

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09666

研究課題名(和文) Aging deteriorates the function of lung stem cells, but it can be restored by calorie restriction.

研究課題名(英文) Aging deteriorates the function of lung stem cells, but it can be restored by calorie restriction.

研究代表者

ヒガブ中井 アハマド (Hegab, Ahmed E)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任講師

研究者番号：00507915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：高齡化が肺上皮細胞に及ぼす影響と、カロリー制限が若年マウスおよび老年マウスの肺に及ぼす影響を検討した。高齡化により幹細胞の減少が認められた。また、カロリー制限は若年マウスと老年マウスの両方で幹細胞の増加を誘発した。高齡化は肺の炎症を引き起こしたが、カロリー制限は炎症を軽減させた。さらに、加齡は肺幹細胞の増殖能を低下させたが、カロリー制限は若年マウスと高齡マウスの両方で幹細胞の増殖能を亢進させた。

結論として、高齡化は肺上皮細胞にいくつかの障害を引き起こすが、カロリー制限は、それが高齡時で開始された場合でも、高齡化が引き起こす障害の改善を含め、肺上皮細胞にいくつかの潜在的に有益な変化を引き起こす。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齡化が肺上皮細胞に及ぼす影響と、カロリー制限が肺に及ぼす影響をマウスにおいて検討した。高齡化では幹細胞数減少と増殖能低下、ミトコンドリア数と機能の低下を引き起こすが、カロリー制限により、若年/高齡マウスともに幹細胞増加と自己増殖能亢進、ミトコンドリア数と機能の上昇が認められた。高齡化は肺上皮細胞にいくつかの障害を引き起こすが、カロリー制限は年齢によらず肺上皮細胞に潜在的に有益な変化を引き起こす。

研究成果の概要(英文)：we examined the effects of ageing on lung epithelial cells and the effect of calorie restriction on young and old lungs. Ageing resulted in a decrease in stem cells. Calorie restriction induced an increase in stem cells in both young and old mice. In addition, ageing induced lung inflammation, and CR reduced it back. Furthermore, ageing reduced the number and function of mitochondria in lung. Calorie restriction increased the number and function of mitochondria both in young and old mice. Moreover, ageing reduced lung stem cell ability to proliferate, and calorie restriction increased it in both young and old mice. Finally, calorie restriction improved epithelial cell survival in injured lungs of young mice. In conclusion, ageing causes several impairments in lung epithelial cells. Calorie restriction induces several potentially beneficial changes in lung epithelial cells, even when it is initiated at an older age, including reversal of some ageing-induced changes.

研究分野：lung stem cells

キーワード：lung stem cells Calorie restriction aging

1. 研究開始当初の背景

加齢により多くの疾患のリスクは上昇する。肺では加齢とともに肺機能が低下することが知られている。また高齢者において肺の感染症はより一般的な疾患である。臓器が適切な機能を維持するには、恒常性を維持する期間あるいは損傷を修復する期間において、効率的に細胞を再生させることが重要である。このようなプロセスは、臓器内の幹細胞が十分かつ機能的にプールされていることに依存する。加齢により、組織の維持能力や損傷後の組織再生能力は徐々に低下する。これは、この組織の幹細胞プールの機能低下および数的減少の結果であると考えられている。つまり、幹細胞の老化は、組織の老化を促進する重要な要素である。したがって、加齢中の幹細胞の数あるいは機能の増強は、より健康な加齢を促進し、加齢性疾患の新しい治療法の開発に貢献する可能性がある。必須栄養素の欠乏がなく、栄養失調のない範囲のカロリー制限は、さまざまな動物モデルでアンチエイジング効果を発揮することが示されている (Partridge, N Engl J Med, 2012)。正確なメカニズムは解明されていないが、CR のさまざまな利点は幹細胞とそのニッチへの影響によると広く信じられている (Mazzocchi, Exp Gerontol, 2014)。近年、組織幹細胞に対する CR の効果のいくつかの特定のメカニズムが報告されている。たとえば、成体マウスあるいは高齢マウスに数週間のカロリー制限を課すと、骨格筋幹細胞の数が増加し、筋形成活性が促進された。この効果のメカニズムは、幹細胞内のミトコンドリアの増加によるものと推測されている (Cerletti, Cell Stem Cell, 2012 年)。一方、Yilmaz et al (Nature, 2012) は、わずか 4 週間のカロリー制限で腸幹細胞の機能と再生を増強できることを示した。この効果は、幹細胞の直接的な改変によるものではなく、むしろ幹細胞の重要なニッチであるパネート細胞への影響であり、またカロリー制限がパネート細胞における mTORC1 シグナル伝達を低下させることが示された。

2. 研究の目的

加齢は、肺機能の低下と肺感染症の発生率の増加に関連している。多くの研究では、カロリー制限が健康と長寿を促進することを示されている。近年、カロリー制限の健康増進効果は、幹細胞とそのニッチへの影響によるものであることが確認されている。

成人および高齢者の肺の幹細胞に対する CR の影響は、これまで研究されていない。この研究の目的は次のとおりである。(1) 肺組織幹細胞に対する加齢の影響を特定する、(2) 成体および高齢マウスの肺幹細胞に対するカロリー制限の効果を調べる、(3) カロリー制限が幹細胞に与えるメカニズムを検討する。

3. 研究の方法

1) 肺組織幹細胞における加齢の効果を特定する

成体マウスと高齢マウスにおける気管と肺の組織学的差異、コロニー形成率、分化プロファイルのバリエーションを比較する。

2) in vitro において成体マウスあるいは高齢マウスにおける肺幹細胞への CR の影響を検討する。

成体マウス、高齢マウスの近位あるいは遠位の肺幹細胞と肺線維芽細胞を分離/培養し、コロニー形成効率 (CFE) あるいは分化プロファイルにおいて、グルコース量とインスリン量の変化させることでどのような影響が生じるかを検討する。

3) in vivo において成体マウスあるいは高齢マウスにおける肺幹細胞へのカロリー制限の影響を検討する。

成体マウス、高齢マウスに対して低カロリーの高齢マウスあるいは通常の高齢マウスを 16 週間投与し、肺組織やミトコンドリア含有物質、遺伝子発現の変化を検討し、ex vivo にて CFE や分化プロファイル様式を検討する。

4) カロリー制限が近位あるいは遠位の肺上皮幹細胞とニッチに与える特異的メカニズムを特定する。

In vivo にてカロリー制限を行ったマウスの肺上皮細胞と間葉系ニッチ細胞から、あるいは in vitro にて成長させたコロニーから RNA を分離する。

Sirt1 パスウェイと mTOR パスウェイの関与を検討する。関連する遺伝子やパスウェイを特定す

るためにマイクロアレイ解析を行う。

4．研究成果

我々は、加齢による肺上皮細胞と幹細胞への影響と、カロリー制限が若年マウス肺と高齢マウス肺に及ぼす影響を検討した。加齢により気管基底幹細胞は減少した。カロリー制限は、若年マウスと高齢マウスの両方で基底幹細胞の増加を誘発した。さらに、加齢は肺の炎症を誘発し、カロリー制限は若年マウスのベースラインの肺炎症細胞浸潤を減少させる傾向を示し、加齢に起因する肺の炎症を有意に減少させた。さらに、加齢は肺におけるミトコンドリアの数と機能を低下させ、ミトコンドリアの活性酸素種のレベルを増加させた。

カロリー制限により、若年マウスと高齢マウスの両方でミトコンドリアの数と機能が增加した。さらに、加齢により肺幹細胞のコロニー形成効率（CFE）が低下し、カロリー制限により若年マウスと高齢マウスの両方でCFEが増加した。最後に、カロリー制限は、若年マウスの損傷した肺における上皮細胞の生存を改善しました。

これは、老化が肺上皮細胞にいくつかの構造的および機能的変化/障害を引き起こすことを示す最初の研究である。

また、我々は初めてカロリー制限が肺上皮細胞にいくつかの潜在的に有益な変化を示した。この潜在的に有益な変化には加齢誘発性変化の逆転も含まれており、これは高齢で開始された場合でも確認された。

我々はさらに、肺疾患、特に肺線維症と肺癌に対するカロリー制限と高脂肪食の影響を特定するために、追加の研究を開始している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hegab Ahmed E., Ozaki Mari, Meligy Fatma Y., Nishino Makoto, Kagawa Shizuko, Ishii Makoto, Betsuyaku Tomoko	4. 巻 13
2. 論文標題 Calorie restriction enhances adult mouse lung stem cells function and reverses several ageing-induced changes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine	6. 最初と最後の頁 295 ~ 308
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/term.2792	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Hegab AE
2. 発表標題 Effect of diet on lung stem and epithelial cells, and its interaction with aging
3. 学会等名 日本呼吸器内科学会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ヒガブ アハマド
2. 発表標題 Effect of calorie restriction on lung epithelial stem cells and its interaction with aging
3. 学会等名 呼吸器内科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 ヒガブ アハマド
2. 発表標題 Effect of calorie restriction on lung epithelial stem cells and its interaction with aging
3. 学会等名 アメリカ呼吸器内科学会（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----