

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K10879

研究課題名(和文) 運動効果が、独立した器官の成体幹細胞の維持と環境制御に与える影響

研究課題名(英文) Effects of physical exercise on the regulation of adult stem cells existed independently in separate organs

研究代表者

桑原 知子(kuwabara, tomoko)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員

研究者番号：90358391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：成体幹細胞にとり炎症反応を伴わない運動効果は増殖促進に働く。成体幹細胞として神経幹細胞と骨格筋幹細胞を比べた場合、脳内海馬では幹細胞ニッチ細胞から制御因子が運動に依存して発現上昇し、神経新生に促進効果を及ぼした。骨格筋内のサテライト細胞での疾患及び老化過程での役割や、予防としての運動効果に対する応答機序については未知な領域が多い。筋肥大あるいは筋萎縮が起きるような状況下では、発現・機能がどの領域で変動するか、またサテライト細胞の機能に影響を及ぼすか否かについて解析した。脳内および骨格筋成体幹細胞の変容機構をパラレルで解析し、関連因子の挙動について比較研究を行い、新しい視野からの知見を追求した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は多種類の成体幹細胞を扱って、機能解析研究を実施してきた。骨格筋のサテライト細胞と脳神経系の神経幹細胞で、運動効果による機能応答に制御因子がどのような役割を担うのか、動態について解析を行った。筋肉は再生能力が優れていて、サテライト細胞の持つ老化に対する予防効果などその潜在能力は高い。外的刺激には、幹組織機能を上昇する変化もあれば、減少させる物理的環境変化(ex.寝たきり、老化など)もある。各組織の成体幹細胞やニッチには、運動という生体全体への刺激に効率よく応答するメカニズムがあり、その両者をパラレルに研究することで、サルコペニアへの予防法につながる一端が見えてきた。

研究成果の概要(英文)：For adult stem cells, the effect of exercise without inflammatory reactions promotes proliferation. When comparing neural stem cells and skeletal muscle stem cells as adult stem cells, the expression of regulatory factors from niche cells of neural stem cells in the brain hippocampus increased depending on the exercise effect, and had a promoting effect on neurogenesis. There are many unknown areas regarding the role of satellite cells in adult skeletal muscle in disease and aging processes, and the response mechanisms to the effects of preventive exercise. Under conditions where muscle hypertrophy or muscle atrophy occurs due to exercise, we analyzed in which regions the expression and function change, and whether or not it affects the function of satellite cells. We analyzed the transformation mechanisms of adult stem cells in the brain and skeletal muscle in parallel, conducted comparative research on the behavior of related factors, and pursued knowledge from a new perspective.

研究分野：スポーツ医化学

キーワード：幹細胞 サルコペニア 神経科学 認知機能 老化 骨格筋 サテライト細胞 組織幹細胞

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

これまで我々は多種類の成体幹細胞を扱って、幹細胞の増殖や分化制御機構の機能解析研究を実施してきた。骨格筋幹細胞のサテライト細胞と脳神経系の成体神経幹細胞で、運動効果による機能応答にどのような応答の違いが、周辺組織及び標的細胞へのシグナル伝達機構に現れるのかを調べた。それぞれの独立した器官で、トリガー因子のターゲットとなる細胞種の挙動を変動させる過程を並行して調べた。変化の希著得意的に動き出す有用なモニタリング指標が得られると、疾患の予防や新規治療法の開発に大いに役立つ。筋肉は再生能力が優れていて、老化する過程においてもサテライト細胞の持つ機能の潜在能力は高い。外的刺激には、組織機能を上昇するも運動や認知能力強化背景もあれば、減少させるもの (ex. 寝たきり、炎症が進んだ極度の老化など) もある。各組織の成体幹細胞やニッチは、運動という生体全体への刺激に効率よく応答するメカニズムが個々にあり、動態を左右する因子は、応用研究への足掛かりとなる。成体幹細胞にとって、炎症反応を伴わない運動効果や環境の良い変化は増殖促進に働く。成体幹細胞として神経幹細胞と骨格筋幹細胞を比べた場合、海馬では神経幹細胞のニッチ細胞から神経分化促進因子を軸とした関連因子が、運動効果に依存して発現上昇、あるいは阻害因子が低下し、神経新生にとって促進効果を及ぼすことが分かった。同様のシグナル伝達機構が保持する、成体骨格筋内のサテライト細胞に対する役割や、運動効果に対する応答性については未知である領域が多かった。運動や筋萎縮が起きるような状況下では、どの領域/周辺領域で、また、どのタイミングで発現量や機能が変動するか、追跡解析を行なった。脳内および骨格筋成体幹細胞の変容機構をパラレルで解析し、関連因子の挙動について比較研究解析を行い、新しい視野からの知見を得ることを追求した。

