

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 22 日現在

機関番号：32689

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26506033

研究課題名(和文) 宇宙環境において発動する老化制御遺伝子ネットワークの解明

研究課題名(英文) Study on the network of longevity control genes expressed under space environments

研究代表者

本田 修二 (Honda, Shuji)

早稲田大学・理工学術院総合研究所(理工学研究所)・その他(招聘研究員)

研究者番号：40100127

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：線虫*C. elegans*を宇宙環境に滞在させた際に主に神経系の遺伝子(ロドプシン受容体、シェーカー型電位依存カリウムチャネル、アセチルコリン輸送体、グルタミン酸通門塩素チャネル等)の発現が低下する。そこで今回これらの遺伝子が老化と重力にどのように関与するかを研究した。宇宙環境で発現が低下した11の遺伝子について線虫の加齢に伴う発現変化、インスリン/IGFシグナル下流の転写因子daf-16の欠損変異体での発現、および過重力の影響、を調べた。これらの遺伝子はインスリン/IGFシグナルに関与するものと関与しないものがあり、過重力に対しても加齢に対し様々に応答することがわかった。

研究成果の概要(英文)：Space environments down regulate the expression of more than ten neuronal genes in the nematode *Caenorhabditis elegans*. We investigated the involvement of these genes in aging and gravity. We examined the effects of aging, mutation in *daf-16*, the downstream of insulin/IGF signaling, and hypergravity: 100G. These genes responded in various ways to aging, insulin/IGF signaling and hypergravity.

研究分野：基礎老化学

キーワード：宇宙 線虫 老化 重力

1. 研究開始当初の背景

生物の老化する速度や寿命は温度や餌量、酸素 (Honda S *et al*, J Gerontology 48 B57 1993) などの環境因子により影響を受ける。老化速度や寿命は生体の持つ制御システムが環境因子に応答することにより決定されるものと考えられている。宇宙環境、特に微小重力環境に対してどのような生体制御システムが応答し、それがどのように寿命や老化速度に影響を及ぼすかはほとんどわかっていない。

申請者らは宇宙環境が線虫の老化に及ぼす影響を明らかにするために、2004年の国際宇宙線虫プロジェクト (ICE-1st) において、宇宙環境に12日間滞在させた線虫の遺伝子発現を調べ、主に神経系および内分泌系に関わる遺伝子の発現が低下することを見出した。これら宇宙滞在により発現が顕著に低下した遺伝子を、地上実験室において宇宙環境と同様に発現を抑制させた線虫の寿命を調べたところ、7つの遺伝子 (ロドプシン受容体、シェーカー型電位依存カリウムチャネル、アセチルコリン輸送体、グルタミン酸通門塩素チャネル、コリンアセチル転移酵素、アセチルコリン受容体、インスリン様ペプチド; 以下7遺伝子と記す) のそれぞれで寿命が延長することを明らかにした (Honda Y *et Honda S*, 2012)。この結果は「宇宙環境においては長寿を促進する遺伝子経路が発動する」とする仮説を導くものであった。またこれらは高等動物でも相同遺伝子が存在し、神経情報伝達系に関わるものが多く微小重力との関係を暗示した。

2. 研究の目的

これら宇宙環境において発現が低下し、地上において発現を低下させると寿命が延長する7遺伝子が重力の感知・情報伝達に関わるかどうかは不明である。またこれらの7遺伝子が今までに明らかになっているインス

リン/IGFシグナルなどの老化制御遺伝子経路とどのような関係にあるのか、あるいは独立した経路にあるのか十分明らかにはなっていない。またこれらの遺伝子が発現に伴ってどのように発現変化を起こすかわかっていなかった。そこで、線虫を用いて、これらの遺伝子の発現が、過重力曝露でどのように変化するか、加齢に従ってどのように変化するか、過重力下で加齢に伴ってどのように変化するか、インスリン/IGFシグナルの下流にあるDAF-16、FOXO転写因子の欠損変異体でこれらの遺伝子発現がどのように異なるか、過重力によりどのように変化するかを明らかにする。宇宙環境により発現が変化する遺伝子がどのように重力と関わって寿命・老化速度を変化させるかを探る。

3. 研究の方法

線虫 *Caenorhabditis elegans* を液体培地 (CeMM) 中で飼育した。CeMMはLotにより成長が大きく異なる。特に成分のチトクロームcが十分溶解されていることを確認して使用した。

線虫は液体培地中で加齢させた。通常の寒天培地に大腸菌 OP50 を播種した上で生育させ、成虫をブリーチにより溶解させ、卵 (embryo) を採取した。M9緩衝液中20□で18時間インキュベートし同調したL1幼虫を得た。CeMMにて飼育し、後期L4および若齢成虫に同調、産卵抑制剤の5-Fluoro-deoxy-uridineを添加して20□にて加齢させた。

過重力は低速遠心機による遠心 (10~100XG) にて行った。線虫をプラスチックバッグに入れ、地上擬似無重力装置および遠心器に装填する。経時的に線虫を採取しRNAを抽出し遺伝子発現解析に供した。

4. 研究成果

線虫 *C.エレガンス* を宇宙環境に滞在させた際に主に神経系の遺伝子 (ロドプシン受容

体、シェーカー型電位依存カリウムチャネル、アセチルコリン輸送体、グルタミン酸通門塩素チャネル等)の発現が低下することを見出した。これらの遺伝子を RNA 干渉法や遺伝子変異により地上で発現を低下させて寿命を見たところ、このうち 7 遺伝子について寿命の延長を認めた。そこでこれらの遺伝子が重力変化、およびインスリン / IGF シグナル下流の *daf-16* 欠損変異、加齢によりどのように発現が影響を受けるかを研究した。

glc-4 (C27H5.8、グルタミン酸通門塩素チャネル)では高齢成虫では若齢期に比べて 1.7 倍に増加する加齢変化を示した。過重力 100G により発現が 0.6 倍に低下し、過重力による発現低下を示した。一方、100G 下で飼育した場合、高齢成虫では若齢期に比べて 1.5 倍に増加し、対照と同様な加齢変化を示した。*daf-16* では野生体に比べて発現が増加したが、100G により減少した。

shk-1 (ZK1321.2、シェーカー型電位依存カリウムチャネル)では高齢成虫では若齢期と同様に発現し加齢変化を示さなかった。過重力 100G により発現が低下した。一方、100G 下で飼育した場合、高齢成虫では若齢期に比べて 1.3 倍に増加し、加齢変化を示すようになった。*daf-16* では野生体と同様な発現を示し、野生体と同様に 100G で減少した。

cha-1 (ZC416.8、コリンアセチル転移酵素)と *unc-17* (アセチルコリン輸送体)は同様に高齢成虫では若齢期に比べて 0.7 倍に減少する加齢変化を示した。過重力 100G により発現が低下した。一方、100G 下で飼育した場合、高齢成虫と若齢期と同様に加齢変化が見られなくなった。*daf-16* での発現は野生体と同様な発現を示し、野生体と同様に 100G で減少した。

ins-35 (インスリン様ペプチド)では高齢成虫では若齢期に比べて 0.4 倍に低下する加齢変化を示した。100G 下で飼育した場合、高齢成虫では若齢期に比べて 0.9 倍の発現増

加があり、対照と比べて加齢変化が少なくなった。*daf-16* では野生体に比べて発現が減少したが、100G により発現が増加した。

gar-3 (アセチルコリン受容体)では高齢成虫では若齢期に比べて 1.6 倍に増加する加齢変化を示した。また過重力による発現低下を示した。一方、100G 下で飼育した場合、高齢成虫では若齢期に比べて 1.3 倍に増加し、やはり加齢に伴う増加変化を示した。*daf-16* では野生体に比べて発現が増加したが、100G により発現が減少し、過重力による発現低下にインスリン / IGF シグナルが関与しないことが示唆された。

F57A8.4 (GPCR ロドプシン様受容体)では高齢成虫では若齢期に比べて 0.9 倍に減少する加齢変化を示した。また過重力による発現低下を示した。一方、100G 下で飼育した場合、高齢成虫では若齢期に比べて 0.7 倍に減少し、やはり加齢による減少変化を示した。*daf-16* では野生体に比べて発現が増加したが、100G により減少し、過重力による発現誘発にインスリン / IGF シグナルが関与しないことが示唆された。

宇宙環境で発現が低下した主に神経系の遺伝子は過重力に対し、また加齢に対し様々な応答し、それらの応答にはインスリン / IGF シグナルに關与するものと關与しないものに分類された。

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 4 件)

1. Matsunaga Y, Honda Y, Honda S, Iwasaki T, Qadota H, Benian G M, Kawano T, Diapause is associated with a change in the polarity of secretion of insulin-like peptides, Nature Communications 7: Article number 10573 (2016) 査読有
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). 査読有

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), 査読無
4. Honda Y, Honda S, Narici M, Szewczyk NJ, Spaceflight and aging, *Gerontology* 60, 138-142 (2014) doi: 10.1159/000354772, 査読有

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Hata T, Maruyama H, Araki Y, Honda Y, Honda S, Ichihara K: 10-Hydroxy-2-decenoic acid, a unique fatty acid in royal jelly, extends lifespan in nematode *C. elegans*. *Apimondia*, Daejeon, Korea, 9. 15-20, 2015
2. Hata, T, Maruyama H, Araki Y, Ichihara K, Ito M, Honda Y, Honda S, Lifespan-extending effects of royal jelly on nematodes *Caenorhabditis elegans*. *Apimondia 5th Apimondia and 4th Apiquality Forum 2014*, Erzurum, Turkey, 9.1-5, 2014.
3. 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*, Nara, 7. 15-19, 2014
4. 本田陽子, 本田修二, 濱野慶朋、長谷川康子、新井富生、田中雅嗣、老化促進モデルマウス (SAMP10) におけるトレハロースの長期投与の加齢指標におよぼす影響, 老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会 第 29 回研究発表会, 東京, 7.5-6, 2014

〔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 0 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 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
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 修二 (HONDA, Shuji)
早稲田大学・理工学研究所・招聘研究員
研究者番号: 40100127

(2)研究分担者

本田 陽子 (HONDA, Yoko)
早稲田大学・理工学研究所・招聘研究員
研究者番号: 90399460