

## 若齢骨髄移植による老化促進マウス prone 10 モデルにおける 老化に伴う筋萎縮の改善効果

名古屋大学大学院医学系研究科地域在宅医療学・老年科学の葛谷 雅文 教授（現在 名古屋大学名誉教授、名鉄病院病院長）、ヒューマンライフコード応用細胞医療学講座の成 憲武 特任教授（現在 延辺大学教授）、名古屋大学未来社会創造機構ナノライフシステム研究所の井上 愛子 特任講師らの研究チームは、若齢骨髄移植（Young bone marrow transplantation : YBMT）により加齢に伴う骨格筋の萎縮および筋機能低下を改善させることを見出し、そのしくみを明らかにしました。

YBMT は、血管新生を促進することが先行研究で示されています。しかし、骨髄由来幹細胞の数や機能は加齢によって変化し、加齢動物における細胞治療による筋肉の改善効果は限定的であることが報告されています。

本研究では、トランスフォーミング成長因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) スーパーファミリー<sup>\*1</sup> の一つであり、様々な細胞機能を制御している増殖分化因子-11 (GDF-11) <sup>\*2</sup> に着目し、YBMT による骨格筋量および筋機能低下に対する予防効果とその機序を、老化促進モデルマウス(SAMP10)<sup>\*3</sup> を用いて検証しました。

YBMT によって、GDF-11 血中濃度が上昇し、骨格筋におけるアポトーシス（細胞死）の抑制と、骨格筋タンパク質合成と細胞増殖の促進と、ミトコンドリア合成の促進による機能不全の改善と、骨髄由来筋前駆細胞が骨格筋に誘導されることか明らかになりました。

本研究結果により、加齢に伴う骨格筋の萎縮・再生能および筋機能低下を改善することか明らかになり、サルコペニア発症のメカニズムの解明および予防法の開発につながるものと期待されます。

本研究成果は、「Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle」(2022年9月5日の電子版)に掲載されました。

### ポイント

- 若齢骨髄移植は、骨格筋の機能低下と形態変化を改善した。
- 若齢骨髄移植は、筋肉細胞の減少を防ぎ、その再生が促進された。
- 若齢骨髄移植は骨格筋のミトコンドリア機能不全を軽減させた。
- SAMP10 (Senescence-accelerated mouse prone 10) マウスの若齢骨髄移植による骨格筋保護作用には増殖分化因子-11 (GDF-11) Growth Differentiation Factor-11 シグナルが必要であることを明らかにした。

### 1. 背景

加齢に伴う骨格筋量および筋力の低下として知られる、サルコペニアという病態があります。サルコペニアは、身体的フレイルや慢性疾患のリスク上昇と関連しており、老化したヒトや動物の筋肉におけるタンパク質合成のアンバランスやミトコンドリア機能不全に加え、アポトーシスや炎症性因子などの複数の生物学的な要因が関与していることが分かっています。

サルコペニアに関する臨床的、実験的な研究がいくつかなされていますが、加齢に伴うサルコペニアの発症率は増加の一途をたどっており、その治療法は確立されていないのが現状です。

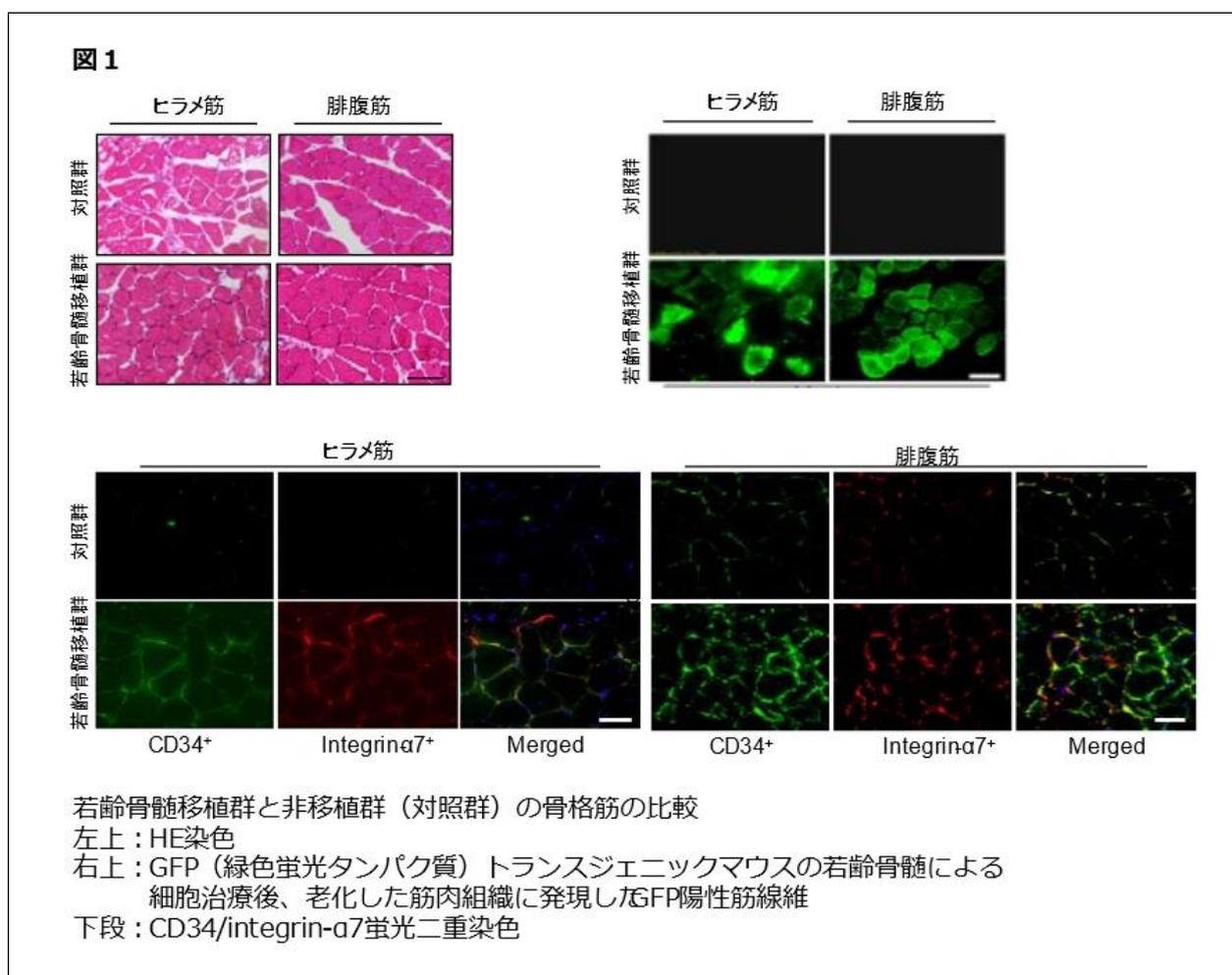
このため、サルコペニアの病態の解明と、加齢に伴う筋萎縮の新たな予防・治療標的の同定が急務となっています。

骨髄由来間葉系幹細胞(BM-MSCs)※4 は、多様な組織細胞への分化能や、様々な抗炎症性サイトカインや成長因子の分泌による抗炎症・免疫調節を介して組織修復に寄与することが示されています。さらに BM-MuSCs は、いくつかの動物モデルにおいて骨格筋の再生に寄与することも示されています。

