

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：83903

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H03186

研究課題名（和文）老化に伴う入眠障害と体温調節能低下を制御する視床下部背内側核の役割

研究課題名（英文）The role of the DMH in age-associated disturbance of sleep and body temperature

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・ジェロサイエンス研究センター・副部長

研究者番号：80800979

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、老化に伴い視床下部背内側核のPRDM13活性が低下すると、入眠時の体温調節機能が破綻し、その結果、睡眠障害がもたらされる可能性を検証した。その結果、老齢マウス、食餌制限マウス、背内側核特異的Prdm13ノックアウトマウスの解析から、入眠潜時の変化とともに認められる体温変化や睡眠制限後の自由睡眠時に認められる体温変化には、視床下部神経の睡眠調節機構の変化が関与していることが示唆された。また、作用の強さには性差があることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

睡眠と体温の調節には密接な関係があるが、老化過程におけるこれらの機能変化とそのメカニズムは不明である。本研究から老化寿命を制御しうる新規視床下部神経が睡眠調節に伴う体温調節に関与することが明らかにされ、体温調節と老化制御をつなぐ鍵となる制御系が見出された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we addressed whether reduction of Prdm13 function in the dorsomedial hypothalamus causes a deficit in thermoregulation before sleep onset, resulting in sleep problems. Mouse studies using old mice, dietary restricted mice, and dorsomedial hypothalamic-specific Prdm13-knockout mice revealed that changes in body temperature at the onset of sleep is highly correlated with changes in sleep regulatory network. We also observed there is a sexual dimorphism in this regulation.

研究分野：老化生物学

キーワード：老化 視床下部 体温

1. 研究開始当初の背景

これまでの老化・寿命研究から、ヒトやマウスでは、脳、特に視床下部が生物学的に高度に保存されている因子 (e.g. サーチュイン、NF- κ B) や幹細胞を介して哺乳類の老化・寿命を制御していることを示している^{①③}。視床下部の特定神経細胞の機能低下が全身の老化現象を引き起こし、最終的に個体寿命の規定へと繋がるのではないかと考えた場合、まずは視床下部機能がなぜ低下するのか、について理解する必要がある。睡眠障害をその重要な指標の一つと捉え、その分子メカニズムを理解することで全身性の老化現象が引き起こされるメカニズムを解明していくことが、哺乳類の老化・制御メカニズムの理解に繋がるのではないかと考えている。

高齢者は、比較的高頻度に、なかなか寝付く事ができない問題を抱えている。これは、老化に伴う睡眠障害である入眠潜時の延長、として知られている。こういった変化が、老化に伴う睡眠の深度・質を低下させる要因になっている。しかしながら、その分子制御機序の詳細については、未だ不明である。一方、体温調節が睡眠制御と密接な繋がりがあることは良く知られている。就寝後、まず、末梢または中枢の温度センサーが感知したシグナルを視床下部が受け取り、交感神経系を介して末梢血管の膨張、そして深部体温を低下させることにより、入眠が導入される。視床下部背内側核は、体温調節の中枢として働いている。近年我々は、視床下部背内側核に特異的に発現している遺伝子として PR domain-containing protein 13 (PRDM13) を見出し、睡眠の深度・質を制御していることを明らかにした^④。さらに、視床下部背内側核に SIRT1 を高発現させると、老化に伴う生理学的機能低下が改善することから、視床下部背内側核の機能を維持することが、哺乳類の老化過程を遅延し、個体寿命を延長する上で重要なのではないかと考えている。また、PRDM13 が SIRT1 の下流遺伝子である知見も得ている。そこで、老化に伴い視床下部背内側核の PRDM13 活性が低下すると、入眠時の体温調節機序が破綻し、その結果、睡眠障害がもたらされる。特に、老化に伴う PRDM13 遺伝子の選択的スプライシング産物はその活性を阻害する。一方、視床下部背内側核に特異的な選択的スプライシング制御は、老化過程に大きな影響を与える、のではないかと考えている。

2. 研究の目的

本研究では、下記の研究目的に取り組むことで、「老化に伴い視床下部背内側核の PRDM13 活性が低下すると、入眠時の体温調節機序が破綻し、その結果、睡眠障害がもたらされる」可能性を検証するため、以下の課題に取り組み、睡眠制限下での視床下部背内側核 PRDM13 陽性神経細胞による末梢体温の調節機序を解明する。

- (1) 背内側核特異的 *Prdm13* ノックアウトマウスの体温調節機序・機能解析。
- (2) 背内側核特異的 *Prdm13* ノックアウトマウスの体温調節機・解剖学的解析。

3. 研究の方法

- (1) 背内側核特異的 *Prdm13* ノックアウトマウスの体温調節機序・機能解析。

先行実験では、定位脳手術により *Prdm13* shRNA もしくは firefly luciferase shRNA (対照コントロール群) を発現したレンチウイルスを視床下部背内側核に直接注入して作製した視床下部背内側核特異的 *Prdm13*-KD マウスを用いた^④。本申請課題では、ウイルスの定位脳注入からの副次的作用を排除するため、3 種類のマウス (*Prdm13* flox マウス、*Nkx2-1*-CreERT2 マウス、*Rosa26*-ZsGreen マウス) を交配して視床下部背内側核特異的 *Prdm13* ノックアウト (KO) マウスを作製した。*Nkx2-1* は視床下部背内側核以外にも発現しているが、PRDM13 の発現は成体脳では視床下部背内側核に制限される。従って、視床下部背内側核で特異的に PRDM13 をノックアウトする効果的な戦略であると考えた。背内側核特異的 *Prdm13*-KO マウスと対照群に 6 時間の睡眠制限を施し、その後の入眠効率を脳波/筋電位測定システム、皮下及び深部体温をテレメトリーシステムで計測した。

- (2) 背内側核特異的 *Prdm13* ノックアウトマウスの体温調節機・解剖学的解析。

PRDM13-CreERT2 マウスと ROSA26-ZsGreen マウスを交配しすることにより Cre 依存的に緑色蛍光蛋白質 (ZsGreen) を発現させるモデルマウスを作製し、PRDM13 の脳内局在部位を解析した。また、(1) で解析した背内側核特異的 *Prdm13*-KO マウスと対照群から脳サンプルを採取し、体温調節神経回路の変化を比較検討した。この際、神経活動量マーカー (*Egr1*, *FosB*) と神経伝達物質マーカーとの共発現を解析した。特徴的な神経活動量の変化が認められた脳領域と視床下部背内側核については、レーザーマイクロダイセクションで組織を採取し、RNA-seq で網羅的遺伝子発現プロファイル解析を実施した。これにより、断睡後の入眠制御に関与する神経ネットワークの詳細な機序解明、そして、視床下部背内側核内の PRDM13 を含むシグナル伝達系の下流標的因子同定を試みた。

4. 研究成果

(1) 背内側核特異的 *Prdm13* ノックアウトマウスの体温調節機序・機能解析.

3ヶ月齢で *Prdm13* を視床下部背内側核特異的にノックアウトしたマウスを作製し、睡眠解析に加え、体温、身体活動量を測定した。その結果、睡眠制限後の入眠潜時が、対照マウスと比較して、ノックアウトマウスで有意に延長していることを見出した。またこの作用は雄マウスでより顕著であることを見出し、作用の強さに性差があることを確認した。一方、定常状態では、*Prdm13* ノックアウトマウスと対照群の間に体温差が認められなかった。この結果から、PRDM13 陽性神経細胞が、睡眠制限後の体温低下を特異的に調節していることが示された。性差については、さらに解析を進めて行くことが課題である。

(2) 背内側核特異的 *Prdm13* ノックアウトマウスの体温調節機・解剖学的解析.

PRDM13 陽性神経細胞はこれまでに体温調節することが報告されている背内側の視床下部背内側核の神経細胞への発現数は最小限度であることが明らかになった。また、PRDM13-CreERT2 マウスの背内側核に GFP を発現するアデノ随伴ウイルスベクターを注入することで、PRDM13 陽性神経細胞の投射先の同定も行なった。その結果、背内側核 PRDM13 陽性神経細胞から、体温中枢として知られている視索前野への神経投射が認められた。一方、体温および覚醒を調節することが報告されている背内側核-腹内側視索前野の調節能が、老齢マウスでは低下していることを明らかにした。これにより、老化に伴う入眠潜時の延長には、背内側核-腹内側視索前野の調節能が関与することが示された。したがって、背内側核 *Prdm13* 陽性神経細胞から腹内側視索前野への神経経路の不具合が加齢に伴う入眠潜時の延長の一因となる可能性が示唆された。背内側核と腹内側視索前野の検体を用いた網羅的な遺伝子解析については、引き続き解析を続け、断睡後の入眠制御に関与する神経ネットワークの詳細な機序解明とそして、視床下部背内側核内の PRDM13 を含むシグナル伝達系の下流標的因子同定が課題である。

<引用文献>

- ①. Satoh, A., Brace, C. S., Rensing, N., Cliften, P., Wozniak, D. F., Herzog, E. D., . . . Imai, S. (2013). Sirt1 extends life span and delays aging in mice through the regulation of Nk2 homeobox 1 in the DMH and LH. *Cell Metab*, 18(3), 416-430. doi:10.1016/j.cmet.2013.07.013
- ②. Zhang, G., Li, J., Purkayastha, S., Tang, Y., Zhang, H., Yin, Y., . . . Cai, D. (2013). Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK-beta, NF-kappaB and GnRH. *Nature*, 497(7448), 211-216. doi:10.1038/nature12143
- ③. Zhang, Y., Kim, M. S., Jia, B., Yan, J., Zuniga-Hertz, J. P., Han, C., & Cai, D. (2017). Hypothalamic stem cells control ageing speed partly through exosomal miRNAs. *Nature*, 548(7665), 52-57. doi:10.1038/nature23282
- ④. Satoh, A., Brace, C. S., Rensing, N., & Imai, S. (2015). Deficiency of *Prdm13*, a dorsomedial hypothalamus-enriched gene, mimics age-associated changes in sleep quality and adiposity. *Aging Cell*, 14(2), 209-218. doi:10.1111/acel.12299

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 辻将吾, 佐藤亜希子	4. 巻 52
2. 論文標題 哺乳類における睡眠、老化、寿命の中枢性制御機構	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 4-7
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 72
2. 論文標題 哺乳類における中枢性の老化・寿命制御機構 健康寿命の延伸と病のない余生を考える	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 84-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.2425201316	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 佐藤亜希子、中村和弘	4. 巻 43
2. 論文標題 睡眠と体温調節能の老化変容における視床下部神経回路の役割	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 基礎老化研究	6. 最初と最後の頁 23-28
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 有
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 57
2. 論文標題 哺乳類サーチュインSIRT1/SIRT6 を介した寿命制御機構	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 老年医学	6. 最初と最後の頁 781-785
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 Yoshida M, Satoh A, Lin JB, Mills KF, Sasaki Y, Rensing N, Wong M, Apte RS, Imai SI	4. 巻 30
2. 論文標題 Extracellular Vesicle-Contained eNAMPT Delays Aging and Extends Lifespan in Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Metabolism	6. 最初と最後の頁 329-342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cmet.2019.05.015	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 Zhang B, Guo D, Han L, Rensing N, Satoh A, Wong M	4. 巻 134
2. 論文標題 Hypothalamic orexin and mechanistic target of rapamycin activation mediate sleep dysfunction in a mouse model of tuberous sclerosis complex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurobiology of Disease	6. 最初と最後の頁 104615
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbd.2019.104615	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 336
2. 論文標題 哺乳類における老化・寿命を制御する視床下部神経細胞およびその分子機序	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 実験医学増刊号	6. 最初と最後の頁 2081-2086
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 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Shogo Tsuji, Cynthia S. Brace, Ruiqing Yao, Yoshitaka Tanie, Nicholas Rensing, Seiya Mizuno, Kazuhiro Nakamura, Satoru Takahashi, Michael Wong, Shin-ichiro Imai, Akiko Satoh
2. 発表標題 PRDM13-positive neurons regulate age-associated pathophysiology, and longevity through sleep homeostasis in mammals
3. 学会等名 Cold Spring Harbor meeting: Mechanisms of Aging (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤亜希子
2. 発表標題 視床下部による睡眠、代謝および老化制御機序
3. 学会等名 第19回日本抗加齢医学会総会 若手プログラム2分子メカニズムからメタボリックドミノに挑む(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akiko Satoh
2. 発表標題 DMH neurons control sleep, metabolism, and aging
3. 学会等名 NIPS international workshop "Sensing food/nutrient/environment toward integrative metabolic regulation" (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akiko Satoh
2. 発表標題 DMH neuron-mediated co-regulation of sleep and aging
3. 学会等名 Gordon Research Conference on Biology of Aging (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤亜希子
2. 発表標題 老化に伴う睡眠形態の変容と末梢臓器への影響について
3. 学会等名 第9回認知症予防学会学術総会HOT TOPICS (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akiko Satoh
2. 発表標題 DMH neuron-mediated co-regulation of sleep and aging
3. 学会等名 Special Seminar at Washington University School of Medicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤亜希子
2. 発表標題 哺乳類の睡眠および老化・寿命の共通制御メカニズムの解明
3. 学会等名 Diabetes Hybrid Seminar (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akiko Satoh
2. 発表標題 Age-associated sleep alterations and its impacts on aging
3. 学会等名 Annual RIKEN Aging Project Meeting (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤亜希子
2. 発表標題 視床下部背内側核による老化・寿命制御機序
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤亜希子
2. 発表標題 視床下部背内側核PRDM13による老化・寿命制御機序
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akiko Satoh
2. 発表標題 The interaction between sleep and aging mediated by DMH neurons
3. 学会等名 The 7th IIS Symposium（招待講演）
4. 発表年 2018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	辻 将吾 (Shogo Tsuji) (60825595)	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・研究員 (83903)	
研究協力者	姚 瑞卿 (Ruiqing Yao)	国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・中枢性老化・ 睡眠制御研究プロジェクトチーム・研究員 (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
---------	---------