

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

食餌制限 (Dietary restriction: DR) は、酵母、線虫、ショウジョウバエ、哺乳類を含む様々な動物で寿命を延長させることが知られている。もちろん、飢餓状態や栄養失調症に陥るほどの DR は寿命を短縮させるが、適切なレベルで行えば寿命の延長だけに限らず、がん、肥満、糖尿病、神経変性疾患などの予防に繋がることが示されている。しかし、DR の作用機構、特に各組織における作用については、未だに不明な部分が多く残されている。

老化の代表的な特徴の一つとして、幹細胞の機能低下ないし枯渇による組織再生能の低下が挙げられるが、ショウジョウバエにおいても腸幹細胞 (Intestinal stem cell: ISC) の制御が寿命に寄与している。加齢したショウジョウバエの腸管では、ISC の異常増殖により腸管の形成異常 (dysplasia) や機能不全が起きる。そのような腸管上皮恒常性の破綻により致死率が上昇することが明らかにされている。その要因の一つが、腸管バリア機能の低下による腸透過性の上昇である。主任研究者は、ショウジョウバエを用いて、アポトーシスの制御が腸管バリア機能の維持に重要であることを見出し、DR によるアポトーシスの抑制が腸管上皮恒常性維持に寄与することを明らかにした。また、DR による腸管上皮恒常性維持機構について解析していく過程において、腸管における細胞競合の重要性が明らかになってきた。本研究では、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。平成 29 年度は、加齢や栄養条件が腸管における細胞競合に与える影響について主に解析した。

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)

分担研究者

なし

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、腸管上皮恒常性維持における細胞競合の役割について、そのシグナル経路や作用機序の解明を目指す。

B. 研究方法

1) 腸管における細胞競合能力の加齢変化と栄養の影響について

ショウジョウバエ腸管における細胞競合の解析には、遺伝学的モザイク解析 (5966-GS, CoinFLP system) を用いた。このシステムでは、薬剤投与によって一過的に、分裂終了細胞である腸芽細胞 (enteroblast: EB) と腸細胞 (enterocyte: EC) のみに GFP で標識された変異細胞を作成することができる。主任研究者は、このシステムを用いて、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。そこで本年度は、腸管における *dMyc* 発現低下細胞除去機能が加齢に伴いどのように変化するのかについて明らかにするため、同様の実験を加齢させた個体 (羽化後 21 日、28 日、35 日、56 日目) を用いて行った。さらに、栄養条件の違いによる影響についても調べた。

2) 腸管における *dMyc* 発現レベルの加齢変化について

主任研究者は、ショウジョウバエ腸管における *dMyc* mRNA の発現が加齢に伴い低下することと、その低下が DR によって抑制できることを明らかにしていた。しかし、*dMyc* mRNA の発現レベルの低下が、EC の数が変化したことに依存している可能性が考えられた。そこで、羽化後 7 日、21 日、35 日、49 日目の腸管における *Pdm1* (EC マーカー) の発現を qRT-PCR を用いて調べた。

3) EB/EC 特異的な *dMyc* 強制発現が寿命に与える影響について

主任研究者は、EB/EC 特異的に *dMyc* をノックダウンすると、DR による寿命延伸効果が減少することを見出していた。さらに、EB/EC 特異的に *dMyc* を強制発現すると高栄養条件下において寿命が延伸することを示唆する結果を得ていた。しかし、*dMyc* 強制発現による寿命延伸効果が安定しないことや、DR 条件では寿命が短縮するという問題点があった。そこで、EB/EC 特異的に *dMyc* を断続的に活性化し、寿命への影響を調べた。

(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

1) 腸管における細胞競合能力の加齢変化と栄養の影響について

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た。そして、DR および高栄養条件で飼育した個体間で、*dMyc* 発現低下細胞の除去効率（細胞競合能力）に差があるかどうかについて検討した。その結果、若い個体では DR および高栄養条件において、細胞競合能力に差がないことが示唆された。次に、同様の実験を加齢させた個体を用いて行った。その結果、DR および高栄養条件ともに加齢に伴う *dMyc* 発現低下細胞の除去効率の低下が観察された。一方で、DR 条件で飼育した個体では、高栄養条件で飼育した個体と比べて、*dMyc* 発現低下細胞の除去効率の低下に明らかな遅延が観察された。これらのことから、加齢により腸管での細胞競合能力が低下することと、その低下が DR によって抑制できることが示唆された。

2) 腸管における *dMyc* 発現レベルの加齢変化について

腸管での加齢に伴う *dMyc* mRNA レベルの低下が、EC の数が変化したことに依存しているかどうかを明らかにするため、EC マーカーである *Pdm1* の加齢変化を qRT-PCR 法によって調べた。その結果、老化した個体においても *Pdm1* の発現に変化は見られなかった。したがって、EC における細胞レベルでの *dMyc* の発現が加齢に伴い低下することが示唆された。

3) EB/EC 特異的な *dMyc* 強制発現が寿命に与える影響について

EB/EC 特異的に *dMyc* を断続的に活性化し、寿命への影響を調べたところ、高栄養条件下において健康寿命が延伸することがわかった。この条件において、加齢に伴う腸上皮恒常性の破綻が抑制できるかについては、現在解析を進めている。

D. 考察と結論

本年度の成果により、ショウジョウバエの腸管における細胞競合能力が加齢に伴い低下すること、DR によってその低下が遅延できることが強く示唆された。これらは、本研究課題における仮説を支持する非常に重要な結果である。一方で、DR による細胞競合能力低下の遅延が、高栄養と DR 条件における *dMyc* の発現レベルの違いによって説明できるかどうか、さらなる解析が必要である。また、加齢に伴い適応度の低い細胞を除去する能力が低下するのであれば、老齢個体の腸管には、そのような細胞が残存していることが考えられる。したがって、現在、それらの細胞を可視化するための実験に取り組んでいる。

加齢に伴い腸管における *dMyc* の発現が低下することは示すことができたが、その発現の低下が EC のみで起こるのか、ISC や EB においても同様に *dMyc* の発現が低下するののかについては明らかにされていない。したがって、ISC や EB のマーカーとともに *dMyc* の発現を観察することで、腸管における *dMyc* の加齢変化を細胞レベルで明らかにしていく予

定である。さらに本年度は、EB/ECにおいて *dMyc* を断続的に活性化することで、高栄養条件において寿命が延伸できることを示すことができた。一方で、EB/EC 特異的な *dMyc* ノックダウンでは、DR による寿命延伸効果が減少することが明らかになっている。したがって腸管の分裂終了細胞においては、*dMyc* が細胞適応度を示すバロメーターになっていることが示唆された。以上のことから、腸管における *dMyc* の発現制御機構を明らかにすることにより、本研究課題の目的である腸管上皮恒常性維持における細胞競合の役割について、そのシグナル経路や作用機序の解明につながると考えている。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) Lucas S. Trindade, Kazutaka Akagi

A Drosophila approach to assess the r/K system and the evolution of lifespan

The 4th Asia-Pacific Drosophila Research Conference, May 10, 2017, Osaka

2) Haruka Nishida, Kazutaka Akagi, Hitoshi Ueda

The advantages of repressor usage for a precise time measurement system in the development of *Drosophila melanogaster*

The 4th Asia-Pacific Drosophila Research Conference, May 10, 2017, Suita, Osaka

3) Regulation of intestinal homeostasis and lifespan upon dietary restriction in *Drosophila*

The 2nd MORPHOMEOSTASIS Meeting, 2017年6月10日, 仙台市

4) Lucas S. Trindade, Toshiro Aigaki, Kazutaka Akagi

A Drosophila approach to assess the r/K system and the evolution of lifespan

第40回日本基礎老化学会大会、2017年6月15日、名古屋

5) Kazutaka Akagi, Subhash D. Katewa, Kenneth A. Wilson, Mauricio Ortega, Jesse Simmons, Subir Kapuria, Heinrich Jasper, Pankaj Kapahi

Dietary restriction improves intestinal cellular fitness to enhance gut barrier function and lifespan in *D. melanogaster*

The 3rd International Insect Hormone Workshop, July 9-14, 2017, Nasu, Tochigi

- 6) Hamdy Aly, Kazutaka Akagi, Hitoshi Ueda

Degradation mechanism of a transcriptional repressor Blimp-1, which regulate the pupation timing in *Drosophila*

The 3rd International Insect Hormone Workshop, July 9-14, 2017, Nasu, Tochigi

- 7) Kazutaka Akagi, Subhash D. Katewa, Kenneth A. Wilson, Mauricio Ortega, Jesse Simmons, Subir Kapuria, Heinrich Jasper, Pankaj Kapahi

Dietary restriction improves intestinal cellular fitness to enhance gut barrier function and lifespan in *D. melanogaster*

The 3rd International Symposium on Cell Competition, Aug 29, 2017, Sapporo, Hokkaido

- 8) Lucas Trindade, Toshiro Aigaki, Kazutaka Akagi

Long-term adaptation to a specific food condition may be sufficient to explain the major changes of life-history evolution

2017年度生命科学系学会合同年次大会、2017年12月6日～9日、神戸市

- 9) Hamdy Aly, Kazutaka Akagi, Yuji Kageyama, Hitoshi Ueda

ショウジョウバエの蛹化タイミングを決める生物タイマーシステムに影響を及ぼす分子

2017年度生命科学系学会合同年次大会、2017年12月6日～9日、神戸市

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