能力はなく、そのままでは将来どの系列の細胞になるかは決定されておらず無秩序に分化してしまう。

そのため胚性幹細胞をある特定の細胞へ分化させるためには特別な処理が必要である。この特定の細胞へと分化させるための方法が現在大きく6種類の方法が考えられている⁸⁴⁾。

それらを列記すると①増殖因子の添加⁸⁵⁾、②「フィーダー細胞」との共培養⁸⁶⁾、③転写因子の強制発現⁸⁷⁾、④免疫化学的操作⁸⁸⁾、⑤GFP などのマーカーによる識別化⁸⁹⁾、⑥薬剤耐性遺伝子による選別⁹⁰⁾、といった処理方法によって行われている。

一方、組織幹細胞は身体組織中に通常数%の割合で含まれている比較的未分化な状態で存在する細胞である。その含まれている割合は分裂回数の多い組織ほど少ない。増殖細胞に占める幹細胞の割合を少ない順から並べると、骨髄約1%、大腸約2%、小腸約8%、表皮約20%、舌約33%となる⁹¹⁾。

この組織幹細胞は組織の再生に関わる幹細胞であるが、通常は休止状態にある細胞である。また他の細胞への分化能に関しては、造血幹細胞のような様々な血球を作り出せる分化能の比較的高いものから、皮膚のような特定の組織の再生にのみ関わるものまでであるが、一般に胚性幹細胞に比べるとかなりその分化能は限られているとされていた。そのため組織幹細胞が少なくとも異なる胚葉由来の細胞の再生に貢献する可能性はないと考えられていた。しかしながら最近の研究により、組織幹細胞には予想以上の分化能があることが明らかになってきた。

B. 筋再生と幹細胞 骨髄幹細胞の貢献

前述したとおり, 近年骨格筋の再生・肥大にサテライト細胞以外の幹細胞が関与しているという報告がなされている. その理由は肥大筋で筋細胞の核数が増加するが, その増加の程度がサテライト細胞のみでは供給できないと考えられるためである.

骨格筋の再生に幹細胞が関与することを初めて示したのは Ferrari et al.⁹²⁾の研究である. Ferrari et al. はマウスの後肢の骨格筋に再生を強力に促すコブラ毒のカルジオトキシンを注入して損傷を起こさせ再生を誘発した. そこで他のマウス(C57/MLacZ)の骨髄細胞にマーカーとなる大腸菌の β ガラクトシダーゼ(註2)を導入して, その骨髄細胞を筋再生が起きているマウスに注入したところ, β ガラクトシダーゼ導入の細胞がマウスの再生筋に発現していることを示した. これはドナー由来の骨髄細胞がレピシエントのマウスの再生筋に貢献したことを示している. サテライト細胞以外に骨格筋以外の幹細胞が貢献していることを検証されたことは, 骨格筋の再生機構がサテライト細胞のみに依っているのではないことを示唆した.

C. 幹細胞の分化の可塑性—異胚葉起源の幹細胞と筋細胞

基本的に細胞は発生段階が進むに連れて, 誘導因子によって特定の細胞に分化するように制御される. そのため発生の過程の進行とともに, 特定の方向へ運命決定されていく細胞は徐々に他の細胞に分化することが難しくなってくる. 細胞・組織は大きく外胚葉, 中胚葉, 内胚葉の三つの系列に分化していくと発生生物学者らは分類した. そして従来の発生生物学の観点から見れば, これらの胚葉間の壁を越えて他の細胞・組織に分化することはないと考えられていた⁹³⁾.

しかし1998年に Bjornson et al.⁹⁴⁾はドナーのマウス(ROSA26 H-2Kb を発現)の神経幹細胞(外胚葉由来)を致死量に近い放射線を与えたマウス(Balb/c H-2Kd を発現)に尾静脈注射をして, ドナー由来の神経幹細胞を発現している H-2Kb が, レピシエントのマウスの中胚葉由来の骨髄細胞, リンパ細胞, 初期段階の造血細胞を含んだ様々な血液細胞に見られることを確認した. この研究によって初めて組織幹細胞が胚葉の壁を越えて分化しうることが示され

た.

その後 Galli et al.⁹⁵⁾は, マウス(MLC3F/nlacZ)の前脛骨筋にカルジオトキシンを注入して損傷を起こさせ, ドナーのマウスの神経幹細胞を尾静脈注射して, 再生した前脛骨筋にドナー由来の神経幹細胞(マーカーとして導入した β -ガラクトシダーゼを発現)が合体していることを見出した.

Rietze et al.⁹⁶⁾は, GFP 陽性の神経幹細胞とマウスの細胞株である C2C12 の筋原細胞とを bFGF などの増殖因子を加えて共培養を行ったところ, 多くの GFP(緑色蛍光タンパク)を発現している細胞に筋原性のマーカーである α -アクチニン-2 と, 速筋タイプのみオシン重鎖の発現を免疫組織化学的に確認した. これら神経幹細胞の分化の研究は, 生体における骨格筋に異なった胚葉の幹細胞が供給源となりうる可能性を示した.

特に Bjornson et al.⁹⁴⁾の研究は, 他の組織幹細胞の分化能についても検証する契機となり, その後多くの組織幹細胞が他の胚葉由来の細胞に分化するという研究が報告されている⁹⁷⁾.

D. 骨髄間葉系細胞の骨格筋への関与

骨髄間葉系細胞は胚葉系の間に存在している細胞であり, 突起をもつ星型の細胞がまばらな集団を作っている. これらの細胞は発生学的には沿軸中胚葉由来の細胞であるが⁹⁸⁾, 1999年に Pittenger et al.⁹⁹⁾は, この骨髄間葉系細胞から骨, 軟骨, 脂肪に分化する多能性の間葉系幹細胞を同定した. さらに, Reyes & Verfaillie¹⁰⁰⁾は骨髄間葉系細胞から心筋, 平滑筋, 血管内皮といった臓側中胚葉由来の細胞にも分化できる幹細胞を見出した.

Jiang et al.¹⁰¹⁾はこの臓側中胚葉由来の幹細胞の一つを初期杯盤胞に注入すると, 外胚葉由来の神経細胞や内胚葉性由来の肝細胞等ほとんどの細胞に分化することを示し, これを多能性成体前駆細胞と名づけた. これは長期間の培養系で得られたものではあるが, 既に特定の胚葉の系列に分化している組織幹細胞に胚性幹細胞に匹敵する高い分化能を持つことが検証されたことは, 骨格筋の再生に全ての胚葉由来の組織幹細胞が貢献できる可能性を示唆している.

骨格筋の肥大は再生機構と共通の部分を持っているため, 肥大時にも様々な組織幹細胞が貢献する可

能性をこれらの研究は示している．しかしながら骨格筋という組織一つをみても，それは神経や血管といった異なる胚葉起源の組織や細胞から構成されている．そのため骨格筋組織というレベルで見た場合に異なる胚葉起源の細胞由来の幹細胞が，筋細胞以外の組織の再生に貢献していると考えられる．骨格筋肥大時に筋細胞のみに関与している幹細胞を確認する上で，骨格筋組織内の筋細胞以外に異胚葉由来の幹細胞が貢献していないかを厳密に区別することが重要である．

E．組織幹細胞としてのサテライト細胞

サテライト細胞は，従来は骨格筋の再生・肥大のみに関わる単能性の細胞であると考えられていた⁶⁾．しかし最近の研究ではサテライト細胞は *in vitro* の状態で培養条件を変えることにより，骨細胞や脂肪細胞にも分化しうることが示され多能性を持つ細胞であることが示された¹⁰²⁾．

またサテライト細胞が他の幹細胞のように自ら枯渇しないように自己複製を行っていることは以前か

ら指摘されていた⁶⁾．このような仮説を検証するために Zammit et al.¹⁰³⁾ は，蛍光染色した Pax7 と MyoD1 の抗体を用いてサテライト細胞の増殖・分化・融合の過程を追跡した．運動刺激や損傷によって増殖を始めたサテライト細胞の大多数は Pax7⁺/MyoD⁺ となって分化し，最終的に筋細胞核へととなって筋繊維の再生・肥大に貢献するが，一部のサテライト細胞は Pax7⁺/MyoD⁻ の状態に留まっていることを見出した．Zammit et al. は この Pax7⁺/MyoD⁻ のサテライト細胞は静止状態にあり，これがサテライト細胞の自己再生に貢献しているのではないかと考えている (Fig. 3)．

以上の2点により，サテライト細胞も組織幹細胞一般の持つ性質である「多分化能」と「自己再生能」を持っている幹細胞の一つであると考えられる¹⁰⁴⁾．このような理由でサテライト細胞も組織幹細胞の一つとして扱うことにより，サテライト細胞と組織幹細胞という区別なく組織幹細胞全般が骨格筋の再生・肥大に貢献していると統一的に考えることができる．

IV．成体幹細胞 (SP 細胞) と筋由来幹細胞の骨格筋形成への貢献

A．SP 細胞 (筋SP 細胞) の発見と骨格筋細胞への分化

Goodell et al.¹⁰⁵⁾ は，Hoechst33342 (註4) という細胞の核内の DNA に取り込まれる蛍光色素で骨髓細胞を染色して FACS でそれらを分離した．その結果この色素を排出している小さな分画が見られ，そこに造血幹細胞が高濃度に含まれることを見出した．そしてこの分画を SP 細胞 (Side Population 細胞) と名付けた．Fig. 4 は FACS で分離された骨髓 SP 細胞と後述する筋 SP 細胞を示したものである¹⁰⁶⁾．

Gussoni et al.¹⁰⁷⁾ はこの骨髓 SP 細胞の筋再生への貢献を検証するために，筋ジストロフィーのモデルマウスである雌の mdx マウスの後肢に致死量に近い放射線を照射 (註5) し，他のマウスから得られた骨髓 SP 細胞を尾静脈に注入した．その結果既に骨髓幹細胞が破壊されている mdx マウスの前脛骨筋に約 4 % のジストロフィン陽性の細胞が検出され，そのうち 10～30 % がドナー由来の核と融合していることが確認された．

また彼らは初めて骨格筋からも SP 細胞を分離

Fig. 3. サテライト細胞の分化と自己複製過程．Zammit¹⁰³⁾を改編

筋繊維が刺激を受けず静止状態のときは，サテライト細胞は Pax7⁺/MyoD⁻ であるが，刺激を受け増殖を開始すると Pax7⁺/MyoD⁺ の状態になり，それらの大半は筋細胞核へと分化する．さらに増殖が進行すると，Pax7⁺/MyoD⁻ のサテライト細胞が一部共存するようになり，これらは静止状態を保ちながら，サテライト細胞の自己複製に貢献する．

註+：陽性 (存在する) -：陰性 (存在しない)

Fig. 4. 骨髄 SP 細胞と筋 SP 細胞. 朝倉¹⁰⁶⁾より許可を得て転載

Hoechst33342 で染色した骨髄細胞, 筋細胞を FACS で分離すると, 左下に突出した弱染色される分画が現われ, これを side population (SP) と呼ぶ. 色素の排出を阻害する薬剤 verapamil を加えるとこの分画は消出する.

し, 同じく雌の mdx マウスに致死量に近い放射線を照射し, 他のマウスから得られた骨格筋 SP 細胞を尾静脈注射したところ, mdx マウスの前脛骨筋に骨髄 SP 細胞に比べると少数ながら, ジストロフィン陽性の細胞とドナー由来の核の融合を確認した.

この研究は先の Ferrari et al.⁹²⁾の研究と並んで組織幹細胞の移植による骨格筋の再生の研究の先駆となるものである. さらにこの研究は骨格筋の中にサテライト細胞とは異なる筋形成能力を持った細胞集団を発見したことで画期的であった. しかし SP 細胞はどの組織からも得られ, 各組織の SP 細胞の性質の異同は現在不明な部分が多い.

B. サテライト細胞と筋 SP 細胞 成体筋幹細胞の存在

Pax7 遺伝子 (註 6) はサテライト細胞に特異的に発現している遺伝子であり, Pax7 遺伝子を破壊したマウスにはサテライト細胞は発現しない. しかしこの Pax7 遺伝子ノックアウトマウスに筋 SP 細胞は存在していることから, 筋 SP 細胞はサテライト細胞とは異なった成体筋幹細胞であると考えられる.

また野生種のマウス (Balb/c) と Pax7 遺伝子ノックアウトマウスから FACS で得られた筋 SP 細胞を比較したところ, 両方で量的な有意差はなかった. しかし両者の SP 細胞を 2 週間培養した後に, コロニーにおける細胞を免疫組織学的に確認したところ, Pax7 遺伝子ノックアウトマウスは野生種に比べ 10 倍もの十分な血球分化能は持っているが筋形成能は殆んどなかった. この事実は筋 SP 細胞が筋形成に正常に機能するためには, Pax7 遺伝子が何らかの調整機能を果たしていると考えられている (Fig. 5).

また筋 SP 細胞はそれ自身では筋細胞へ分化することではなく, 正常な筋細胞と共培養すると筋形成を行うことができるため, Pax7 遺伝子が骨格筋細胞への分化を助ける機能があると考えられている¹⁰⁸⁾.

C. 筋 SP 細胞の二つの下位集団の発見 Sca1⁺/CD45⁺ と Sca1⁺/CD45⁻

Asakura et al.¹⁰⁹⁾ は, 筋 SP 細胞が造血幹細胞の分画を豊富に含み, 同時に幹細胞特異的なマーカー

Fig. 5. Pax7 ノックアウトマウスとサテライト細胞・筋 SP 細胞との関係

Pax7 ノックアウトマウスは, サテライト細胞を完全に欠如しているが, 筋 SP 細胞は存在している. このことより両者は異なった細胞集団と考えられる. しかしこのマウスの筋 SP 細胞には筋形成能がない. このため筋 SP 細胞が筋形成に貢献する際に, Pax7 が何らかのサポートをしていると考えられる.

