

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：83903

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21780

研究課題名（和文）老化過程において視床下部機能を積極的に維持する分子制御機序

研究課題名（英文）Molecular basis that positively protects hypothalamic function during the aging process

研究代表者

佐藤 亜希子（Sato, Akiko）

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・統合生理学研究部・副部長

研究者番号：80800979

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、老化に伴い、脳内では新規因子が生成され、積極的に視床下部の機能を維持しようとする機序があるという可能経緯を検証するために、若齢マウスと比較し老齢マウスの視床下部背内側核で顕著に発現量が増加する遺伝子群の分類と候補遺伝子の選定を行った。候補遺伝子の発現変化を比較し、脳領域特異的な変化と脳全体で変化が認められる群に分類し、神経細胞培養系において細胞生存率に影響を及ぼしうる遺伝子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

老化寿命制御における脳の重要性が注目される中、老化過程において脳神経細胞の機能を積極的に維持するために新たに産生されその機能を発揮する分子を見出したことは、老化メカニズムの理解を深める上で役に立つ。また、将来的な老化への介入の糸口ともなる成果である。

研究成果の概要（英文）：In this study, we tried to address whether genes, which newly generated with age in the hypothalamus, can maintain physiological function during the aging process. We identified genes that highly expressed in old mice compared with young mice by RNA-sequencing and that expressed in the hypothalamus and other brain regions, and then found that genes affect cell viability in neuronal cultures.

研究分野：老化生物学

キーワード：脳 老化 トランスクリプトーム

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究から、脳、特に視床下部の機能を維持することが、哺乳類の老化・寿命を制御する上で重要な役割を持つことが明らかにされてきている^①。この制御システムでは、老化に伴い蓄積するストレス応答因子 (NF- κ B) の除去、または脳機能低下をもたらす因子 (哺乳類サーチュイン SIRT1、視床下部神経幹細胞) の補充が老化現象を遅延し、個体寿命を延長させることが示されている。最近、申請者は、SIRT1 を介した老化・寿命制御における中心領域である視床下部背内側核の RNA 検体を用いたトランスクリプトーム解析から、若齢マウスと比較し老齢マウスで顕著に発現量が増加する遺伝子群および microRNA 群を同定した。この中には、脳の機能を向上しうる遺伝子が含まれていた。加えて、最近、老齢マウスの幹細胞では、若齢マウスでは認められない遺伝子発現量の概日振幅が新規に形成され、生理学的機能を維持する分子機序があることが報告された^②。これらの結果から、老化に伴い、脳内では、新規因子が生成され、積極的に視床下部の機能を維持しようとする機序があるのではないかと考えられる。

2. 研究の目的

本研究課題では、以下の2つの研究に取り組むことで、「老化に伴い、脳内では、新規因子が生成され、積極的に視床下部の機能を維持しようとする機序がある」可能性を検証する。

- (1) 若齢マウスと比較し老齢マウスの視床下部背内側核で顕著に発現量が増加する遺伝子群の分類と候補遺伝子の選定
- (2) 候補遺伝子群の機能解析

3. 研究の方法

- (1) 若齢マウスと比較し老齢マウスの視床下部背内側核で顕著に発現量が増加する遺伝子群の分類と候補遺伝子の選定

老化過程で積極的に脳機能を維持しようとする分子またはシグナル伝達系を明らかにするため、老齢マウスで新規生成される遺伝子、または、老齢マウスで新規に概日周期性の発現量変化を示す遺伝子を同定した。具体的には、以下の方法で選定した。

先行実験では、老化・寿命制御中枢の一つとして報告されている視床下部背内側核を若齢 (4ヶ月齢) および老齢 (20ヶ月齢) マウスから昼と夜 (ZT6 および ZT15) 採取し、Total RNA を抽出、この RNA 検体を用いて RNA-sequencing を実施した (各3検体)。まず、発現量変化から、3つのカテゴリーに分類した: ①昼夜共に、若齢マウスと比較して老齢マウスで発現量が増加する、②概日周期性の遺伝子発現変化が老齢マウスでのみ認められ、その発現量は日中最大となる、③概日周期性の遺伝子発現変化が老齢マウスでのみ認められ、その発現量は夜間最大となる。次に、①②③の中で、遺伝子オントロジー解析によりシグナル伝達系に関与する遺伝子群を選定した。これら遺伝子群の老化に伴う発現量変化を qRT-PCR で検証した。

- (2) 候補遺伝子群機能の解析

(1) で選定された候補遺伝子群が視床下部の機能制御にどう関与するのか、以下の方法から明らかにした。高い睡眠の質を保つことは、ヒトの QOL 維持のみならず、寿命延長に繋がることが報告されている。また申請者は、マウス実験において睡眠の加齢に伴う変化が、様々な老化形態の初期変容となる知見を得ている。加えて、興味深いことに、視床下部機能が維持されたマウスモデルでは、老化過程で睡眠の質も維持されており、寿命が延長されることを見出した。これらの結果は、視床下部による老化・寿命制御機序は睡眠調節を介していることを示唆している。従って、睡眠とその他の生理学的機能とに分けて解析を進める。

(2)-1. まず、睡眠制限群と対照群 (自由睡眠群)、および、食餌制限と対照群 (自由摂食群) のマウス視床下部背内側核検体を用いた RNA-sequencing を実施した。(1) で選定された候補遺伝子の中で、対照群と比較して睡眠制限群 or/and 食餌制限群で有意に発現量の増加を示すものを探索した。

(2)-2. (2)-1. で選定された候補遺伝子を神経細胞株を用いて細胞生存率へ影響を及ぼすか検討した。

(2)-3. (2)-1. で選定された候補遺伝子を視床下部背内側核特異的にノックアウトした中年齢マウス (12ヶ月齢) を作製し、睡眠の形態、身体活動量、体温、代謝能、認知機能を計測した。

4. 研究成果

- (1) 若齢マウスと比較し老齢マウスの視床下部背内側核で顕著に発現量が増加する遺伝子群の分類と候補遺伝子の選定

①から、若齢に比べて老齢において視床下部背内側核の発現量が、夜間有意に増加する 492 遺伝

子、昼間有意に増加する 162 遺伝子が同定された。その中で、昼夜に共通する変化を示す 50 遺伝子が同定された。また、②と③の解析を通し、概日リズムが変化もしくは変化しない遺伝子群に分類した。さらに、遺伝子オントロジー解析から、関連するシグナル伝達系と生体応答について解析した。その中には、加齢に伴い変化することが知られている、免疫シグナル、ストレス応答などが含まれていた。また、視床下部特異的な遺伝子の他に脳全体に発現する遺伝子群も含まれていたことから、視床下部と脳全体での変化の違いについて、今後さらに検討する必要がある。

(2) 候補遺伝子群機能の解析

(1)に加え、自由睡眠と睡眠制限下に採取した視床下部検体を用いた遺伝子解析と若齢老齢視床下部背内側部検体を用いた遺伝子解析の結果から、加齢や睡眠制限で発現量が増加する遺伝子群を選定した。その中で、食餌制限で発現量が有意に低下する遺伝子群に絞り込み、加齢、睡眠負荷、そして栄養介入により変化する遺伝子群を選定した。

選定された候補遺伝子について、神経細胞株を用い細胞生存率に影響が及ぼされるかを検討した。その結果、候補遺伝子の中で細胞生存率に有意に作用する遺伝子を見出した。なお、in vitro だけではなく in vivo における機能の検討も今後実施することで、候補遺伝子の生理機能を明らかにしていく予定である。

<引用文献>

- ①. Satoh, A., Imai, S. I., & Guarente, L. (2017). The brain, sirtuins, and ageing. *Nat Rev Neurosci*, 18(6), 362-374. doi:10.1038/nrn.2017.42
- ②. Solanas, G., Peixoto, F. O., Perdiguero, E., Jardí, M., Ruiz-Bonilla, V., Datta, D., . . . Benitah, S. A. (2017). Aged Stem Cells Reprogram Their Daily Rhythmic Functions to Adapt to Stress. *Cell*, 170(4), 678-692 e620. doi:10.1016/j.cell.2017.07.035

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sato A	4. 巻 -
2. 論文標題 Central Mechanisms Linking Age-Associated Physiological Changes to Health Span Through the Hypothalamus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Aging Mechanisms II (Springer)	6. 最初と最後の頁 pp289-304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-16-7977-3_18.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 佐藤亜希子	4. 巻 279
2. 論文標題 睡眠と脳内の寿命制御因子	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 356-359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 佐藤亜希子	4. 巻 40
2. 論文標題 脳老化と神経変性疾患における細胞老化	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 401-406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18958/6977-00001-0000035-00.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤亜希子
2. 発表標題 視床下部神経による睡眠と老化寿命の共通制御メカニズム
3. 学会等名 第94回日本生化学会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤亜希子
2. 発表標題 加齢に伴う睡眠の変化と老化寿命制御への関与
3. 学会等名 第31回新薬創薬談話会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤亜希子
2. 発表標題 視床下部背内側部神経を介した睡眠と老化寿命制御機構
3. 学会等名 第21回日本抗加齢医学会総会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤亜希子
2. 発表標題 視床下部背内側部神経による睡眠調節と中枢性老化・寿命制御機構
3. 学会等名 第32回日本老年医学会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 辻将吾, 佐藤亜希子
2. 発表標題 Prdm13-expressing neurons regulate sleep-wake patterns during aging
3. 学会等名 第32回日本老年医学会合同ポスター
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 辻将吾, 佐藤亜希子
2. 発表標題 Prdm13-expressing neurons regulate sleep-wake patterns during aging
3. 学会等名 第40回日本基礎老化学会一般演題
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤亜希子
2. 発表標題 加齢に伴う睡眠形態の変容とその可逆性について
3. 学会等名 OYCバイオシンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akiko Satoh
2. 発表標題 Central regulation of aging and longevity through sleep control in mammals
3. 学会等名 10th Symposium of the Smart-Aging Center
4. 発表年 2021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	後藤 三緒 (Goto Mio)	国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・統合生理学 研究部・研究補助者 (83903)	

6. 研究組織（つづき）

	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	壁谷 慶子 (Kabetani Keiko)	国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・統合生理学研究部・研究補助者 (83903)	

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