

ふりがな	しばた まさひろ
氏名	柴田 昌宏
学位	博士(農学)
学位記番号	新大院博(農)第57号
学位授与の日付	平成17年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	黒毛和種骨格筋および筋芽細胞における Myostatin の発現解析

論文審査委員	主査 教授	門 脇 基 二
	副査 教授	鈴 木 敦 士
	副査 教授	楠 原 征 治
	副査 教授	新 村 末 雄
	副査 助教授	藤 村 忍

博士論文の要旨

Myostatin 遺伝子は McPherron ら(1997)により同定され、TGF- β スーパーファミリーに属する GDF-8 と分類された。また、彼らは当該遺伝子をノックアウトしたマウスを作製し、その表現型の解析において骨格筋の過剰発達を観察し、骨格筋成長の抑制的調節因子として報告している。さらに、ヨーロッパを中心に骨格筋が異常発達したウシとしてダブルマッスルウシが存在しており、この原因遺伝子として変異を伴った Myostatin 遺伝子が同定されている。そこで、本研究では我が国における最大の肉生産家畜である黒毛和種において、その骨格筋の発達過程および筋芽細胞の増殖および分化過程における Myostatin、また筋形成に重要な役割を担っている MRFs (筋転写調節因子群) の詳細な発現解析を実施し、骨格筋形成における Myostatin の役割を解明することを目的とした。

1. 黒毛和種生体における Myostatin および筋転写因子の発現解析

黒毛和種 Myostatin 遺伝子のアミノ酸翻訳領域 1128bp を含む 6660bp の塩基配列を解読し、Exon 翻訳領域に保存されている生物学的に重要なドメインを確認した。骨格筋の発達過程における Myostatin 遺伝子の発現は胎子期で最も強く、また筋肉の部位別では、腰最長筋(サーロイン)と比較して後肢を構成している半腱様筋で強い発現が認められた。また、骨格筋再生過程において Myostatin 遺伝子の発現は、再生後3および5日目で損傷前と比較してそれぞれ31.9% および 17.4%まで減少し、タンパク質の発現も同様に減少した。損傷後 10 日目にその発現の回復傾向が認められた。4 つの MRFs 遺伝子群については、再生過程においてその発現量が増加した。

2. 黒毛和種筋衛星細胞の分化過程における Myostatin および筋転写因子の発現解析

ウシ胎子骨格筋から単離、培養した筋芽細胞の増殖および分化過程において、各ステージにおける分子マーカーの発現および形態変化が認められた。ウシ筋芽細胞の分化過程の筋管において Myostatin の強い発現が認められた。妊娠 5 ヶ月齢 (F5m) の胎子から単離した細胞の増殖速度は妊娠 8 ヶ月齢 (F8m) のものより遅かった。細胞播種後の増殖初期における F5m 細胞の Myostatin および Myf5 遺伝子の発現は F8m 細胞よりも強かった。

黒毛和種半腱様筋において Myostatin 遺伝子の強い発現およびその再生過程で同遺伝子の発現抑制が認められたことから、黒毛和種における後肢発達の遅れの原因の1として Myostatin による骨格筋成長の抑制的調節が示唆された。また、黒毛和種の骨格筋成長において、Myostatin 遺伝子の発現量が通常の約 80%以上の抑制を受けた時に、Myostatin による骨格筋成長の抑制的調節から解除され、恒常性の範囲から逸脱した骨格筋の成長が起こることが示唆された。さらに、ウシ胎子由来筋衛星細胞および再生骨格筋組織における Myostatin 遺伝子および Myf5 遺伝子の発現パターンから、骨格筋形成初期段階において、Myostatin および Myf5 遺伝子が筋衛星細胞の休止状態からの活性化および増殖の調節に重要な役割を担っていることが示唆された。最後に、筋管形成における Myostatin 遺伝子の役割の1つに MRF4 遺伝子による筋管の過形成または成熟を抑制している可能性が示唆された。

審査結果の要旨

我が国における代表的家畜である黒毛和種の改良は、畜産学上最も重要なテーマのひとつである。本研究は、近年発見された骨格筋発達の抑制性調節因子として発見された Myostatin をいち早く畜産学の基礎的研究対象としてとらえ、実際の黒毛和種での遺伝子構造の解析に始まり、骨格筋組織中での発現の発達に伴う推移、そして骨格筋の増殖分化過程での遺伝子発現を、関連骨格筋調節因子群 (MRFs) との比較により、詳細に検討したものである。本遺伝子の研究はほとんどがマウスなどの実験動物での知見であり、実際の産業動物での知見を得られたことは画期的なことであり、今後の黒毛和種の改良に向けての基礎研究として、きわめて意義深いものと判断された。これらの成果の一部はすでに *Animal Science Journal* に掲載されており、さらに2報投稿準備中である。

よって、本申請論文は博士 (農学) の博士論文として十分であると認定した。