### 2. 研究の目的

骨格筋では、運動、筋力トレーニング、リハビリテーションなどによりタンパク質合成が活性化されると筋肥大が生じ、逆に寝たきりによるサルコペニア (加齢性筋減弱症) や、糖尿病などの疾患に伴ってタンパク質分解経路が活性化されると筋萎縮が生じる。運動等で筋肉量が多ければ多いほど、食事環境による肥満や炎症反応が影響して発症する生活習慣病のリスクは低い。骨格筋内の幹細胞であるサテライト細胞の増殖能維持・筋分化は、生活習慣病のリスクに対する生体の抵抗性にとって非常に重要な役割を担っている。

運動効果が骨格筋における成体幹細胞の機能及び疾患への予防策になる効果を持つ事象と、非常に似た機構を持つ生体内の組織が脳中枢神経系であるが、運動効果による両成体幹細胞の機能調節機構は何が共通してどう違うのか疑問を持った。神経系と筋組織は実際に神経活動によって筋収縮が調節されている直接的な繋がりがあるが、中枢神経系の成体神経幹細胞の維持機能と疾患リスクに対する役割と、骨格筋におけるサテライト細胞が筋機能 (肥大⇔萎縮) と生活習慣病に対する予防効果の際に果たす役割の比較解析はこれまでに報告例がない。骨格筋内では、強制的に神経新生促進効果のあるニッチ産生因子を筋内に注入すると、筋の繊維化が生じる研究報告がある。ここで我々は、サテライト細胞近郊での W ニッチ産生因子の発現動態や、運動効果もしくは萎縮下による発現応答の影響、サテライト細胞機能制御への影響については未知の研究背景があることに着目した。独立した器官である脳神経と骨格筋の成体幹細胞に、運動がどのような効果を果たすかについてパラレルに比較解析すること、特にニッチ産生因子の挙動に焦点を当てながら成体幹細胞 (サテライト細胞と神経幹細胞) の潜在的な活性、それを牽引するのはニッチ細胞で構成される環境制御が主なる役割を持つか否かを、複数の組織 (骨格筋と脳神経系) で同時に見極めることを本研究の学術的な独自の研究目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では運動による維持効果がある成体幹細胞として、運動効果が直接的に現れやすい骨格筋内の成体幹細胞である筋衛生細胞 (サテライト細胞) と、間接的に運動効果の効力が発揮される脳中枢神経系海馬の神経幹細胞とを扱った。脳神経系の成体神経幹細胞と、骨格筋内のサテライト細胞に同時にスポットをあて、運動効果が与える影響について諸解析を行なった。低~中強度のトレッドミルによる走運動を施した実験動物マウスの脳海馬と骨格筋から、成体幹細胞をそれぞれ樹立、培養した。骨格筋と脳神経系で成体幹細胞の機能について、運動効果の影響が Wnt3 因子の挙動にどう影響するかを比較解析し、成体幹細胞の機能変化とニッチ産生因子を軸とする周辺細胞での環境変化とを調べた。脳神経系では実験動物 (走運動群及びコントロール群) の脳海馬 Dentate Gyrus 領域より樹立した成体神経幹細胞培養系で、自己複製能、増殖能、Sox2 など未分化マーカー遺伝子群の発現解析を行った。成体神経幹細胞、神経細胞、アストロサイト細胞、オリゴデンドロサイト細胞での Wnt3 と Wnt シグナル関連遺伝子の発現応答について、定量 PCR による RNA レベルの発現解析及び免疫組織染色とウェスタンブロット解析によるタンパ

ク質レベルの発現解析から比較解析した。運動効果の免疫組織染色法による影響の解析では、増殖・分裂細胞をトレースするための BrdU 試薬を、10 日間腹腔投与を両動物群に設定した。3 週間後に脳を取り出し、(i) 成体神経幹細胞 (NSC) 増機能を、Sox2(+)/BrdU(+) NSC 数、Nestin(+)/BrdU(+) NSC 数のコントロール群との定量比較により評価した。(ii) 神経新生機能は、NeuroD1(+)/BrdU(+) 神経前駆細胞 (Neuronal progenitor; NP) 数、Dcx(+)/BrdU(+) NP 数、(iii) 神経 (neuron) 分化機能は NeuN(+)/BrdU(+) neuron 数、Prox1(+)/BrdU(+) neuron 数、さらに (iv) ニッチ産出細胞である GFAP 陽性アストロサイト細胞の共染色結果から、運動効果がニッチ細胞にどう影響したか、ニッチ環境制御の応答機能の評価を行った。骨格筋では筋領域より樹立したサテライト細胞培養系で、増殖マーカー遺伝子及び Pax7 など未分化性マーカー遺伝子群の発現解析を実施する。筋組織由来試料を用いてサテライト細胞 (休止期; Pax7 陽性 MyoD 陰性のサテライト細胞。活性化期; 活性化のマーカーである MyoD を共発現している Pax7 陽性サテライト細胞)、Myoblast、Myocyte、周辺ニッチ細胞でのニッチ産生因子およびシグナル応答関連遺伝子の発現応答について同様に解析を進めた。

#### 4. 研究成果

骨格筋のサテライト細胞と脳神経系の成体神経幹細胞での共通したニッチ産生因子やその阻害因子の発現を見出すことに成功した。運動効果による筋肥大に対して、筋機能応答もしくは認知機能 (脳海馬)、独立したそれぞれの器官でニッチ産生因子やその阻害因子が関連して変化応答する機構は、疾患下や老齢化での医学応用的な面で興味深い事象と言える。我々の脳内では生涯にわたり新しい神経が神経幹細胞から日々産み出されているが、その頻度は年齢とともに減少し、ストレスや疾患など個人が置かれた環境によって大きく変化する。これと同様の機構が骨格筋にも当てはまり、サテライト細胞からの筋分化は外的刺激によって大きく変化する。筋肉は非常に再生能力が優れている器官であり、サテライト細胞の潜在能力は高い。近年、サルコペニアやフレイルによる生活の質の低下による諸問題が多く提起されている。老齢化で引きこもりの状態、寝たきり、糖尿病等の疾患下では、例えばそのうち複数の状態が重なると、機能を著しく減少させるものもあり、数多くの遺伝子群の発現様式が変化する。糖尿病罹患下でもサテライト細胞の機能が抑制されるが、同時に脳海馬の認知機能も衰退し、認知症、うつ病などの神経系疾患、精神疾患の重病化を引き起こす可能性が高まる。運動という生体全体への刺激に効率よく応答する成体幹細胞として、骨格筋と脳神経系の成体幹細胞があり、その両者をパラレルに研究することで得られた知見を、多重疾患化の予兆を見出すモニター領域として捉え、医療や予防に応用させる試みに展開させたい。両組織の成体幹細胞と、ニッチ産生因子及び阻害因子を焦点とする幹細胞周辺の環境制御機構、またその機能が疾患や老化などの条件下で、何を投与すれば、抵抗して機能維持を保とうとするか、分子機序を捉え、予防治療や多重疾患化での脳認知機能あるいは筋機能低下抑止に役立てられたらと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 桑原知子、若林玲美、藤巻慎、武政徹
2. 発表標題 疾患や加齢による成体幹細胞の制御機構変化
3. 学会等名 産総研・産技連LS-BT合同研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 桑原知子
2. 発表標題 The regulation of neural stem cell in the hippocampus and the olfactory bulb under the diabetes
3. 学会等名 The Adult Neurogenesis Conference
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 桑原知子
2. 発表標題 疾患下に於けるノンコーディング領域の制御機構
3. 学会等名 産総研・産技連LS-BT合同研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑原知子
2. 発表標題 The regulation of stem cell aging by Wnt signaling.
3. 学会等名 神経科学合同研究会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 嶋田正和、坂井建雄、園池公毅、田村実、中村賢太郎、成川礼、桑原知子	4. 発行年 2023年
2. 出版社 数研出版	5. 総ページ数 320
3. 書名 視覚でとらえるフォトサイエンス生物図録 DVD-ROM	

〔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
研究 分担者	藤巻 慎  (Fujimaki Shin)  (10795678)	熊本大学・発生医学研究所・助教    (17401)	

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
---------	---------