

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18422

研究課題名（和文）Supermicrosurgical Parabiosisによる革新的若返り戦略

研究課題名（英文）innovative rejuvenation strategy by supermicrosurgical parabiosis

研究代表者

鈴木 悠史（SUZUKI, Yushi）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・特任助教

研究者番号：40793287

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：Supermicrosurgeryを用いる外科医の技術を持ちいて、若齢マウスと老齢マウスのParabiosisモデルを作成し評価を行った。血管吻合を用いるモデルは困難であったが、若い1ヶ月齢のマウスと2ヶ月齢のマウスを比較することで、より若い因子が老齢マウスにより強い若返り因子を与えるのか評価を行った。

若返りの指標は細胞老化関連分泌形質（SASP）と呼ばれるものを評価対象としたが、脳や肝臓、腎臓などのSASP因子の差を比較したところそれぞれの因子に大きな差を生じることはなかった。すなわち、より若い因子がより強い若返り効果を持つという仮説は否定される可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

老化研究を行う際に老齢マウスと若齢マウスを接合し、血流を交差させることで若齢マウスの血液が老齢マウスに与える影響を評価するHeterochronic parabiosisという実験手法が存在するが、本手法の若齢マウスは2ヶ月齢までの報告しかなく、また若齢マウスの月齢にはばらつきがあるため、統一された研究モデルではなかった。我々の研究では、1か月と2か月のマウスには有意差はなく、若齢側のマウスがより若くある必要がない可能性が示唆されており、老化研究者にとって重要な情報の一つとなりうる。

研究成果の概要（英文）：Using the skills of a surgeon with supermicrosurgery, we created and evaluated a model of parabiosis in young and old mice. Although it was difficult to create a model using vascular anastomosis, we evaluated whether a younger factor would provide a stronger rejuvenating factor to old mice by comparing young 1-month-old mice with 2-month-old mice. The rejuvenation index, called cellular senescence-associated secretory traits (SASPs), was the target of evaluation. However, when differences in SASP factors in brain, liver, and kidney were compared, each factor did not produce a large difference. In other words, the hypothesis that younger factors have stronger rejuvenation effects may be rejected.

研究分野：リンパ浮腫、抗老化

キーワード：若返り Parabiosis

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本において、今後高齢化社会が進んでいくことは避けられない。しかしながら、介護を必要とせずに健康長寿を伸ばすことで、実際に寿命が延長したとしても介護にかかる費用が少なくなるといことがわかっている(ニッセイ基礎研レポート, 2015年)。ここからわかることは老化や寿命に関する研究をつき進めていくことで、日本の社会や医療経済へ与えるプラスの影響は計り知れない。当然、この高齢化へ至る流れは他先進国においても同様であり、この流れを食い止めることが急務である。

近年、細胞老化を起こした細胞は炎症性サイトカイン、ケモカイン、細胞外マトリックス分解酵素や増殖因子など、様々な分泌因子を高発現していることが判明しており、この細胞老化に伴う分泌現象は SASP (senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれ、メカニズムの解明があらゆる分野で進められている。

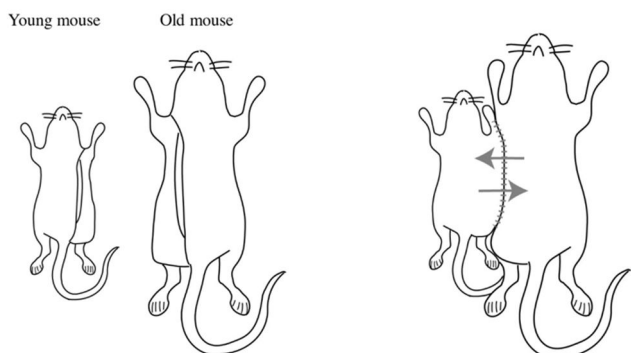
また、Parabiosis と呼ばれる、若年個体のマウスと老年個体のマウスを外科的に接合させることで老齢個体が若返ることがわかっており (Nature. 2005 Feb 17;433(7027):760-4.) それに伴って、老化を抑制するあるいは促進させる液性因子の存在と機能が明らかになりつつある。しかしながら、これらの内容はいまだ発展途上であり、解明されていないことが非常に多い。

2. 研究の目的

本研究の目的は老化細胞を制御する因子の同定を行うことである。老化研究を行う際に老齢マウスと若齢マウスを接合し、血流を交差させることで若齢マウスの血液が老齢マウスに与える影響を評価する Heterochronic parabiosis という実験手法が存在する。既存の parabiosis では皮膚同士をただ縫合することで微小循環を作成しているが、老齢マウスと若年マウスの月齢には統一したモデルというもの存在しない。2ヶ月齢から6ヶ月齢まで若年マウスとして使用されているマウスは多岐に渡っている。

しかしながら、若年個体の因子が老年個体に影響を与えるものだとしたら、より若年であればあるほど若返り効果が強くなることが予想できる。

そこで、若年個体であるほど老齢マウスの若返りが得られるのであれば、それぞれの月齢の差分をとることで、老化に関わる因子が絞り込める可能性がある。これにより、老化細胞を制御する因子の同定ができると考えた。



3. 研究の方法

既存の報告よりもさらに若い1週齢や2週齢、1ヶ月齢、2ヶ月齢などの月齢を変更したマウスをそれぞれ老齢マウスに接合を行うことで血液循環が可能となるようにする。両者個体で若返りの指標として、ヒゲや頭部などの外観のほか、各種臓器の若返りを評価するために脳、肝臓、腎臓、皮膚における SASP の発現を RT-PCR、蛍光免疫染色にて評価することとした。

4. 研究成果

まず、Parabiosis の手技獲得のために、同年齢の GFP マウスと BL6 マウスを接合することで、循環が形成されていることを確認した。その他、老化の指標を決定するために老化細胞と若年細胞を用いて、どの因子に差が生じるかを確認した。先行研究と同様、SASP 因子と呼ばれる炎症性サイトカインに大きく差が生じていることが確認できた。これらの予備実験を踏まえて実際に Heterochronic parabiosis を作成することとした。

1週齢や2週齢のマウスの場合、単純には生存できないことから、Supermicrosurgery の技術を応用し大血管の吻合を追加することで、老齢マウスとの接合を達成しようとした。しかしながら、侵襲が強く衰弱をしてしまうほか、他の個体や接合相手から攻撃されるといった脱落要因もあり、解析にまでは至らなかった。

1ヶ月齢、2ヶ月齢の比較を行うことは可能であったため、老齢マウスと接合を行い、2ヶ月後に回収を行った。これら2群間と老齢マウス、若齢マウスと同じ月齢の個体をコントロールとして比較を行った。

通常老齢マウスは、毛並みが疎となり外観上明らかな変化を生じるが、老齢マウスはいずれの月齢と接合をしたとしても、外観上の改善は得られなかった。

そのほか、外観以外に各種臓器における SASP 因子を評価することで、若返りの指標を評価することとした。今回評価する SASP 因子は IL-1A、IL-6、Cdkn2a (p16) とした。肝臓における高年齢マウスの Il-1a の発現は、1ヶ月齢のマウスと接合したマウスでは、2ヶ月齢のマウスと接合した老齢マウスやコントロールの老齢マウスに比べて有意に低かった。その一方、その他の発現因子や腎臓や脳、皮膚においてはそれぞれ有意な差を生じることはなかった。

以上のことから、より若い因子がより強い若返り効果を持つという仮説は否定される可能性が示唆された。そのため、より若い個体が持つ因子を探索し解析を行う、また老化を引き起こす因子の絞り込みという当初の目的には至らなかったものの、今までの Heterochronic parabiosis モデル作成に一石を投じるものとなった。

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 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Suzuki Yushi, Takaya Kento, Watanabe Shiho, Otaki Marika, Kono Hikaru, Kishi Kazuo	4. 巻 14
2. 論文標題 Evaluation of the effect of age of the younger mice on the rejuvenation of the older mice by heterochronic parabiosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Aging	6. 最初と最後の頁 2507 ~ 2512
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/aging.203966	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木悠史
2. 発表標題 Heterochronic parabiosisを用いた若返りへのアプローチ
3. 学会等名 第50回日本創傷治癒学会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------