

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24620016

研究課題名(和文) 宇宙環境を利用した線虫の寿命と老化速度に及ぼす重力の影響に関する研究

研究課題名(英文) Effects of space environments on aging rate and lifespan in *C. elegans*

## 研究代表者

本田 陽子 (Honda, Yoko)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：90399460

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：宇宙環境において線虫の老化速度と寿命を測定するための、動画撮影およびデータ転送を自動化したシステムを構築した。JAXAとの共同研究で基板カメラを2機搭載したユニットを複数作製し、より多くの試料を撮影できるようにした。さらに観察面全体がカメラの視野に入るように、培養容器の容積を既存の1/10に小型化することを計画した。線虫が容器外に出たり、気泡が生じて観察が困難になるなどの問題が生じたが、ほぼ解決し小型培養容器が完成した。次に宇宙軌道上で線虫を培養・凍結し、地上帰還させる培養バッグを検討した。このバッグを用いて線虫を種々の過重力、クリノスタートによる擬似微小重力下で培養し、RNAの抽出に供した。

研究成果の概要(英文)：Gravity has been an unchanging environmental factor, in which organisms have evolved their biological systems. As space missions are expanding toward manned exploration of, and colonization on, other planets than Earth, organisms including human will have to adapt to such environments for long-term survival. Microgravity during spaceflight have drastic effects on a variety of physiologic functions of mammals including muscle atrophy and bone loss. Some of these effects have been noted to resemble those observed during aging in humans. However, these changes are thought to be essentially reversible because these changes induced by spaceflight have been recovered after return to Earth. However, no reports have been found that examined the lifespan in any experimental animals that lived out their entire life in space. We are investigating the longevity effects of the exposure of *Caenorhabditis elegans* to space microgravity from the early adult age to death

研究分野：医歯薬学・基礎医学・環境生理学

キーワード：宇宙医学 線虫 老化 寿命

### 1. 研究開始当初の背景

老化の速度や寿命は遺伝的な要因とともに環境にตอบสนองして決まると考えられている。温度や酸素、摂食量など様々な環境因子が老化の過程に大きく関わっていることが明らかになってきている。しかし重力は体液循環や姿勢、筋骨格系の維持等に関わる重要な環境因子であるが、老化への関与についてはよくわかっていない。極めて長期間にわたる宇宙滞在が現実となりつつあり、長期宇宙滞在の健康リスクが憂慮される。微小重力で起こる骨量の低下や筋肉の萎縮などは地上帰還後の適切なりハビリなどで回復される可逆的な障害と考えられているが、長期間の宇宙環境への滞在が不可逆的な過程である老化にどのように影響するかは不明である。重力が老化に及ぼす影響についての統合的な理解が求められる。

### 2. 研究の目的

老化のモデル動物線虫 *C. elegans* を用いて重力が老化速度や寿命に及ぼす影響を明らかにするための地上実験を行い、予定されている宇宙実験に備える。宇宙軌道上で線虫の老化速度や寿命を測定するための自動化された動画撮影装置の作製、動画データの解析方法の検討、遺伝子発現解析等を行うための試料の準備、凍結のタイミングや方法の検討、線虫の培養方法の改良などを行う。

### 3. 研究の方法

線虫 *C. elegans* の野生体および FOXO 転写因子欠損の短寿命遺伝子変異体 (*daf-16*) を線虫用液体培地 CeMM にて培養し、若齢成虫になる直前に DNA 合成阻害剤 (FUdR) を加えて産卵抑制し、JAXA と共同開発した小型の観察容器に約 50 匹を入れ 20 で培養した。容器の全体を撮影できる基盤カメラ付きの動画撮影装置も JAXA と共同開発した。地上実験で野生体および *daf-16* 遺伝子変異体の動画

