

長寿医療研究開発費 平成28年度 総括研究報告

哺乳類における睡眠及び老化を制御する視床下部特異的シグナル伝達系の解明に関する研究 (28-47)

主任研究者 佐藤 亜希子 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リーダー

研究要旨

近年、視床下部が哺乳類の老化・寿命を制御する上位中枢の一つであることが明らかにされ、老化現象を多臓器間の相互関連性のある一つのシステムと捉えることの重要性が再認識されつつある。加えて、老化に伴う視床下部の機能低下の中でも、特に睡眠の質が低下すると、全身の生理学的機能に悪影響を及ぼし、その結果、老年性疾患の発症に繋がる知見が報告されている。従って、視床下部による睡眠制御の破綻が全身性の老化現象を引き起こし、最終的に個体寿命へ影響を及ぼしているのではないかと考えられる。しかしながら、睡眠の質がなぜ老化に伴い低下するのか、睡眠の質的低下が全身性の老化現象を引き起こす詳細な分子制御機序については明らかにされていない。これまでに、視床下部背内側核(DMH)が哺乳類サーチュインSirt1またその分子パートナーである転写因子Nkx2-1が老化による生理学的変化を制御する上で重要な役割を果たしていることが証明されてきた。加えて、DMH特異的遺伝子群の中からSirt1/Nkx2-1シグナル伝達系の下流遺伝子で睡眠を特異的に制御するPrdm13が同定された。Sirt1、Nkx2-1、またはPrdm13をDMH特異的にノックダウンしたマウスでは睡眠の質が低下される。従って、DMHのPrdm13発現量低下が老化に伴う睡眠障害を引き起こし、さらにPrdm13が老化に伴う睡眠障害から全身の老化現象を引き起こす役割を持っているのではないかと考え、1)DMHのPrdm13を含むシグナル伝達系による睡眠分子制御機序の解明、及び 2)睡眠制限が視床下部、脳幹及び視床のシグナル伝達系を介して全身の老化現象に及ぼす影響を検討する。

主任研究者

佐藤 亜希子 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リーダー

分担研究者

なし

A. 研究目的

視床下部は睡眠制御を司る主要な脳領域の一つとして知られている。睡眠は老化に伴い断片化され質的に低下するが、これらの変化がアルツハイマー病や2型糖尿病などの老年性疾患の発症に関与していることが明らかにされつつある。しかしながら、その詳細な分子機序については明らかにされていない。申請者はこれまでに、視床下部特に背内側核(DMH)が哺乳類サーチュイン *Sirt1* またその分子パートナーである転写因子 *Nkx2-1* を介して老化・寿命を制御する上で重要な役割を果たしていることを見出した(Satoh *et al.*, *Cell Metab.* 2013)。また、DMHで *Sirt1* または *Nkx2-1* をノックダウンしたマウスでは睡眠の質が著しく低下することを明らかにした(Satoh *et al.*, *Cell Metab.* 2013)。さらに申請者は、近年、DMH 特異的遺伝子群の中から *Sirt1/Nkx2-1* シグナル伝達系の下流遺伝子で睡眠を特異的に制御する PR domain-containing protein 13 (*Prdm13*)を同定した(Satoh *et al.*, *Aging Cell* 2015)。*Prdm13* 発現量は老化により低下し、一方、カロリー制限や長寿マウスでは増加する。従って、DMHの *Prdm13* 発現量低下が老化に伴う睡眠障害を引き起こし、さらに *Prdm13* が老化に伴う睡眠障害から全身の老化現象を引き起こす役割を持っているのではないかと考え、DMHの *Prdm13* を含むシグナル伝達系による睡眠分子制御機序の解明、及び睡眠制限が視床下部、脳幹及び視床のシグナル伝達系を介して全身の老化現象に及ぼす影響の検討を行う。本研究課題を遂行することにより、脳が新規の視床下部特異的シグナル伝達系を介して老化と睡眠を制御するその共通メカニズムが明らかになっていくことが考えられる。また、本研究成果を基に老化現象及び老化に伴う睡眠障害を制御する視床下部領域を特定することができれば、その領域を標的とするその後の薬理学的アプローチの探索研究に進展し、最終的には老年性疾患を予防することに繋がることが期待される。

B. 研究方法

老化制御への重要性が示唆される視床下部 *Prdm13* に着目し、老化に伴う睡眠変化を引き起こす分子メカニズムを概日周期制御及び睡眠恒常性制御に区別して明らかにする。また、視床下部には既知 *Prdm13* とは異なる2つのバリエーションが存在する(未発表データ)。その内1つのバリエーションのみが老化に伴い発現量が低下することから、この2つのバリエーションには異なる生理学的役割がある可能性が示唆される。そこで、2つのバリエーションの睡眠制御を比較することにより、老化の分子制御機序を明らかにしていく。さらに、老齢マウスでは若齢マウスと比較して明期特異的[Zeitgeber time (ZT) 0-2]に覚醒時間が有為に増加する。そこで、老化に伴う睡眠現象を模倣した睡眠制限が、睡眠覚醒制御を司ることから知られる視床下部-脳幹-視床制御系においてどのようにシグナル応答を伝達するのか、加えて、老人に認められる全身性の生理学的機能変化への影響を検討する。特に、睡眠制御と密接に関与しており視床下部の重要性が示されている体温調節機能低下に着目する。

(倫理面への配慮)

本申請に関して、申請者の属する施設ではヒト試料を対象とする研究は実施しない。一方、すべての研究に関わる動物実験に関しては実験動物の福祉を順守し、動物愛護上の配慮を踏まえて確実に管理する。その他、移動等を伴う遺伝子組換え体の扱いについてはカルタヘナ議定書に基づく「遺伝子組換え生物等の使用に規則による生物多様性の確保に関する法律」に従って遂行する。本研究はいくつかの組み換え DNA 実験と動物実験より構成されるので、我が国の感染症新法とカルタヘナ条約の批准による組み換え生物拡散防止に関する法の2つの法令に沿って計画・準備されている。動物実験の実施にあたっては、事前に国立長寿医療研究センター倫理委員会から承認を得た動物実験プロトコルに準ずる。プラスミドベクターやウイルスベクターの使用については、事前に申請・承認された DNA 実験計画書に従って実施する。

C. 研究結果

本研究課題の初年度である当該事業年度には、研究実施の中心を担う測定装置、特に、マウスの睡眠測定機器及びその測定環境整備に注力した。その結果、睡眠測定装置としては従来仕様に加え、シールド設計の改良から電磁ノイズ対策を強化することができた。また、睡眠測定用の箱を設置し、明暗周期と空調設備などを最適化した。

D. 考察と結論

初年度に本研究課題に必要な睡眠測定装置を確立出来たことにより、今後の研究が円滑に進行されることが期待される。また、今回設置した装置では、シールド設計の改良から電磁ノイズを最小限に押さえることができた。これにより、従来以上の精度で周波数解析が実施できるだけでなく、解析自体を睡眠解析研究用プログラムで自動測定・ステージ判定することが可能な程度にまでデータを最適化することができるのではないかと考えている。データの最適化は、実現すれば睡眠測定の解析効率の向上に繋がることから、今後の重要な課題である。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) Akiko Satoh

Keynote, "Sirtuins and mTOR signaling in the hypothalamus: A key regulator of sleep,

aging and longevity.”

Asian Society for Aging Research, March 2-5, 2017, Sapporo.

2) 佐藤亜希子

シンポジウム, “視床下部ニューロンを介した老化と睡眠の中枢性制御機序.”

第122回日本解剖学会総会・全国学術集会, 「シンポジウム “エイジング形態と
先進医療の可能性について”」, 2017年3月28日, 長崎.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし