

令和 4 年 6 月 15 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：20K20672

研究課題名(和文) 老化に伴うグリア細胞貪食機能低下に食事制限が及ぼす影響と分子機序の解明

研究課題名(英文) The effects of dietary restriction on age-related decline in glial engulfment

研究代表者

飯島 浩一(Koichi, Iijima)

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・認知症先進医療開発センター 神経遺伝学研究部・部長

研究者番号：50632535

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)：脳内には、代謝産物や凝集蛋白質、傷害を受けた細胞を除去する作用が備わり、これらの機能は主にグリア細胞が担っている。この脳内デブリクリアランス機能が老化に伴い低下することで、老年性認知症などの発症リスクが高まる可能性が考えられている。本研究では、優れた遺伝学モデルであるショウジョウバエの神経傷害モデルを用いて、食餌制限がグリア細胞による脳内デブリクリアランス機能を低下させること、またこの原因はアミノ酸の欠乏にあることを明らかにし、その機序解明を行った。本研究により、老年期における低栄養が認知症などの発症リスクを上昇させるメカニズムの一端が明らかになり、有効な予防法の開発につながると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳内で生じたゴミを除去する機能が老化に伴い低下し、認知症の発症リスクが高まる可能性が指摘されている。この脳内を浄化する機能は主にグリア細胞が担っているが、老化した脳でその働きが衰えてしまう理由は不明である。本研究ではモデル動物を用いた解析から、老年期の低栄養状態、特にタンパク質の欠乏がグリア細胞による脳内浄化作用を低下させること、またその過程に関わる分子メカニズムを明らかにした。本研究の結果は、認知症への効果的な予防法開発へと展開できると考えられ、高齢者の健康寿命を増進により社会全体の負担を軽減させ、超高齢社会に生きる全ての人のwell-beingの充実につながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Glial cells play a central role in phagocytosis of wastes, aggregated proteins, and cellular debris in the brain. Age-dependent decline of this debris clearance system is thought to increase the risk of developing senile dementia. In this study, we utilized an excellent genetic model organism, *Drosophila*, to generate an acute nerve injury model and found that dietary restriction significantly reduced phagocytic activity of glial cells in aged fly brains, which is due to a lack of essential amino acids. We also investigated underlying mechanisms. This study revealed how undernutrition in aged individuals increases a risk of developing senile dementia, which will lead to the development of effective preventive strategy.

研究分野：認知症

キーワード：認知症 神経変性 老化 グリア細胞 貪食 ショウジョウバエ 栄養 遺伝子発現



#### 4. 研究成果

研究目的1：老化に伴うグリア細胞の脳内デブリクリアランス機能低下に対し、DR並びに mTOR 阻害薬が及ぼす効果を、ショウジョウバエ神経傷害モデルを用いて調べる

##### (1) 若年期から老年期までの DR によりグリア細胞の食食機能が低下する

食餌制限 (DR) が、グリア細胞が担う脳内デブリクリアランス機能に及ぼす影響を調べるために、嗅覚神経を GFP で標識したショウジョウバエを通常の食餌 (Normal food: NF) 下、もしくは NF 中の酵母を 1/10 にした DR 食下で 30 日間飼育し、NF と DR 食間での傷害軸索の除去効率を比較した。手法として、GFP で標識した嗅覚神経の細胞体を含む小顎鬚を切除することで嗅覚神経変性を誘導し、切断後 1 日目に脳内に残存している神経軸索の形態を共焦点顕微鏡で観察・定量した。その結果、NF 下で飼育したハエでは傷害軸索の除去が認められたが、DR 食下のハエでは傷害軸索がほぼ残存していた (図 1)。グリア細胞による傷害軸索の除去には、食食受容体の draper が主要な働きを担うことが報告されている。そこで、NF、または DR 食下で飼育したショウジョウバエ脳における draper の発現量を比較したところ、DR 食下で draper の発現が低下する様子が観察された。以上の結果から、DR 食はグリア細胞の食食活性を低下させることを見出した。

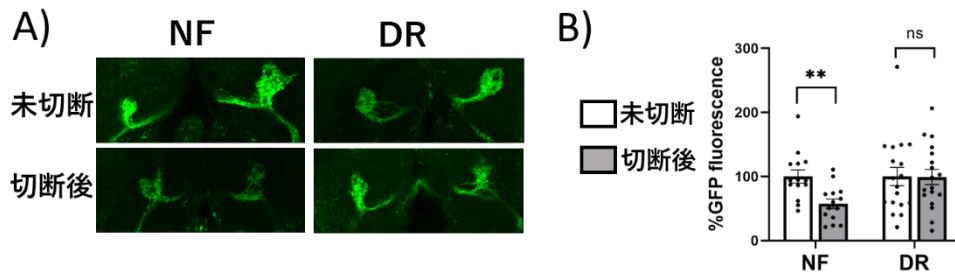


図. 食餌制限によってグリアの食食活性が低下する

切断後1日目に残存している神経軸索のGFPシグナルを、未切断の神経軸索のGFPシグナルと比較した。A)共焦点顕微鏡での神経軸索の観察像、B)定量解析の結果

\*\* :  $p < 0.01$ , ns : not significant

##### (2) DR 食によるグリア細胞の食食機能の低下は老年期からの NF への変更により回復できる

DR 食により健康寿命が延伸するという報告がある一方で、老年期の DR はフレイルや疾患リスクを高めることが指摘されており、上記の結果は DR 食が脳内の浄化機能を低下させ神経傷害や神経変性疾患へのリスクを高めることを示唆している。そこで、若年期を DR 食で飼育し、老年期から NF 条件に変更することで、DR によるグリア食食機能の低下を回復できるかを調べた。その結果、若年期から老年期までの全期間 DR 食を与えたハエに比べ、DR 食下で 23 日間飼育後に NF 条件下で 7 日間飼育したハエにおいて、脳内の draper の発現量が顕著に増加した。この結果は、老齢期の高栄養条件が脳内デブリクリアランス機能維持に重要であることを示している。

##### (3) DR 食によるグリア細胞の食食機能の低下は必須アミノ酸の添加により回復する

食餌制限 (DR) 食は通常の食餌 (Normal food: NF) に含まれる酵母の量を 1/10 に減らして調整しており、特にタンパク質やビタミン量が顕著に低下している。DR 食によるグリア細胞の食食機能低下の責任栄養素を同定するために、酵母に含まれるハエの必須アミノ酸 10 種に着目した。NF, DR 食, さらに DR 食にハエの必須アミノ酸 10 種を NF と同じ濃度になるように添加した条件下でハエを 30 日間飼育し、グリア細胞による傷害軸索の食食活性、ならびに draper の発現量を検討した。その結果、DR に 10 種の必須アミノ酸を添加することで、傷害軸索の除去効率、ならびに draper の発現量が NF と同程度まで回復したことから、DR 食に含まれる必須アミノ酸の欠乏がグリア食食機能の低下を引き起こすことが示された。

##### (4) mTOR 阻害薬 Rapamycin の投与によりグリア細胞の食食機能は低下する

DR 食条件下では栄養センサーの mTOR シグナルが低下しており、また遺伝学的、薬理学的的手法による mTOR シグナルの抑制は、様々な動物種で生命・健康寿命を延伸させることが報告されている。そこで、mTOR 阻害剤である rapamycin を用いて、mTOR シグナルの抑制によりグリア細胞の食食機能が低下するかを調べた。NF、および NF に rapamycin を添加した条件下でハエを飼育したところ、rapamycin を投与したグループで mTOR シグナル活性化の指標となる S6 kinase (S6K) のリン酸化レベルが顕著に低下し、さらに draper の発現量の低下も認められた。以上の結果より、生命・健康寿命の延伸効果が報告されてきた mTOR シグナルの抑制は、脳内デブリクリアランス機能を低下させることが示された。

研究目的2：老化に伴う脳内デブリクリアランス機能低下に関わるグリア細胞の遺伝子・シグ

## ナル経路を探索する

当初の計画では、老化に伴い脳内デブリクリアランス機能が低下するメカニズムを解明するために、軸索損傷を誘導した若齢、老齢ショウジョウバエの頭部全体から mRNA を抽出する計画であった。しかし、グリア細胞特異的な遺伝子発現変化を正確に捉えるためには、グリア細胞で発現するリボソームに結合した mRNA を単離・精製する必要があると考え、Ribo-Tag 法を用いた遺伝子発現解析を行うこととした。また、研究目的 1 の結果から、DR 食がグリア細胞の食食機能低下を引き起こすこと、またアミノ酸添加により食食機能の低下が回復することを見出し、その背景にある分子メカニズムの解明を進めることで、低栄養がリスクとなる老年性神経変性疾患の予防法開発につながると考え、以下のように実験計画を変更した。

まず、公共のショウジョウバエ系統分与センターの一つである米国 Bloomington Drosophila Stock Center より組織特異的な遺伝子発現誘導システムである GAL4/UAS 下で Ribosome-Tag を発現する 2 種類のトランスジェニック系統を入手した。条件検討として、グリア細胞に Ribo-tag を発現させ、グリア細胞に特異的に発現する mRNA を濃縮して回収できるかを調べた。その結果、一つの系統は致死となり、もう一つの系統も mRNA の回収効率が低いことが明らかとなった。そこで、マウス実験系で汎用されている Ribo-tag 法を参考にし、新たな Ribo-tag トランスジェニック系統を作製した。これらの Ribo-tag をグリア細胞で発現し、30 日間以上加齢飼育しても顕著な毒性は観察されず、さらに RNA シーケンス解析を遂行できる質と量の mRNA をグリア細胞から回収できることを確認した。

これら新規 Ribo-tag をグリア細胞で発現するショウジョウバエを、NF 条件下、ならびに DR 条件下で 30 日間加齢飼育し、老齢バエ脳内での軸索損傷に伴いグリア細胞で特異的に発現する mRNA を精製し、RNA シーケンス解析により発現変動遺伝子を同定した。その結果、NF 条件下で飼育したハエでは軸索損傷に伴い 824 遺伝子の発現が上昇し、516 遺伝子の発現低下が見られた (Adjusted p-value < 0.05)。一方 DR 食条件下では、軸索損傷に伴い 748 遺伝子が発現上昇し 341 遺伝子が発現低下した。これらの結果より、DR 食条件下では発現変動遺伝子の数が減少することが明らかとなった。さらに、NF と DR 食下それぞれで検出された発現変動遺伝子の重なりを調べたところ、軸索損傷で上昇する遺伝子は 5~6 割の 473 遺伝子、発現低下する遺伝子は 3~4 割の 155 遺伝子が重複する一方、およそ半数の発現変動遺伝子は NF または DR 食に特異的な変動であることも明らかとなった。今後、これらのデータの解析を進めることで、なぜ NF に比べて DR 食下でグリア食食機能が低下するのか、NF 下と DR 食下での脳内デブリクリアランス機能は異なるメカニズムにより担われているのか、さらに、NF 下と DR 食下では神経傷害に対するグリア細胞の反応にどのような違いがあるのか、等を解明し、栄養条件の改善を通じた老年性神経変性疾患の予防法開発につなげたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Oka Mikiko, Suzuki Emiko, Asada Akiko, Saito Taro, Iijima Koichi M., Ando Kanae	4. 巻 24
2. 論文標題 Increasing neuronal glucose uptake attenuates brain aging and promotes life span under dietary restriction in <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101979 ~ 101979
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101979	査読の有無 有
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 Wang Minghui, Li Aiqun, Sekiya Michiko, Beckmann Noam D., Quan Xiuming, (33 Authors), Iijima Koichi M., Schadt Eric, Brennand Kristen J., Zhang Bin	4. 巻 109
2. 論文標題 Transformative Network Modeling of Multi-omics Data Reveals Detailed Circuits, Key Regulators, and Potential Therapeutics for Alzheimer's Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 257 ~ 272.e14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuron.2020.11.002	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Oba Toshiya, Saito Taro, Asada Akiko, Shimizu Sawako, Iijima Koichi M., Ando Kanae	4. 巻 295
2. 論文標題 Microtubule affinity regulating kinase 4 with an Alzheimer's disease-related mutation promotes tau accumulation and exacerbates neurodegeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 17138 ~ 17147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA120.014420	査読の有無 有
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 Sekiya Michiko, Iijima Koichi M.	4. 巻 2
2. 論文標題 Phenotypic analysis of a transgenic <i>Drosophila</i> model of Alzheimer's amyloid- toxicity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2021.100501	査読の有無 有
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 Sakakibara Yasufumi, Hirota Yu, Ibaraki Kyoko, Takei Kimi, Chikamatsu Sachie, Tsubokawa Yoko, Saito Takashi, Saido Takaomi C., Sekiya Michiko, Iijima Koichi M.	4. 巻 82
2. 論文標題 Widespread Reduced Density of Noradrenergic Locus Coeruleus Axons in the App Knock-In Mouse Model of Amyloid- Amyloidosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease	6. 最初と最後の頁 1513 ~ 1530
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-210385	査読の有無 有
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 Nozawa Naoko, Noguchi Marie, Shinno Kanako, Tajima Maki, Aizawa Shingo, Saito Taro, Asada Akiko, Ishii Takuya, Ishizuka Masahiro, Iijima Koichi M., Ando Kanae	4. 巻 12
2. 論文標題 5 Aminolevulinic acid and sodium ferrous citrate ameliorate muscle aging and extend healthspan in Drosophila	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 295 ~ 305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13338	査読の有無 有
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 関谷倫子, 飯島浩一	4. 巻 72
2. 論文標題 治療戦略から考えるアルツハイマー病の神経炎症	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 446 ~ 449
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19件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Sekiya, M, Quan, X, Sakakibara, Y, Chikamatsu, S, Iijima, KM
2. 発表標題 Deficiency in a fly ortholog of HS-Aging related gene, sulfonyleurea receptor/Sur, increased vulnerability to neurodegeneration in Drosophila models of Alzheimer's disease
3. 学会等名 Alzheimer's Association International Conference 2020 (AAIC 2020) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Iijima, KM, Sakakibara, Y, Ibaraki, K, Takei, K, Saito, T, Saido, TC, Sekiya, M
2. 発表標題 Reduced density of noradrenergic fibers without prominent neuron loss or tau pathology in the locus coeruleus in App knockin mouse models of A amyloidosis
3. 学会等名 Alzheimer's Association International Conference 2020 (AAIC 2020) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一
2. 発表標題 グリア細胞による変性神経の除去に食餌制限が及ぼす影響の検討
3. 学会等名 第84回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 斉藤貴志, 西道隆臣, 関谷倫子, 飯島浩一
2. 発表標題 Appノックインマウスでは青斑核で神経細胞脱落またタウ病理は起こらないがノルアドレナリン投射線維が減少する
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関谷倫子, Wang Minghui, 榊原泰史, 近松幸枝, Zhang Bin, 飯島浩一
2. 発表標題 遺伝子ネットワーク解析を用いたアルツハイマー病の発症機序解明と創薬標的の探索, シンポジウム: データ駆動型科学で切り開く認知症研究
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一
2. 発表標題 ショウジョウバエへの食餌制限がグリア細胞による変性軸索除去に及ぼす影響
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飯島浩一, Wang Minghui, 榊原泰史, Zhang Bin, 関谷 倫子
2. 発表標題 ネットワーク解析から解き明かすA 病態, シンポジウム 9 A 仮説再考: A はAD治療のメインターゲットとなり得るか
3. 学会等名 第39 回日本認知症学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関谷倫子, 権秀明, 榊原泰史, 近松幸枝, 飯島浩一
2. 発表標題 アルツハイマー病におけるATP感受性K+チャネル機能の役割
3. 学会等名 第39 回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 榊原泰史, 茨木京子, 竹井喜美, 斉藤貴志, 西道隆臣, 関谷倫子, 飯島浩一
2. 発表標題 Appノックインマウスにおける青斑核神経投射とneurovascular couplingの変化の解析
3. 学会等名 第39 回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 Sekiya, M, Quan, X, Sakakibara, Y, Chikamatsu, S, Iijima, KM
2. 発表標題 SULFONYLUREA RECEPTOR/SUR DEFICIENCY INCREASED VULNERABILITY TO NEURODEGENERATION IN DROSOPHILA MODELS OF ALZHEIMER ' S DISEASE
3. 学会等名 The 15th International Conference on Alzheimer ' s and Parkinson ' s Diseases (ADPD 2021) ( 国際学会 )
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Iijima, KM, Sakakibara, Y, Ibaraki, K, Hirota, Y, Takei, K, Saito, T, Saido, TC, Sekiya, M
2. 発表標題 LOSS OF LOCUS COERULEUS-NORADRENERGIC AFFERENTS IN THE APP KNOCK-IN MOUSE MODEL OF A AMYLOIDOSIS
3. 学会等名 The 15th International Conference on Alzheimer ' s and Parkinson ' s Diseases (ADPD 2021) ( 国際学会 )
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山城梨沙, 関谷倫子, 飯島浩一
2. 発表標題 シヨウジョウバエの食餌制限によるグリア貪食能低下と貪食能への必須アミノ酸の役割
3. 学会等名 第85回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sakakibara, Y., Sekiya, M., Iijima, K.M.
2. 発表標題 Cognitive function and brain pathology in mice with a heterozygous deficiency in ABCC9/SUR2, a gene associated with hippocampal sclerosis of aging
3. 学会等名 Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2021) ( 国際学会 ) ( 国際学会 )
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hirota, Y., Iijima, K.M., Sekiya, M.
2. 発表標題 Localization of AD biomarker phospho-tau proteins in the brains of App knock-in mouse model of A amyloidosis
3. 学会等名 Alzheimer's Association International Conference (AAIC 2021) (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関谷倫子, 飯島浩一
2. 発表標題 遺伝子ネットワーク解析によるアルツハイマー病の治療薬探索
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山城梨沙, 飯島浩一
2. 発表標題 ショウジョウバエの食餌制限によるグリア貪食能低下に寄与する食餌因子の探索
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 榊原泰史, 関谷倫子, 飯島浩一
2. 発表標題 加齢性海馬硬化症関連遺伝子ABCC9のヘテロ欠損マウスにおける認知機能と脳病理の解析
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 廣田 湧, 飯島浩一, 関谷倫子
2. 発表標題 AppノックインマウスにおけるADバイオマーカー関連リン酸化タウの脳内局在解析
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近松幸枝, 飯島浩一, 関谷倫子
2. 発表標題 ノルアドレナリン/オクトパミン神経細胞タウ毒性モデルショウジョウバエの作製と解析
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会
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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------