

骨格筋の老化機序解明を目的とした筋幹細胞維持機構に関する研究（29-47）

主任研究者 細山 徹 国立長寿医療研究センター 室長

研究要旨

3年間全体について

超高齢社会を迎えた我が国において、加齢に伴う骨格筋減弱症—サルコペニア—の予防法や治療法の開発は喫緊の課題である。近年、骨格筋幹細胞数の減少や機能変化がサルコペニア発症・増悪の一要因となる可能性が示され、サルコペニアの予防および治療標的として注目されている。しかし、個体老化に伴う骨格筋幹細胞の量的・質的制御機構の破綻が如何にして生じるのかは明らかではなく、それどころか、「成体において骨格筋幹細胞がどのような分子機構で維持制御されているのか」についてもほとんど明らかになっていない。言い換えれば、骨格筋幹細胞の維持制御機構が明らかになれば、それを糸口にしてサルコペニアの本態解明に迫ることができる。

本研究課題では、iPS細胞技術を用いた「ヒト骨格筋幹細胞未分化維持モデル」、骨格筋細胞特異的に標的因子の発現を制御することのできる「Cre ドライバーマウス」（マウス遺伝学）、高齢者および若齢者から樹立した「不死化ヒト骨格筋細胞株」、の異なる3つの実験手法を組み合わせることにより、「骨格筋幹細胞の量的・質的制御の分子機構の解明」と「幹細胞維持機構の破綻とサルコペニア発症・増悪との関連性の解明」を目指して研究を行った。研究期間を通じて様々な新規知見が得られたが、その中でも特に、**ERK** シグナルが骨格筋幹細胞の維持制御（幹細胞の細胞周期エントリーや増殖をコントロールして細胞数を維持していると思われる）において重要な役割を果たすこと、老齢動物の骨格筋幹細胞において **ERK** 活性の低下が生じていることなどを明らかにした。これらは、サルコペニアの発症や増悪における **ERK** シグナルの関与を示す重要な知見であり、サルコペニアの本態解明およびその予防法・治療法の開発へとつながるものである。

2019年度について

新規に作出した **ERK^{scKO}** マウスを用いて、骨格筋幹細胞特異的に **ERK** 遺伝子を欠損させ、骨格筋幹細胞の維持制御における **ERK** の役割について検討した。その結果、**ERK^{scKO}** マウスでは、骨格筋幹細胞の減少および筋再生不良が生じ、さらにその機序として、休止化骨格筋幹細胞の細胞周期エントリーの遅延およびその後の増殖抑制が生じることを明らかにした。前年度までに得られた「老齢マウス骨格筋幹細胞において **ERK** 活性の著しい低下」

という知見を考え合わせると、加齢に伴う何らかの作用により骨格筋幹細胞の ERK 反応性が低下し、その結果、幹細胞数の低下およびサルコペニアの増悪が引き起こされることが予想される。今後、骨格筋幹細胞により特異性の高い ERK 制御系を同定することで、サルコペニアの予防法や治療法の開発につながると期待される。

主任研究者

細山 徹 国立長寿医療研究センター 室長

分担研究者 (2017年7月24日～2018年3月31日)

橋本 有弘 国立長寿医療研究センター 部長

研究期間 2017年7月24日～2020年3月31日

A. 研究目的

超高齢社会を迎えた我が国の長寿医療において、サルコペニア等の加齢性筋疾患の治療法や予防法の開発は極めて重要な課題である。しかし、加齢性筋疾患の発症機序は未だ解明されておらず早期解決が望まれている。近年の研究では、個体老化に伴う骨格筋幹細胞の減少や機能低下がサルコペニア等の加齢性筋疾患の一要因となる可能性が示されており、骨格筋幹細胞を標的とした新たな治療戦略の開発が期待されている。しかし、骨格筋幹細胞維持機構の破綻と高齢者における骨格筋幹細胞の減少や筋萎縮との関連性が推察されているにも関わらず、現在までのところ両者を結びつける明確な証拠はない。それどころか、「骨格筋幹細胞が成体骨格筋内でどのように維持制御されているのか？」というより根本的な疑問が明らかになっていない。言い換えると、骨格筋幹細胞の維持制御機構に関する基礎的理解を深め、個体老化による影響やその関連性を明らかにすることが出来れば、加齢性筋疾患の本態解明や対処法の開発につながると言える。

本研究課題の最終目標は、「骨格筋の老化機序を解明し、加齢性筋疾患に対する新たな予防法・治療法を開発すること」であり、本研究期間においては、マウス遺伝学的手法、iPS細胞およびヒト筋細胞株、等を用いて、「骨格筋幹細胞の維持制御と骨格筋老化との関連性」を明らかにする。具体的には、ヒト iPS 細胞由来骨格筋幹・前駆細胞 (SMPC) を用いて独自に開発した“幹細胞未分化維持モデル”での骨格筋幹細胞維持関連因子の探索、Cre ドライバーによる骨格筋幹細胞特異的遺伝子欠損マウスの作出とその表現型解析、ヒト筋細胞株による検証、等を行い、将来的なヒトへの応用へ向けた研究を目指す。

B. 研究方法

3年間全体について

(1) ヒト iPS 細胞の培養

ヒト iPS 細胞株 (201B7 株) は理研バイオリソースセンター (理研 BRC) より購入し、マウス胎児線維芽細胞 (MEF: フィーダー細胞) との共培養により未分化性を維持した。この際、10ng/ml の bFGF (リプロセル社) を添加したリプロステム (リプロセル社) を培地として用いた。培地交換を毎日行い、4~5 日の培養期間中に iPS 細胞コロニーが適切な大きさになったところで継代を行った。

(2) EZ スフィア法によるヒト骨格筋幹・前駆細胞の分化誘導

ヒト iPS 細胞からの骨格筋幹・前駆細胞 (SMPC) の分化誘導には、EZ スフィア法を採用した (Hosoyama *et al.*, *Stem Cell Transl Med.* 2014)。本法は、iPS 細胞コロニーを浮遊状態で培養する方法であり、6 週間の培養によりおよそ 60% の誘導効率でスフィア内に SMPC が誘導される。また昨年度までの検討により、本法により誘導した SMPC スフィアは、分化誘導後 2 週間はスフィア内に幹細胞集団を安定維持できることが明らかとなった為、骨格筋幹細胞未分化維持モデルとして種々の研究に用いた。

(3) ヒト骨格筋幹細胞の微小重力培養

ヒト iPS 細胞由来 SMPC スフィアを浮遊状態のまま微小重力培養装置 (ゼロモ: 北川鉄工所) で培養し、SMPC を 10⁻³G で 2 週間維持した。対照群として、1G 環境で培養 (通常の静置浮遊培養) した SMPC スフィアを用いた。

(4) ヒト骨格筋幹細胞未分化維持モデルへの低分子化合物の添加

ヒト iPS 細胞由来 SMPC スフィアへ MEK インヒビターや Akt インヒビター等の種々の低分子化合物を添加し、1 週間培養した。培養終了後、スフィアの凍結切片での免疫組織化学およびウエスタンブロッティングなどにより、骨格筋幹細胞マーカーである Pax7 および分化マーカーである MyoD、Myogenin の発現解析を行った。

(5) 老齢マウスを用いた解析

国立長寿医療研究センター内のエイジングファームより 26~27 ヶ月齢の雄マウスを提供して頂き、骨格筋幹細胞における MAPK 経路関連因子の発現解析等を行った。具体的な方法としては、マウス骨格筋 (長趾伸筋) から筋線維を単離し (single myofiber culture 法: Hosoyama *et al.*, *Differentiation.* 2009)、骨格筋幹細胞における ERK 発現および活性を若齢マウス (4 ヶ月齢) と比較しながら経時的に観察した。また、若齢マウスと老齢マウスの骨格筋から磁気ビーズ法 (Motohashi *et al.*, *J Vis Exp.* 2014) を用いて骨格筋幹細胞を単離した後、ERK シグナル活性化候補因子である bFGF (10ng/ml) を添加し、老齢マウス由来骨格筋幹細胞における反応性について検討した。

(6) 骨格筋幹細胞特異的 ERK 遺伝子欠損マウス (ERK^{sc}KO マウス) の作出

骨格筋幹細胞特異的 Cre ドライバーマウス (Pax7CreER: Nishijo, Hosoyama *et al.*, *FASEB J.* 2009) と東京都健康長寿医療センター (遠藤昌吾先生) から導入した MAPK 経路関連遺伝子の floxed マウスを交配することで、タモキシフェン誘導性に骨格筋幹細胞特異的に ERK1/2 遺伝子を欠損するマウスを作出した。

(7) ERK^{scKO} マウスを用いた *in vivo* および *ex vivo* 解析

5 週齢の ERK^{scKO} マウスにタモキシフェン (TAM) を腹腔内投与し、骨格筋幹細胞特異的に ERK1/2 遺伝子を欠損させ、TAM 投与 2 週間後に種々の解析を行った。解析項目は、①筋線維一本当たりの骨格筋幹細胞数、②*ex vivo* 培養した骨格筋幹細胞の増殖能、③ ERK^{scKO} マウス前脛骨筋にカルジオトキシンを投与後の筋再生能について、④ランニングホール試験によるマイルドな筋負荷に対する筋応答性 (TAM 投与 12 週間後にサンプリング)、などである。③および④については、筋重量および筋線維径をはじめとする組織学的な解析を行った。

2019年度について

上記(7)に示した ERK^{scKO} マウスを用いた種々の解析 (*ex vivo* 解析および組織学的解析)を行った。

(倫理面への配慮)

3年間全体について

本研究計画の遂行にあたっては、国立研究開発法人国立長寿医療研究センターにおける遺伝子組換え実験安全規程に従って行われ、適切な拡散防止措置をとった。動物実験に際しては国立研究開発法人国立長寿医療研究センター動物実験規則に従い行った。特に動物実験時の苦痛軽減措置には十分な配慮をもって行った。

C. 研究結果

3年間全体について

① マウス遺伝学的手法による骨格筋幹細胞維持制御機構の解明

主任研究者は、成体骨格筋幹細胞特異的に Cre リコンビナーゼを発現する世界初のマウスである Pax7CreER マウスの開発に携わっており (Nishijo, Hosoyama et al., FASEB J. 2009; Hosoyama et al., J Biol Chem. 2010)、本研究課題においても、骨格筋幹細胞の維持制御機構を明らかにする目的で同マウス系統を国立長寿医療研究センターに導入した。一方、実験②(下記)において同定した骨格筋幹細胞の維持制御関連(候補)因子 ERK を骨格筋幹細胞特異的に欠損させるために、ERK1 ノックアウトマウス (ERK1-KO) と ERK2-flox マウスの 2 系統を東京都健康長寿医療センター(老化脳神経科学研究チーム:遠藤省吾先生)より導入し、これらのマウスを 3 元交配することで Pax7^{CreER/wt::Erk1^{+/+}::Erk2^{flox/flox}} マウス (ERK^{scKO} マウス) の作出を試みた。それぞれのマウス系統の導入や系統維持に若干の時間を有したが、2018 年度後期には 3 元交配マウスの作出に成功し、ERK^{scKO} マウスを用いて骨格筋幹細胞の維持制御におけ

る ERK の役割の解明を目指した。

なお、ERK1 系統も ERK2 系統同様に floxed マウスを用いて、その細胞特異性を高めた方が良いとのご指摘を受ける可能性があるが、ERK1-KO マウスにおいて胸腺細胞以外に特筆すべき表現型がでないことが報告されており (Page *et al.*, Science. 1999)、また予備実験において、ERK1-KO マウスの骨格筋幹細胞の数や筋再生能に影響がないことを確認したことから、本実験では ERK1 のコンディショナルノックアウトを行わず、全身性ノックアウト (ERK1-KO) マウスを用いた。

以下に、本研究で得られた主な研究成果について概説する。

①-1: 幹細胞動態に対する影響; ERK^{scKO} マウスにタモキシフェンを腹腔内投与し、骨格筋幹細胞特異的な ERK 欠損を誘導した。タモキシフェン投与 2 週間後にマウス後肢筋から筋線維を単離し、骨格筋幹細胞の挙動に関する *ex vivo* 解析を行った結果、ERK 欠損により骨格筋幹細胞の増殖能が低下することが明らかとなった (細胞増殖マーカーとして EdU を用いた)。また、この ERK 欠損による骨格筋幹細胞の増殖抑制は、結果として骨格筋幹細胞数の減少を誘導することも明らかにした。興味深いことに、細胞周期エントリーの初期マーカー (early G1 phase) として知られるアセチル化ヒストン H4K16 陽性の骨格筋幹細胞数が ERK^{scKO} マウスで有意に減少していたことから、これらの結果は、ERK が単に幹細胞の増殖制御に関与しているだけでなく、休止化骨格筋幹細胞の細胞周期エントリーの制御に関与している可能性を示している。

