

令和 4 年 5 月 29 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K20667

研究課題名(和文) 老化しないモデル生物を利用した健康長寿に資するエピジェネティクス機構の探索

研究課題名(英文) Exploring epigenetic mechanisms contributing to healthy longevity using non-aging model organisms

研究代表者

藤 英博 (Toh, Hidehiro)

九州大学・生体防御医学研究所・特任講師

研究者番号：10353468

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)：抗加齢医学の分野から注目されるハダカデバネズミは老化しないで長生きする唯一の哺乳類と言われている。エピジェネティクス機構の一つであるDNAメチル化と老化は密接に関わるため、本研究ではハダカデバネズミの老化しない特性にDNAメチル化が寄与する可能性を探った。そのために、ハダカデバネズミの脳・肝臓・線維芽細胞の各組織におけるDNAメチル化パターンを解読した。その結果、ハダカデバネズミはマウスとは異なる独自のDNAメチル化パターンをもつことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの老化についての知見はヒトやマウスの老化した細胞を研究した成果に基づいている。一方、本研究はハダカデバネズミの正常な細胞を使って「老化しない要因」をエピジェネティクスの視点から探る。これは老化しない動物を使うからこそ可能な手法である。ハダカデバネズミのゲノムレベルでの研究報告は数少ないが、本研究ではそのゲノムデータを十分に活用して、研究が進んでいないハダカデバネズミのエピジェネティクスの一端を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*), which has attracted attention from the field of anti-aging medicine, is reported to be the only mammal that can live a long life without aging. Because DNA methylation, an epigenetic mechanism, and aging are closely related, this study explored the possibility that DNA methylation contributes to the non-aging characteristics of naked mole-rats. To this end, we determined the DNA methylation profiles in the brain, liver, and fibroblast tissues of the naked mole-rats. The results suggest that the naked mole-rat has a unique DNA methylation profile that differs from that of mice.

研究分野：ゲノムインフォマティクス

キーワード：ハダカデバネズミ エピジェネティクス DNAメチル化 メチローム 健康長寿

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎えた昨今、健康に生きる期間「健康寿命」を延ばす抗老化・抗加齢医学の研究が進められている。この研究分野から注目されるモデル生物のハダカデバネズミ（右図）は、同じサイズの実験用マウスの10倍も生きて（寿命30年）、がんも形成されず、心臓病・動脈硬化・アルツハイマー病の症状も示さない。ヒトも含めて動物は年齢を重ねるほど死亡率は上がるが、ハダカデバネズミはその法則に逆らう唯一の哺乳類と報告されている（Ruby et al. eLife 2018）。つまり、ハダカデバネズミは老化しないで長生きする健康長寿を実現している。



ハダカデバネズミ

ハダカデバネズミの老化しない特性は2000年代に発見され、その要因を探る研究が世界中で進められている。そのゲノム配列も2011年に解読されて、ハダカデバネズミがもつ遺伝子群は明らかとなった。しかし、老化しない特性を生む分子機構を理解するためには、どの遺伝子を・いつ・どのくらい働かせるのかを決める「遺伝子のスイッチ」であるエピジェネティクス機構を明らかにする必要がある。DNAメチル化はエピジェネティクス機構の一つで、DNAのシトシン塩基にメチル基が付くとDNAが凝縮して、その付近の遺伝子は働かなくなる（スイッチオフ）。

2. 研究の目的

正常な細胞と比べて、老化した細胞ではDNAメチル化のパターンが変化する（遺伝子のスイッチのオン/オフが切り替わる）ことが知られる。つまり、老化とDNAメチル化は密接に関わる。そこで研究代表者は、ハダカデバネズミがもつエピジェネティクス機構、その中でも特に老化と関わるDNAメチル化に着目した。本研究の目的は「ハダカデバネズミがもつDNAメチル化パターンの全容を解読して、老化しない特性にDNAメチル化が寄与する機構を見つける」ことである。具体的には、全ゲノムバイサルファイト解析法によりハダカデバネズミの脳・肝臓・線維芽細胞におけるDNAメチル化パターンを解読する。続いて、ハダカデバネズミとマウス、両者のDNAメチル化パターンを比べて、ハダカデバネズミに特徴的なDNAメチル化パターンを明らかにする。さらに、その特徴と老化しない特性がつながる機構を見つけることを目指す。

