

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H04035

研究課題名（和文）視床下部を介した新規老化抑制機構の解明—健康寿命の延伸を目指して—

研究課題名（英文）Functional roles of FGF23/alpha-Klotho system in the regulation of aging in the hypothalamus

研究代表者

小森 忠祐（Komori, Tadasuke）

和歌山県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90433359

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：近年、個体の老化により老化関連疾患が惹起される重要な要因として、視床下部における炎症性変化などの細胞老化随伴分泌現象（SASP）が提唱されている。しかし、抗老化遺伝子である Klotho と SASP との関連性は不明である。野生型マウスの視床下部において認められた絶食時の炎症性サイトカイン（TNF- $\alpha$  や IL-1 $\beta$ ）の発現低下が、Klothoヘテロ欠損マウスでは抑制されていた。また、他のSASP因子として、CXCL1やCXCL2の発現が野生型マウスと比較して Klothoヘテロ欠損マウスで増加していた。これらの結果より、Klothoは、視床下部においてSASPを抑制する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗老化遺伝子である Klotho の発見により様々な個体の老化メカニズムが明らかとなってきたが、炎症性変化などの細胞老化随伴分泌現象（SASP）と Klotho との関連性は不明であった。本研究により、Klotho が視床下部における炎症性変化などSASP因子の制御に重要であることが示唆された。これらの結果は、Klotho の新たな機能の発見に加え、中枢神経系における老化関連疾患の分子基盤の解明、及び視床下部を介した個体の老化メカニズムの解明へと繋がるのが期待される。

研究成果の概要（英文）： Senescence-associated secretory phenotype (SASP) factors, such as inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ ) and chemokines (CXCL1 and CXCL2), are known to promote several age-related diseases, including neurodegenerative disorders, cardiovascular diseases, diabetes, and cancer. However, the relationships between Klotho and SASP factor remain unclear. The expressions of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  were decreased by fasting in the hypothalamus of wild-type mice, but not in heterozygous Klotho-deficient mice. In addition, CXCL1 and CXCL2 was increased in the hypothalamus of heterozygous Klotho-deficient mice compared with that in wild-type mice. These results suggest that Klotho is important to modulate SASP factors in the hypothalamus.

研究分野：代謝学

キーワード：視床下部 FGF23 Klotho 老化 SASP

## 1. 研究開始当初の背景

平成 29 年 9 月現在における日本の高齢者(65 歳以上)人口は過去最高の 3514 万人であり、4 人に 1 人が高齢者の超高齢化社会を迎えている。近年、健康寿命(健康上の問題で日常生活が制限されることなく生活できる期間)の延伸が提唱されており、健康寿命の延伸は、個人の生活の質の低下を防ぐことのみならず、介護費用の増大などの社会問題の解決にも繋がると考えられている。健康寿命の延伸の鍵は適切な食事と運動であると考えられ(厚生労働省)、食事や運動が個体の老化に与える影響について骨格筋や脂肪組織などの代謝関連末梢臓器における役割が明らかになってきた。しかし、脳の視床下部は摂食やエネルギー代謝の中枢であるにもかかわらず、生活習慣病や個体の老化との関連性については未だ不明な点が多い。本研究では、「視床下部は、個体の老化にどのような役割を果たしているのか？」を学術的な問いとし、その解明により究極的にはヒトの健康寿命の延伸へと貢献することを目指す。

## 2. 研究の目的

我が国は 4 人に 1 人が高齢者の超高齢化社会を迎えており、第二次健康日本 21 では健康寿命の延伸を中心課題として掲げている。個体の老化により引き起こされる身体的・行動的变化(食事量の低下や基礎代謝の低下、体温調節異常、活動量の低下など)は、生活習慣病や熱中症、及びサルコペニアなどの老化関連疾患を惹起するため、健康寿命の延伸には個体の老化メカニズムの解明が不可欠である。抗老化遺伝子である  $\alpha$ Klotho やそのリガンドである FGF23 の発見により様々な個体の老化メカニズムが明らかとなってきた。しかし、摂食・エネルギー代謝の中枢である視床下部における FGF23/ $\alpha$ Klotho システムの抗老化作用は不明のままである。本研究の目的は、FGF23/ $\alpha$ Klotho システムの視床下部における機能を包括的に解明することで、視床下部を介した個体の老化メカニズムを明らかにし、健康寿命の延伸へと繋げることである。

## 3. 研究の方法

### (1) 絶食時における FGF23 の発現の検討

野生型マウスの絶食時の視床下部、末梢臓器、及び血清中における FGF23 の発現を、mRNA をリアルタイム PCR 法にて、血中の蛋白質濃度を ELISA 法にて検討した。

