






学部長	所属長	本部長	副本部長	室長
				

令和4年 3 月 25 日

理事長 殿

学 長 殿

令和3年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症
対策支援プロジェクト研究報告書

標記の件に関しまして、別紙のとおり報告いたします。

また、本研究報告の内容は、近畿大学学術情報リポジトリ (KURepo) に公開する旨、承諾いたします。

1. カテゴリー	<input checked="" type="checkbox"/> 研究 <input type="checkbox"/> 開発・提案 /カテゴリーNo 7
2. 企画題目	エクソソームから考えるアフターコロナの筋力低下の原因

研究代表者

所 属 : 医学部 再生機能医学教室職・氏名 : 講師・高藤義正

令和3年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症 対策支援プロジェクト研究報告書

企画題目	エクソソームから考えるアフターコロナの筋力低下の原因
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部 再生機能医学教室 高藤 義正 共同研究者：医学部 再生機能医学教室 梶 博史 医学部 再生機能医学教室 河尾 直之 医学部 再生機能医学教室 水上 優哉 医学部 再生機能医学教室 大平 宇志

1. 研究、開発・提案 目的及び内容

COVID-19 感染に伴う全身的な過剰炎症は、筋力低下などの様々な後遺症を引き起こす。しかし、過剰炎症が筋組織に与える損傷が全身組織に及ぼす悪影響の機序は明らかではない。本研究では、エクソソームと呼ばれる細胞由来小胞の視点から、過剰炎症が筋細胞から産生されるエクソソームの筋や骨に対する生理作用に及ぼす影響について検討する。

2. 研究、開発・提案 経過及び成果

研究に用いる筋由来エクソソームは、マウス筋芽細胞(C2C12 細胞)、および筋芽細胞を 2%ウマ血清含有培地で 5 日間培養することで誘導した筋管細胞から単離した。炎症誘発因子である Tumor necrosis factor- α (TNF- α)を筋芽細胞および筋管細胞に添加し、48 時間培養した培養液を回収した。同様の方法で炎症刺激を行わない健常筋芽細胞、筋管細胞の培養液を回収した。各培養液を 3000×g で遠心することで細胞デブリなどの異物を除去し、0.22 μ m 径のフィルターで濾過した。エクソソームは直径 50-200 nm 程度のナノ粒子であり、フィルター濾過によってエクソソームより大きいサイズの夾雑物を除去できる。濾過した培養液を 100000×g 以上の条件で 1 時間超遠心し、沈降したペレットをエクソソームとして回収し、以降の実験に用いた。BCA 蛋白質アッセイによって、得られたエクソソーム量を測定した結果、筋芽細胞、筋管細胞共に、炎症刺激下ではエクソソームの産生量が低下する知見が得られた。

次に単離した各エクソソームの筋分化誘導能の評価を行った。筋芽細胞を 2%ウマ血清含有培地で 5 日間培養して筋管細胞へ誘導する際、各エクソソームを添加することで、筋分化への影響を検討した。その結果、健常な筋芽細胞、筋管細胞由来エクソソームは筋管分化の指標となる myosin heavy chain-1(MHC-1)の発現を促進したが、炎症状態の筋芽細胞、筋管細胞由来エクソソームは MHC-1 を促進せず、炎症刺激は筋由来エクソソームの筋分化誘導能を低下する可能性が示された。

同様に単離した各エクソソームの骨代謝活性に対する作用を検討した。まず、骨組織において骨吸収を担う破骨細胞形成への影響を検討した。マウス骨髄細胞から Macrophage colony stimulating factor (M-CSF)、Receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)によって破骨細胞を誘導する系において、各エクソソームを添加し、破骨細胞形成数を評価した。その結果、健常筋芽細胞由来エクソソームが破骨細胞形成を抑制したのに対し、炎症状態の筋芽細胞由来エクソソームは破骨細胞形成抑制能が低下していた。次に、骨形成系への影響を検討するため、マウス間葉系 ST2 細胞から Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)によって前骨芽細胞への分化を誘導する系において、各エクソソームを添加し、骨分化マーカーの発現を解析した。その結果、健常筋芽細胞由来エクソソームは Osterix、ALP、Osteocalcin といった骨分化マーカーの発現を促進したが、炎症状態の筋芽細胞由来エクソソームはそのような作用を示さなかった。これらの結果から、炎症が筋由来エクソソームの骨代謝活性を変化させる可能性が示された。

3. 本研究と関連した今後の研究、開発・提案 計画

本研究で得られた結果から、筋由来エクソソームは筋分化を促進する一方、骨吸収を抑制し、骨形成を促進する作用が示され、筋への炎症刺激はこれらの筋由来エクソソームの作用を低減した。これらの知見は、COVID-19 感染に伴う筋組織への過剰炎症が、エクソソームを介した筋組織や骨組織への保護的作用を低減する可能性を示唆する。

今後は筋への炎症刺激が筋由来エクソソームの筋や骨への生理作用に与える影響について、さらに詳細な検討を進める。同時に、炎症によって変化する筋細胞由来エクソソームの内包物(micro RNA)の解析を進めることで、炎症に伴うエクソソームの生理作用の変化に関わる責任因子を明らかにし、アフターコロナの筋力低下に関連する因子の解明を目指す。

4. 研究成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)

5. 研究、開発・提案 課題の成果発表等

--