

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：83903

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19419

研究課題名(和文) 食事制限に適応した「長寿バエ」の解析による新規長寿遺伝子および腸内細菌叢の同定

研究課題名(英文) Identification of a novel longevity factor by analyzing the long-lived fly populations "DR-evolved flies"

研究代表者

赤木 一考 (Akagi, Kazutaka)

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・組織恒常性研究プロジェクトチーム・プロジェクトリーダー

研究者番号：30794424

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、食餌制限下で100世代以上継代飼育した長寿ショウジョウバエ系統「DR-evolved flies(長寿バエ)」を用いて、その長寿形質をもたらすメカニズムの解明に取り組んだ。その結果、この系統の長寿形質は腸内細菌叢非依存的であることが示唆された。また、長寿バエでは、加齢に伴う腸幹細胞の異常増殖が抑制され、腸管上皮恒常性が保たれていることがわかった。さらに、RNA-seq解析の結果から、長寿バエでは、機能未知遺伝子の有意な発現変動が観察された。したがって、それらの遺伝子が腸管恒常性維持に働き、寿命延伸に関わる可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の研究では、腸内細菌叢の変化やインスリンシグナリングパスウェイ、TORパスウェイなどの制御が健康に大きく影響することが明らかにされている。一方、本研究では、腸内細菌叢非依存的かつ既知の長寿関連遺伝子群とは異なる遺伝子によって、寿命を制御できる可能性を示すことができた。したがって、本研究をさらに発展させることで、健康寿命延伸へ向けた新規介入法の開発へ繋がることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：We have developed the long-lived fruit fly population by keeping flies under dietary restriction (DR) condition for over 100 generations that we named "DR-evolved flies". Here, we characterized the mechanisms by which increasing lifespan in this population. We found that "DR-evolved flies" maintains intestinal homeostasis by suppressing age-related gut dysplasia. This phenotype is independent of the gut microbiota composition as the antibiotic treatment did not suppress the long-lived phenotype. Furthermore, our RNA-seq analysis revealed that several genes, which have not characterized its functions, are significantly changed in "DR-evolved flies", suggesting that these genes contribute to the long-lived phenotype in this population by maintaining intestinal homeostasis.

研究分野：分子生物学

キーワード：食餌制限 老化 キイロショウジョウバエ

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

食餌制限 (dietary restriction: DR) による寿命延伸効果は、酵母、線虫、ショウジョウバエ、霊長類など様々な生物で報告されている。また、インスリンシグナリングパスウェイ、TOR パスウェイなど栄養感知に関わるパスウェイは、進化的に広く保存されていることが知られている。DR においても、それらの栄養感知シグナリングパスウェイが、寿命の制御に重要な役割をすることが知られている。しかしながら、それらのみでは DR における寿命延伸効果を完全に説明することは出来ず、その詳しいメカニズムについては不明な部分が多い。したがって、これまでに知られていない長寿関連遺伝子や腸内細菌叢を含めた環境要因が DR における寿命延伸作用している可能性が考えられた。

我々は、DR 条件下で 100 世代以上継代飼育した野生型ショウジョウバエ系統を保持している。興味深いことに、この系統は、高栄養条件下で飼育した場合においても、コントロール群と比較して長寿であることがわかり、長期に渡る DR 飼育によって遺伝的に長寿形質を獲得している可能性や特殊な腸内細菌叢を保有している可能性が考えられた。そこで我々は、本系統を「DR-evolved flies」と名付け、本研究に用いることとした。

## 2. 研究の目的

本研究では、DR 条件下で 100 世代以上継代飼育した長寿ショウジョウバエ系統「DR-evolved flies」を解析し、どのようなメカニズムで長寿形質を示すのかについて明らかにすることを目的とする。それによって、新規長寿遺伝子および寿命制御に関わる腸内細菌叢の同定を目指す。

## 3. 研究の方法

### (1) エサの組成と抗生物質投与

本研究に用いたショウジョウバエのエサは、コーンミール 8.6%、グルコース 5%、寒天 0.46% に、高栄養食 (ad libitum: AL) では乾燥酵母 5%、食餌制限 (DR) では乾燥酵母 0.5% を加えたものを使用した。

抗生物質投与実験では、高栄養食に、それぞれ 50µg/ml のカナマイシン、アンピシリン、テトラサイクリン、エリスロマイシンのカクテルを混合し使用した。

### (2) 腸幹細胞増殖および分泌性細胞の観察

免疫組織化学的手法を用いて、腸幹細胞増殖レベルおよび分泌性細胞の数を定量的に観察した。腸幹細胞増殖は、リン酸化ヒストン H3 抗体を用いて検出した。腸管の分泌性細胞の検出には、Prospero 抗体を使用した。

## 4. 研究成果

事前に行っていた RNA-seq 解析のデータを、当研究所のメディカルゲノムセンター協力のもと再解析した。その結果、機能未知の遺伝子を含む 19 遺伝子を長寿形質に関わる可能性のある候補遺伝子として絞り込むことができた。興味深いことに、それらの候補遺伝子には、インスリンシグナリングパスウェイ、TOR パスウェイなどの一般的によく知られている長寿関連遺伝子群が含まれていなかった。したがって、「DR-evolved flies」の長寿形質が、それらに依存しない経路によるものであることが示唆された。

次に、観察された長寿形質が腸内細菌叢に由来する可能性について検討した。そのために、「DR-evolved flies」に抗生物質を給餌し、腸内細菌を除いた状態における寿命を観察した。その結果、同様に抗生物質を給餌したコントロール群と比較して、「DR-evolved flies」では依然として寿命の延伸が観察され、長寿形質は失われなかった。したがって、「DR-evolved flies」の長寿形質は腸内細菌叢非依存的であることが示唆された (図 1)。

ショウジョウバエの腸管では、加齢に伴い腸幹細胞が異常に増殖し、腸恒常性破綻および dysplasia を引き起こすことが知られており、寿命と密接に関係している。そのため、腸幹細胞増殖レベルは、老化マーカーの一つと考えられている。そこで、「DR-evolved flies」の腸管上皮恒常性を調べるため、リン酸化ヒストン H3 抗体を

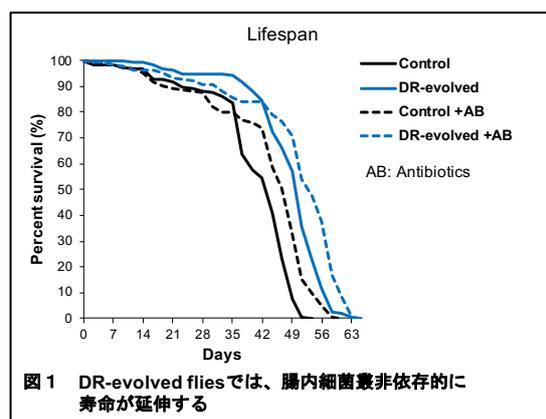


図 1 DR-evolved flies では、腸内細菌叢非依存的に寿命が延伸する

用いて腸幹細胞増殖レベルを免疫組織化学的手法を用いて観察した。その結果、「DR-evolved flies」では加齢に伴う腸幹細胞の増殖がほとんど見られず、腸管上皮恒常性が維持されていることが明らかになった。そこで、腸管における細胞分化への影響について解析を行った。ショウジョウバエの腸管では、栄養吸収を担う吸収上皮細胞と粘液やホルモン産生を担う分泌性細胞の2種類の分化細胞が存在することが知られている。本研究では、分泌性細胞のマーカである Prospero 抗体を用いて免疫染色を行い、分泌性細胞の数を定量的に調べた。その結果、コントロール群と「DR-evolved flies」では、分泌性細胞の数に有意な差は見られなかった。したがって、「DR-evolved flies」では、腸幹細胞増殖の抑制により、加齢に伴う腸管上皮恒常性の破綻を抑制するが、分化の方向性には影響を与えないことが示唆された (図2)。

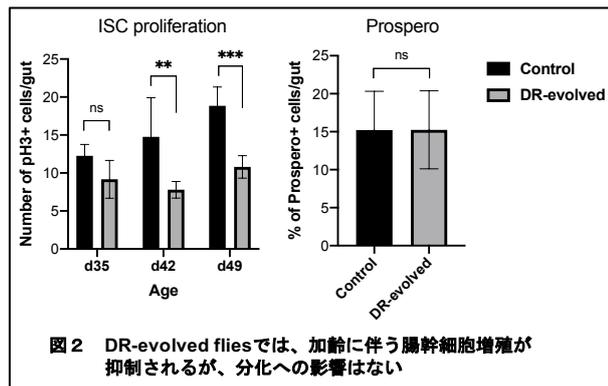


図2 DR-evolved fliesでは、加齢に伴う腸幹細胞増殖が抑制されるが、分化への影響はない

以上の結果から、「DR-evolved flies」では、腸内細菌叢非依存的に腸管上皮恒常性が維持されていることがわかり、加齢に伴う腸幹細胞の増殖が抑制されていることがわかった。本研究期間では、この腸幹細胞増殖の抑制に関わる遺伝子を同定するには至らなかったが、RNA-seq 解析から得られた候補遺伝子がそれらの制御に関わる可能性が考えられた。

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 1件）

1. 発表者名 Lucas S. Trindade, Kazutaka Akagi
2. 発表標題 A Drosophila approach to assess the r/K system and the evolution of lifespan
3. 学会等名 The 4th Asia-Pacific Drosophila Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Lucas S. Trindade, Toshiro Aigaki, Kazutaka Akagi
2. 発表標題 A Drosophila approach to assess the r/K system and the evolution of lifespan
3. 学会等名 第40回日本基礎老化学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Lucas Trindade, Toshiro Aigaki, Kazutaka Akagi
2. 発表標題 Long-term adaptation to a specific food condition may be sufficient to explain the major changes of life-history evolution
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ayano Harata, Lucas Trindade, Kazutaka Akagi
2. 発表標題 Long-term adaptation to dietary restriction improves intestinal homeostasis in <i>Drosophila melanogaster</i>
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

国立長寿医療研究センター 組織恒常性研究PTホームページ  
<http://www.ncgg.go.jp/research/department/ahr-pt/index.html>

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	TRINDADE LUCAS  (TRINDADE LUCAS)  (80607466)	国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・その他部局等・流動研究員   (83903)	削除：2019年4月11日