

令和元年6月18日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K13228

研究課題名(和文) エピゲノムによる老化制御機構の解明と筋再生モデル

研究課題名(英文) A molecular mechanism of aging through epigenome and muscle regeneration

研究代表者

早野 元詞 (Hayano, Motoshi)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任講師

研究者番号：30593644

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：DNA損傷によるエピゲノム変化と老化誘導が可能なICE(Induced Changes in Epigenome)マウスでは3週間のDNA損傷誘導によって老化が加速され、筋力が低下する。網羅的遺伝子解析によってRPS28、RPS24などリボソーム遺伝子、ATP5k、Ndufa8、COX8などOXPHOS遺伝子、筋肉ミオシン遺伝子であるMyh7、Myh9遺伝子などが変化している。またこれらの遺伝子領域におけるH3K4me1やH4K20me1のヒストン修飾がICEマウス筋肉組織において変化しており、LSD1やSETD8といったエピゲノム因子の関与と筋組織機能制御の可能性が示されている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

老化に伴ってDNA損傷の蓄積やエピゲノム変化が報告されており、DNA損傷による老化や老化関連疾患誘導の分子機序が着目されてきた。その中で、DNA損傷によってゲノム変異を伴わないエピゲノム変化による老化は、生後生じる老化誘導の分子機序をあきらかにするだけでなく、老化の可逆性を証明することが可能となる。本研究によって、DNA損傷は特異的なエピゲノム変化と遺伝子発現を引き起こすことで、老化速度を変化させることをあきらかにした。今後、代謝やタンパク質合成を含めた制御を介してエピゲノムを標的としたサルコペニア創薬の基盤となる。

研究成果の概要(英文)：ICE (Induced changes in epigenome) mice is a novel mouse model in which aging related phenotypes and the changes in epigenome are induced by DNA damage through I-PpoI endonuclease. By induction of DNA damage for three weeks at 4 to 6 months age in mice, muscle mass and muscle functions are declined at 10 months post-treatment. Transcriptome analysis with RNA-seq showed ribosomal genes (RPS28 and RPS 24), OXPHOS genes (ATP5k, Ndufa8, COX8) and myosin-related genes (Myh7, Myh9) are altered at 10 month after induction of aging along with changes in H3K4me1 and H4K20me1 at those genes in ICE mice. Those data indicate that LSD1 and SETD8 involved in regulation of aging and muscle function during aging.

研究分野：老化

キーワード：老化 エピゲノム DNA損傷 筋肉 サルコペニア

1. 研究開始当初の背景

世界トップの少子高齢である日本は現在 25%の人口が 65 歳以上、2050 年までにその割合は 40%に到達すると予想されている。老化は癌、II型糖尿病、心疾患、神経変性疾患などリスクを増大し、筋力、記憶力、視力、聴力などクオリティライフに影響する。したがって、老化の分子機構を理解し、老化関連疾患を予防、治癒することで健康寿命延長が求められている。老化制御薬や技術の開発によって、医療費の削減、生産性の増加だけでなく、老化のメカニズムは若い世代においても疾患の予防や、不妊治療など非常に高い汎用性を持っていると期待される。1999年MITのGuarente研究室によってDSB(二重鎖DNA切断)によってヒストン脱アセチル化酵素因子であるサーチュイン(Sir2/3/4)がDSB領域へ移動し、サーチュインによって抑制されていたrDNA、mating loci、telomere領域での遺伝子発現脱制御と老化が脱制御を受ける。このDNA損傷に伴うヒストン修飾因子の局在変化と、老化関連遺伝子の発現変化はマウス及びヒトの細胞でも2008年にHarvard Medical SchoolのSinclair研究室から報告され、DNA損傷型エピゲノム変化はRCM(Relocalization of Chromatin Modifier)と呼ばれている。その後、RCM仮説による老化制御が*in vitro*だけでなく、*in vivo*のマウスモデルにおいても再現し、DNA損傷依存的な老エピゲノム変化によって老化誘導が可能か迫ることを目的とし、ICE(Induced Changes in Epigenome)マウスが構築された。

2. 研究の目的

細胞や組織機能に重要な組織特異的な遺伝子発現パターンは老化に伴って変化する。この細胞や組織の「アイデンティティ」はエピゲノム修飾と呼ばれるヒストンやDNA化学的修飾によって構築、維持される。近年、エピゲノム修飾変化による疾患、老化が注目されているが、その上流に存在する原因因子の単離と、エピゲノム変化による詳細な老化及び老化関連疾患制御は不明である。本研究は、遺伝子変異を伴わないDNA損傷依存型エピゲノム変化が老化を誘導するに十分であることをICE(Inducible Changes in Epigenome)マウスを用いて証明する。老化誘導と疾患制御に重要なエピゲノム因子、遺伝子発現、代謝制御を高年齢者のフレイル左右する筋肉に焦点を当てて解析を行う。

3. 研究の方法

新規早老症モデルマウスはICE(Inducible Changes in Epigenome)マウスと呼ばれ、エピゲノムの変化を介して種々の老化関連表現系を誘導できる。具体的には15塩基認識エンドヌクレースI-PpoIによってDNA損傷を誘導する。DNA損傷のタイミングと期間を制御するため、エストロゲン受容体の変異タンパク質ERT2を用いている。タモキシフェンによってER融合タンパク質ERTM-I-PpoIの細胞内局在と安定性を制御し、DNA損傷オン・オフ制御がかかるよう設計されている。ICEマウスの成体4-6か月齢においてDNA損傷を3週間だけ誘導する。その後DNA損傷は修復され、DNA損傷部位において変異は観察されない。しかし、3週間のDNA損傷によってその後代謝異常、記憶力、骨密度の低下、ミトコンドリアの機能低下、皮膚においてメラノサイト幹細胞の消失と白髪など老化表現系が促進される。

本研究では、ICEにおける筋肉量の低下、ミトコンドリアの機能異常、血管新生低下などに着目し、DNA損傷を3週間誘導することによって老化を加速させる。老化を加速させて1ヶ月後、10ヶ月後の筋肉機能評価とともに、それに伴って変化するエピゲノム変化や遺伝子発現変化を捉え、老化の分子機構に迫る。

4. 研究成果

ICEマウスは、I-PpoIというエンドヌクレースをタモキシフェンによって誘導する。I-PpoIはマウスのゲノムを約19箇所切断してDNA損傷を誘導するが、I-PpoI遺伝子上流にloxP siteに挟まれたSTOPカセットがあるため、タモキシフェン存在下のみCre-ERT2が核内に入り、I-PpoIの遺伝子発現をオンにする。さらにDNA損傷を停止させるため、I-PpoIもERT2を融合させており、タモキシフェンがない状態ではI-PpoIは核外に局在し、DNA損傷はオフとなる。このように、これまでの紫外線、電子線、過酸化水素などのDNA損傷とは異なり(1)決まった場所のDNAを切断する。(2)I-PpoIによるDNA損傷レベルは低く、過剰なチェックポイントを誘導しない。(3)I-PpoIによるDNA切断領域においてDNA変異を誘導しない。(4)DNA損傷をオンとオフに自在に誘導できる。(5)様々な老化様表現系を示す。といった画期的なDNA損傷による老化、エピゲノム変動モデルである。ICEマウスではI-PpoIによる3週間のDNA損傷によって、