3. 研究の方法

(1) ゲノムDNAの抽出

同じ生体でも組織ごとにDNAメチル化のパターンは異なるため、本研究でもハダカデバネズミの複数の組織（脳・肝臓・線維芽細胞）を解析の対象として、各組織のゲノムDNAを採取した。ハダカデバネズミのゲノムDNAは熊本大の三浦恭子准教授から提供していただいた。

(2) 全ゲノムバイサルファイト解析

ゲノム全域でのDNAメチル化のパターンを見るために、全ゲノムバイサルファイト解析を行なった。これはメチル化DNAを検出するバイサルファイト法を次世代シーケンサーと組み合わせた方法で、現時点で最も正確にDNAメチル化パターンを解読できる。具体的には、バイサルファイト処理して作ったライブラリをイルミナ社の次世代シーケンサーHiSeqにより読み取った。ライブラリ作成にはPCR増幅の偏りを避けられるpost-bisulfite adaptor-tagging (PBAT)法を使った。

(3) DNAメチル化パターンの決定

ここからの工程はコンピュータを使ったデータ解析となる。次世代シーケンサーで読み取ったDNA配列の断片群を、DNAメチル化解析用のソフトを使ってハダカデバネズミのゲノム配列に貼り付けた（マッピング）。これにより、各断片のゲノム上での位置を特定して、各シトシン塩基のDNAメチル化率を算出できる。

組織ごとに上記(1)～(3)の工程を繰り返して、脳・肝臓・線維芽細胞の各組織におけるゲノム全域でのDNAメチル化パターンを解読した。

4. 研究成果

PBAT 法によりバイサルファイト処理して作ったライブラリを次世代シーケンサーで読み取った結果、ハダカデバネズミの脳・肝臓・線維芽細胞のゲノム DNA に由来した計 1,698 億塩基の上質な配列を得た (下表)。これにより、高い信頼性と網羅性を持つ DNA メチル化の基盤データを取得できた。

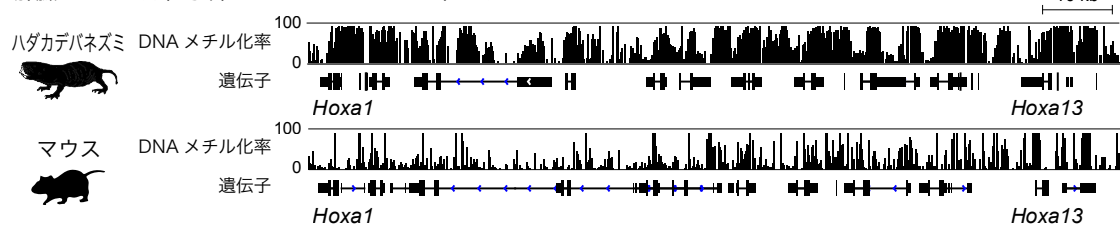
シーケンシングの結果

	脳	肝臓	線維芽細胞
総塩基数 (億)	588	552	558
CG メチル化率 (%)	71.8	69.4	65.3

それらの塩基配列群を用いてデータ解析を行なって、ハダカデバネズミの脳・肝臓・線維芽細胞の各組織におけるゲノム全域での DNA メチル化パターンを解読した。これにより、研究が進んでいないハダカデバネズミのエピジェネティクスの一端を明らかにした。

ハダカデバネズミとマウス、両者の DNA メチル化パターンを同じ組織間で比べた。両者間で保存されたゲノム領域のうち、DNA メチル化のパターンに大きな違いがある領域を選び出した。その一例として、肝臓における DNA メチル化のパターンを示す。両者の肝臓の DNA メチル化パターンを比べた結果、例えば *HoxA* 遺伝子群の領域において、ハダカデバネズミではマウスよりも多くのメチル化した DNA が検出された (下図)。つまり、同じ臓器の同じ遺伝子の領域において、ハダカデバネズミはマウスとは異なる独自の DNA メチル化パターンをもつことが明らかとなった。

肝臓の *HoxA* 遺伝子群における DNA メチル化パターン



これらの解析結果から、ハダカデバネズミに特徴的な DNA メチル化パターンを明らかにして、老化しない特性に結びつく機構を見つけるために解析を進めている。今後、次世代シーケンサーで読み取った全ての塩基配列を公的データベース上で公開して、ハダカデバネズミのエピジェネティクスの基盤データとして国内外の研究者に提供する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	三浦 恭子 (Miura Kyoko)		

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