### (2) $\alpha$ Klotho ヘテロ欠損マウスの絶食時視床下部における詳細な解析

野生型、及び  $\alpha$ Klotho ヘテロ欠損マウスの絶食時の視床下部における c-fos 蛋白質の発現を免疫染色法にて検討した。また、TNF- $\alpha$  や IL-1 $\beta$  の mRNA 発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。また、ミクログリアのマーカーとして Iba-1 の発現を免疫染色法にて検討した。

### (3) $\alpha$ Klotho ヘテロ欠損マウスの絶食時視床下部における老化関連因子の解析

野生型、及び  $\alpha$ Klotho ヘテロ欠損マウスの絶食時の視床下部における SASP 因子(CXCL1, CXCL2)の mRNA 発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。

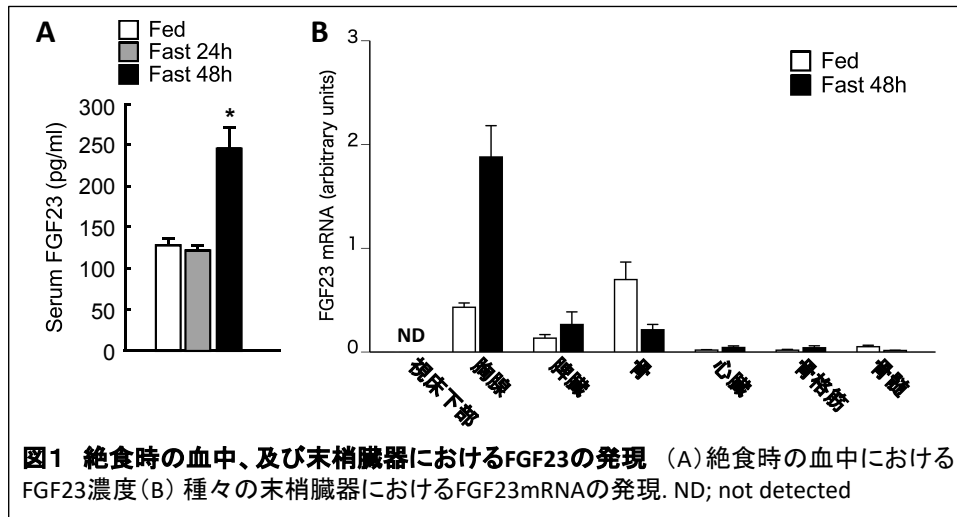
### (4) $\alpha$ Klotho ヘテロ欠損マウスの代謝量・活動量の解析

野生型、及び  $\alpha$ Klotho ヘテロ欠損マウスの代謝量や活動量を、小動物総合モニタリングシステム(CLAMS)を用いて測定した。

## 4. 研究成果

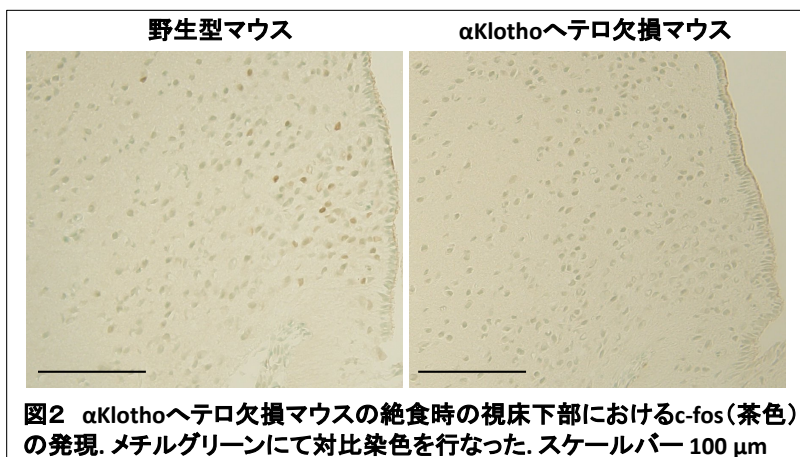
### (1) 絶食時における FGF23 の発現の検討

我々は、これまでの研究で、絶食時の視床下部弓状核において FGF23 蛋白質の発現が増加することを明らかにしている。本研究では、視床下部における FGF23 の mRNA 発現を検討したが、自由摂食時、及び絶食時のいずれにおいても発現が認められなかった(図 1B)。そこで、末梢臓器よりの FGF23 が視床下部に作用しているという仮説を立て、血中 FGF23 濃度を検討したところ、絶食により増加が認められた(図 1A)ことより、絶食時には末梢臓器における FGF23 の発現が増加し、血中を介して視床下部に作用している可能性が示唆された。次に、絶食時にいかなる臓器で FGF23 の発現が増加するのかについて検討したところ、胸腺や脾臓、心臓、骨格筋において絶食による FGF23 遺伝子の増加傾向が認められた(図 1B)。以上の結果より、絶食時に FGF23 は、胸腺や脾臓、心臓、骨格筋などの末梢臓器より分泌され、視床下部に作用する可能性が示唆された。



### (2) $\alpha$ Klotho ヘテロ欠損マウスの絶食時視床下部における詳細な解析

我々は、これまでの研究で、抗老化遺伝子として知られる  $\alpha$ Klotho が絶食により視床下部弓状核の NPY/AgRP ニューロンにおいて増加することや、 $\alpha$ Klotho ヘテロ欠損マウスでは視床下部弓状核の NPY や AgRP の絶食による発現増加が抑制されることを明らかにしている。NPY や AgRP の発現増加に加え、絶食時には NPY/AgRP 陽性神経細胞の活性化が起こる。そこで、 $\alpha$ Klotho が絶食時に NPY/AgRP 陽性神経細胞の神経活動を制御しているのかを検討するために、 $\alpha$ Klotho ヘテロ欠損マウスにおける NPY/AgRP 陽性神経細胞の活性化について検討した。野生型マウスでは、神経細胞の活性化の指標である c-fos 蛋白質の発現が絶食時の視床下部において増加したが、 $\alpha$ Klotho ヘテロ欠損マウスでは、絶食によるそれらの増加が抑制されていた(図 2)。以上の結果より、 $\alpha$ Klotho は、絶食時の視床下部において神経活動を活性化している可能性が示唆された。



また、中枢神経系における炎症性変化は神経細胞の活動を抑制し、 $\alpha$ Klothoは炎症性変化を抑制することが報告されている(Zhu L et al., Proc Natl Acad Sci USA, 2018)。そこで、絶食時の視床下部における炎症性変化について検討したところ、野生型マウスにおいて炎症性サイトカインであるtumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ やinterleukin (IL)-1 $\beta$ の発現やミクログリアの数の低下傾向が見られた。しかし、 $\alpha$ Klothoヘテロ欠損マウスでは、絶食によるこれらの低下が抑制されていた。TNF- $\alpha$ やIL-1 $\beta$ は、視床下部におけるAgRP陽性神経細胞の活動を抑制することが知られている(Chaves FM et al., Int J Mol Sci, 2020)。今回の結果より、 $\alpha$ Klothoは、絶食時の視床下部において、直接的な神経細胞への作用に加え、TNF- $\alpha$ やIL-1 $\beta$ の発現を抑制することによりAgRP陽性神経細胞の活動を亢進させている可能性が示唆された。

### (3) $\alpha$ Klothoヘテロ欠損マウスの絶食時視床下部における老化関連因子の解析

近年、個体の老化関連疾患が惹起される重要な要因の一つとして、細胞老化が着目されている。老化した細胞は、種々のサイトカインやケモカインを産生し、様々な生理学的な作用を発揮することが明らかになってきており、この現象は、細胞老化随伴分泌現象(senescence-associated secretory phenotype; SASP)と呼ばれている。視床下部において、SASPで産生される因子としては、前述の炎症性サイトカインやTimp-1, CXCL1, CXCL2などが知られているが、老化抑制分子である $\alpha$ KlothoとSASP因子の関連性は不明である。そこで、 $\alpha$ Klothoヘテロ欠損マウスの視床下部におけるこれらSASP因子の発現を検討したところ、野生型マウスと比較してCXCL1やCXCL2増加が認められた。これらの結果より、 $\alpha$ Klothoは、視床下部においてSASP因子を抑制する可能性が示唆された。

### (4) $\alpha$ Klothoヘテロ欠損マウスの代謝量・活動量の解析

$\alpha$ Klothoヘテロ欠損マウスにおける絶食時の食欲や体温の野生型マウス変化が、全身の代謝調節も担っているため、 $\alpha$ Klothoヘテロ欠損マウスにおいて、絶食時の代謝量や活動量を計測した。野生型と比較してVO<sub>2</sub>や行動量が低下傾向を示したことより、 $\alpha$ Klothoは、絶食時に摂食調節のみならず、全身の代謝調節にも関与する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小森忠祐、森川吉博
2. 発表標題 絶食時の視床下部におけるFGF23- Klotho系の役割の検討
3. 学会等名 第4回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究協力者	森川 吉博  (Morikawa Yoshihiro)	和歌山県立医科大学・解剖学第二講座・教授  (24701)	
研究協力者	久岡 朋子  (Hisaoka Tomoto)	和歌山県立医科大学・解剖学第二講座・助教  (24701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------