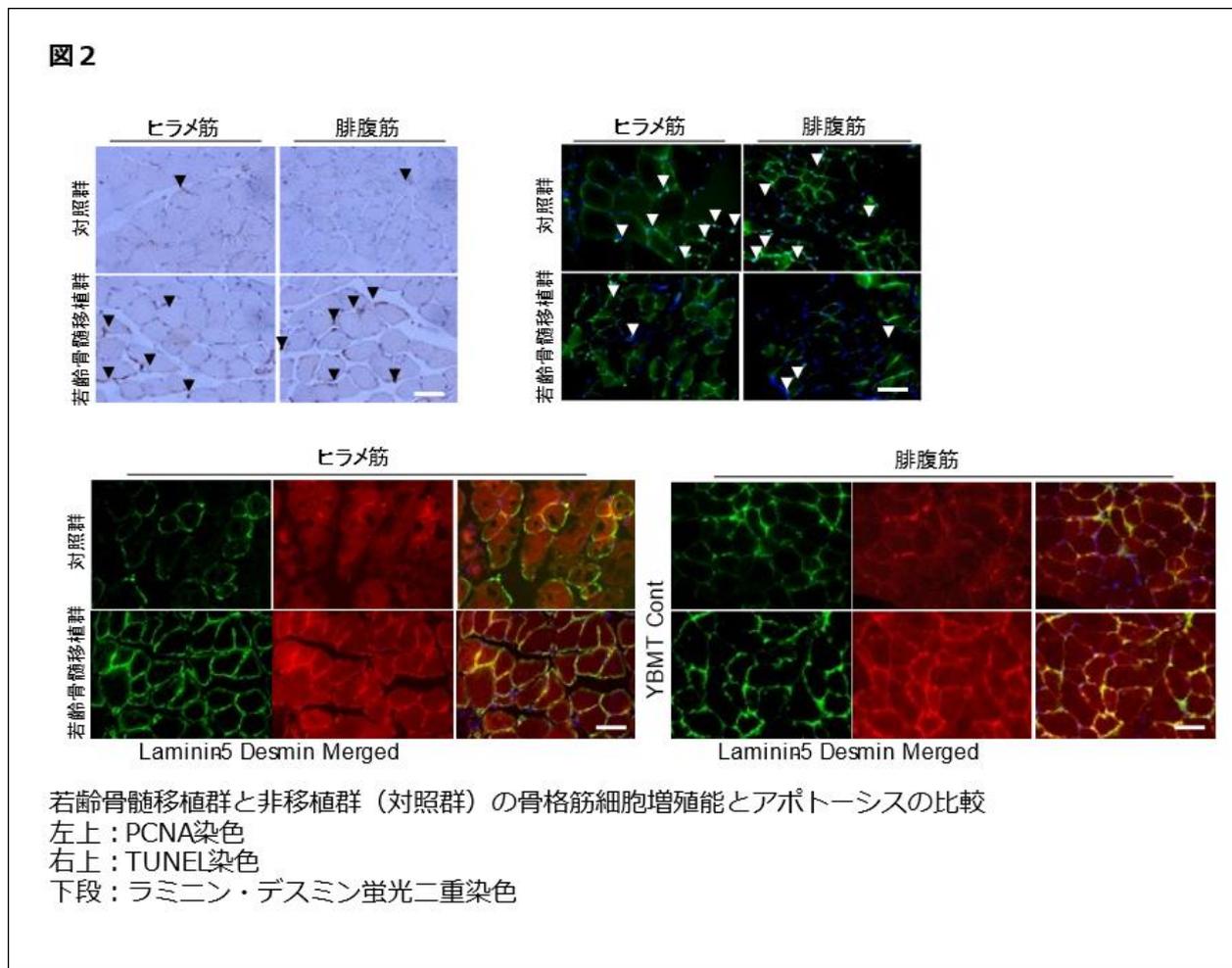
## 2. 研究成果

本研究チームは、9 週齢の雄の SAMP10 マウスを、無作為に骨髄移植を行わない非 YBMT 群 (n=6) と、8 週齢の C57BL/6 野生型マウスの骨髄を投与する YBMT 群 (n=7) に割り付けし、40 週齢にて両側の下腿腓腹筋とヒラメ筋を摘出し比較しました。

YBMT 群は、損なわれていた持久力、握力を回復させました。また、YBMT 群では、非 YBMT 群に比べ、筋肉量と筋線維サイズの増大と、ミオシン重鎖筋線維(Type1 筋線維)の割合の有意な増加が認められました (図 1)。



他にも、骨格筋肥大に重要な役割を果たすインスリン受容体基質-1 (IRS-1)、p-Akt、p-ERK1/2、p-mTOR、Bcl-2、PGC1 $\alpha$ のタンパク質発現と COX4 の RNA 量が増加し、PCNA 陽性細胞数と CD34/integrin- $\alpha$ 7 陽性の筋幹細胞数が有意に増加しました。加えて YBMT 群では、gp91phox、カスパーゼ-9 タンパク質のレベルが有意に減少し、骨格筋のアポトーシス細胞もヒラメ筋と腓腹筋両筋肉で減少しました (図 2)。



さらに本研究のチームは、ELISA 法においてアディポネクチン、VEGF、bFGF、TNF- $\alpha$  の血中レベルには、YBMT 群と非 YBMT 群との間に有意差は認められなかったものの、YBMT 群で GDF-11 の血中濃度レベルが上昇することに着目し、以下の実験を行いました。

GDF-11 中和抗体 (NGDF-11) を用いた実験では、持久力のみならず、ヒラメ筋および腓腹筋の筋線維面積も減少させました。また、酸化ストレスに関する gp91phox や、アポトーシスに関連する Bcl-2、およびカスパーゼ-9 タンパク質の発現量に有害な影響を及ぼしました。一方で、マウス組み換え GDF-11 タンパク (rGDF-11) の投与は、ヒラメ筋と腓腹筋の両方で、持久力、筋線維面積、デスミン発現、増殖細胞の増加と、細胞アポトーシスの減少が認められ、YBMT が介在する筋肉への改善効果と同様の結果を示しました。GFP (緑色蛍光タンパク質) トランスジェニックマウスの若齢骨髄を用いた細胞治療で、老化した筋肉組織に GFP+筋線維の発現も確認しました。これらの結果から、GDF-11 シグナルが、SAMP10 マウスにおける YBMT による筋萎縮の防止に関与していることが示唆されました。

また、老化促進モデルマウス SAMP10 (Senescence-accelerated mouse prone 10) において、

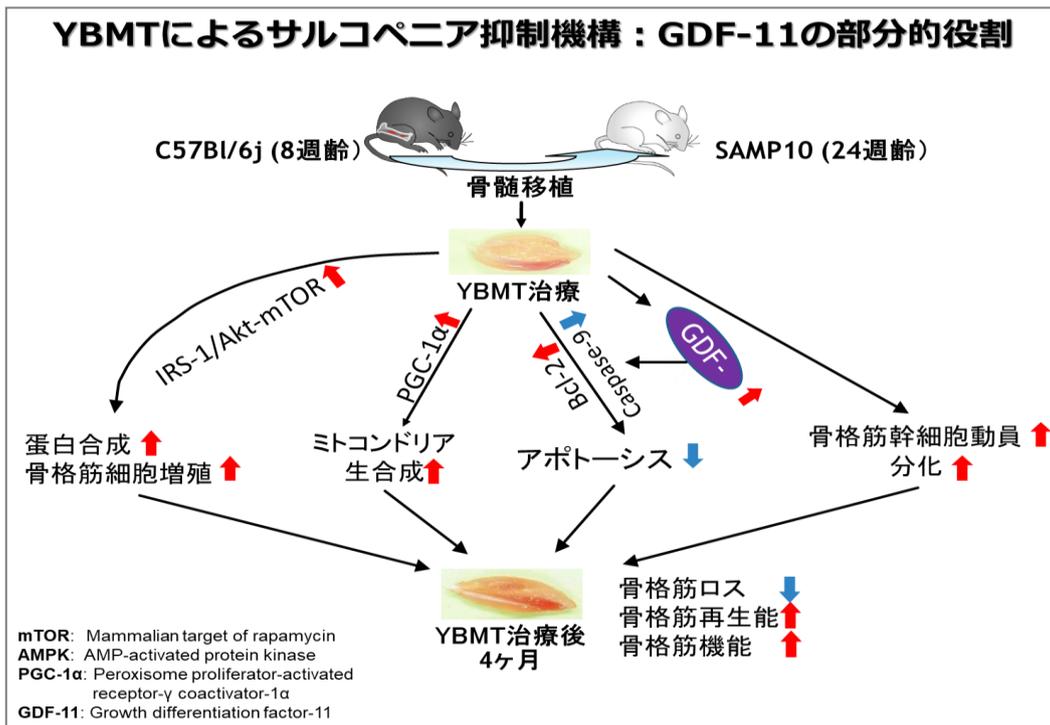
若齢骨髄移植（YBMT）が骨格筋タンパク質合成と細胞増殖の促進、アポトーシスの抑制、ミトコンドリア機能改善ならびに骨髄由来骨格筋前駆細胞の骨格筋へのホーミングと分化を促し、筋肉量の減少と萎縮および筋機能低下を改善させる上、部分的に GDF-11 シグナリングを介していることを明らかにしました。

### 3. 今後の展開

BMによる細胞療法は、サルコペニアを含む様々な病態において、筋肉への応答を活性化します。しかし、骨髄間葉系幹細胞が加齢に伴う筋肉量や機能の低下を改善する分子機構は十分に解明されていません。高齢患者から採取した幹細胞や前駆細胞を用いた虚血性心疾患患者への治療法は期待外れであったことが報告されています。

今回の結果は、SAMP10 マウスにおいて、YBMT がタンパク同化反応や筋肉のアポトーシスと増殖のアンバランスを改善し、ミトコンドリア生合成が部分的に GDF-11 シグナルを介することによりサルコペニアを改善することを示しています。

健康な若い動物から高齢の動物に BM を移植し、筋肉の「若返り」反応を回復させる試みは、加齢に伴う筋肉の再生と機能の低下を、BM-MSCs を傷ついた筋肉組織に動員し、送達を改善することによって防ぐことができるかもしれない有効な手段として今後さらに検討が望まれます。



### 4. 用語説明

#### ※1 トランスフォーミング成長因子βスーパーファミリー

トランスフォーミング成長因子β (transforming growth factor-β:  $tgf-\beta$ ) と似た構造を有するタンパク質群。 $tgf-\beta$  とは、 $tgf$  のうち、分子量 12k~15k のペプチドの二量体で、上皮成長因子のグループに属し、上皮細胞の増殖抑制、創傷治癒の促進などの活性がある。

## ※2 増殖分化因子-11 (GDF11 : growth differentiation factor 10)

tgf- $\beta$  の一種であることが知られている。GDF11 は多種の器官と組織に発現し、可逆的に細胞周期を停止させることにより発育過程を調節することができる。GDF11 は心臓、骨格筋、脳、骨格、血管などの多くの器官と組織の老化過程を遅延させることが示されている。

## ※3 老化促進モデルマウス(SAMP10 : Senescence-Accelerated Mouse Prone 10)

老化促進マウス Senescence-Accelerated Mouse (SAM) は、1975 年京都大学の竹田俊男教授らにより、AKR/J 系マウスと未知の系統との交雑が生じたマウスコロニーから確立されたマウス系統。促進老化・短寿命を示す P(Prone)系統と正常老化を示す R(Resistant)系統に大別される。SAMP10 マウスは加齢とともに脳萎縮を自然発症し、脳萎縮を伴う学習・記憶障害・情動障害のモデルとして用いられる。

## ※4 骨髄由来間葉系幹細胞(BM-MSCs : bone marrow-derived mesenchymal stem/stromal cells)

間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell : MSC) は組織再生や免疫調整等の作用を有し、骨髄、脂肪組織、胎盤、臍帯ならびに歯髄等広範な組織に存在する。間葉系幹細胞は、様々な結合組織、骨、軟骨、リンパ系組織、循環器系器官に分化することが知られ、さまざまな疾患への臨床応用が試みられている。

## 5. 発表雑誌

掲雑誌名 : Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle

論文タイトル : Young bone marrow transplantation prevents aging-related muscle atrophy in a senescence-accelerated mouse prone 10 model

著者 : Aiko Inoue<sup>1,2</sup>, Limei Piao<sup>3</sup>, Xueling Yue<sup>3</sup>, Zhe Huang<sup>4</sup>, Wenhui Xu<sup>3</sup>, Chenglin Yu<sup>3</sup>, Lina Hu<sup>5</sup>, Xiangkun Meng<sup>2</sup>, Hongxian Wu<sup>6</sup>, Takeshi Sasaki<sup>7</sup>, Kohji Itakura<sup>8</sup>, Hiroyuki Umegaki<sup>2</sup>, Masafumi Kuzuya<sup>1, 2\*</sup>, & Xian Wu Cheng<sup>3,4\*</sup>.

所属 :

1. Institute of Innovation for Future Society, Nagoya University, Nagoya 464-8601, Aichi, Japan;

2. Department of Community Healthcare and Geriatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Aichi, Japan;

3. Department of Cardiology and Hypertension, Jilin Provincial Key Laboratory of Stress and Cardiovascular Disease, Yanbian University Hospital, Yanji, Jilin, PR China;

4. Department of Human Cord Applied Cell Therapy, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Aichi, Japan;

5. Department of Public Health, Guilin Medical College, Guilin, Guangxi, PR China;

6. Shanghai Institute of Cardiovascular Disease, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai, PR China;

7. Department of Anatomy and Neuroscience, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Shizuoka, Japan;

8. Division for Medical Research Engineering, Nagoya University Graduate School of Medicine,  
Nagoya, Aichi, Japan  
DOI : 10.1002/jcsm.13058

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Cac\\_220913en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Cac_220913en.pdf)