

細胞核の硬さに注目して老化を解釈する

[1] 組織

代表者：小嶋 勝
(大阪大学大学院基礎工学研究科)
対応者：久保 純
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：なし

研究費：物件費13万円，旅費0円

[2] 研究経過

ハッチンソン・ギルフォード・プロジェリア症候群 (HGPS) では異常な速度で老化が進行する。この原因遺伝子は、核ラミナの構成因子である *LMNA* であることが既に同定されている。プロジェリア症候群においては、*LMNA* 遺伝子のスプライシングの異常により、タンパク質の成熟過程で本来、除去されるはずのファルネシル化システインが除去されず、カルボキシ末端側に残った状態となっている。この異常タンパク質 *Progerin* が細胞に蓄積することが早老症の原因と考えられている。プロジェリア症候群患者でない個体においても、老化に伴って *Protein* の蓄積がみられるという報告もあるため、HGPS と通常の老化の類似点、相違点を比較することは老化の本質を明らかにするために重要と考えられる。

プロジェリア症候群患者由来の細胞では、細胞核の形態がいびつになっていることが知られている。実際に *Progerin* タンパク質の発現は細胞核の形態に顕著な変化をもたらす (図1)。しかしながら、細胞核の形態や特性 (剛性など) と老化との間に何らかのかかわりがあるのかどうかは現在のところよくわかっていない。

研究代表者の小嶋は細胞核の剛性を計測するシステムを独自に開発した (図2)。この装置を用いると一細胞ごとにその核の硬さを直接計測することが可能である。加齢医学研究所が提供している老齢マウスと、その比較対象の若齢マウスから初代細胞を単離し、細胞核の硬さを計測する。これにより、老化の進行に伴い、細胞核の硬さが変化しているのかどうかを検証することができる。さらには、ゲノム編集によって作製したラミン変異に起因する老化促進マウスとその同

腹仔の野生型マウスにおいても、その核の硬さを比較する。

図1 細胞核の形態

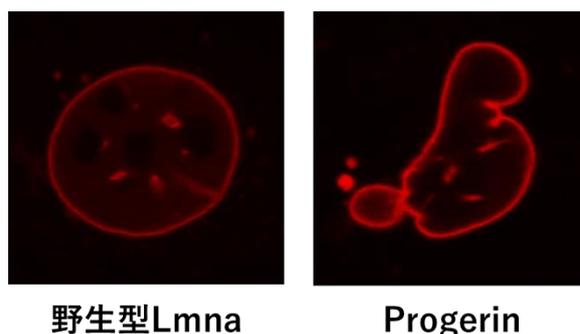
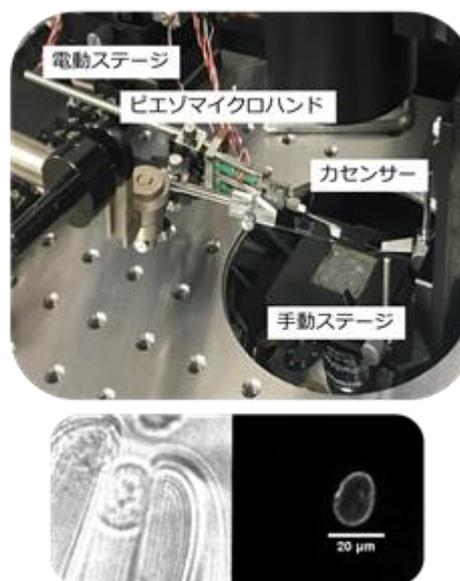


図2 小嶋が開発した細胞核の剛性の測定装置



これらの研究を遂行するにあたり、研究代表者の小嶋と加齢医学研究所の対応者である久保とは定期的に web ミーティングを行い、研究進捗状況の確認、得られたデータのディスカッションを行っていた。また、2022年11月15日には研究代表者の小嶋は加齢医学研究所を訪問し、対面でのディスカッションを行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

まず加齢医学研究所が提供している老齢マウスが、老化状態にあるといえるか、確認を行った。老化状態の指標の一つとして、骨格筋の筋萎縮(サルコペニア)に注目した。若齢マウスと老齢マウスから骨格筋を単離し、RNAを抽出して遺伝子発現を調べたところ、*Atrogin-1*や*MuRF1*といったサルコペニアのマーカー遺伝子の発現が老齢マウスにおいて顕著に増加していた。このことから、加齢医学研究所から提供された老齢マウスは確かに老化状態にあると言える。解剖と同時に、このマウスから繊維芽細胞、筋芽細胞を単離し保存した。

またゲノム編集によって作製した*Lmna* 遺伝子 L647R 変異マウスについても、老化が促進されているかどうかの検討を行った。この*Lmna* 遺伝子 L647R 変異マウスはラミン A タンパク質の成熟過程に必須のZmpste24プロテアーゼの認識配列を欠損しており、その結果、カルボシル末端にファルネシル化システインが除去されない状態となっている(図3)。この*Lmna* 遺伝子 L647R 変異マウスから単離した細胞の核もいびつな形を示していた。この*Lmna* 遺伝子 L647R 変異マウスについても、骨格筋を単離し、RNAを抽出して遺伝子発現を調べたところ、*Atrogin-1*や*MuRF1*の発現が顕著に亢進していた。このことから、加齢医学研究所で作製した*Lmna* 遺伝子 L647R 変異マウスは老化促進の表現型を示していると考えられる。この*Lmna* 遺伝子 L647R 変異マウスについても、解剖と同時に、繊維芽細胞や筋芽細胞を単離し保存した。

が合わず、今年度は実施することはできなかった。次年度以降に初代細胞の核の硬さの計測を実施する予定である。

(3-2) 波及効果と発展性など

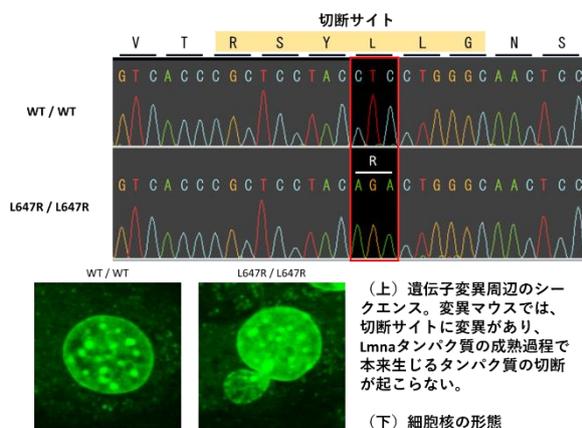
本共同研究は、大阪大学基礎工学研究科が有する測定装置や工学的な技術と、加齢医学研究所が提供する高齡マウスや老化促進マウスのリソースを融合した学際的な研究である。これまで細胞やオルガネラの物理的な特性の変化に注目して、老化現象をとらえようとした研究はなく、今後の発展が期待できる。

本年度の実施内容は、老齢マウスや老化促進マウスの老化状態を確認し、これらのマウスから解析対象となる細胞の単離や保存を行うなど、主に解析対象の細胞の準備であったが、今後、これらのリソースを有効に活用することで、新しい知見の発見につなげていきたい。

[4] 成果資料

該当なし

図3 *Lmna* 遺伝子 L647R 変異マウス



次に、単離した初代細胞の細胞核の硬さの計測を行おうとしたが、加齢医学研究所から計測装置を設置してある大阪大学への細胞への持ち込みのタイミング