①-2: 骨格筋幹細胞の生存性に対する影響; 上記 (①-1) 同様に、タモキシフェンを投与した ERK^{scKO} マウスを用いて、骨格筋幹細胞の生存性に対する ERK の関与について検討した。細胞死のマーカーである cleaved Caspase3 発現を指標とした解析を行った結果、ERK 欠損により骨格筋幹細胞の細胞死が誘導されることがないことがわかった。このことは、ERK が骨格筋幹細胞の生存制御には関与していないことを示唆している。

①-3: ERK 欠損が筋再生能に及ぼす影響; ERK の骨格筋幹細胞特異的な欠損が筋再生能に及ぼす影響を検討する為、ERK^{scKO} マウスの前脛骨筋にカルジオトキシン (CTX) を投与し人為的な筋損傷を誘導した。CTX 投与 2 週間後に損傷筋を採取し、筋再生状態について組織学的解析を行った結果、ERK^{scKO} マウスでは著しい筋再生不良が生じることが明らかとなった。①-1 の結果と考え合わせると、ERK 欠損により骨格筋幹細胞の細胞増殖能や細胞周期へのエントリーの遅れが生じ、その結果として筋再生不良が生じたと推察される。興味深いことに、ERK^{scKO} マウスでは中心核を持つ再生筋が認められ、このことは、骨格筋幹細胞における ERK 欠損により筋再生能が消失するわけではないことを示している。高齢者や老齢マウスにおいても筋再生能は完全には失われておらず、また②で示すように、老齢マウスの骨格筋幹細胞では ERK 活性の低下が生じていることから、ERK^{scKO} マウスで見られる表現型はサルコペニア病態の一部を再現していると考えられる。今後、この ERK^{scKO} マウスに運動などによる負荷を施す

など、筋負荷によって骨格筋状態に影響が生じるか否かなどを検討していくことにより、“骨格筋幹細胞の ERK 活性の低下や欠損”と“高齢者やサルコペニア患者において観察される筋萎縮や筋再生不良の誘発”との関連性が明らかになると期待される。

(成果の一部を 2019 年に台湾で開催された The 5th Asian Conference for Frailty and Sarcopenia で発表し、ベストポスター賞を受賞した)

② iPS 細胞由来ヒト筋細胞モデルを用いた骨格筋幹細胞維持制御因子の同定

主任研究者は、ヒト多能性幹細胞から高効率に骨格筋幹細胞を分化誘導する方法を確立し報告している (EZ スフィア法) (Hosoyama et al., Stem Cell Transl Med. 2014)。また近年の検討により、EZ スフィア法が iPS 細胞由来骨格筋幹細胞の未分化状態を短期間ながら維持できることを明らかにしており、本研究課題においては、この EZ スフィア法を「骨格筋幹細胞未分化維持モデル」として用いた。また、EZ スフィア法に併用する実験系として「微小重力細胞培養法」を採用し、微小重力環境下で培養した骨格筋幹細胞で生じる未分化維持の変化とそれに関連する因子の同定を試みた。なお高齢者において無重力環境下で引き起こされる筋萎縮は二次性サルコペニアに含まれることから (Arai et al., Geriatrics Gerontology Int. 2018)、本実験系で得られる知見は骨格筋幹細胞の維持制御とサルコペニアとの関連性を示すこともできると期待される。

