



Lipopolysaccharide inhibits myogenic differentiation of C2C12 myoblasts through the Toll-like receptor 4-nuclear factor- κ B signaling pathway and myoblast-derived autocrine/paracrine tumor necrosis factor- α

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2019-01-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大野, 雄康 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000215

論文内容要旨 (和文)

学位論文題名	Lipopolysaccharide inhibits myogenic differentiation of C2C12 myoblasts through the Toll-like receptor 4–nuclear factor- κ B signaling pathway and myoblast-derived autocrine/paracrine tumor necrosis factor- α (Lipopolysaccharide は Toll-like receptor 4–nuclear factor- κ B および autocrine/paracrine tumor necrosis factor- α 経路を介してマウス筋芽細胞の筋形成を抑制する)
<p>背景: Lipopolysaccharide (LPS) はグラム陰性菌細胞壁の主な構成成分である。循環血液中の LPS 濃度上昇は、敗血症だけでなく糖尿病、末期腎不全、肝硬変等の様々な内因性疾患でも認められる。(後者は metabolic endotoxemia として知られている)。骨格筋の病的萎縮はこれら全ての病態に共通する徴候である。筋力低下は日常生活動作を著しく制限し、患者の生命予後を悪化させ、大きな健康被害を引き起こす。骨格筋は、筋芽細胞から筋管細胞を経て再生修復される。この骨格筋形成プロセスの障害は、病的筋萎縮の主要な原因となり得る。しかしながら、LPS が骨格形成過程にどのような機序で、どのように影響を与えるかこれまで不明であった。</p> <p>方法: 確立した骨格筋分化モデル細胞株である、マウス筋芽細胞 C2C12 を分化誘導培地で LPS (0.1 または 1 μg/mL)、Toll like receptor (TLR) 4 signal の特異的阻害剤である TAK-242 (1 μM)、および tumor necrosis factor (TNF) -α 中和抗体 (5 μg/mL) 存在下/非存在下で培養した。骨格筋特異的タンパク質であるミオシン重鎖II、正の骨格筋分化誘導因子である myogenin、MyoD、および負の分子シグナルである myostatin の発現量をウェスタンブロット法で定量した。Nuclear factor-κB (NFκB)の活性は enzyme-linked immunosorbent assay を用いて測定した。</p> <p>結果: LPS は筋管細胞の形成、およびミオシン重鎖IIの発現を用量依存的に抑制した。LPS は用量依存的に筋芽細胞の NFκB を活性化し、myogenin および MyoD の発現量を低下させ、更に myostatin の発現量を上昇させた。LPS の筋形成抑制作用は可逆的であり、細胞死誘導などの変化ではない事が示唆された。TAK-242 および TNF-α 中和抗体は、それぞれ LPS 投与によって誘導される NFκB の活性を抑制し、myogenin、MyoD の発現量を回復させ、さらに myostatin の発現量を低下させた。その結果、筋形成能は部分的に回復した。</p> <p>結語: これらのデータは、LPS が筋芽細胞の TLR4–NFκB および autocrine/paracrine TNF-α 誘発経路を通して骨格筋形成を抑制することを示唆している。これらの経路が、敗血症や metabolic endotoxemia における病的骨格筋萎縮の一因になっている可能性がある。本研究により TLR4–NFκB および TNF-α の薬理的な制御が、LPS 誘発性骨格筋萎縮の新規の治療ターゲットになる可能性が示された。</p>	

学位論文審査結果報告書

平成29年10月27日

大学院医学研究科長 様

下記のとおり学位論文の審査を終了したので報告いたします。

【審査結果要旨】

氏名： 大野 雄康

学位論文題名： Lipopolysaccharide inhibits myogenic differentiation of C2C12 myoblasts through the Toll-like receptor 4-nuclear factor- κ B signaling pathway and myoblast-derived autocrine/paracrine tumor necrosis factor α

申請者は Lipopolysaccharide (LPS) が骨格筋形成過程に及ぼす影響を探る目的で、マウス筋芽細胞 C2C12 細胞を用いた骨格筋分化モデルにおいて薬理学的実験を行った。LPS 投与により筋分化は抑制され、この現象は Toll like receptor 4 (TLR4)の阻害剤、および Tumor necrosis factor- α (TNF- α)の中和抗体により回復した。さらに NF κ B 活性の測定結果と合わせ、この現象に TLR4-NF κ B 経路と TNF- α 経路が関与することを示唆した。

審査は3名で行われた。その過程で学位論文として記載が不足する部分についての修正を求め、これらに対して適切な改訂が行われた。培養細胞を用いた実験が主であるものの、実験は緻密かつ適切に行われており、結果と最終的な結論は妥当である。本研究は、敗血症などで見られる骨格筋萎縮メカニズムの解明と将来的な治療法開発を期待できるものであり、学術および医学的に重要な論文と考えられる。また、その内容はすでに科学雑誌に発表されている。以上より本学学位論文としての条件を十分満たしていると判定した。

論文審査委員

主査 和栗 聡

副査 挾間 章博

副査 大平 弘正