

食品成分が骨髄由来体性幹細胞の 分化応答性に与える影響

Effects of Food Composition on the Differentiation Response of Bone Marrow-Derived Somatic Cells

中谷祥恵, 藤井 彬, 古旗賢二*
Sachie Nakatani, Akira Fujii, Kenji Kobata

要旨

骨髄中の体性幹細胞には間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cell : MSC) や造血幹細胞 (Hematopoietic Stem Cell : HSC) などが存在している。MSC は主に骨芽, 脂肪, 軟骨細胞への分化能を有し, HSC は血球系の細胞や破骨細胞などに分化する。

従来, 体性幹細胞は外部環境から隔絶したニッチに存在しているため, 加齢に伴う外部環境変化の影響を受けにくいと考えられていた。しかし, 最近の研究で, 加齢による骨髄環境の変化が骨髄中の体性幹細胞の性質を変化させ, 結果として骨密度を低下させることが明らかになってきた。また, 加齢だけではなく生活習慣病や食生活によっても体性幹細胞の性質が変化することも明らかになってきたので紹介する。

Functional Food Research 14 : 14-18, 2018

keywords

骨髄由来体性幹細胞, 間葉系幹細胞, 造血幹細胞, 骨密度, グルコサミン, 栄養

はじめに

幹細胞は「自己複製能力」と「多分化能」を併せ持つ未分化細胞である。幹細胞は分化全能性をもつ胚性幹細胞 (Embryonic Stem Cells : ES 細胞) や人工多能性幹細胞 (induced Pluripotent Stem cells : iPS 細胞) と限定的な分化能を有する体性幹細胞に分類される。骨髄中の体性幹細胞には間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cell : MSC) や造血幹細胞 (Hematopoietic Stem Cell : HSC) などが存在している。MSC は骨髄以外にも, 脂肪組織, 緻密骨, 臍帯などに分布し, 主に骨芽細胞, 脂肪細胞, 軟骨細胞への分化能を有することが報告されている¹⁻⁵⁾。HSC は血球系細胞や破骨細胞などに分化することが報告され

ている^{6, 7)}。これらの体性幹細胞は各組織へ構成細胞を供給し, 組織の維持, 修復, 再生などに寄与する。本稿では, 骨髄由来体性幹細胞の分化応答性が, 加齢, 疾患だけでなく, 摂取する栄養素および機能性成分によっても変化することが明らかになってきたので紹介する。

1. 骨髄由来体性幹細胞と老化

若年者の骨髄は赤色であるのに対し, 高齢者の骨髄は黄色がかっていることが知られている^{8, 9)}。これは, 骨髄中に占める脂肪細胞の割合が増加するためである⁸⁻¹¹⁾。加齢に伴い骨髄中の脂肪細胞数が増加することはすでに複数の報告がある^{10, 11)}。骨髄中の脂

脂肪細胞の性質は、他の組織周辺部に存在する白色脂肪細胞や褐色脂肪細胞とは一部異なる可能性が報告されているが、詳細は不明である⁸⁾。脂肪細胞と骨芽細胞はともに MSC から分化する。したがって、骨髄中の MSC が脂肪細胞に分化する割合が高いと、骨芽細胞に分化する割合が減少し、結果的に骨密度を減少させることは容易に想像できる。実際に、骨髄中の脂肪細胞の割合と骨量は負の相関があることを Shen らが MRI 画像解析を用いて明らかにしている¹²⁾。さらに、最近の研究で、脂肪細胞の分泌物が、MSC や HSC の分化応答性に影響を与えることが明らかになってきている。たとえば、脂肪細胞が分泌するステアリン酸やパルミチン酸は MSC から骨芽細胞への分化を抑制することが *in vitro* の実験系で明らかになっている¹³⁾。また、骨髄中の脂肪細胞が、HSC から破骨細胞への分化を TNF- α の分泌を介して誘導することも報告されている¹⁴⁾。このように加齢に伴う骨髄中の脂肪細胞増加は、HSC および MSC の分化応答性を調節し、骨密度を減少させることが示唆されている。

従来、体性幹細胞は外部環境から隔離したニッチに存在し自己増殖能力を維持しているため、加齢による外部環境変化の影響を受けにくいと考えられていた。しかし、まだ見解の一致は得られていないが、加齢とともに MSC の細胞増殖活性および骨への分化が減少するという報告がなされている¹⁵⁾。すなわち、MSC もその他の組織細胞と同様に加齢変性する可能性を意味する。MSC の加齢変性メカニズムとして、骨髄中の細胞が分泌するサイトカインおよび増殖因子が関与している可能性が示唆されている^{8, 13, 15)}。また、若齢マウスの MSC を別の若齢マウスへ移植した際と比較し、若齢マウスの MSC を老齢マウスへ移植した際に、脂肪組織への分化率が顕著に増加することからも、MSC の加齢変性を促進させる物質が骨髄環境に存在することが示唆される¹⁶⁾。以上のように、加齢あるいは老化は骨髄環境および骨髄中の体性幹細胞の性質双方に影響を与え、体性幹細胞による生体恒常性の維持を破綻させる結果、肥満が誘導され、骨密度を低下させることが明らかになりつつある。

II. 生活習慣病と骨髄由来体性幹細胞の分化応答性

骨髄環境および骨髄中の体性幹細胞の性質変化は、加齢のみにとどまらず、骨粗鬆症や 2 型糖尿病においても生じる可能性が明らかになってきている^{8, 10, 17)}。

骨粗鬆症患者の骨髄では脂肪細胞の割合が増加し、MSC の骨分化能が低下していることが明らかになっている^{8, 10)}。骨髄中の脂肪細胞量と骨粗鬆症の因果関係についてはまだ見解の一致が得られていないが、閉経後骨粗鬆症女性の骨髄中脂肪細胞量の増加は、エストロゲン補充療法で抑制できることが報告されている¹⁸⁾。また、閉経後の女性に骨粗鬆症治療薬であるリセドロン酸ナトリウムを服用させた結果、骨髄中の脂肪細胞量が減少し、骨髄細胞において脂肪分化促進因子である *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (*PPAR γ*) の発現抑制が報告されている¹⁹⁾。さらに、骨粗鬆症患者の MSC では骨・脂肪分化調節因子である *enhancer of Zeste homology 2* の発現が増加し、骨分化を抑制するなど、関連遺伝子の存在が明らかになりつつある²⁰⁾。すなわち、骨髄環境および骨髄由来体性幹細胞は骨粗鬆症治療の標的になる可能性を示している。

2 型糖尿病が骨粗鬆症を悪化させることはよく知られている²¹⁾。2 型糖尿病における骨密度低下と骨髄体性幹細胞の関係はまだ研究が進んでいないが、動物実験で関連が報告されている。2 型糖尿病を発症させたラットは骨折治癒が遅く、その際の骨髄細胞中の骨・脂肪分化関連遺伝子を測定した結果、脂肪分化関連転写因子である *PPAR γ* の mRNA 発現レベルを増加させ、骨分化関連転写因子である *core binding factor $\alpha 1$* (*CBFA1*) の mRNA 発現レベルが低下していることが報告されている²²⁾。2 型糖尿病における骨粗鬆症リスクの増加は、インスリン量の低下および終末糖化産物 (advanced glycation end products, AGEs) の増加などが原因と考えられてきたが²³⁾、これらに加え、糖尿病時における骨髄環境の変化およびそれに伴う体性幹細胞の分化応答性の変化も骨粗鬆症リスク要因として検討する必要がある。

III. 食品成分と骨髄由来体性幹細胞の分化応答性

骨髄中の微細環境は、加齢だけではなく食事内容の影響も受け、MSC や HSC の分化能に影響を与えることが *in vivo* 実験で複数報告されている。仔豚に母乳もしくは牛ミルク、大豆ミルクを摂取させた結果、仔豚の骨髄中から採取した MSC の骨形成能は大豆ミルク摂取群で最も高かったことが報告されている²⁴⁾。また、カルシウム過剰食および欠乏食を摂取させた仔豚の MSC では骨形成関連遺伝子の mRNA 発現レ

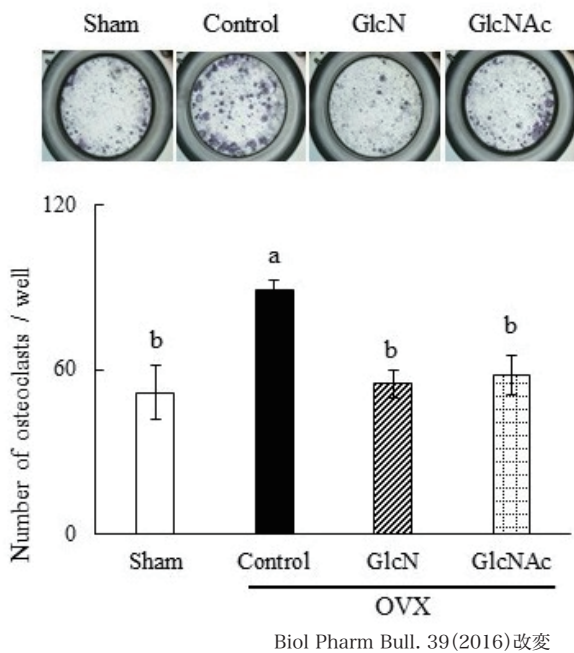


図1 グルコサミン類の摂取は骨髄中の造血幹細胞の分化応答性を制御する。

Sham; 偽手術群, OVX; 卵巣摘出手術群, GlcN; グルコサミン塩酸塩摂取群, GlcNAc; N-アセチルグルコサミン摂取群. (上段) Tartrate-Resistant Acid Phosphatase (TRAP) 染色. (下段) TRAP 陽性多核破骨細胞数.

Biol Pharm Bull. 39(2016)改変

ベルが低下し、脂肪分化関連遺伝子の mRNA 発現レベルが増加することも報告されている²⁵⁾。若齢マウスに高脂肪食を12週間摂取させた後に骨髄を採取し、HSC および MSC を分離培養した結果、HSC から破骨細胞への分化が促進された。また、MSC の骨芽細胞と脂肪細胞への分化がともに促進された。つまり、高脂肪食の摂取は HSC および MSC 両方の体性幹細胞の分化活性を高める可能性が示されている²⁶⁾。一方、高フルクトース食を摂取させ、メタボリックシンドローム状態にしたラットの MSC を分離培養した研究では、通常食と比較して骨芽細胞への分化が抑制され、脂肪細胞への分化が促進されたことが報告されている²⁷⁾。サプリメントの摂取が骨髄中の微細環境に影響を与えて体性幹細胞の分化応答を変化させる可能性も示唆さ

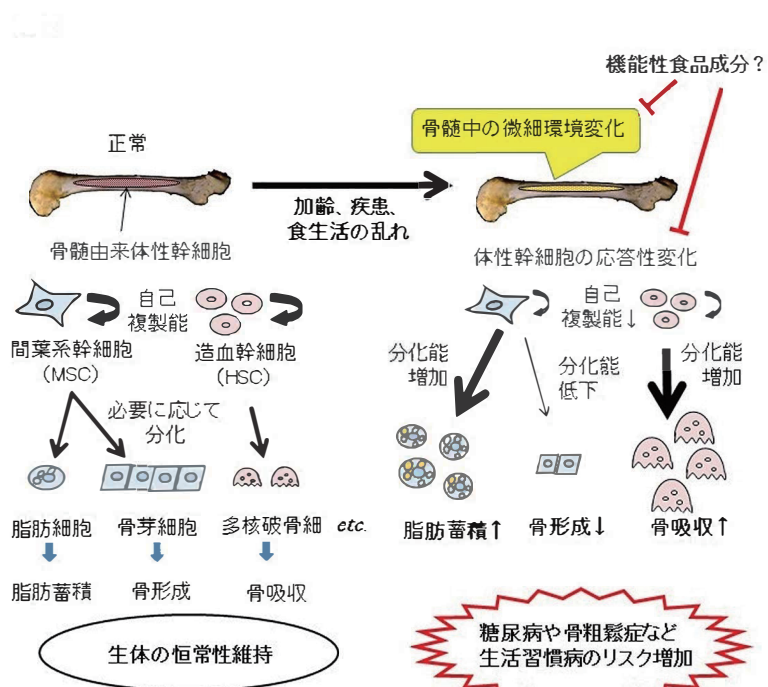
れている。N-アセチルシステインの摂取は、高脂肪食摂取によって誘導された HSC から破骨細胞への分化の促進を抑制することが報告されている²⁸⁾。

我々もマウスに卵巣摘出手術を施し、閉経後骨粗鬆症にすると、骨髄中の HSC の破骨細胞への分化能が高まることを見出した²⁹⁾。この閉経後骨粗鬆症マウスにグルコサミン類を12週間摂取させると、HSC から破骨細胞への分化促進を抑制できることを見出した(図1)。

これらの結果は、ある種の食品成分の継続摂取が骨髄中の微細環境を調節し、体性幹細胞の応答性変化を通じて、加齢(老化)に伴う骨関連疾患を予防できる可能性を示している(図2)。

まとめ

本稿では、加齢に伴う骨髄環境の変化は、骨髄中の体性幹細胞の分化応答性に影響を与え、体性幹細胞による生体恒常性維持を破綻させることを紹介した。また、加齢による骨髄体性幹細胞の分化応答性の変化は、疾患および食習慣で進行が制御できる可能性を紹介した。骨髄環境の制御がアンチエイジングおよび生活習慣病予防法開発のための新たな標的となりうると期待される。



化学と生物, 55(2017)改変

図2 骨・脂質代謝における骨髄由来体性幹細胞と加齢, 疾患, 食品成分の関係

◆文献

- 1) Jin HJ, Bae YK, Kim M, Kwon SJ, Jeon HB, Choi SJ, et al. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy. *Int J Mol Sci.* 2013 ; 14 (9) : 17986–8001.
- 2) Cai Y, Liu T, Fang F, Xiong C, Shen S. Comparisons of mouse mesenchymal stem cells in primary adherent culture of compact bone fragments and whole bone marrow. *Stem Cells Int.* 2015 ; 2015 : 708906.
- 3) Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999 ; 284 (5411) : 143–7.
- 4) Ullah I, Subbarao RB, Rho GJ. Human mesenchymal stem cells – current trends and future prospective. *Biosci Rep.* 2015 ; 35 (2).
- 5) Kobolak J, Dinnyes A, Memic A, Khademhosseini A, Mobasheri A. Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche. *Methods.* 2016 ; 99 : 62–8.
- 6) Metcalf D. Concise review : hematopoietic stem cells and tissue stem cells : current concepts and unanswered questions. *Stem Cells.* 2007 ; 25 (10) : 2390–5.
- 7) Blin-Wakkach C, Rouleau M, Wakkach A. Roles of osteoclasts in the control of medullary hematopoietic niches. *Arch Biochem Biophys.* 2014 ; 561 : 29–37.
- 8) Hardouin P, Pansini V, Cortet B. Bone marrow fat. *Joint Bone Spine.* 2014 ; 81(4) : 313–9.
- 9) Guillerman RP. Marrow : red, yellow and bad. *Pediatr Radiol.* 2013 ; 43 Suppl 1 : S181–92.
- 10) Justesen J, Stenderup K, Ebbesen EN, Mosekilde L, Steiniche T, Kassem M. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology.* 2001 ; 2(3) : 165–71.
- 11) Ambrosi TH, Scialdone A, Graja A, Gohlke S, Jank AM, Bocian C, et al. Adipocyte Accumulation in the Bone Marrow during Obesity and Aging Impairs Stem Cell-Based Hematopoietic and Bone Regeneration. *Cell Stem Cell.* 2017 ; 20(6) : 771–84.
- 12) Shen W, Chen J, Gantz M, Punyanitya M, Heymsfield SB, Gallagher D, et al. MRI-measured pelvic bone marrow adipose tissue is inversely related to DXA-measured bone mineral in younger and older adults. *Eur J Clin Nutr.* 2012 ; 66(9) : 983–8.
- 13) Wang D, Haile A, Jones LC. Dexamethasone-induced lipolysis increases the adverse effect of adipocytes on osteoblasts using cells derived from human mesenchymal stem cells. *Bone.* 2013 ; 53(2) : 520–30.
- 14) Goto H, Hozumi A, Osaki M, Fukushima T, Sakamoto K, Yonekura A, et al. Primary human bone marrow adipocytes support TNF- α -induced osteoclast differentiation and function through RANKL expression. *Cytokine.* 2011 ; 56(3) : 662–8.
- 15) Bellantuono I, Aldahmash A, Kassem M. Aging of marrow stromal (skeletal) stem cells and their contribution to age-related bone loss. *Biochim Biophys Acta.* 2009 ; 1792(4) : 364–70.
- 16) Singh L, Brennan TA, Russell E, Kim JH, Chen Q, Brad Johnson F, et al. Aging alters bone-fat reciprocity by shifting in vivo mesenchymal precursor cell fate towards an adipogenic lineage. *Bone.* 2016 ; 85 : 29–36.
- 17) Xu F, Dong Y, Huang X, Li M, Qin L, Ren Y, et al. Decreased osteoclastogenesis, osteoblastogenesis and low bone mass in a mouse model of type 2 diabetes. *Mol Med Rep.* 2014 ; 10(4) : 1935–41.
- 18) Syed FA, Oursler MJ, Hefferanm TE, Peterson JM, Riggs BL, Khosla S. Effects of estrogen therapy on bone marrow adipocytes in postmenopausal osteoporotic women. *Osteoporos Int.* 2008 ; 19(9) : 1323–30.
- 19) Duque G, Li W, Adams M, Xu S, Phipps R. Effects of risedronate on bone marrow adipocytes in postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2011 ; 22(5) : 1547–53.
- 20) Jing H, Liao L, An Y, Su X, Liu S, Shuai Y, et al. Suppression of EZH2 Prevents the Shift of Osteoporotic MSC Fate to Adipocyte and Enhances Bone Formation During Osteoporosis. *Mol Ther.* 2016 ; 24(2) : 217–29.
- 21) Leslie WD, Rubin MR, Schwartz AV, Kanis JA. Type 2 diabetes and bone. *J Bone Miner Res.* 2012 ; 27(11) : 2231–7.
- 22) Xu Y, Chen X, Liu B, Chou K, Liu Z, Deng J. Expression of PPAR γ and Cbfa1 mRNA in bone marrow cells in Type 2 diabetic rats and its correlation with impaired fracture healing. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2009 ; 34(10) : 957–64.
- 23) Montagnani A, Gonnelli S, Alessandri M, Nuti R. Osteoporosis and risk of fracture in patients with diabetes : an update. *Aging Clin Exp Res.* 2011 ; 23(2) : 84–90.
- 24) Chen JR, Lazarenko OP, Blackburn ML, Badeaux JV, Badger TM, Ronis MJ. Infant formula promotes bone growth in neonatal piglets by enhancing osteoblastogenesis through bone morphogenic protein signaling. *J Nutr.* 2009 ; 139(10) : 1839–47.
- 25) Li Y, Stahl CH. Dietary calcium deficiency