白髪や白内障、脳の記憶低下や骨密度低下など 様々な老化様表現系が誘導される。さらに興味深いことに筋肉において顕著な機能低下、筋肉量、ミトコンドリア量、ATP、ミトコンドリアの機能低下、血管新生の減少など非常に多くのサルコペニアに似た症状を示す。また遺伝子発現解析によって、脂質代謝や炎症に関与する遺伝子群の変化と、H3K27ac と H3K56ac によるエピゲノム解析から筋肉のエピゲノムが FOXO1 と呼ばれる代謝に関する遺伝子のゲノム結合領域において変化している。細胞や組織機能に重要な組織特異的な遺伝子発現パターンは老化に伴って変化する。この細胞や組織の「アイデンティティ」はエピゲノム修飾と呼ばれるヒストンや DNA 化学的修飾によって構築、維持される。ICE (Inducible Changes in Epigenome) マウスでは 15 塩基認識エンドヌクレース I-PpoI によって DNA 損傷を誘導される。DNA 損傷のタイミングと期間を制御するため、エストロゲン受容体の変異タンパク質 ERT2 を用いている。タモキシフェンによって ER 融合タンパク質 ERTM- I-PpoI の細胞内局在と安定性を制御し、DNA 損傷オン・オフ制御がかかるよう設計されており、ICE マウスの成体 4-6 か月齢において DNA 損傷を 3 週間だけ誘導されることによって、エピゲノムの変化を介して種々の老化関連表現系を誘導できる。これまで筋組織において筋肉量の低下、ミトコンドリアの機能低下、それに伴う RXR/LXR シグナル経路や Acute phase response signaling などの炎症関連遺伝子発現変化が捉えられている。また Forkhead box protein O1 (FOXO1) や FOXO3、CTCF 結合領域で特異的に変化が観察される。FOXO1/3 は代謝やストレス応答制御を行う転写因子であり、CTCF (11-zinc finger protein or CCCTC-binding factor) はクロマチン構造を決めるインスレーターとして知られている。本研究によってさらに、ICE マウスの筋肉において、老化誘導 1 ヶ月後に、EI2F シグナル、ミトコンドリア、mTOR 経路において遺伝子変化が観察された。またパスイ解析によって上流因子として Myc, Rictor, Hnf4a といった転写因子が示唆された。さらに、10 ヶ月後に RPS28, RPS24 などのリボソーム遺伝子、ATP5k, Ndufa8, COX8 などの OXPHOS 遺伝子さらに筋肉ミオシン遺伝子である Myh7, Myh9 遺伝子などの遺伝子発現が変化していることが RNA-seq によって明らかになった。またこれらの RPS28 や Myh9 遺伝子領域における H3K4me1 や H4K20me1 のヒストン修飾が ICE マウス筋肉組織において変化しており、LSD1 や SETD8 といったエピゲノム因子の関与と筋組織機能制御の可能性が明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 10 件)

1. 早野 元詞、エピゲノムおよび組織弾性による老化定量は可能か、定量生物学の会 第九回年会、2019
2. 早野元詞. DNA 損傷による Epigenome identity 破綻と個体老化の分子機構. 京都大学萩原研究室セミナー. 2018
3. 早野元詞. エピゲノム変動による老化誘導マウスモデルと筋制御. 日本筋学会第 4 回学術集会. 2018
4. Hayano M. DO EPIGENETIC CHANGES CAUSE AGING IN MAMMALS? 第 6 回若手による骨格筋細胞研究会. 2018
5. 早野元詞. DNA 損傷によるエピゲノム自己同一性の破綻と個体老化の分子機構. 第 39 回日本基礎老化学会シンポジウム. 2018
6. 早野元詞. 研究留学の意義は? 筑波大学「博士のキャリアパス」. 2018
7. 早野元詞. 老眼スタートアップ. メンター三田会. 2018
8. 早野元詞. エピゲノム変動による老化モデル構築及び、老化関連疾患誘導のメカニズム. 第 6 回 AAA (Academy of Aging and Cardiovascular-Diabetes Research). 2018
9. 早野 元詞、Elias Salfati、Abhirup Das、John Apostolides、Luis Rajman、Michael Bonkowski、Sachin Thakur、Neha Garg、Sarah Mitchell、Andreas Pfenning、Jae-Hyun Yang、Rafael deCabo、Shelley Berger、Philipp Oberdoerffer、David Sinclair. エピゲノム変動による老化モデルとその分子機構、Conbio2017, 2017
10. 早野 元詞「エピゲノム変動による老化モデル構築及び、老化関連疾患誘導のメカニズム」、第 10 回 Symphony、2017

〔図書〕（計 1 件）

1. 早野 元詞、坪田 一男 「アンチエイジング研究-世界の流れ」、医学のあゆみ/医歯薬出版株式会社、2017

○出願状況（計 0 件）

該当なし

○取得状況（計 0 件）

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

該当なし

(2) 研究協力者

該当なし