である Scal と造血幹細胞特有の表面抗原マーカーの CD45 が発現していることを見出した。これより Scal と CD45 の二つの抗体を用いて、造血幹細胞分画を精製するために筋 SP 細胞を FACS で分離した。

その結果 Scal を発現している SP 細胞が92%、CD45 を発現している SP 細胞が16%存在することを見出した。そしてCD45 を欠くと著しく血球への分化能力を失うことから、造血能を維持するためにCD45 の存在は必須であることが示された。

さらに Asakura et al. は、Scal⁺/CD45⁺ と Scal⁺/CD45⁻ の細胞が筋形成に貢献することを示した。そして Scal⁺/CD45⁺ は血球分化への能力を持ち、Scal⁺/CD45⁻ には骨細胞や脂肪細胞へ分化するといった性質を見出した。

また Scal⁺/CD45⁻ は常に筋再生能があるが、Scal⁺/CD45⁺ は筋肉損傷時に得られたもののみの筋再生能力があり、非損傷時に得られたものには筋再生能を持たないことを見出した¹⁰⁹⁾。

このことは、Scal⁺/CD45⁺ が筋再生能を持つには、筋肉が損傷した時に組織筋中にその再生を促す因子が分泌されることを示唆している。後述するように Polesskaya et al.¹¹⁰⁾は、この因子として筋発生段階の誘導因子が関与していると仮説を立て、この細胞が筋再生能を得るためには、Wnt シグナル系が重要な鍵を握っていることを示した。

D. 筋由来幹細胞の発見と筋形成

Qu-Peterson et al.¹¹¹⁾は、骨格筋内の異なる細胞集団を、コラーゲンがコートされたシャーレに付着させ精製する技法で採取した。筋 SP 細胞は造血幹細胞の表現抗原マーカーを発現するが、Qu-Peterson et al. の分離した細胞は、造血幹細胞の表現抗体マーカーを示さない CD34⁺/Scal⁺ の細胞である。さらにこの細胞は、筋繊維の基底膜の下に存在している事が確認され、筋形成に貢献することが確認された。

このような事実から、Qu-Peterson et al. はこの CD34⁺/Scal⁺ 細胞という筋 SP 細胞やサテライト細胞とは異なる筋由来幹細胞が存在していることを示した。しかしサテライト細胞の一部は表現抗原マーカーの CD34 を発現しているので¹¹²⁾、この筋内在性細胞がサテライト細胞と異なる細胞群である

かの同定には、今後厳密な検証が必要である。

V. 筋再生・肥大への新たなシグナル伝達系の関与

A. Wnt シグナル伝達系と骨格筋の再生・肥大

Wnt は分泌性糖たんぱく質であり、胚発生段階で中胚葉由来の体節から骨格筋が分化する際に必須である。Wnt の伝達経路には、 β カテニン経路、PCP 経路、 Ca^{2+} 経路の3種類が存在する¹¹³⁾。

β カテニン経路では Wnt が7回膜貫通型の Frizzled(Frd)という受容体に結合すると、下流にある dishevelled というタンパク質が Frd を活性化させる。この結果 GSK-3 の働きが阻害され、 β カテニンのリン酸化が抑制されて β カテニンが細胞質内に蓄積される。この結果 β カテニンは核内に移行し転写因子の Tcf/Lef と結合して細胞の増殖・分化の転写活性が促進される¹¹³⁾。

Polesskaya et al.¹¹⁰⁾は、成体筋の再生過程は初期の筋発生と同様な過程を辿るという仮説に基づき、筋発生時に重要な役割を果たす Wnt の作用が再生過程でも関与するかを再生時の Scal⁺/CD45⁺ 細胞を用いて検証を行った。

まずマウスの前脛骨筋にカルジオトキシンで損傷を与えて再生を生じさせた後に、再生筋から Scal⁺/CD45⁺ の分画を FACS で分離した。そして培養を行うと MyoD とデスミンを発現する骨格筋となり、ミオシン重鎖を発現する筋管細胞になったことを免疫組織学的に確認した。

さらに Scal⁺/CD45⁺ の再生時において Wnt シグナル経路が必須かどうかを別の方法で確認した。 β カテニンの活性化は GSK-3 β を阻害することで起きるが、リチウムはこの過程を活性化し Wnt シグナル系の働きを高める。このリチウム作用を利用して EGFP トランスジェニックマウスの Scal⁺/CD45⁺ 細胞を他のマウスの初期の筋芽細胞と共培養を行ったところ、塩化リチウムを添加したものはコントロール群に対してミオシン重鎖の発現が15倍増加したことを免疫組織学的に確認した。

また初期の筋発生に Wnt と並んで重要である Shh が Scal⁺/CD45⁺ 細胞の筋形成を活性化するかを確認したが、Shh にはこのような作用が見られなかった。

さらに Polesskaya et al.¹¹⁰⁾はマウスの前脛骨筋

にカルジオトキシンによる再生を起こさせ、再生 4 日後に Wnt が発現しているかを RT-PCR(逆転写ポリメラーゼ連鎖反応)法を用いて検証した。この結果 Wnt5a と Wnt5b が筋芽細胞の増殖中に増加して、筋管細胞に分化している間にはこれらは低下した。一方 Wnt7a は筋芽細胞の増殖中には検出されず、筋管細胞へ分化する際に発現が見られることを示した。この結果は発生時において増殖・分化にそれぞれ異なる Wnt が関与するように、成体筋の再生においても増殖や分化に働く Wnt が異なっていることを示した。

また $\text{Scal}^+/\text{CD45}^+$ の発現に対する Wnt の働きを検討するため、その受容体である Frd の発現を確認するために、RT-PCR 法により確認したところ、 Frd1 、 Frd4 の二つ受容体を発現していることを明らかにした。興味深いことに、これらの発現は前脛骨筋の損傷部位の $\text{Scal}^+/\text{CD45}^+$ のみに見られ、前脛骨筋の非損傷部位には見られなかった。このことは Wnt がこの $\text{Scal}^+/\text{CD45}^+$ 幹細胞に特異的に関与することを示唆する (Fig. 6)¹¹⁰⁾。

Armstrong et al.¹¹⁴⁾ は、心筋細胞の成長に Wnt が重要な役割を演じているという先行研究から¹¹⁵⁾、骨格筋肥大時に Wnt が関与しているか実験を行った。腱切除によって足底筋に過負荷を与えて筋肥大を起こさせ、Wnt の関与を確認した。その

Fig. 6. 筋SP細胞 ($\text{Scal}^+/\text{CD45}^+$) の筋形成における Wnt の役割. Polesskaya¹¹⁰⁾ を改編
 $\text{Scal}^+/\text{CD45}^+$ 発現筋 SP 細胞が、筋芽細胞に増殖するためには Wnt5a と Wnt5b の作用が必要で、筋細胞へと分化するためには Wnt7a の作用が必要である。

結果肥大筋では β カテニンや核内の転写因子の Lef-1 が有意に増加していて、骨格筋の再生のみならず肥大においても Wnt シグナル伝達系の関与が示された。

これらの研究により、Wnt が初期の筋発生のみならず、成体における骨格筋の再生・肥大にも重要な役割を果たしていることが明らかにされた。しかしながら、Wnt がサテライト細胞を含め他の幹細胞に対して貢献しているかは今後の研究課題である。

B. Notch シグナル伝達系 サテライト細胞との関係

Notch 受容体は脊椎動物では 4 種類 (Notch1-4) が知られ、そのリガンドには Delta 1, 3, 4 と Jagged 1, 2 の 5 種類がある。リガンドが受容体に結合する前に細胞内で 1 回目の切断 (S1) を受け、リガンドが受容体に結合した後に細胞外領域と細胞膜内で 2 回の切断を受ける (S2, S3)。最後の γ セクレターゼによる切断の後に Notch の細胞内領域が核内に移行して CSL と結合し、HES 等の転写因子に働きかけ細胞の運命決定に関わる¹¹⁶⁾。

Conboy et al.¹¹⁷⁾ は筋発生に Notch シグナル伝達系が重要な役割を演じているという先行研究¹¹⁸⁾ から、Notch シグナル伝達系が、骨格筋再生時にサテライト細胞の活性化や筋芽細胞の分化へ関与について検証した。

針による穿刺やドライアイスによる損傷によりマウスの前脛骨筋の再生過程を観察したところ、96 時間後には筋線維の脇にある単核の細胞に活性化した Notch1 と Delta が免疫染色法によって確認され、Notch シグナル伝達系がサテライト細胞を活性化させ、再生の分化の後期段階に関与している事を確認した。

また Conboy et al. は加齢により筋再生時に Notch シグナル伝達系が機能低下することと、並行してサテライト細胞の活性が低下して、結果として筋再生能力が低下することを実験で示した¹¹⁹⁾。

同時に Conboy et al. は Notch の強制発現を行うと老齢マウスの筋再生能力が高まることも示した。さらに彼らは老齢マウスと幼若マウスの体の一部を縫合し、循環系を共有するパラピオーシス (並体結合) を作成して実験を行った結果、老齢マウスで

Notch シグナル伝達の機能が高まり、並行してサテライト細胞が活性化されて筋再生能力が著しく高まることを示した。このことは幼若マウスの血液を通じて運ばれてくる何らかの全身性因子によって Notch シグナル伝達系が活性化され筋再生能が改善されることを示唆している。

この事実は、加齢による筋再生能の低下がサテライト細胞自身の機能低下に因するというよりは、加齢による血液中の何らかの因子の変化に起因することを示した¹²⁰⁾。この一連の研究は Notch というシグナル伝達系が組織幹細胞のひとつであるサテライト細胞を活性化させ、骨格筋の再生に寄与している点と、骨格筋の加齢による再生能の低下の原因はサテライト細胞自身の機能の変化というよりは、加齢に伴ってサテライト細胞の活性化を低下させる未知の因子の存在を示した点で、新たな筋再生の機構の可能性を示した。

しかし Notch シグナル伝達系が他の幹細胞や骨格筋の肥大機構にどのように関わっているかは今後の課題である。

VI. 終わりに 幹細胞と骨格筋肥大の研究の展望

以上骨格筋の再生における組織性幹細胞の貢献と新たなシグナル伝達系による組織幹細胞やサテライト細胞による骨格筋再生を概観してきた。しかし現在の段階では、骨格筋肥大に組織幹細胞の貢献に関する研究は十分に行われていない。また Notch シグナル伝達による肥大機構への関与も研究されていない。特定の組織幹細胞やシグナル伝達系の関与が骨格筋の肥大に必須であることが明らかになり、再生とは異なった過程を経ることが明らかになれば、従来の骨格筋の肥大機構の理解がさらに進むものと考えられる。

註 1：フィーダー細胞とは、ある細胞を *in vitro* で培養する場合に増殖を助長したり性質の変化を防ぐ細胞であり、目的の細胞に対して接着のための基質成分や成長因子などを供用していると考えられる。

註 2：大腸菌の β ガラクトシダーゼは遺伝学標識(マーカー)であり、安定した標識であるので比較的長期にわたって遺伝子の発現を追跡するこ

とができる。またこれをコードする lacZ 遺伝子はレポーター遺伝子と呼ばれ、発現を捉えることが難しい遺伝子の制御領域の短い部分をこのレポーター遺伝子にトランスジーンとして胚に組み込む。レポーター遺伝子の検出・染色は容易にできるので、これにより様々な遺伝子を追跡することができる。

註 3：FACS (fluorescence-activated cell sorter) とは、検出したい各細胞にモノクローナル抗体で異なる色で蛍光染色して、ノズルから 1 細胞ずつ流して横からレーザー光を当て、特定の色の検出器により異なった色の細胞を分離して集積する装置である。

註 4：Hoechst33342 は核内の DNA を染色する色素で、ほとんどの細胞はこれによって染色される。しかしこの色素を排出してしまう細胞分画がわずかながら存在する。FACS で分離された結果を平面状に現した時、Fig. 3 に示したように横に飛び出した形で弱染色される部分を Side population (SP) 細胞と呼ぶ。ちなみに Hoechst33342 の排出を阻害する薬剤 verapamil を加えると SP 分画は消失する。

註 5：放射線の照射は、骨髄を提供する(ドナー)マウスの細胞を追跡するために、それを受け入れる(レシエント)マウスの骨髄細胞を破壊するために行われる。

註 6：paired-box (Pax) と呼ばれるショウジョウバエから見出されたホメオボックス遺伝子群で現在 Pax9 までが知られている。特定の Pax が欠損するとある器官の形成が行われない。Pax7 はサテライト細胞を発現する上で必要不可欠な Pax 遺伝子である。

補遺：本論分で用いた主要略号一覧

Akt : (= PKB : protein kinase b) プロテインキナーゼ B

Cdk : cyclin dependent kinase サイクリン依存性キナーゼ

E2F : E2 promotor binding factor

ERK : extracellular signal-regulated kinase

FGF : fibroblast growth factor 繊維芽細胞成長因子

FOXO : Forkhead boxO

JAK : Janus kinase

JNK : c-Jun N-terminal kinase Jun-N 末端キナーゼ

IGF : insulin-like growth factor インスリン様成長因子

IRS : insulin receptor substrate インスリン受容体基質

HDAC : histon deacetylase ヒストン脱アセチル化酵素

HGF : hepatocyte growth factor 肝細胞増殖因子

IGN : Inhibitor of renal gluconeogenesis

IL-15 : Interleukin-15 インターロイキン15

LIF : leukemia inhibitory factor 白血病阻害因子

MAFbx : Muscle Atrophy F-box

MAPK : mitogen-activated protein

MEF2 : myocyte enhancer binding factor2

MGF : mechano growth factor 機械的成長因子

mTOR : mammalian target of rapamycin

MRF : myogenic regulatory factor

MuRF1 : Muscle RING Finger 1

PDGF : platelet-driven growth factor 血小板由来成長因子

PDK-1 : 3-phosphoinositide-dependent kinase 1

PF4 : platelet factor 4 promoter

PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ

PIP2 : phosphatidylinositol bisophate ホスファチジルイノシトール二リン酸

PIP3 : phosphatidylinositol trisophate ホスファチジルイノシトール三リン酸

pRb : retinoblastoma protein 網膜芽細胞腫タンパク質

STAT : signal transducer and activator of transcription

TGF β : transforming growth factor- β トランスフォーミング成長因子 β

TNF α : tumor necrosis factor α 腫瘍壊死因子 α

(受理日 平成18年 6月15日)

文 献

- 1) 岩波生物学辞典 第4版 岩波書店, 東京, 1996, 502-503, 1153-1157.
- 2) Morpurgo, B. Über Aktivitäts-Hypertrophin der wirklichen Muskeln. Virchow. Archiv(1897), **150**, 552-554.
- 3) Mauro, A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. J. Bio-Phy.Biochem(1961) **9**, 493-495.
- 4) White, T. P., & Esser, K. A. Satellite cell and growth factor involvement in skeletal muscle growth. Med. Sci. Sports. Exerc(1989) **5**, 158-163.
- 5) Vierck J., O'Reilly B., Hossner K., Antonio J., Byrne K., Bucci L., & Dodson M. Satellite cell regulation following myotrauma caused by resistance exercise. Cell. Biol. Int(2000) **24**(**5**), 263-272.
- 6) Hawke, T. J. Myogenic satellite cell : Physiology to Molecular Biology. J. Appl. Physiol(2001) **91**, 534-551.
- 7) Dhawan, J., Rando, T. A. Stem cells in postnatal myogenesis : molecular mechanisms of satellite cell quiescence, activation and replenishment. Trends. Cell. Biol(2005) **12**, 666-673.
- 8) Bichoff, R. The satellite cell and muscle regeneration. In : Myology, New York(1994), MacGrow-Hill, 97-118.
- 9) 山田 茂, 小川芳徳. 腱切除法による骨格筋肥大時のマクロファージの役割 . 体力科学 ,(1999), **48**(**4**), 509-514.
- 10) Rubinstein, N. A., & Hob, J. F. Y. The distribution of myosin heavy chain isoforms among rat extracellular muscle fiber types. IOVS(2000) **41**(**11**), 3391-3398.
- 11) Gibson, M. C., & Schultz, E. Age-related differences in absolute numbers of skeletal muscle satellite cells. Muscle. Nerve(1983) **6**, 574-580.
- 12) Gibson, M. C., & Schultz E. The distribution of satellite cells and their relationship to specific fiber types in soleus and extensor digitorum longus muscle. Anat. Rec(1982) **202**, 329-337.
- 13) Hunter, G. R., McCarthy, J. P., & Bamman, M. M. Effects of resistance training on older adults. Sports. Med(2004) **34**(**5**), 329-348.
- 14) 山田 茂, 福永哲夫 編 . 生化学・生理学から見た骨格筋に対するトレーニング効果, 第2版, トレーニングと骨格筋肥大機構, NAP, 東京, (2003), 53-55 .
- 15) 山田 茂 . 運動による骨格筋肥大機構解明の研究小史, 体育の科学, (2005), **55**(**8**), 572-577 .
- 16) Hawke, T. J. Muscle stem cells and exercise training. Exerc. Sport. Sci. Rev(2005) **33**(**2**), 63-68.
- 17) Yamada, S., Buffinger, N., DiMario, J., Strohman, R. C. Fibroblast growth factor is stored in fiber extracellular matrix and plays a role in regulating muscle hypertrophy. Med. Sci. Sports. Exerc. 1989, **5**, 173-180.
- 18) Loughna, P. T., Mason, P., Bates, P. C. Regulation of

- insulin-like growth factor I gene expression in skeletal muscle. Symp. Soc. Exp. Biol, 1992, **46**, 319-330.
- 19) Goldspink, G. Changes in muscle mass and phenotype and the expression of autocrine and systemic growth factors by muscle in response to stretch and overload. *J. Anat*(1999) **194**, 323-334.
 - 20) Yablonka-Reuveni, Z., Balestreri, TM., Bowen-Pope, D, F. Regulation of proliferation and differentiation of myoblasts derived from adult mouse skeletal muscle by specific isoforms of PDGF. *J. Cell. Biol*(1990) **111** (4) 1623-1629.
 - 21) Shephard, R, J . Cytokine responses to physical activity, with particular reference to IL-6 : sources, actions, and clinical implications. *Crit. Rev. Immunol.* (2002) **22** (3) 165-182.
 - 22) Guttridge, D, C. Signaling pathways weigh in on decisions to make or break skeletal muscle. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab.Care*(2004) **7** (4) 443-450.
 - 23) Coletti, D., Moresi, V., Adamo, S., Molinaro, M., Sassoon, D. Tumor necrosis factor- α gene transfer induces cachexia and inhibit regeneration. *Genesis*, (2005) **43** (3) 120-128.
 - 24) Gallardo, E., De Andres I, & Illa I. Cathepsins are up-regulated by IFN- γ /STAT1 in human muscle culture : a possible active factor in dermatomyositis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol*(2001) **60** (9) 847-855.
 - 25) Wagner, K, R. Muscle regeneration through myostatin inhibition. *Curr. Opin. Rheumatol*(2005) **17** (6) 720-724.
 - 26) Quinn, L, S., Haugk, K, L., Grabstein, K, H. Interleukin-15 : a novel anabolic cytokine for skeletal muscle. *Endocrinology*(1995) **136** (8) 3669-3672.
 - 27) Ravid, K., Beeler, D, L., Rabin, M, S., Ruley, H, E, & Rosenberg, R, D. Selective targeting of gene products with the megakaryocyte platelet factor 4 promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*(1991) **88** (4) 1521-1525.
 - 28) Velleman, S, G., & McFarland, D, C. Influence of fibroblast growth factor, insulin-like growth factor I, and transforming growth factor beta on satellite cell type I collagen expression and localization during differentiation. *Cytobios*(1999) **100** (394) 101-110.
 - 29) Sakuma, K., Watanabe, K., Sano, M., Uramoto, I., & Totsuka T. Differential adaptation of growth and differentiation factor 8/myostatin, regenerating and denervated rat muscles. *Biochim. Biophys. Acta*(2000) **1497** (1) 77-88.
 - 30) Mitchell, P, J., Johnson, S, E., & Hannon, K . Insulin-like growth factor I stimulates myoblast expansion and myofiber development in the limb. *Dev. Dyn*, (2002) **223** (1) 12-23.
 - 31) Foulstone, E, J., Meadows, K, A., Holly, J, M., & Stewart, C, E. Insulin-like growth factors(IGF-I and IGF-II)inhibit C2 skeletal myoblast differentiation and enhance TNF α -induced apoptosis. *J. Cell. Physiol*(2001) **189** (2) 207-215.
 - 32) Heszele, M, F., & Price, S, R. Insulin-like growth factor I : the yin and yang of muscle atrophy. *Endocrinology*(2004) **145** (11) 4806-4812.
 - 33) Frost, R, A., & Lang, C, H. Alteration of somatotrophic function by proinflammatory cytokines. *J. Anim. Sci*, (2004) **82**, 100-109.
 - 34) Mitchell, P, J., Johnson, S, E., & Hannon, K . Insulin-like growth factor I stimulates myoblast expansion and myofiber development in the limb. *Dev. Dyn*, (2002) **223** (1) 12-23.
 - 35) Link, B, A., & Nishi, R. Opposing effects of activin A and follistatin on developing skeletal muscle cells. *Exp. Cell. Res*(1997) **233** (2) 350-362.
 - 36) Brand-Saberi, B., Muller, T, S., Wiltling, J., Christ, B., Birchmeier C. Scatter factor/hepatocyte growth factor (SF/HGF)induces emigration of myogenic cells at interlimb level in vivo. *Dev. Biol*(1996) **79** (1) 303-308.
 - 37) Sartorelli, V., & Fulco, M. Molecular and Cellular Determinants of skeletal muscle atrophy and hypertrophy. *Science. STKE*(2004) **244**, 11-27.
 - 38) Sandri, M., Sandri, C., Gilbert, A., Skurk, C., Calabria, E., Picard, A., Walsh, K., Schiaffino, S., Lecker, S., & Goldberg, A. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell*(2004) **117**, 399-412
 - 39) Tidball, J, G. Inflammatory processes in muscle injury and repair. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*(2005) **288** (2) 345-353.
 - 40) Jespersen, J., Kjaer, M., & Schjerling, P. The possible role of myostatin in skeletal muscle atrophy and cachexia. *Scand. J .Med. Sci. Sports*(2006) **16** (2) 74-82.
 - 41) Davis, R. L. Weintrub H., & Lassar, B. Expression of single transfected cDNA converts to myoblast. *Cell*, (1987) **51**, 987-1000.
 - 42) Braun, T, Buschhausen., D, G, BOrber, E., Tannich, E., & Arnold, H, H. A novel human skeletal muscle factor related to but distinct from MyoD1 induces myogenic conversion in 10T1/2 fibroblast. *EMBO. J*, **8**, 701-702.
 - 43) Wright, W, E., Sasson, D, A., & Lin, V, K. Myogenin, a factor regulating myogenesis, has a domain homologous to MyoD. *Cell*(1989) **100**, 607-617.
 - 44) Rhodes, S, J., & Konieczny, S, F. Identification of MRF4 : A new member of the muscle regulatory factor gene family. *Genes. Dev*, **3**, 2050-2061.
 - 45) Naya, F, J., & Olson, E. MEF2: a transcriptional factor for signaling pathways controlling skeletal muscle growth and differentiation. *Curr. Opin. Cell. Biol.* (1999) **11** (6) 683-688.
 - 46) Braun, T., Rudnicki, M, A., Arnold, H, H., & Jaenisch, R. Targeted inactivation of the muscle regulatory gene Myf-5 results in abnormal rib development and perinatal death. *Cell*(1992) **71**, 369-382.
 - 47) Rudnicki, M, A., Braun, T, Hinuma, S., & Jaenisch, R.

- Inactivation of MyoD in mice leads up-regulation of the myogenic HLH gene Myf-5 and results in apparently normal muscle development. *Cell*(1992) **71**, 383-390.
- 48) Runicki, M, A., Schnegelsberg, P. N., Stead, R, H., Braun, T., & Arnold, H, H. MyoD or Myf-5 is required for the formation of skeletal muscle. *Cell*, (1993) **75**, 1351-1359.
- 49) Hannon, K., Smith, C, K, I., Bales, K, R., & Santerre, R, F. Temporal and quantitative analysis of myogenic regulatory and growth factor gene expression in the developing mouse embryo. *Dev Biol*(1992) **151**, 137-144.
- 50) Pownall, M, E., & Emerson, C, P, Jr. Sequential activation of three myogenic regulatory genes during somite morphogenesis in quail embryos. *Dev. Biol*(1992) **151**(1) 67-79.
- 51) Benezra, R., Davis, R, L., Lockshon, D., Turner, D, L., & Weintraub, H. The protein Id : a negative regulator of helix-loop-helix DNA binding proteins. *Cell*, **61**, 49-59.
- 52) Chen, C, M., Kraut, N., Groudine, M., & Weintraub, H. Id-1, a novel myogenic repressor, interacts with members of the MyoD family. *Cell*(1996) **86**(5) 731-741.
- 53) Kurabayashi, M., Jeyaseelan, R., & Kedes, L. Two distinct cDNA sequences encoding the human helix-loop-helix protein Id2. *Gene*(1993) **133**(2) 305-306.
- 54) Lemerrier, C, To, R, Q., Carrasco, R, A., & Konieczny, S, F. The basic helix-loop-helix transcription factor Mist1 functions as a transcriptional repressor of myoD. *EMBO. J*(1998) **17**(5) 1412-1422.
- 55) Narumi, O., Mori, S., Boku, S., Tsuji, Y., Hashimoto, N., Nishikawa, S., & Yokota Y. OUT, a novel basic helix-loop-helix transcription factor with an Id-like inhibitory activity. *J. Biol. Chem*.(2000) **275**(5), 3510-3521.
- 56) Pagliuca, A., Bartoli, P, C., Saccone, S., & Della, Valle, G . Molecular cloning of ID4, a novel dominant negative helix-loop-helix human gene on chromosome 6p21.3-p22. *Genomics*(1995) **27**(1) 200-203.
- 57) Lu, J., Webb, R., Richardson, J, A., & Olson, E, N. MyoR : a muscle-restricted basic helix-loop-helix transcription factor that antagonizes the actions of MyoD. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*(1999) **96**(2) 552-557.
- 58) Postigo, A, A., & Dean, D, C. ZEB, a vertebrate homolog of *Drosophila* Zfh-1, is a negative regulator of muscle differentiation. *EMBO. J*(1997) **16**(13) 3935-3943.
- 59) Melcon, G., Kozlov, S., Cutler, D, A., Sullivan, T., Hernandez, L., Zhao, P., Mitchell, S., Nader, G., Bakay, M., Rottman, J, N., Hoffman, E, P., Stewart, C, L. Loss of emerin at the nuclear envelope disrupts the Rb1/E2F and MyoD pathways during muscle regeneration. *Hum. Mol. Genet*(2006) **15**(4) 637-651.
- 60) Kitzmann, M., Vandromme, M., Schaeffer, V., Carnac, G., Labbe, J, C., Lamb N, Fernandez A. cdk1- and cdk2-mediated phosphorylation of MyoD Ser200 in growing C2 myoblasts : role in modulating MyoD half-life and myogenic activity. *Mol Cell Biol*(1999) **19**(4) 3167-3176.
- 61) Song, A., Wang, Q., Goebel, M, G., & Harrington, M, A. Phosphorylation of nuclear MyoD is required for its rapid degradation. *Mol. Cell. Biol*(1998) **18**(9), 4994-4999.
- 62) Black BL, & Olson EN. Transcriptional control of muscle development by myocyte enhancer factor-2 (MEF2) proteins. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol*(1998) **14**, 167-196.
- 63) Han, J., Jiang, Y., Li, Z., Kravchenko, V, V., Ulevitch, R, J., Activation of the transcription factor MEF2C by the MAP kinase p38 in inflammation. *Nature*(1997) **386**(6622) 296-299.
- 64) Yang, C, C., Ornatsky, O, I., McDermott, J, C., Cruz, T, F., & Prody, C, A. Interaction of myocyte enhancer factor 2(MEF2)with a mitogen-activated protein kinase, ERK5/BMK1. *Nucleic. Acids. Res*(1998) **26**(20) 4771-4777.
- 65) Zhao, M., New L, Kravchenko, V, V., Kato, Y., Gram, H., di Padova, F., Olson, E, N., Ulevitch, R, J., & Han, J. Regulation of the MEF2 family of transcription factors by p38. *Mol. Cell. Biol*(1999) **19**(1) 21-30.
- 66) McKinsey, T, A., Zhang, C, L., & Olson, E, N., Activation of the myocyte enhancer factor-2 transcription factor by calcium/calmodulin-dependent protein kinase-stimulated binding of 14-3-3 to histone deacetylase 5. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (2000) **97**(26) 14400-14405.
- 67) McKinsey, T, A., Zhang, C, L., Lu, J., & Olson EN. Signal-dependent nuclear export of a histone deacetylase regulates muscle differentiation. *Nature*, (2000) **408**(6808) 106-111.
- 68) Crescenzi, M., Fleming, T, P., Lassar, A, B., Weintraub, H., & Aaronson, S, A. MyoD induces growth arrest independent of differentiation in normal and transformed cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*(1990) **87**(21) 8442-8446.
- 69) Gu, W., Schneider, J, W., Condorelli, G., Kaushal, S., Mahdavi, V., & Nadal-Ginard, B. Interaction of myogenic factors and the retinoblastoma protein mediates muscle cell commitment and differentiation. *Cell*, (1993) **72**(3) 309-324.
- 70) Taya, Y., Yasuda, H., Kamijo, M., Nakaya, K., Nakamura, Y., Ohba, Y., & Nishimura, S . Phosphorylation of the tumor suppressor gene RB protein by M-phase specific histone H1 kinase. *Princess. Takamatsu. Symp*(1989) **20**, 171-176.
- 71) Halevy, O., Novitch, B, G., Spicer, D, B., Skapek, S, X., Rhee, J., Hannon, G, J., Beach, D., & Lassar, A, B. Correlation of terminal cell cycle arrest of skeletal mus-

- cle with induction of p21 by MyoD. *Science*(1995), **267**, 1018-1021.
- 72) Schneider, J. W., Gu, W., Zhu, L., Mahdavi, V., & Nadal-Ginard, B. Reversal of terminal differentiation mediated by p107 in Rb^{-/-} muscle cells. *Science*. (1994) **264**, 1467-1471.
- 73) Guo, K., Wang, J., Andres, V., Smith, R. C., & Walsh, K. MyoD-induced expression of p21 inhibits cyclin-dependent kinase activity upon myocyte terminal differentiation. *Mol. Cell. Biol*(1995) **15**(7), 3823-3829.
- 74) Fujio, Y., Guo, K., Mano, T., Mitsuuchi, Y., Testa, J. R., & Walsh, K. Cell cycle withdrawal promotes myogenic induction of Akt, a positive modulator of myocyte survival. *Mol. Cell. Biol*(1999) **19**(7), 5073-5082.
- 75) Guo, K., & Walsh, K., Inhibition of myogenesis by multiple cyclin-Cdk complexes. Coordinate regulation of myogenesis and cell cycle activity at the level of E2F. *J. Biol. Chem*(1997) **272**(2), 791-797.
- 76) Lawlor, M. A., & Rotwein, P. Insulin-like growth factor-mediated muscle cell survival : central roles for Akt and cyclin-dependent kinase inhibitor p21. *Mol. Cell. Biol*(2000) **23**, 8983-8995.
- 77) Walsh, K. Coordinate regulation of cell cycle and apoptosis during myogenesis. *Prog. Cell. Cycle. Res*, (1997) **3**, 53-58.
- 78) Walsh, K., & Perlman, H. Cell cycle exit upon myogenic differentiation. *Curr. Opin. Genet. Dev*(1997) **7**(5), 597-602.
- 79) Wang, J., Guo, K., Wills, K. N., & Walsh, K. Rb functions to inhibit apoptosis during myocyte differentiation. *Cancer. Res*(1997) **57**(3), 351-354.
- 80) Wang, J., Walsh, K. Resistance to apoptosis conferred by Cdk inhibitors during myocyte differentiation. *Science*(1996) **273**, 359-361.
- 81) 日野裕史, 立野知世, 吉里勝利 . 幹細胞生物学と再生医学のこれから, 横田 崇, 岡野栄之 編 幹細胞研究の最前線と再生医療への応用 実験医学増刊, **19**(15), 羊土社, 東京, (2001), 12-13.
- 82) Evans, M. J., & Kaufman, M. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, (1981) **292**, 154-156.
- 83) Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., Waknitz, M. A., Swiergiel, J. J., Marshall, V. S., & Jones, J. M. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*(1998) **282**, 1145-1147.
- 84) 朝比奈欣治, 立野知世, 吉里勝利 . 絵とき再生医学入門, 羊土社, 東京, (2004), 30-36.
- 85) Brustle, O., Jones, K. N., Learish, R. D., Karram, K., Choudhary, K., Wiestler, O. D., Duncan, I. D., & McKay, R. D. Embryonic stem cell-derived glial precursors : A source of myelinating transplant. *Science*, (1999) **285**, 754-756.
- 86) Nakano, T., Kodama, H., & Honjo, T., Generation of lymphohematopoietic cells from embryonic stem cells culture. *Science*(1994) **265**, 1098-1101.
- 87) Ishizaka, S., Shiroy, A., Kanda, S., Yoshikawa, M., Tsujinoue, H., Kuriyama, S., Hasuma, T., Nakatani, K., & Takahashi K. Development of hepatocytes from ES cells after transfection with the HNF-3beta gene. *FASEB. J*(2002) **16**(11), 1444-1446.
- 88) Yamashita, J., Itoh, H., Hirashima, M., Ogawa, M., Nishikawa, S., Yurugi, T., Naito, M., Nakao, S., & Nishikawa, S. Flk1-positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors. *Nature*(2000) **408**, 92-96.
- 89) Kolossov, E., Fleischmann, B. K., Liu, K., Bloch, W., Vitachenko-Karpinski, S., Manzke, O., Ji, G. J., Bohen, H., Addicks, K., Heshlaer, J. Functional characteristics of ES cell-derived cardiac precursor cells identified by tissue-specific expression of the green fluorescent protein. *J. Cell. Biol*(1998) **143**, 2045-2056.
- 90) Soria, B., Roche, E., Berna, G., Leon-Quinto, T., Reig, J. A., & Martin F. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes*(2000) **49**(2), 157-162.
- 91) Potten, C. S., Booth, C., Hargreaves, D. The small intestine as a model for evaluating adult tissue stem cell drug targets (小腸上皮幹細胞研究の新展開 佐藤敏郎訳) 横田 崇, 岡野栄之 編 幹細胞研究の最前線と再生医療への応用 実験医学増刊, **21**(8), 羊土社, 東京, (2003), 61.
- 92) Ferrari, G., Cussela-De Angelis, G., Coletta, M., Paolucci, E., Stornaiuolo, A., Cossu, G., & Mavilio, F. Muscle Regeneration by Bone Marrow-derived Myogenic progenitors. *Science*(1998) **279**, 1528-1530.
- 93) 森 崇英, 山村研一 . 生殖と発生, 現代医学の基礎 5 , 発生の概念の再構築 , 岩波書店, 東京, (1999), 95-110.
- 94) Bjornson, C. R., Rietze, R. L., Reynolds, B. A., Mabli, M. C., & Vescovi, A. L. Turning brain into blood : Hematopoietic fate adopted by adult neural stem cell in vivo. *Science*(1999) **283**, 534-537
- 95) Galii, R., Borello, U., Gritti, A., Minasi, M.G., Bjornson, C., Coletta, M., Mora, M., De Angelis, M. G. C., Fiocco, R., Cossu, G., & Vescovi, A. I. Skeletal myogenic potential of human and mouse neural stem cells *Nature. neuro*(2000) **3**(10), 986-991
- 96) Rietze, R. L., Valcanis, H., Brooker, G. F., Thomas, T., Voss, A. K., & Bartlett, P. F. Purification of a pluripotent neural stem cell from the adult mouse brain. *Nature*(2001) **412**, 736-739
- 97) Poulson, R., Alison, M. R., Forbes, S. J., & Wright, N. A. Adult stem cell plasticity. *J. Pathol*(2002) **197**, 441-456.
- 98) 梅澤明弘 . 骨髄間質による骨・軟骨形成, 岡野栄之, 中辻憲夫 編 再生医療へと動き始めた幹細胞研究の最先端 実験医学増刊, **21**(8), 羊土社, 東京, (2003), 94.
- 99) Pittenger, M. F., Mackay, A.M., Beck, S. C., Jaiwal, R.

- K., Douglas, R., Mosca, J. D., Moorman, M. A., Simonetti, D. W., Craig, S., & Marshak, D. R. Multipotential potential of adult human mesenchymal stem cells *Science*(1999) **284**, 143-147.
- 100) Reyes, M., & Verfaillie, C. M., Characterization of multipotent adult progenitor cells, a subpopulation of mesenchymal stem cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci*(2003) **938**, 231-233.
- 101) Jiang, Y., Jahagirdar, B. N., Reinhardt, R. L., Schwartz, R. E., Keene, C. D., Ortiz-Gonzalez, X. R., Reyes, M., Lenvik, T., Lund, T., Blackstad, M., Du, J., Aldrich, S., Lisberg, A., Low, W. C., Largaespanda, D. A., & Verfaillie, C. M. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow *Nature*(2002), **418**, 41-49.
- 102) Asakura, A., Komaki, M., & Rudnicki, M. A. Muscle satellite cells are multipotential stem cells that exhibit myogenic, osteogenic, and adipogenic differentiation. *Differentiation*(2001) **68**(4-5) 245-253.
- 103) Zammit, P. S., Golding, J. P., Nagata, Y., Hudson, V., Partridge, T. A., & Beauchamp J. R. Muscle satellite cells adopt divergent fates : a mechanism for self-renewal. *J. Cell. Biol*(2004) **166**, 347-357.
- 104) Sell, S. Stem cells. *Stem cells hand book*, 1st. Ed., Humana Press, (2004) 2-7
- 105) Goodell, A., Brose, K., Paradis, G., Conner, A. S., & Mulligan, R. C. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J. Exp. Med*(1996) **183**, 1797-1806.
- 106) 朝倉 淳. 幹細胞と筋再生, 横田 崇 編 再生医学がわかる, 羊土社, 東京, (2002), 100.
- 107) Gussoni, E., Bennet, R. R., Muskiewicz, K. R., Meyrose, T., Nolte, J. A., Gilgoff, I., DenDunnen, J. T., Chamberlain, J. S., Kunkel, L. M., & Weinberg, K. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature*(1999) **401**, 390-394.
- 108) Seale, P., Sabourin, L. A., Girgis-Gabardo, A., Mansouri, A., Gruss, P., & Rudnicki, M. A. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells *Cell*(2000) **102**, 777-786.
- 109) Asakura, A., Seale, P., Girgis-Gabardo, A., & Rudnicki, M. A. Myogenic specification of side population cells in skeletal muscle. *J. Cell. Biol*(2002) **159**, 123-134.
- 110) Polesskaya, A., Seale, P., & Rudnicki, M. A. Wnt signaling induces the myogenic specification of resident CD45+ adult stem cells during muscle regeneration. *Cell*(2003) **113**, 841-852.
- 111) Qu-Petersen, Z., Deasy, B., Jankowski, R., Ikezawa, M., Cummins, J., Pruchnic, R., Mytinger, J., Cao, B., Gates, C., Wernig, A., & Huard, J. Identification of a novel population of muscle stem cells in mice : potential for muscle regeneration. *J. Cell. Biol*(2002) **157**(5) 851-64.
- 112) Beauchamp, J. R., Heslop, L., Yu, D. S., Tajbakhsh, S., Kelly, R. G., Wernig, A., Buckingham, M. E., Partridge, T. A., & Zammit, P. S. Expression of CD34 and Myf5 defines the majority of quiescent adult skeletal muscle satellite cells. *J. Cell. Biol*(2000) **151**(6) 1221-34.
- 113) 菊池 章, 幹細胞の細胞伝達～Wnt シグナル～ 仲野 徹 編 再生医療のための分子生物学, 東京, コロナ社, 2006, 187-200
- 114) Armstrong, D. D., & Esser, K. A. Wnt/ β -catenin signaling activates growth-control genes during overloaded-induced skeletal muscle hypertrophy. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol*(2005) **289**, 853-859.
- 115) Haq, S., Michael, A., Andreucci, M., Bhattacharya, K., Dotto, P., Walters, B., Woodgett, J., Kilter, H., & Force, T. Stabilization of beta-catenin by a Wnt-independent mechanism regulates cardiomyocyte growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*(2003) **100**(8), 4610-4615, 2003
- 116) 千葉 滋, 幹細胞の細胞伝達～Notch～ 仲野 徹 編 再生医療のための分子生物学, 東京, コロナ社, 2006, 228-238 .
- 117) Conboy, I. M., & Rando, T. A. The regulation of notch signaling controls satellite cell activation and cell fate determination in post natal myogenesis. *Dev. Cell*(2002) **3**, 397-409.
- 118) Nofziger, D., Miyamoto, A., Lyons, K. M., & Weinmaster, G. Notch signaling imposes two distinct blocks in the differentiation of C2C12 myoblasts. *Development*(1999) **126**(8) 1689-1702.
- 119) Conboy, I. M., Conboy, M. J., Smythe, G. M., & Rando, T. A. Notch mediated restoration of regenerative potential to aged muscle. *Science*(2003) **302**, 1575-1577.
- 120) Conboy, I. M., Conboy, M. J., Wagers, A. J., Girma, E. R., Weissman, I. L., & Rando, T. A. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to young systemic environment. *Nature*(2005) **433**, 760-764.