- and excess both impact bone development and mesenchymal stem cell lineage priming in neonatal piglets. *J Nutr.* 2014 ; 144(12) : 1935-42.
- 26) Shu L, Beier E, Sheu T, Zhang H, Zuscik MJ, Puzas EJ, et al. High-fat diet causes bone loss in young mice by promoting osteoclastogenesis through alteration of the bone marrow environment. *Calcif Tissue Int.* 2015 ; 96(4) : 313-23.
- 27) Felice JI, Gangoiti MV, Molinuevo MS, McCarthy AD, Cortizo AM. Effects of a metabolic syndrome induced by a fructose-rich diet on bone metabolism in rats. *Metabolism.* 2014 ; 63(2) : 296-305.
- 28) Cao JJ, Picklo MJ. N-acetylcysteine supplementation decreases osteoclast differentiation and increases bone mass in mice fed a high-fat diet. *J Nutr.* 2014 ; 144(3) : 289-96.
- 29) Asai H, Nakatani S, Kato T, Shimizu T, Mano H, Kobata K, et al. Glucosamines Attenuate Bone Loss Due to Menopause by Regulating Osteoclast Function in Ovariectomized Mice. *Biol Pharm Bull.* 2016 ; 39(6) : 1035-41.

Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) and hematopoietic stem cells (HSCs) are present in the somatic stem cell pool of the bone marrow. While MSCs differentiate primarily into osteoblasts, adipocytes and chondrocytes, HSCs differentiate primarily into hematopoietic cells and osteoclasts. Since somatic stem cells are present in a niche isolated from the external environment, they were conventionally considered to be less susceptible to the influence of changes in the external environment caused by aging. However, it has become clear from recent studies that changes in the bone marrow environment due to aging alter the properties of somatic stem cells in the bone marrow, thereby resulting in a decrease in bone density. In this review, we introduced the changes in the properties of somatic stem cells due to lifestyle diseases and dietary habits, in addition to aging.