を隔日で撮影し、3 分間動きが見られなかった個体を死亡個体として生存曲線を描いた。約 3000 匹の線虫をプラスチック製のバッグ (JAXA と共同開発) に CeMM とともに入れて培養し、生存曲線をもとにしておおよそ 100%、90%、70% 生存に相当する時期に -80 の超低温槽に入れて凍結した。老化に伴う遺伝子やタンパク質の発現変化を明らかにするため、網羅的な遺伝子発現解析やプロテオーム解析を行うことを目的とした線虫の凍結方法や凍結時期の検討を行った。これらの研究を行うためには同調した大量の線虫が必要となるが、そのための線虫の培養方法や培地の改良なども行った。

### 4. 研究成果

JAXA との共同研究により、宇宙環境において線虫の老化速度と寿命を測定するための動画撮影およびデータ転送を自動化したシステムを構築した。当初動画撮影には線虫用に設計・作製した既存の観察装置と培養容器を用いたが、宇宙実験にはさらに小型化したシステムが複数必要であることがわかった。そこで既存装置と同じ基板カメラを 2 機搭載したユニットを複数作製し、より多くの試料を撮影できるようにした。さらに観察面全体がカメラの視野に入るように、培養容器の容積を既存の 1/10 に小型化することを計画した。小型化するにあたり、線虫が容器外に出たり、気泡が生じて観察が困難になるなどの問題が生じたが、ほぼ解決し小型培養容器が完成した。また宇宙軌道上で線虫を培養・凍結し、地上帰還するための培養バッグも検討も検討する必要が生じた。培養バッグの検討について、既存の培養容器では凍結・融解に時間がかかりすぎ、RNA の品質が劣化することがわかったため、線虫の挿入および培養、凍結、融解が容易なプラスチック製のバッグを試作した。このバッグを用いて線虫を種々の過重力、クリノスタットによる擬似微小重力下

で培養し、遺伝子発現を解析した。撮影装置と小型培養容器の完成後はこれらを用いて実際に宇宙実験のシミュレーションを行い、線虫の老化速度と寿命を測定した。地上帰還のための線虫培養バッグを用いて、種々の重力条件下における遺伝子発現解析実験を行った。

26年度には宇宙軌道上における線虫の老化速度と寿命測定のためのシステムがほぼ完成し、実際につくば宇宙センターにおいて線虫飼育の予備実験を行った。線虫培養容器はよりコンパクトな型打ち式のものが製作できたが、作製時に壁面と膜の間に隙間が生じ、ここに線虫が入り込んで観察個体の数が少なくなるという問題が起きた。膜を押し付けるなどして隙間を除く対策をした改良タイプを検討した。

当初平成 26 年度末に予定されていた宇宙実験の開始が、打ち上げ延期のために大幅に遅れ、27 年 4 月に行われた。同年 3 月より米国フロリダ州ケネディー宇宙センターに約 1 か月間滞在して線虫を飼育し、宇宙実験用の試料を用意した。野生体および FOXO 転写因子欠損の短寿命遺伝子変異体 (*daf-16*) それぞれにつき寿命と老化速度観察用試料、遺伝子発現解析用の凍結用試料を作製し、同年 4 月 14 日 (現地時間) に SpaceX 社の Falcon 9 ロケットにて打ち上げが完了した。

JAXA つくば宇宙センターからのコントロールによる宇宙軌道上での線虫の動画撮影、地上への画像データ転送、および遺伝子・タンパク質解析用の凍結サンプルの地上帰還は問題なく行われた。今後これらの宇宙サンプルの解析を行う予定である。

#### 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) Yohei Matsunaga, Yoko Honda, Shuji Honda, Takashi Iwasaki, Hiroshi Qadota, Guy M.

- Benian, Tsuyoshi Kawano, Diapause is associated with a change in the polarity of secretion of insulin-like peptides, *Nature Communications* 7, 10573 (2016) 査読あり
- 2) Honda Y, Araki Y, Hata T, Ichihara K, Ito M, Tanaka M, Honda S. 10-Hydroxy-2-decenoic Acid, the Major Lipid Component of Royal Jelly, Extends the Lifespan of *Caenorhabditis elegans* through Dietary Restriction and Target of Rapamycin Signaling. *J Aging Res.* 2015: 425261 (2015). 査読あり
  - 3) 本田陽子, 本田修二: 宇宙環境における線虫の老化研究, *基礎老化研究* 38(1):11-17 (2014) 査読なし
  - 4) Honda Y, Honda S, Narici M, Szewczyk NJ, Spaceflight and aging, *Gerontology* 60, 138-142 (2014) doi: 10.1159/000354772 査読あり
  - 5) 本田陽子, 本田修二: 宇宙環境と線虫の老化 生物の科学「遺伝」67(2), 235-243 (2013) 査読なし
  - 6) 本田陽子, 本田修二: 宇宙で老化は速い? 遅い? *科学フォーラム* 345, 27-31 (2013) 査読なし
  - 7) Tanisawa K, Mikami E, Fuku N, Honda Y, Honda S, Ohsawa I, Ito M, Endo S, Ihara K, Ohno K, Kishimoto Y, Ishigami A, Maruyama N, Sawabe M, Iseki H, Okazaki Y, Hasegawa-Ishii S, Takei S, Shimada A, Hosokawa M, Mori M, Higuchi K, Takeda T, Higuchi M, Tanaka M. Exome sequencing of senescence-accelerated mice (SAM) reveals deleterious mutations in degenerative disease-causing genes, *BMC Genomics* 14, 248 (2013) doi:10.1186/1471-2164-14-248. 査読あり
  - 8) Honda Y, Higashibata A, Matsunaga Y, Yonezawa Y, Kawano T, Higashitani A, Kuriyama K, Shimazu T, Tanaka M, Szewczyk N J, Ishioka N & Honda S. *Genes*

down-regulated in spaceflight are involved in the control of longevity in *Caenorhabditis elegans*. Scientific Reports 2: 487 (2012) 査読あり

〔学会発表〕(計 5 件)

- 1) Taketoshi Hata, Hiroe Maruyama, Yoko Araki, Yoko Honda, Shuji Honda, Kenji Ichihara: 10-Hydroxy-2-decenoic acid, a unique fatty acid in royal jelly, extends lifespan in nematode *C. elegans*. Apimondia (Daejeon, Korea) September 15-20, 2015
- 2) Honda Y, Higashibata A, Matsunaga Y, Yonezawa Y, Kawano T, Higashitani A, Kuriyama K, Shimazu T, Tanaka M, Szewczyk N J, Ishioka N, Honda S, Aging in Space. *C. elegans* Development, Cell Biology & Gene Expression Meeting in association with The 6th Asia-Pacific *C. elegans* Meeting, 奈良県, 奈良市, 7. 15-19, 2014
- 3) Lifespan-extending effects of royal jelly on nematodes *Caenorhabditis elegans*. Hata, T, Maruyama H., Yoko Araki, Ichihara K, Ito M, Honda Y, Honda S, Apimondia 5th Apimondia and 4th Apiquality Forum 2014, Erzurum, Turkey, 2014. 9.1-5
- 4) Hata T, Maruyama H, Araki Y, Ichihara K, Ito M, Honda Y, Honda S, Lifespan-extending effects of royal jelly and its related substances on nematodes *Caenorhabditis elegans*. 11th German Apitherapy Congress, Passau, Germany 2013. 3.21-26
- 5) Hata T, Maruyama H, Araki Y, Ichihara K, Ito M, Honda Y, Honda S, Royal jelly and its unique ingredient 10-hydroxy-2-decenoic acid extend lifespan of the nematode *Caenorhabditis elegans*. 6th Romanian Apitherapy Congress, Bucharest, Romania,

2013. 11. 1-4

〔図書〕(計 1 件)

- 1) 本田陽子, 本田修二, 河野強: インスリンシグナル 老化の生物学 (石井 丸山 編) p164-184, 化学同人 (2014)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 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 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
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)  
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター (東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員  
研究者番号: 90399460

### (2) 研究分担者

本田 修二 (HONDA Shuji)  
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター (東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員  
研究者番号: 40100127

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: