

細胞競合による栄養依存的な腸上皮恒常性と寿命の制御 (28-44)

主任研究者 赤木 一考 国立長寿医療研究センター 組織恒常性研究 PT (プロジェクトリーダー)

研究要旨

近年、腸管の恒常性が寿命に大きく影響することが明らかにされてきた。一方、食餌制限 (Dietary restriction: DR) は、酵母、線虫、ショウジョウバエ、哺乳類と多くの種に渡って寿命を延長させる方法であることが古くから知られている。また、DR は寿命延長だけでなく、神経変性疾患、ガン、糖尿病、循環器系疾患などの様々な老化に関連した疾患の予防にも役立つ事が明らかにされている。しかし、DR と腸管の機能性、恒常性との関係およびその分子機構はほとんど明らかにされていない。主任研究者は、キイロショウジョウバエをモデルに研究を行い、DR による腸管恒常性維持機構に細胞競合のシステムが関わっていることを明らかにしてきた。本研究は、加齢に伴う腸透過性の上昇や炎症がどのようなメカニズムで起きるのかについて、特に細胞競合のシステムに注目し、遺伝学、分子生物学、生化学的手法を用いて解析する。着任初年度である平成 28 年度は、研究室の立ち上げ、細胞競合実験の実験系の構築などを行った。

主任研究者

赤木 一考 国立長寿医療研究センター 組織恒常性研究 PT (プロジェクトリーダー)

A. 研究目的

本研究では、加齢や高栄養条件によって、腸管での細胞競合システムの機能がどのように変化するのか、さらに、その変化が加齢時に観察される腸透過性の上昇や炎症を含む腸上皮組織恒常性の破綻にどのように寄与するのかを明らかにする。それらによって、腸上皮恒常性の維持と寿命との関係を分子レベルで解明することを目指す。

B. 研究方法

腸透過性上昇に伴う腸内細菌の体液移行の解析

主任研究者は、ショウジョウバエの腸管で転写因子 dMyc の発現を低下させると、腸透過性が上昇し、全身感染症を引き起こすことを明らかにしていた。しかし、全身感染症の

マーカーである抗菌ペプチドをコードする遺伝子の発現の上昇を観察したのみで、実際に腸内細菌の体液移行 (Bacteria translocation) が起きていることは確認していなかった。そこで、腸管で dMyc の発現を低下させたショウジョウバエに、抗生物質であるゲンタマイシンを給餌することで腸内細菌を殺菌し、さらに体表面の細菌を 70% エタノールで殺菌したのち、ホモジナイズして培養プレートに播き、CFU (Colony forming units) をカウントした。

腸管における細胞競合の解析

主任研究者は、前所属先のアメリカ合衆国 Buck Institute において、遺伝学的モザイク解析 (5966-GS, CoinFLP system) を用いて DR 条件で飼育した若いショウジョウバエ個体の腸管に dMyc 発現低下細胞を作成すると、それらの細胞は細胞死によって積極的に除去されること明らかにしていた。しかし、その再現実験は行っていなかった。そこで、同様の方法を用いて同じ実験を行い、結果を再現できるかどうか確かめた。

また、主任研究者は、Dcp1 (Death Caspase 1) 抗体を用いた免疫組織化学的手法によって、dMyc 発現低下細胞の除去が細胞死によるものであることを示していた。このことを裏付けるために、DR 条件で飼育した若い個体の腸管において、dMyc の発現を低下させると同時に、細胞死を抑制する DIAP (Death-associated Inhibitor of Apoptosis) を強制発現することのできるモザイククローン細胞を作成した。

(倫理面への配慮)

本研究の研究対象はショウジョウバエであるため、人権保護や倫理面に配慮する必要のある研究は含まれていない。

C. 研究結果

腸透過性上昇に伴う腸内細菌の体液移行の解析

腸管で dMyc の発現を低下させたショウジョウバエにおいて、腸内細菌の体液移行が観察されるかどうかを調べた。その結果、まず、ゲンタマイシンを給餌せずに体表のバクテリアのみを殺菌したグループでは、dMyc 発現低下個体とコントロール個体でバクテリア数に変化は見られなかった。一方、ゲンタマイシンを給餌し、腸内と体表のバクテリアを殺菌したグループにおいては、dMyc 発現低下個体において、コントロール個体に比べてバクテリア数の有意な増加が検出された。したがって、腸管で dMyc の発現を低下させた個体では、実際に腸内細菌の体液移行が起きていることが確認できた。

腸管における細胞競合の解析

遺伝学的モザイク解析を用いて、ショウジョウバエ腸管に dMyc 発現低下細胞をモザイク状に作成し、細胞競合が誘導されるかどうかを観察した。その結果、主任研究者が前所

属先で得ていた結果通り、DR 条件で飼育した若い個体の腸管において、細胞競合による dMyc 発現低下細胞の除去が起きることが確認できた。また高栄養条件 (ad libitum: AL) においても、dMyc 発現低下細胞の除去が観察された。

次に、dMyc 発現低下細胞の除去がアポトーシスによるものであることを裏付けるために、dMyc の発現を低下させると同時に、細胞死を抑制する DIAP (Death-associated Inhibitor of Apoptosis) を強制発現した。その結果、dMyc 発現低下細胞の除去が有意に抑制されたことから、dMyc 発現低下細胞の除去がアポトーシスによるものであることが確認できた。

D. 考察と結論

これまでの研究で、腸管で dMyc の発現を低下させると腸透過性が上昇し、DR による寿命の延長が見られなくなることがわかっていた。本研究により、腸管で dMyc の発現を低下させた個体では、腸内細菌の体液移行が起きていることが明らかになったことから、DR では dMyc によって腸管バリア機能が維持され、感染症を防いでいることが示された。一方、加齢に伴って腸管における dMyc の発現レベルは低下していくが、そのメカニズムは不明であるため、今後解析が必要である。

本研究により、腸管における dMyc 発現低下細胞は細胞競合によって除去されることが明らかになってきた。さらに、dMyc 発現低下細胞の除去は、若い個体においては、DR 条件だけでなく AL 条件においても生じることがわかった。これまでの研究から、若い個体においては、AL 条件、DR 条件ともに dMyc は高いレベルで発現していることから、dMyc 発現低下細胞の除去が両方の条件で起きたことは説明できる。一方、老いた個体においては、dMyc の発現レベルが AL 条件で顕著に低下することが明らかになっているため、この時に dMyc 発現低下細胞を作成した場合、細胞競合が起こるのかどうか解析が必要である。この実験によって、老齢個体 (特に AL 条件) において細胞競合が観察されない場合、加齢に伴う腸上皮恒常性の破綻の原因の一つが、dMyc を介した細胞競合能力の低下によるものであると説明できる可能性があるため、解析を進める。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) [Akagi K, Sarhan M, Sultan S. AR, Nishida H, Koie A, Nakayama T, Ueda H. A biological timer in the fat body comprising Blimp-1, \$\beta\$ Ftz-f1 and Shade regulates pupation timing in *Drosophila melanogaster*. Development,143: 2410-2416, 2016.](#)

2. 学会発表

- 1) 赤木 一考 “Intestinal Homeostasis and Aging in *Drosophila*” The 1st MORPHOMEOSTASIS Meeting, 2016年6月26日, 三島市
- 2) Kazutaka Akagi, Subhash D. Katewa, Kenneth A. Wilson, Mauricio Ortega, Jesse Simmons, Subir Kapuria, Heinrich Jasper, Pankaj Kapahi. Dietary restriction improves intestinal cellular fitness through *dMyc* to enhance gut barrier function and lifespan in *D. melanogaster*. 12th Japanese Drosophila Research Conference, 2016年9月11日, 東京
- 3) Kazutaka Akagi, Subhash D. Katewa, Kenneth A. Wilson, Mauricio Ortega, Jesse Simmons, Subir Kapuria, Heinrich Jasper, Pankaj Kapahi. Dietary restriction improves intestinal cellular fitness through *dMyc* to enhance gut barrier function and lifespan in *D. melanogaster*. Frontiers in aging research toward healthy longevity, 2016年11月17日, 東京
- 4) Kazutaka Akagi, Subhash D. Katewa, Kenneth A. Wilson, Mauricio Ortega, Jesse Simmons, Subir Kapuria, Heinrich Jasper, Pankaj Kapahi. 栄養制限は *dMyc* の発現を介して腸管での細胞適応度を上昇させ、腸管バリア機能および寿命を向上させる 第39回日本分子生物学会年会, 2016年12月1日, 横浜市
- 5) Haruka Nishida, Kazutaka Akagi, Hitoshi Ueda. The advantages of repressor usage for a precise timer system 第39回日本分子生物学会年会, 2016年12月1日, 横浜市
- 6) 赤木 一考 Intestinal cellular fitness is required for gut barrier function and lifespan extension upon dietary restriction. 第9回 NAGOYA グローバルリトリート, 2017年2月10日, 大府市 (招待講演)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし