

(抄録)

研究課題名：新たな骨格筋分化調節因子 Nsmaf の分子基盤解明

研究代表者名：中里浩一

neutral sphingomyelinase activation associated factor (Nsmaf)は中性スフィンゴミエリナーゼを活性化することでセラミド合成を調節する因子と報告されている。また Nsmaf は TNF $\alpha$  のシグナル伝達経路を調節する因子としても知られている。セラミド代謝および TNF $\alpha$  シグナルはともに炎症反応において鍵反応となる。そのため Nsmaf は炎症にともなう骨格筋萎縮などの反応において鍵分子となる可能性がある。本研究において Nsmaf をサイレンシングすることによりげっ歯類由来 C2C12 筋細胞の筋分化および筋タンパク質合成調節に関与するかを検討した。

低分子干渉 RNA (siRNA) を用いて Nsmaf 遺伝子発現を抑制 (ノックダウン ; KD) した (NsmafKD 群)。スクランブル配列を有し非特異的配列を有する siRNA 処理をコントロールとした (Scr 群)。実験はそれぞれ 6 試行実施した。遺伝子ノックダウンは筋芽細胞、筋管細胞の両方で行った。タンパク質発現はウエスタンブロットィング法、mRNA 発現は定量的逆転写 PCR 法を用いてそれぞれ定量を行った。タンパク質合成定量には SUnSET 法を用いた。

筋芽細胞において NsmafKD により分化前の細胞であっても分化が誘導されたような紡錘状の形態を示すことが観察された。分化マーカーである myogenin やミオシン重鎖などは NsmafKD により有意に発現上昇され、NsmafKD が筋分化を促進していることが示された。筋管細胞において NsmafKD によって筋管の直径が細くなる様子が観察された。筋管形態に強い影響を与えるタンパク質合成は増加していたものの、筋細胞同士の融合に関わるとされる Myomixer が NsmafKD によって有意に減少していることが観察された。

以上の結果から Nsmaf は筋分化や筋細胞融合に影響を与える新規筋分化制御因子であることが明確に示された。今後 Nsmaf が炎症反応における骨格筋萎縮においてどのような役割を果たすかを解明することが重要である。