

平成21年 3月31日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008年

課題番号：19590238

研究課題名（和文）宇宙環境と線虫を用いた老化制御遺伝子の探索

研究課題名（英文）Search for longevity genes using nematode, *C. elegans* and the space environment

研究代表者

本田 陽子（HONDA YOKO）

財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団・研究員

研究者番号：90399460

研究成果の概要（和文）：国際線虫宇宙実験（ICE1st）において宇宙滞在により発現が低下した遺伝子群について、RNA 干渉法（RNAi）による遺伝子発現阻害および遺伝子欠損等の変異体の寿命測定を行った。その結果、これまでに RNAi および変異体で寿命が対照群よりも延びる 5 遺伝子を見つけた。これらの結果は、ICE1st において宇宙軌道上に 10 日間滞在させた線虫の老化マーカーが遅延したことを裏付けるものであり、宇宙環境を利用した新規の寿命関連遺伝子の探索という新しい研究分野につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We studied the effects of inactivation of *C. elegans* genes that were shown to be downregulated in space by the results of the International *C. elegans* Experiment (ICE) 1st. We found that RNAi and mutation of 5 genes significantly increased lifespan. These results suggest the possibility that *C. elegans* ages more slowly in space than on ground.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：6903

キーワード：発達・成長・老化

1. 研究開始当初の背景

飢餓・過密という極限環境に対する線虫の生体応答（*daf*）の研究から、老化速度に関わる遺伝子の研究が行われてきた。その結果、このような極限状態での生体調節の乱れから

生体を守るためのインスリンシグナル系の遺伝子が、老化制御にも重要な役割を持つことが明らかになってきた。これらのネズミ相同遺伝子に同様な老化制御機能が見出され、ヒトを含む高等動物での多くのインスリンシグ

ナルの老化研究が惹起された。しかし、線虫の老化制御機構については当初見出されたインスリンシグナルだけでは説明できない現象も多く見出されてきており、まだ多くの未知の機構・遺伝子が存在すると考えられる。われわれは、地上の 1/10000 以下の重力のやはり極限環境である宇宙環境の生体応答・老化への影響に興味を持ち、線虫を宇宙環境に滞在させ老化速度を調べる実験を行った。宇宙滞在中の老化速度を調べる研究は初めてのものである。宇宙滞在线虫の二つの老化マーカーを調べたところ地上飼育と比較して有意に老化遅延を示す結果となった。また DNA マイクロアレイによる発現解析を行ったところ神経系の遺伝子特異的に顕著な発現低下を観察した。宇宙滞在での老化遅延の原因は高放射線と微小重力の二つが考えられるが、線虫が放射線に強い耐性を示し、宇宙での放射線線量では大きな影響を受けないこと、そして感覚神経系や神経伝達に関する遺伝子の発現が宇宙滞在で大きく低下することから、微小重力の影響が大きいと考えられた。そこで、新規の仮説として「微小重力下では重力を感知する神経系が働かなくなり生体調節の乱れが生じ、老化制御に関わる機構が活性化するため、老化が遅延された」と提唱する。この仮説が正しければ、宇宙滞在で発現が変化した遺伝子の中に重力の変化を感知するセンサーや、老化制御に関与するものが見出せるはずである。これらの遺伝子機能を変化させれば地上でも老化遅延を引き起こすことができるものと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、この仮説を検証し老化制御に関わる遺伝子を見出すことである。そのために、期間中に(1) DNA マイクロアレイで明らかになった宇宙滞在により発現が変化する遺伝子を、リアルタイム PCR で確認すること。(2) これらの遺伝子を RNA 干渉法 (RNAi) により発現抑制し個体の老化速度・寿命を調べ、老化遅延を地上で再現させ、老化を遅延させた原因遺伝子群を同定する。(3) さらにこれらの遺伝子の欠損変異体を作製し、2重、3重変異体を作製して、これらの遺伝子の働きの組み合わせがいかに老化速度・寿命に影響するかを明らかにする。このようにして微小重力に反応して老化制御に関わる過程の遺伝子を解明する。

3. 研究の方法

(1) リアルタイム RT-PCR 解析による宇宙滞在による遺伝子発現変化の確認

ICE-1st プロジェクトで宇宙滞在させた線虫サンプルで DNA マイクロアレイによって遺伝子発現が 1/2 以下に低下した 19 遺伝子について、それぞれの遺伝子のプライマーを合成し、リアルタイム PCR を行って遺伝子発現変化を確認した。

(2) RNAi による遺伝子ノックダウン

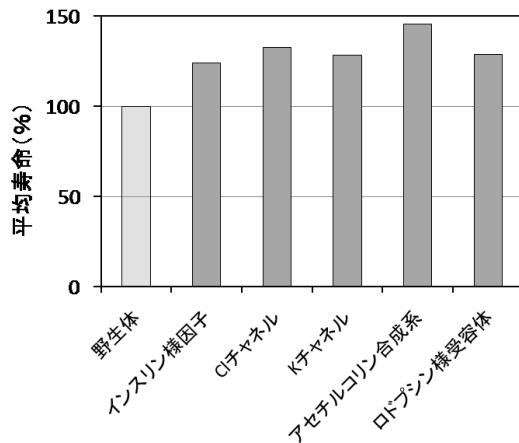
(1) で宇宙滞在により発現低下が確認された遺伝子について、二重鎖 RNA を産生する大腸菌を餌として飼育し RNAi を行った。この方法は簡便な遺伝子機能の解析法であり、遺伝子欠損による遺伝子ノックアウトでは表現型が強く出すぎる場合に、遺伝子のノックダウンを行う方法として有用である。線虫のフィーディング RNAi 用ベクター、pPD129.36(L4440) の 2 つの T7 プロモーターの間に目的遺伝子の cDNA をつないだ RNAi 用プラスミドを RNase フリーの大腸菌、HT115 (DE3) にトランスフォーメーションしたライブラリー (Open Biosystems, Waltham, MA) を使用した。

(3) 遺伝子欠損変異体の解析

(2) の RNAi で寿命延長が確認された遺伝子について欠損変異体の寿命を測定した。寿命は毎日の生存数を計数することによった。遺伝子欠損変異体は C. エレガンス遺伝学センター (C.G.C.、ミネソタ大学) やナショナルバイオリソースプロジェクトより供与された。

4. 研究成果

リアルタイム PCR 解析により 17 遺伝子の宇宙滞在による遺伝子発現低下が確認された。このうち RNAi による遺伝子ノックダウンで 5 遺伝子における寿命延長が確認された。またこれらの遺伝子について欠損変異体の寿命を測定したところ、すべて野生体に比べて平均寿命、最長寿命ともに長かった。図は野生体の平均寿命を 100% としたときの遺伝子変異体の平均寿命を表す。宇宙環境を利用することにより、老化に関連する 5 遺伝子が新規に見つかった。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- ① Honda Y, Tanaka M, Honda S, Redox regulation, gene expression and longevity. *Geriatrics Gerontology International* 査読有 (in press)
- ② 本田修二、本田陽子、トレハロースの老化防御作用-線虫 *C. elegans* を用いた老化・寿命研究、*ファルマシア*、査読無、46(2) 141-146 (2010)
- ③ 本田修二、本田陽子、田中雅嗣. 線虫の寿命・老化とトレハロース, *Trehalose Symposium*, 査読無, 12, 17-22 (2009)
- ④ Honda Y, Higashibata A, Ishioka N, Higashitani A, Honda S, Study of the effect of space flight on the aging of *C. elegans*. *Space Utilz Res* 査読無 25, 143-144 (2009)
- ⑤ Honda Y, Tanaka M, Honda S, Modulation of longevity and diapause by redox regulation mechanisms under the insulin-like signaling control in *Caenorhabditis elegans*. *Experimental Gerontology* 査読有 43(6): 520-529 (2008)
- ⑥ Szewczyk N J, Tillman J, Conley C A, Granger L, Segalet L, Higashitani A, Honda S, Honda Y, Kagawa H, Adachi R, Higashibata A, Fujimoto N, Gasset G, Eche B, Chaput D, Viso M, Description of International *Caenorhabditis*

elegans Experiment first flight (ICE-First). *Advances in Space Research* 査読有 42 1072-1079 (2008)

- ⑦ Higashibata A, Higashitani A, Adachi R, Kagawa H, Honda S, Honda Y, Higashitani N, Sasagawa Y, Miyazawa Y, Szewczyk NJ, Connley CA, Fujimoto N, Fukui K, Shimazu T, Kuriyama K, Ishioka N. Biochemical and Molecular Biological Analyses of spaceflown nematodes in Japan, International *Caenorhabditis elegans* Experiment First (ICE-First). *Microgravity Science and Technology* 査読有 19: 159-163 (2007)
- ⑧ RNAi と老化研究, 本田陽子, 基礎老化研究、査読無、31(1): 29-30, 2007

[学会発表] (計 10 件)

- ① 本田陽子、東端晃、石岡憲昭、田中雅嗣、本田修二: 宇宙空間における線虫の老化、第 26 回宇宙利用シンポジウム、神奈川、1 月 25 日-26 日 (2010)
- ② Yoko Honda, Masashi Tanaka, Shuji Honda: Trehalose and aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*, 第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、12 月 9 日-12 日, 2009
- ③ 本田陽子: センチュウの寿命リズムの刻み方、第 34 回日本比較内分泌学会大会・日本比較生理生化学会第 31 会大会合同大会シンポジウム「比較生物学がひもとく動物の不思議」、大阪、10 月 22 日, 2009 (オーガナイザー、スピーカー)
- ④ 本田陽子、田中正嗣、本田修二: 線虫の老化を制御するインスリン様シグナル伝達経路、第 34 回日本比較内分泌学会大会・日本比較生理生化学会第 31 会大会合同大会、大阪、10 月 22 日, 2009
- ⑤ 本田陽子: 線虫 *C. elegans* の老化と寿命の制御、日本動物学会第 80 回大会シンポジウム「加齢生物学の新展開」、静岡、9 月 18 日, 2009 (スピーカー)
- ⑥ 本田修二、本田陽子、田中雅嗣: 線虫の寿命・老化とトレハロース、第 12 回トレハロースシンポジウム、東京、10 月 14

日, 2008 (招待講演)

- ⑦ 本田陽子: 重力の老化速度に及ぼす影響とその機構解析, 宇宙実験アイデア検討会, 宇宙フォーラム, 東京, 2008
- ⑧ 本田陽子, 田中雅嗣, 本田修二: 線虫 *C. elegans* におけるトレハロース代謝と老化・寿命, 第30回日本分子生物学会, 横浜, 12月11-15日, 2007
- ⑨ 本田陽子, 田中雅嗣, 本田修二: 線虫 *C. elegans* における低酸素応答と寿命, 第30回日本分子生物学会, 横浜, 12月11-15日, 2007
- ⑩ 本田陽子, 東端晃, 石岡憲昭, 田中雅嗣, 本田修二: 宇宙空間における線虫の老化, 第25回日本基礎老化学会, 札幌, 6月20-22日, 2007

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本田 陽子 (HONDA YOKO)
財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団・研究員
研究者番号: 90399460

(2) 研究分担者

本田 修二 (HONDA SHUJI)
財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団・主任研究員
研究者番号: 40100127

(3) 連携研究者

なし