

助成の種類：研究助成

研究テーマ：ヒト加齢時計による老化機序解明

氏名：笠原 朋子

所属：東北大学 大学院医学系研究科 病態液性制御学分野

はじめに

老化は誰もが経験する生命現象でありながら、その進行度を正確に測る物差しが存在しなかった。同じ年齢でも、ある人は若々しく、ある人は老けて見えるのはなぜか。本研究では、遺伝子の活動パターンから「生物学的年齢」を測定する新しい技術「加齢時計 (Aging Clock)」を開発し、老化の謎に迫った。特に、これまで注目されてきたエピジェネティック時計の限界を克服し、トランスクリプトーム (遺伝子発現) に基づく新たな老化指標「トランスクリプトーム時計 (tAge)」の確立を目指している。

35 年前、たった一つの遺伝子変異により線虫の寿命が 40%延びることが報告され、老化研究に遺伝学的アプローチが導入された。以来、老化の分子メカニズムの解明が進んできたが、個体差や臓器差を包括的に説明できる統一的な理論は確立されていない。本研究は、この根本的な問題に対して、計算科学と発生生物学を融合させた新たなアプローチで挑戦するものである。

研究の背景と目的

1. 従来の老化測定法の限界とパラダイムシフトの必要性

これまで、DNA のメチル化という化学修飾を利用した「エピジェネティック時計」が老化の指標として使われてきた²⁾。エピジェネティック時計は、ゲノム上の特定の CpG サイトにおけるメチル化値の変化を数学的に統合し、暦年齢を予測する手法である。この手法は全死亡率、認知機能低下、虚弱、パーキンソン病などの加齢関連疾患と相関することが示され、老化研究に革命をもたらした。

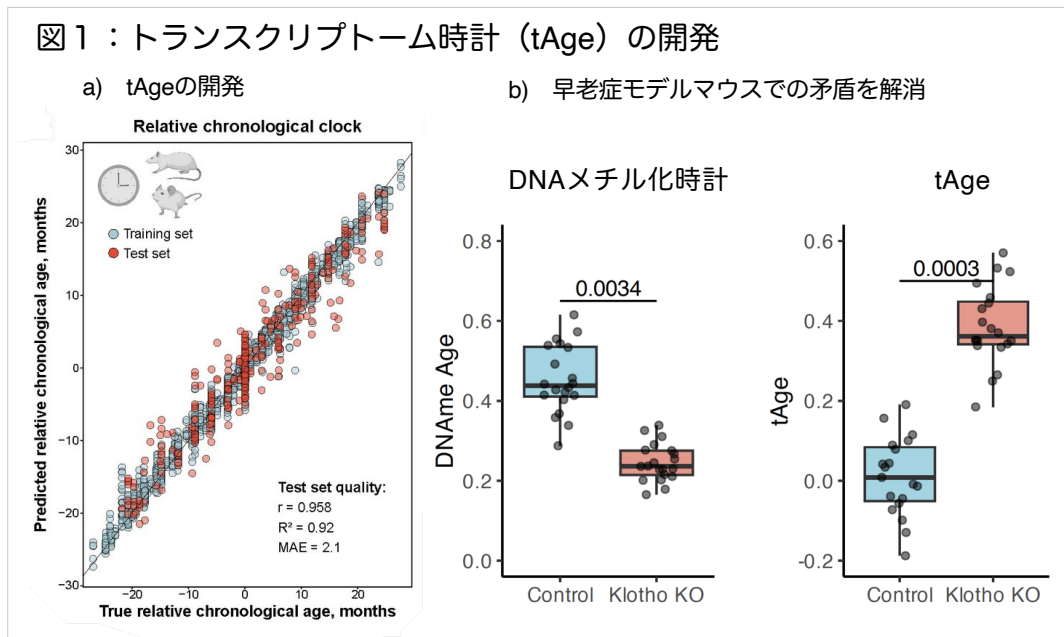
しかし、私たちは重要な矛盾を発見した。ヒト老化モデルとして知られる早老症の Klotho KO マウスで測定すると、より老化しているはずのマウスが「若い」と判定されたのである。この発見は、エピジェネティック時計だけでは老化の本質を捉えきれないことを示唆している (図 1)。

2. 新しいアプローチ：トランスクリプトーム時計の開発

そこで私たちは、ハーバード大学医学部の Vadim N. Gladyshev 教授と共同で、遺伝子の活動パターン (トランスクリプトーム) から生物学的年齢を測定する新しい手法の開発に着手した。Gladyshev 教授は加齢時計開発の第一人者であり、8 つの長寿介入を行ったマウスの RNA-seq 解析から、酸化的リン酸化や薬物代謝の変化が寿命延長に関連することを明らかにしている³⁾。

本研究では、41 種類の哺乳類の様々な臓器から収集した大規模 RNA-seq データを、フィロジェネティック回帰および Elastic Net 回帰により数理解析し、寿命を予測する遺伝子発現シグネチャを特定した。この手法により、種内および種間で共有される寿命メカニズムを、多次元的かつ総

合的に解析することが可能となった（図1）。



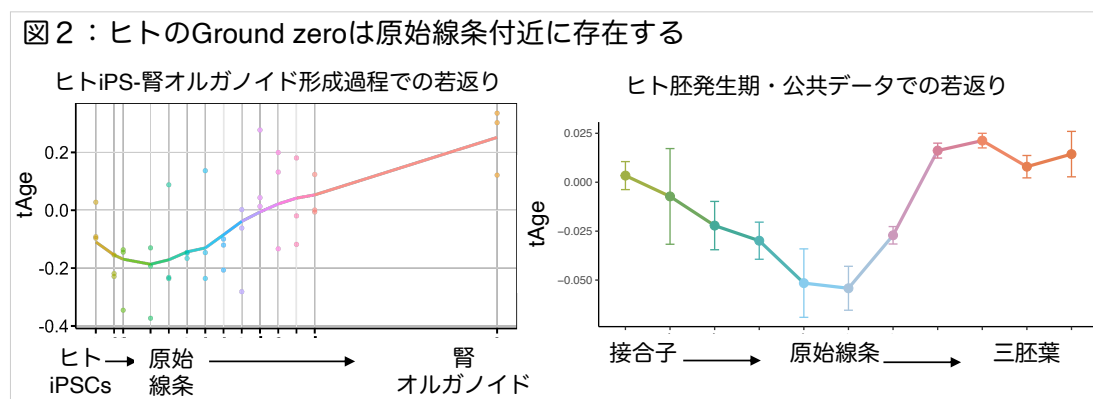
主要な研究成果

1. 生命に潜む「若返り」の発見 — Ground Zero の同定

最も驚くべき発見は、ヒトの発生過程で生物学的年齢が一時的に「若返る」現象を見つけたことである。受精卵から成長する過程で、ある時点で生物学的年齢が最も若くなる「Ground Zero（グランド・ゼロ）」と名付けた現象を、世界で初めてヒトで同定した。

私は京都大学 iPS 細胞研究所において、ヒト iPS 細胞から腎臓への分化誘導技術を世界に先駆けて確立した⁴⁾。この技術は、後期エピブラスト、原始線条、中間中胚葉、ネフロン前駆細胞へと、生体内の発生過程を忠実に再現しながら、単層培養で約 90%という高効率で分化誘導できる画期的なものである。原始線条において HOX1 から HOX11 まで順次発現させることで、生体内と同等の性質を持つネフロン前駆細胞を得られる。

この分化誘導系を用いて、各発生段階でサンプルを採取し、トランスクリプトーム解析を行った。その結果、原腸陥入期に相当する時期に生物学的年齢が最も低くなることを発見した(図2)。マウスでは胚発生日 E6.5-7 に Ground Zero が存在することが報告されていたが⁵⁾、ヒトでの同定は本研究が初めてである。さらに興味深いことに、この現象は腎臓系譜に限定されなかった。運動神経細胞⁶⁾、血管内皮細胞⁴⁾、肝オルガノイド⁷⁾、心筋細胞⁸⁾など、三胚葉由来のあらゆる細胞種で同様の Ground Zero が確認された。これは、我々の体に「プログラムされた若返り機構」が普遍的に存在することを示している。



2. Ground Zero の分子メカニズムの解明

Ground Zero 時期には以下の特徴的な変化が観察された：

- (1) DNA 損傷応答遺伝子の発現低下：ATM、ATR、P53 などの DNA 損傷センサーの発現が最小となる
- (2) テロメラーゼ活性の上昇：TERT 遺伝子の発現が最大となり、テロメア長の維持・延長が示唆される
- (3) 酸化ストレス応答の抑制：SOD、カタラーゼなどの抗酸化酵素の発現が低下する
- (4) 炎症関連遺伝子の抑制：NF- κ B 経路、インターロイキン類の発現が最小となる
- (5) エピジェネティック制御因子の再編成：ヒストン修飾酵素、DNA メチル化酵素の発現パターンが大きく変化する

これらの結果は、Ground Zero が単なる未分化状態ではなく、積極的に老化関連プロセスを抑制し、若返りを実現する特殊な状態であることを示している。

3. 単一細胞レベルでの老化測定技術（sc-tAge）の開発

従来の技術では組織全体の平均的な老化しか測定できなかった。私たちは、一つ一つの細胞の老化を測定できる「sc-tAge (single-cell transcriptomic Age)」の開発を進めている。

申請者が独自に開発した単一核 RNA-seq 技術を応用した。この手法では、核内で転写中の RNA の 5'端キャップ構造を捉え、転写開始点を 1 塩基の高解像度で定量的に解析できる。これにより、エンハンサーとプロモーターの活性を超高感度に同定することが可能となった。

sc-tAge の開発では、以下の技術的課題を克服した：

- (1) ノイズ除去：単一細胞データ特有のドロップアウトやバッチ効果を、高度なフィルタリング技術と SeSAMe R パッケージを用いて除去
- (2) 次元削減：高次元データの可視化と解析のため、UMAP や t-SNE に加え、新たな手法を開発
- (3) 細胞種特異的な老化パターンの同定：Cicero⁹を用いた転写ネットワーク解析により、細胞種ごとの老化シグネチャを抽出

実際に Klotho KO マウスの脳組織に適用したところ、同じ脳内でも神経細胞、アストロサイト、ミクログリア、オリゴデンドロサイトで老化の進行度が大きく異なることが明らかとなった。特に、ミクログリアの老化が最も顕著であり、これが脳全体の炎症を引き起こしている可能性が示唆された。

4. 老化メカニズムの解明と革新的治療法の開発

sc-tAge を用いた解析から、早老症モデルマウスではミトコンドリア機能不全が慢性炎症を引き起こし、老化を加速させていることを発見した。ミトコンドリア DNA の損傷により、酸化的リン酸化の効率が低下し、活性酸素種（ROS）の産生が増加していた。

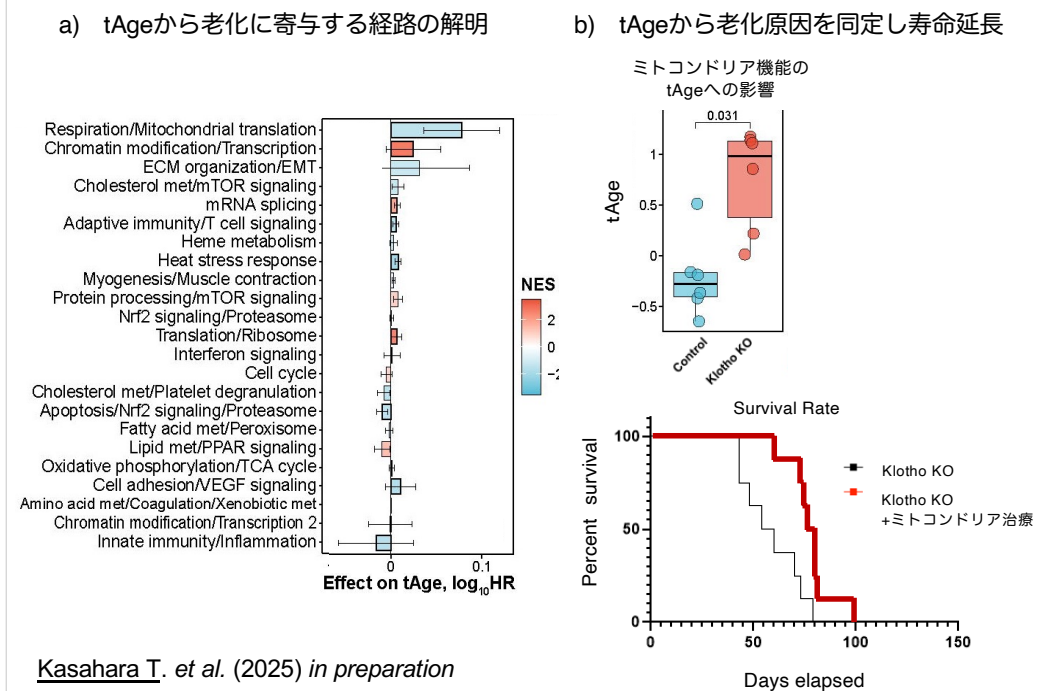
そこで、私たちが開発に関わったミトコンドリア活性化薬の効果を検討した。それらは、ミトコンドリア呼吸鎖複合体の活性を高め、ATP 産生を促進する新規化合物である。Klotho KO マウスに薬剤を投与したところ、以下の顕著な効果が観察された（図 3）：

- (1) ミトコンドリア機能の改善：ATP 産生量が約 40%増加、ROS 産生が約 60%減少
- (2) 炎症の抑制：IL-1 β 、IL-6、TNF- α などの炎症性サイトカインが正常レベルまで低下
- (3) 生物学的年齢の若返り：sc-tAge による測定で、約 2-3 歳相当の若返りを確認
- (4) 行動学的改善：認知機能、運動機能の有意な改善

これらの結果は、ミトコンドリアを標的とした治療が、老化の根本的な改善につながる可能性

を示している。

図3：tAgeによる抗老化剤の開発



今後の展望と研究計画

1. 公共データベースを活用した大規模解析

世界中で蓄積されている数百万のシングルセルデータに加齢時計を適用する計画である。疾患特異的老化パターンの同定¹⁰⁾、民族差・個人差の解明、環境要因の影響の定量化を進める。

2. トランスレーショナル研究の推進

基礎研究の成果を臨床応用につなげるため、血液中の cell-free RNA を用いた非侵襲的老化測定法の開発、抗老化薬の臨床試験、生物学的年齢に基づく個別化予防プログラムの開発を進める。

おわりに

本研究により、老化を正確に測定し、さらには若返らせる可能性が見えてきた。特に、生命に本来備わっている「Ground Zero」という若返り機構の発見は、これまでの老化研究のパラダイムを大きく変える可能性がある。エピジェネティック時計の限界を克服し、トランスクリプトームに基づく新たな老化指標を確立したことで、老化の本質により迫ることができた。

今後の課題として、Ground Zero メカニズムの完全な解明、sc-tAge のさらなる精緻化、そして臨床応用への橋渡しが挙げられる。特に、CRISPR-Cas9 を用いた in vivo Perturb-Seq により、Ground Zero 関連遺伝子の機能を体系的に解析する計画である。本研究は、超高齢社会における健康寿命延伸という社会的課題の解決に直接貢献するものである。すべての人が健康で長生きできる社会の実現に向けて、今後も研究を発展させていく所存である。

謝辞

本研究は中山人間科学振興財団の研究助成により実施することができた。ご支援に心より感謝申し上げます。また、共同研究者であるハーバード大学医学部の Vadim N. Gladyshev 教授、京都大学 iPS 細胞研究所の長船健二教授をはじめとする関係者各位、東北大学大学院医学系研究科の同僚諸氏に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Friedman DB, Johnson TE: A mutation in the age-1 gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility. *Genetics* 118(1): 75-86 (1988)
- 2) Horvath S: DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biology* 14(10): R115 (2013)
- 3) Tyshkovskiy A, Bozaykut P, Borodinova AA, Gerashchenko MV, Ables GP, Garratt M, Khaitovich P, Clish CB, Miller RA, Gladyshev VN: Identification and Application of Gene Expression Signatures Associated with Lifespan Extension. *Cell Metabolism* 30(3): 573-593 (2019)
- 4) Kasahara T, Tsujimoto H, Sueta S, Araoka T, Sakamoto S, Okada C, Mae S, Nakajima T, Okamoto N, Taura D, Nasu M, Ryosaka M, Sone M, Ikeya M, Watanabe A, Osafune K: A modular differentiation system maps multiple human kidney lineages from pluripotent stem cells. *Cell Reports* 31(7): 107476 (2020)
- 5) Kerepesi C, Zhang B, Lee SG, Trapp A, Gladyshev VN: Epigenetic clocks reveal a rejuvenation event during embryogenesis followed by aging. *Science Advances* 7(26): eabg6082 (2021)
- 6) Du ZW, Chen H, Liu H, Lu J, Qian K, Huang CL, Zhong X, Fan F, Zhang SC: Generation and expansion of highly pure motor neuron progenitors from human pluripotent stem cells. *Nature Communications* 6: 6626 (2015)
- 7) Thompson WL, Takebe T: Human liver model systems in a dish. *Development Growth & Differentiation* 63(1): 47-58 (2021)
- 8) Minami I, Yamada K, Otsuji TG, Yamamoto T, Shen Y, Otsuka S, Kadota S, Morone N, Barve M, Asai Y, Tenkova-Heuser T, Heuser JE, Uesugi M, Aiba K, Nakatsuji N: A small molecule that promotes cardiac differentiation of human pluripotent stem cells under defined, cytokine- and xeno-free conditions. *Cell Reports* 2(5): 1448-1460 (2012)
- 9) Pliner HA, Packer JS, McFaline-Figueroa JL, Cusanovich DA, Daza RM, Aghamirzaie D, Srivatsan S, Qiu X, Jackson D, Minkina A, Adey AC, Steemers FJ, Shendure J, Trapnell C: Cicero Predicts cis-Regulatory DNA Interactions from Single-Cell Chromatin Accessibility Data. *Molecular Cell* 71(5): 858-871 (2018)
- 10) The Tabula Muris Consortium: A single-cell transcriptomic atlas characterizes ageing tissues in the mouse. *Nature* 583(7817): 590-595 (2020)