

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：3 2 6 1 2

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：2 0 K 1 8 4 2 1

研究課題名（和文）神経幹細胞及びゴナドトロピン放出ホルモンがもたらす抗加齢作用

研究課題名（英文）Anti-senescence effect and mechanism of neural stem cell and GnRH

研究代表者

菊地 陽（Kikuchi, Akira）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：4 0 8 6 8 6 3 4

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000 円

研究成果の概要（和文）：昨今SASP(senescence-Associated Secretory Phenotype)の概念が提唱され、老化は慢性炎症の一つであり、炎症を抑えることで老化を阻止、あるいは若返りをもたらす試みが広く行われている。我々はゴナドトロピン放出因子（GnRH）に着目し、神経幹細胞移植によってその放出が促され、結果的に抗加齢作用を及ぼすと仮定した。胎児・新生児・成獣マウスより神経幹細胞を採取し、老齢マウスの脳内に移植した。老齢マウスの組織についてSASPの発現量を調べたところ、一定の傾向を得ることができなかった。より侵襲の低い移植手法を導入することが必要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

若返りを目的として、現在、美容医療に限らず様々な試みが行われている。健康に対する国民の意識も上昇しており、今後ニーズはさらに増えると予想される。しかし、現時点で医学的に安全性と有効性が確立されたものは少ない。本研究は若返りに寄与するホルモンの同定を主眼としたものであり、本研究の成果は将来的なホルモン療法や新たな薬剤開発への応用が期待できる。また近年、胎児脳やES細胞、iPS細胞由来の神経幹・前駆細胞を用いた細胞移植治療モデルの研究が盛んに行われおり、安全な移植モデルの確立にも寄与するものと考えている。

研究成果の概要（英文）：Recently, the concept of SASP (senescence-associated secretory phenotype) has been proposed, and aging is considered to be one of chronic inflammation. Therefore, attempts to prevent aging or rejuvenate by suppressing inflammation are widely conducted. We focused on gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and hypothesized that its release is stimulated by neural stem cell transplantation, resulting in an anti-aging effect. We collected neural stem cells from fetal, neonatal, and adult mice and transplanted them into the brains of old mice. The expression levels of SASP factors were examined in the tissues of old mice, and no consistent trend could be obtained. It was considered necessary to introduce a less invasive transplantation technique.

研究分野：形成外科学

キーワード：神経幹細胞 若返り 抗加齢 SASP

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

「若くありたい」という願いは人類にとって普遍的なものであり、古来より様々な方法が試されてきた。美容外科領域において容姿の若返りを目的としたヒアルロン酸やボトックス注射が行われてきたが、今日では脂肪幹細胞移植や骨髄間葉系細胞移植による抗加齢作用を謳う施設を認めるようになり、一般市民の間でもより内因的な加齢への関心が高まっていると言える。

近年、老化細胞が炎症性サイトカインやケモカイン、細胞外マトリックス分解酵素や増殖因子といったタンパク質を産生・分泌することが判明し、その現象は SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype) と呼ばれ、(Four faces of cellular senescence. J of Cell biology 2011 Feb 21; 192(4): 537-56) メカニズムの解明が数多くの分野で進められている。SASP は DNA 損傷応答 (DNA damage response) により誘導されると考えられており、SASP 因子を制御することで認知能力が向上する、心血管イベントのリスクが減る、大腸上皮組織の再生が促進されるといった報告がなされている。(細胞工学 34(12): pp1121-1156)

他方、内分泌領域において、成長ホルモン(GH)によって産生される IGF-1 や副甲状腺ホルモン (PTH) とそれに調節される血中 Ca、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)により分泌促進される DHEA-S 等が加齢と若返りに関与することがわかっている。(The cell biology of aging. Molecular Biology of the Cell. 2015 Dec 15; 26(25): 4524-4531)

以上を受けて、我々は内分泌機能を調整することで SASP 因子を制御し、抗加齢作用をもたらすことができるのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

神経幹細胞・GnRH が抗加齢作用を有するかどうかを解明することであった。従来の抗加齢作用に関する研究では、その評価基準は統一されていなかった。認知機能検査や運動耐用量については定量的な評価基準が用いられてきたが、こと毛並みや肌質等の定性的な性質を持った評価項目については曖昧なものが多かった。我々はそれらについて、より客観的・定量的な評価を目標とした。

近年、胎児脳や ES 細胞、iPS 細胞由来の神経幹・前駆細胞を用いた細胞移植治療モデルの研究が盛んに行われている。本研究は将来的な神経幹細胞による抗加齢加齢の一助となり得る。また、神経幹細胞の実践的な臨床応用については安全性の確立という点で時間を要することが予想されるが、ホルモン治療は実臨床でもさまざまな分野で行われている。本研究の最終目的は、GnRH の抗加齢作用及び GnRH に抗加齢作用を付与させる因子が解明することで、抗加齢加齢において、根拠に基づいたホルモン療法や投薬の実現可能性を示すことであった。

### 3. 研究の方法

胎生 15 日、新生児、出生後 4 週、ならびに 30 週以降の GFP マウスの側脳室下帯および海馬歯状回より神経幹細胞を樹立し、sphere を作成した。作成した sphere を腎被膜および脳室内に投与し、2 か月後に安楽死をさせ、脳、肝、腎、骨格筋、大動脈、皮膚について組織学的検討と rt-PCR による SASP 因子 (NF- $\kappa$ B, IL-1 $\alpha$ , IL-6R, Cdkn2a, CEBPB) の発現解析を行った。組織学的検討はヘマトキシリン・エオジン染色とともに、IL-1 $\alpha$ , IL-6R, Cdkn2a, TGF $\beta$  について免疫組織化学染色も行った。

続いて、若返りにおける視床下部下垂体系と SASP とのより直接的な関連性を調べる目的で、胎生 13 日、16 日、新生仔、老齢 GFP マウスの下垂体組織から細胞を取り出し、視床下部内側基底部 (MBH) への投与を試みた。2 か月後安楽死させ、移植マウスへの細胞生着を確認した後、脳、皮膚、腎、肝について組織学的検討と rt-PCR による SASP 因子の発現解析を行った。使用した抗体は神経幹細胞移植と同様であった。

#### 4．研究成果

##### ・神経幹細胞移植実験

神経幹細胞の樹立に成功し、脳室内および腎被膜下への投与を行った。

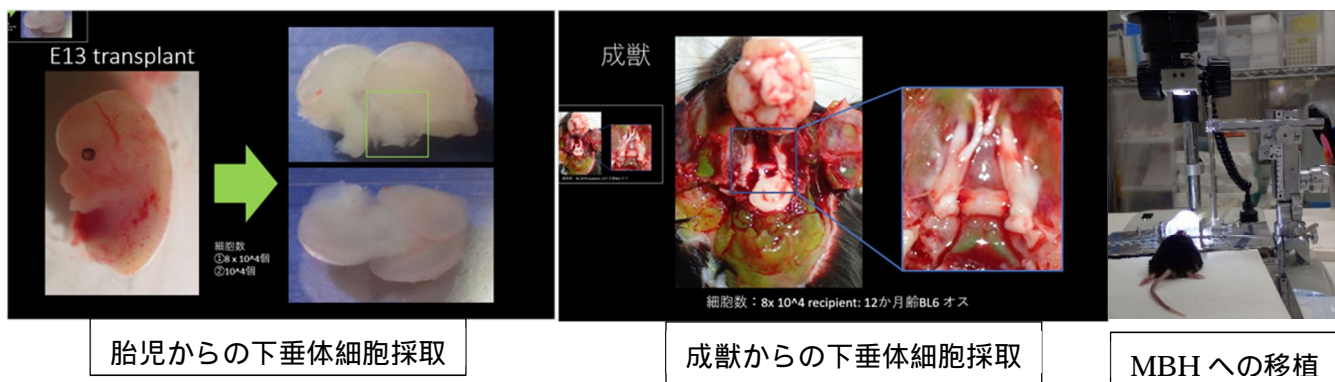
生着は確認できたものの、腎被膜下へ移植した群については、明らかな変化は認められなかった。脳室内に移植した群においても、rt-PCR や組織学的所見において、明らかな変化は観察できなかった。

そこで下垂体細胞と SASP の関連をより直接的に解明するため、下垂体細胞を直接 MBH に移植する方針へと変更した。



胎生 13 日、16 日、新生仔、老齢 GFP マウスの下垂体組織から細胞を取り出し、視床下部内側基底底部（MBH）へ投与した。

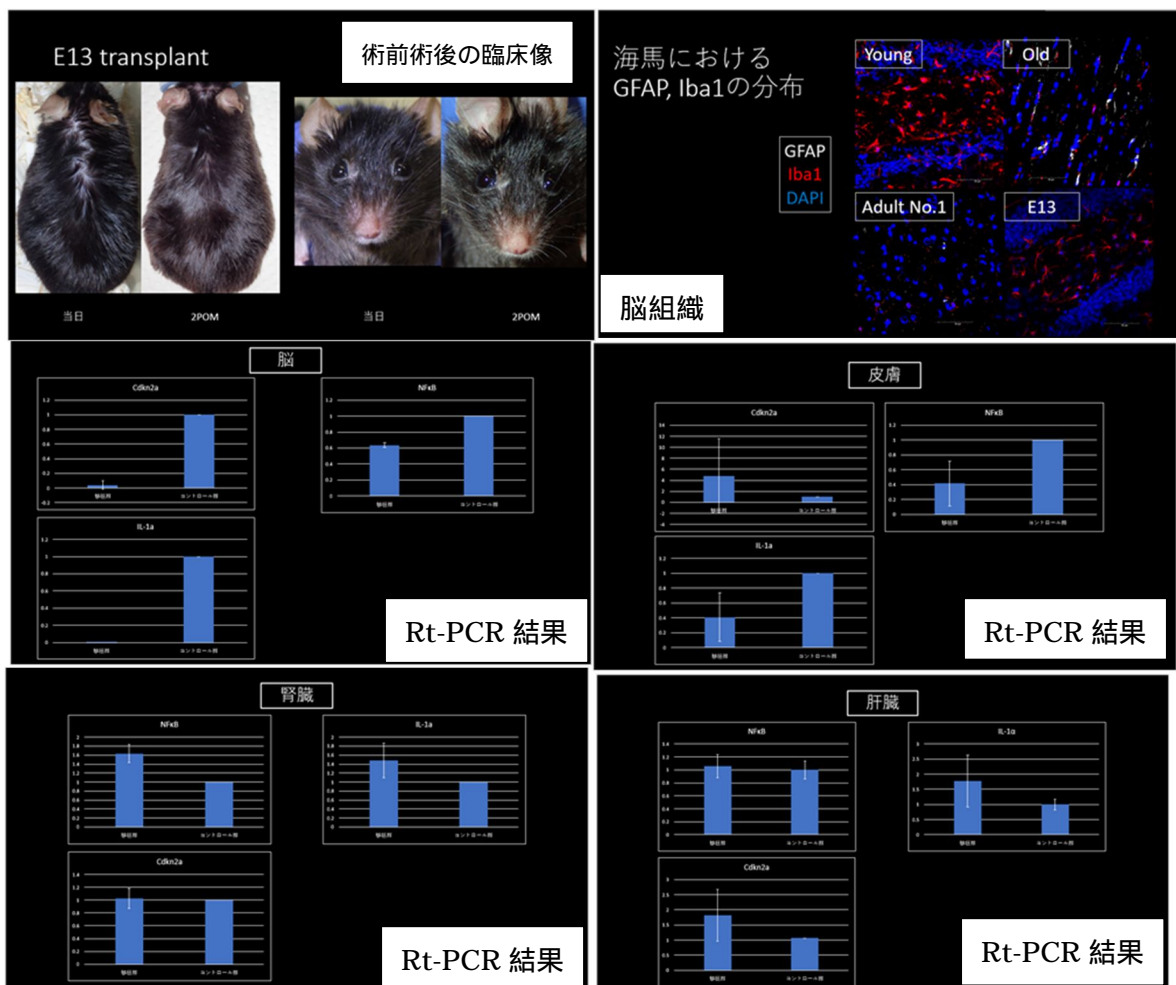
比較対象として、手術を行っていない若年マウスと老齢マウスを設定した。



術後2か月の時点で、毛並みなどの肉眼的な所見については術前と大きな差を認めなかった。脳切片において GFP 細胞の生着を確認し、組織学的検討を行ったところ、胎生13日の下垂体細胞を移植した群において、海馬における Iba1 の分布が、無手術の若年マウスと同様の分布を示した。また、rt-PCR でも、脳組織については SASP 因子が胎生13日の下垂体細胞を移植した群において SASP 因子の発現低下を認めた。

しかしながら、他の組織については、移植群において組織学的な変化を確認できず、また、rt-PCR でも、逆に SASP 因子の発現が亢進する結果となった。

現在胎生13日マウス以外の移植マウスについても鋭意解析を行っているが、恐らく手術手技の侵襲による炎症惹起が、SASP 因子発現亢進の原因と考えられた。今後、より侵襲の低い移植手技についての検討を要すると考えている。



胎生13日のマウスの下垂体細胞を移植した老齢マウスについての各検討

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------