具体的な成果として、微小重力培養したヒト iPS 細胞由来骨格筋幹細胞において未分化性が損なわれること、また、キナーゼ活性が有意に減少する因子として ERK (Extracellular Signal-regulated Kinase)を同定した。ERK は古典的 MAP キナーゼとして知られるが、微小重力培養時の骨格筋幹細胞では ERK のリン酸化が阻害され、結果として幹細胞プールが枯渇する可能性が示された (研究成果の一部を学術論文として公表。 Hosoyama et al., Biochem Biophys Res Commun. 2017)。また、通常の培養条件下 (1G 条件での静置培養) で低分子化合物 (PD184352) によって ERK のリン酸化を阻害しても同様の結果 (幹細胞が減り、分化した筋芽細胞が増加する) が得られたことから、ERK および関連するシグナル伝達経路が骨格筋幹細胞の維持制御に関与していることが推察される (ERK 活性が阻害されると、筋幹細胞の自己複製が損なわれ筋分化が進行すると考えられる)。さらに興味深いことに、老齢マウス (26-27 ヶ月齢) の活性化した骨格筋幹細胞において ERK のリン酸化が有意に減少していることも見出した。ヒトを含む老齢動物では骨格筋内の幹細胞数が減少していることから、このことは、個体老化に伴って骨格筋幹細胞の ERK シグナル伝達経路が阻害され、筋芽細胞への不均等分裂 (分化) が促進された結果として幹細胞数が減少 (=幹細胞プールが枯渇) する可能性を示している*。これらの結果を受けて、2018-2019 年度には、実験①で導入した Cre ドライバーマウス系統 (Pax7CreER マウス) を用いて、骨格筋幹細胞特異的な ERK 欠損を誘導し、骨格筋幹細胞の維持制御における ERK の役割について *in vivo* および *ex vivo* での詳細な解析を進めた (得られた主な成果を①に記載)。

(成果の一部を第5回日本サルコペニア・フレイル学会大会(東京)にて公表し、最優秀演題賞を受賞した)

③ 高齢者骨格筋細胞を用いた発現解析

本研究課題においては、高齢者と若齢者から樹立した不死化ヒト骨格筋細胞株 (Shiomi *et al.*, Gene Ther. 2011) を用いて、骨格筋老化の機構、特に骨格筋幹細胞の維持制御に影響を及ぼす因子の同定を目指した。結果として、タイムラプスビデオによる挙動解析などにより、高齢者と若齢者に由来するヒト筋細胞において増殖能や分化能に差が無いことなどが明らかとなった。

2019年度について

新たに作出した ERK^{scKO} マウスを用いて、*in vivo* および *in vitro* の両面から骨格筋幹細胞の維持制御における ERK の役割についてのさらなる解析を進め、ERK が骨格筋幹細胞の細胞周期エントリー (休止化から活性化への移行の制御) および増殖 (活性化後の幹細胞数の制御) に重要であることを突き止めた (主に上記①に関する実験を行った)。これらの結果は、前年度までに *in vitro* 実験系で得られてきた知見を裏付ける成果であり、「*in vitro* の実験系を用いた分子スクリーニングからコンディショナルノックアウトマウスでの *in vivo* 解析」という本課題開始時に設定した研究戦略の確かさを証明している。

また興味深い知見として、カルジオトキシン投与による人為的筋損傷を誘導した ERK^{scKO} マウスにおいて、再生不良が生じる一方で中心核を有する再生筋線維が形成されることを確認した。同様の表現型 (筋再生能は低下するが、筋線維の修復が生じないわけではない) は、サルコペニア患者 (や老齢動物) においても観察されることから、

D. 考察と結論

3年間全体について

本研究では、iPS 細胞技術を応用した骨格筋幹細胞未分化維持モデルと微小重力培養 (二次性サルコペニアのモデル) を組み合わせて新たに構築したスクリーニング系から、骨格筋幹細胞の減少と共に活性が低下する分子として ERK を同定し、さらに、骨格筋幹細胞特異的 ERK 欠損マウスの作出およびその解析から、骨格筋幹細胞の維持制御における ERK シグナルの重要性を示した。これらの結果は、独自開発したヒト骨格筋未分化維持モデルなどの *in vitro* 実験系で得られてきた知見を裏付ける成果であり、「*in vitro* の実験系を用いた分子スクリーニングからコンディショナルノックアウトマウスでの *in vivo* 解析」という本課題開始時に設定した研究戦略の確かさを証明している。

また興味深いことに、老齢マウスの骨格筋幹細胞において ERK 活性が低下しているこ

とを見出しており、このことは、ERK シグナルがサルコペニアの治療・予防標的となり得ることを示している。しかし ERK は、様々な細胞種で普遍的に発現している因子であり、ある種のがん細胞に対する増殖促進作用も報告されていることから、ERK 分子そのものを標的とすることは、がん有病率の高い高齢者に対しては現実的な選択肢ではない。それ故に今後本研究を継続する場合には、ERK シグナルを軸とした骨格筋幹細胞の維持制御機構の解明と同時に、骨格筋幹細胞に“より特異性の高い ERK シグナル経路”を同定することが重要となる。この点については、本研究において作出された ERK^{scKO} マウスの骨格筋幹細胞を用いて、RNA シークエンシングやプロテオミクス解析などによる比較で同定可能ではないかと考えている。

さらに本研究では、カルジオトキシン投与による人為的筋損傷を誘導した ERK^{scKO} マウスにおいて、再生不良が生じる一方で、中心核を有する再生筋線維が形成されることを確認した。同様の表現型（筋再生能は低下するが、筋線維の修復が生じないわけではない）は、サルコペニア患者（や高齢動物）においても観察されることから、ERK^{scKO} マウスはサルコペニア患者の筋表現型の一部を再現しているものと推察される。すなわち本研究で作出した ERK^{scKO} マウスは、病態を再現した初めてのサルコペニアマウスモデルとなる可能性があり、今後、サルコペニアに対する新規の予防法や治療法の開発に重用されると期待される。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

2017 年度

- 1) Hosoyama T, Ichida S, Kanno M, Ishihara R, Hatashima T, Ueno K, Hamano K.

Microgravity Influences Maintenance of the Human Muscle Stem/Progenitor Cell Pool.

Bichem Biophys Res Commun. 493: 998-1003. 2017.

2018 年度

- 1) Mizoguchi T, Ueno K, Takeuchi Y, Samura M, Suzuki R, Murata T, Hosoyama T, Morikage N, Hamano K.

Treatment of cutaneous ulcers with multilayered mixed sheets of autologous fibroblasts and peripheral blood mononuclear cells.

Cell Physiol Biochem. 47: 201-211. 2018.

2) Fujita A, Mikamo A, Hamano K, Hosoyama T.

Cardiac Stem and Progenitor Cells for Treating Heart Diseases.

Reference Module in Biomedical Sciences (Online book, DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.65514-9), 2018.

3) 細山 徹

老年性筋疾患研究における iPS 細胞の利用とその有用性

基礎老化研究 42 号 3 巻:23-30 頁, 2018 年

4) 細山 徹, 深田宗一朗

誘導型 Cre 発現マウスの利用と選択方法

実験医学増刊 36 号 7 巻:215-219 頁, 2018 年

2019 年度

1) Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Zhang L, Zhou H, Hashimoto N, Okamura K, Matsui Y, Tsukazaki K, Hosoyama T, Nakatani M, Morita M, Yamada H, Tsuchida K, Fukada S.

Reduced expression of calcitonin receptor is closely associated with age-related loss of the muscle stem cell pool.

J Cachexia Sarcopenia Muscle-Rapid Commun. 2(1): e00081. 2019.

2) Hosoyama T.

Possible application of muscle specific conditional mouse-derived induced pluripotent stem cells for muscle research.

Biochem Biophys Rep. 21, 10744. 2020.

2. 学会発表

2017 年度

1) 細山 徹, 市田春治, 神野正嗣, 石原玲一, 上野耕司, 畑島敏勝, 濱野公一 微小重力環境がヒト骨格筋前駆細胞維持に与える影響, 第 3 回日本筋学会学術集会, 2017 年 8 月, 東京

2) 細山 徹, 橋本有弘 微小重力培養によるヒト骨格筋幹・前駆細胞維持機構の破綻, 第 5 回若手による骨格筋細胞研究会, 2017 年 11 月, 兵庫

3) 細山 徹 微小重力環境によるヒト骨格筋幹細胞維持機構の阻害, 第 63 回日本宇宙航空環境医学会大会, 2017 年 11 月, 福岡 (シンポジスト)

2018 年度

1) 細山 徹, 橋本有弘 ERK plays a crucial role in maintaining muscle stem/progenitor cell pool. 第 41 回基礎老化学会大会, 2018 年 6 月 1 日, 東京

2) Tohru Hosoyama, Minako Kawai, Naohiro Hashimoto. ERKs maintain muscle

stem/progenitor cell pool. FASEB SRC “Skeletal Muscle Satellite Cells and regeneration”, July 10, 2018, Steamboat Springs, CO, USA.

- 3) Tohru Hosoyama. Aging and Muscle. The Chinese Academy of Agricultural Science International Seminar Series, Nov 5, 2018, Beijing, China. (招待発表)
- 4) 細山 徹, 河合美菜子, 橋本有弘 骨格筋幹細胞維持における古典的 MAPK 経路の重要性, 第 5 回日本サルコペニア・フレイル学会大会, 2018 年 11 月 11 日, 東京
- 5) 細山 徹, 河合美菜子 Possible applications of muscle specific conditional mouse-derived iPS cells for muscle research. 第 6 回若手による骨格筋細胞研究会, 2018 年 11 月 12 日, 大阪
- 6) 細山 徹 骨格筋幹細胞維持における古典的 MAPK の役割と骨格筋老化との関連性, 第 3 回 TMIG-NCGG 合同セミナー, 2018 年 11 月 26 日, 東京
- 7) 細山 徹, 河合美菜子, 橋本有弘 古典的 MAP キナーゼの骨格筋幹・前駆細胞の維持制御への関与, 精神・神経疾患研究開発費・平成 30 年度研究班会議 (武田班), 2018 年 12 月 3 日, 東京 (招待発表)
- 8) 細山 徹 ビタミンが骨格筋内細胞に与える影響, 第 7 回骨格筋生物学研究会, 2019 年 3 月 3 日, 名古屋市

2019 年度

- 1) Tohru Hosoyama. Effects of Vitamin D on Intramuscular Cells. The 5th NCGG-ICAH Symposium, Apr 11th, 2019, Obu. (シンポジスト)
- 2) 高石美菜子, 宮川良博, 橋本有弘, 本田健, 乾 誠, 細山 徹 筋線維特異的 PDZRN3 欠損がマウス後肢筋に及ぼす影響, 第 5 回日本筋学会学術集会, 2019 年 8 月 2-3 日, 東京都・文京区
- 3) 細山 徹 ヒト培養細胞を用いた骨格筋研究, 第 2 回筋スマート社会実現コンソーシアム, 2019 年 9 月 19 日, 大阪府・北区 (招待講演)
- 4) 宮川良博, 高石美菜子, 橋本有弘, 細山 徹 Functional analysis of PDZRN3 in mature muscle fibers using CreER system, 第 7 回若手による骨格筋細胞研究会, 2019 年 10 月 22-23 日, 京都市
- 5) Tohru Hosoyama. Molecular regulation of muscle stem cell pool and its relationship with sarcopenia, The 5th Asian Conference for Frailty and Sarcopenia. Oct 22-24, 2019, Taipei, Taiwan. (シンポジスト)
- 6) Tohru Hosoyama, Minako Takaishi, Yoshihiro Miyagawa, Shogo Endo, Naohiro Hashimoto. ERK plays a crucial role in maintenance of stem/progenitor cell pool in postnatal muscle, Oct 22-24, 2019, Taipei, Taiwan. (ベストポスター賞を受賞)
- 7) 細山 徹 ERK シグナルによる骨格筋幹細胞の維持制御, NCGG 秋のミニシンポジウム「老化と老年病・認知症」, 2019 年 11 月 15 日, 大府市 (シンポジスト)
- 8) 細山 徹, 河合美菜子, Gilles Pages, Jacques Pouyssegur, 遠藤昌吾, 橋本有弘 骨

骨格筋幹細胞の維持制御における ERK の重要性, 精神・神経疾患研究開発費「ジストロフィン欠損モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法開発」研究班会議 (武田班), 2019 年 11 月 27-28 日, 東京都・小平市 (招待発表)

- 9) 細山 徹, 遠藤昌吾, Gilles Pages, Jacques Pouyssegur, 橋本有弘 骨格筋幹細胞プール維持における ERK の役割, 第 42 回日本分子生物学会年会ワークショップ, 2019 年 12 月 3-6 日, 福岡市 (ワークショップ演者)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし