

## 線虫を使った健康寿命のミニ集団解析 —健康寿命を延伸する物質や遺伝子の探索を可能に—

### 【ポイント】

- ・ 線虫を用いて健康寿命を評価する自動測定システム「C-HAS」の開発に成功しました。
- ・ C-HASを用いると、特定の線虫の集団を寿命の質的相違に基づき分類する、ミニ集団解析(平均的に生きる集団、健康長寿の集団、健康で早死にする集団、不健康期間が長い集団)が可能となります。
- ・ 線虫とヒトの寿命を決定するメカニズムは類似点が多いため、C-HASを活用することで、ヒトの健康寿命を延伸する薬や食品を簡便に見つけることが可能となり、創薬研究・健康食品への応用が期待されます。

### 【概要】

熊本大学大学院生命科学研究部(薬学系)遺伝子機能応用学研究室の首藤剛 准教授、中野義雄 大学院生、森内将貴 大学院生(2019年度修了)、および大学院先端科学研究部の上瀧剛 准教授らは、線虫を用いて健康寿命を評価する自動測定システム(C-HAS: *C. elegans* Health life span Auto-monitoring System)の開発に成功しました。

健康寿命とは、平均寿命から日常的・継続的な医療・介護に依存して生きる期間を除いた期間のことを指し、寿命の質の指標となります。一般に、ヒトや実験動物等を用いて健康寿命を評価しようとする、相当な時間を要することや、評価の指標が曖昧であるなどの問題があります。首藤准教授らは、寿命に関して、ヒトと共通性の高い実験動物である”線虫”に着目し、線虫の健康寿命を測定するための評価システムの妥当性の検証と精度向上を行い、結果として、健康寿命に影響を与える因子や薬を網羅的に探索するシステム「C-HAS」を構築しました。C-HASを用いると、特定の線虫の集団を寿

命の質的相違に基づき分類する、ミニ集団解析(平均的に生きる集団、健康長寿の集団、健康で早死にする集団、不健康期間が長い集団)が可能となり、ヒトの集団解析にかかる時間を圧倒的に短縮することができます。今回の研究成果は、日本を含む世界各国の国策である健康寿命延伸のための基盤的技術を提供するものであり、健康寿命の延伸を企図した創薬または健康食品の開発への応用が期待されます。

本研究の成果は、薬理学の分野で定評のある国際学術誌「Journal of Pharmacological Sciences」に令和2年12月29日にオンラインで公開されました。

### 【研究の背景】

我が国における高齢化は急速に高まっています。一般に、80歳を超えると、健康状態の低下・病的状態に伴う医療費の消費が著しくなり、経済の圧迫の原因となります。したがって、国民の生活の質(QOL)の維持のみならず医療経済負荷の軽減の観点からも、国民の健康維持は、社会の最重要課題です。

健康寿命とは、WHOが2000年に提唱した概念で、平均寿命(0歳時における平均余命)から日常的・継続的な医療・介護に依存して生きる期間を除いた期間のことを指し、国民の健康状態を反映する重要な指標です。分子や薬学などの科学の視点から”健康寿命”を捉えることが課題解決の糸口となると考えられますが、健康寿命を実験的に紐解く場合、実験動物や細胞の何をもって”健康寿命”というのか、明確な解答はありません。さらに、健康寿命に影響を与える因子を客観的、かつ高速に解析する技術は未だ確立されていません。

線虫は、極めて単純な動物であるにも関わらず、神経、骨格筋、消化管といった分化された臓器をもち、多くの哺乳類動物関連遺伝子が保存されているという観点から、遺伝学・分子生物学の有用なツールとして、最先端研究で活用されています(図1)。しかしながら、線虫の寿命解析は、多くの有用情報をもたらす一方で、1) 線虫を室温下で観察する際の各種刺激による侵襲性が懸念されること、2) 毎日の測定に実験時間を多く要すること、3) 実験者の手技により異なる結果が得られやすく、客観性に乏しいこと、4) 一度に処理できる数が少なく、多検体を同時測定するには不向きであること、などの問題点があり、これまでの線虫を用いた寿命研究には、多くの限界がありました。

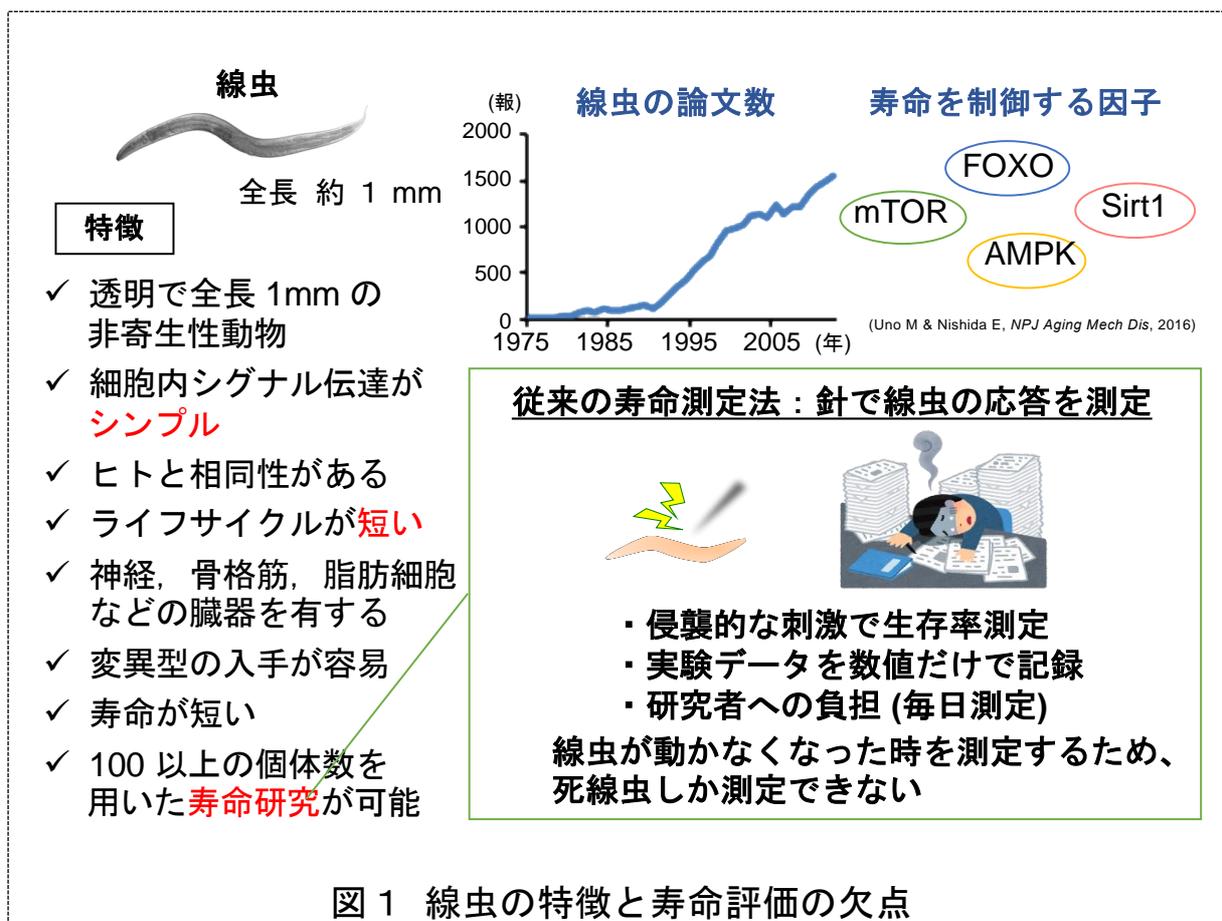


図 1 線虫の特徴と寿命評価の欠点

### 【研究の内容】

首藤准教授らは、線虫を用いる寿命研究の優位性を維持しつつ、上記の問題点を解決することにより、線虫を用いた新たな”健康寿命”評価システムを構築することができるのではないかと考えました。まず、培養細胞の生細胞イメージングシステムに着目し、線虫生存の自動測定のための最適条件(線虫の匹数、培養温度、培地の厚さ、食餌条件、撮像間隔、生存判定法)を独自に精査し、線虫の生存を非侵襲的に、かつ自動で多数検体(現段階で36検体まで)測定することができる線虫全自動寿命測定システム(C-LAS: *C. elegans* Life span Auto-monitoring System)を開発しました(図2)。C-LASは、線虫の定期的な撮像画像の重ね合わせにより、撮影前後で重ならない(動く)線虫を「生線虫」、撮影前後で重なる(動かない)線虫を「死線虫」として見分ける技術に基づく、線虫の自動寿命測定システムです。

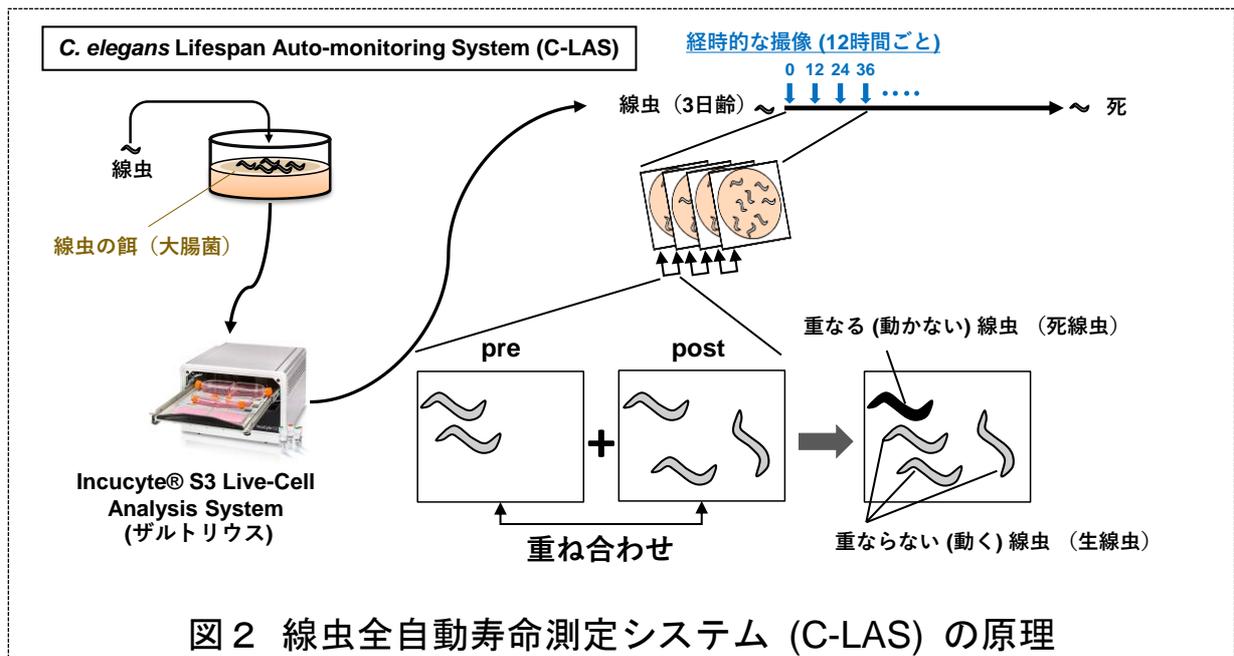
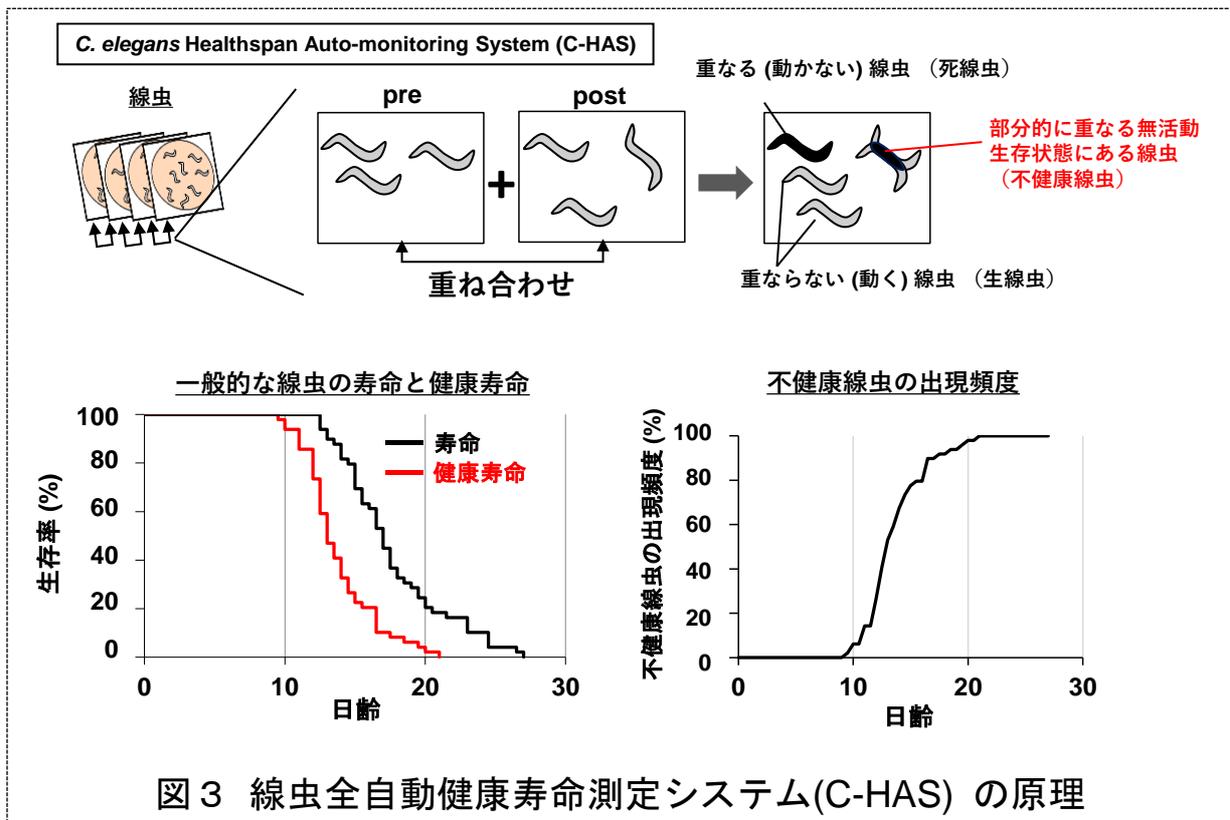
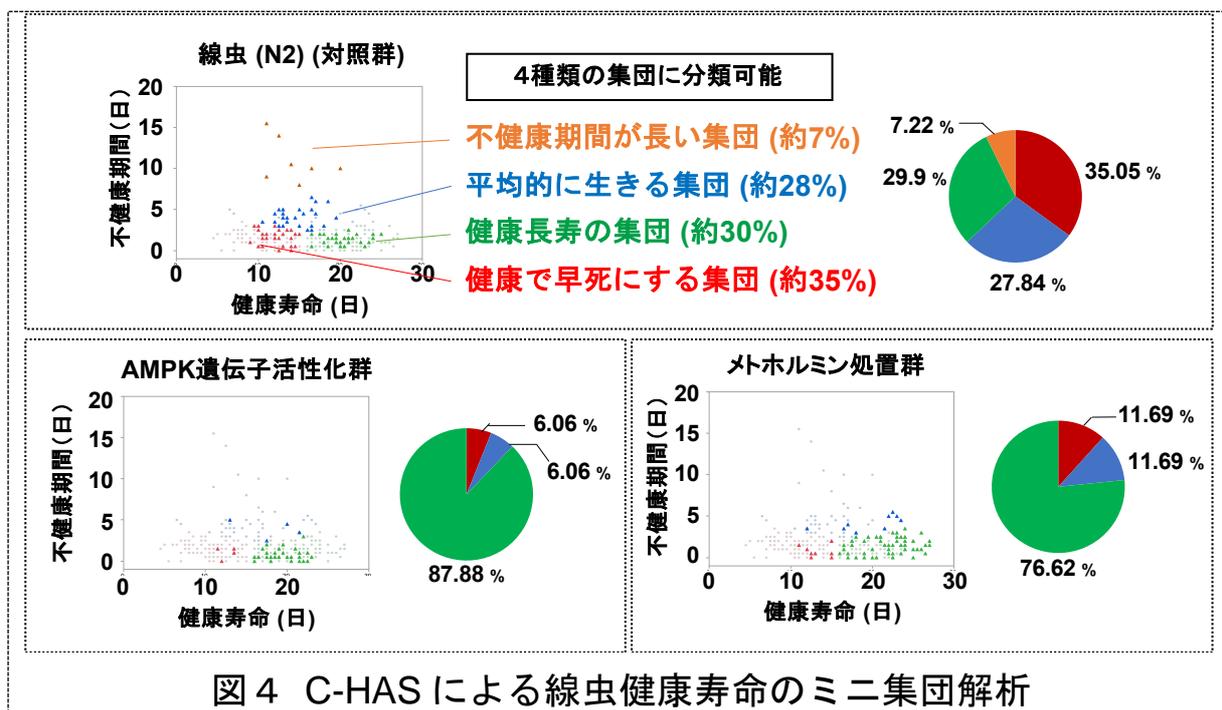


図2 線虫全自動寿命測定システム (C-LAS) の原理

次に、首藤准教授らは、C-LASを基盤として、線虫の行動状態を観察することにより、線虫には「積極的行動状態、無活動生存状態、死亡状態」が存在することを見出しました。この時の積極的行動期間を線虫の「健康寿命」と定義し、上記分類を画像上で判別可能とする新システム線虫全自動健康寿命測定システムC-HAS(C-HAS: *C. elegans* Health life span Auto-monitoring System)を確立しました(図3)。C-HASは、C-LASと同様に、線虫の定期的な撮像画像の重ね合わせにより、「生線虫」と「死線虫」を見分けることが可能であると同時に、撮影前後で部分的に重なる無活動生存状態にある線虫(生きているが、活発に動くことのできない=不健康線虫)も見分けることが可能な自動健康寿命測定システムです。C-HASを用いると、個々の線虫の健康寿命、不健康期間、死ぬまでの寿命を算出することが可能で、これらのパラメーターを用いたミニ集団解析が可能となります。ミニ集団解析では、遺伝的に背景が同じである線虫を、平均的に生きる集団、健康長寿の集団、不健康で早死にする集団、不健康期間が長い集団の4つに分け、各集団に属する線虫が何匹ずついるかというような情報を得ることが可能です。



さらに、首藤准教授らは、遺伝的背景の同じ一般的な線虫(N2線虫)について、C-HASと統計解析を組み合わせた線虫健康寿命の「ミニ集団解析」を行ったところ、平均的に生きる集団が約28%、健康長寿の集団が約30%、健康で早死にする集団が約35%、不健康期間が長い集団が約7%存在することを明らかにしました(図4)。このとき、健康寿命と関連の深いAMP活性化プロテインキナーゼ(AMPK)を遺伝的に、または薬(メトホルミン:抗糖尿病薬)により活性化することで、健康長寿の集団が劇的に増加し、不健康期間が長い集団がいなくなることもわかりました。メトホルミンは、ヒトにおける健康寿命を延伸することが知られており、現在、健康長寿を確かめるための臨床試験が行われている薬の一つです。本研究は、そのような事実を後押しする結果を示しています。



最後に、首藤准教授らは、C-HASを用いることで、これまで知られていない健康寿命に関わる遺伝子を新たに同定することに成功しました。首藤准教授らの開発したC-HASは、「線虫を使って健康寿命を測る」という意外性のある研究視点を実現したものであり、ヒトやマウス等の実験動物では達成できなかった作業時間と精度で、ヒトの健康寿命に関わる遺伝子の探索や、健康寿命を延伸する薬や食品を、簡便に見つけることを可能とする技術です。今後、創薬研究・健康食品への応用が期待されます。なお、現在、大学院先端科学研究部の上瀧 准教授らと共に、C-HASに人工知能(AI)を用いた深層学習を組み込み、自動解析を推進するC-HAS-AIの開発に向けた研究も実施中です。

本研究は、熊本大学リーディング大学院 HIGOプログラム、および、文部科学省地域イノベーション・エコシステム形成プログラム事業「有用植物×創薬システムインテグレーション拠点推進事業(UpRod)」の支援を受けて行われました。

\*本技術に関する詳細は、下記の動画でも紹介されています。

熊本大学 新技術説明会 2020

<https://www.youtube.com/watch?v=6nYvF0yRi7A>

**【論文名】**

Intrapopulation analysis of longitudinal lifespan in *C. elegans* identifies W09D10.4 as a novel AMPK-associated healthspan shortening factor

**【著者名・所属】**

Yoshio Nakano, Masataka Moriuchi, Yutaro Fukushima, Kyotaro Hayashi, Mary Ann Suico, Hirofumi Kai, Go Koutaki, Tsuyoshi Shuto\* (\*責任著者)

**【掲載雑誌】**

Journal of Pharmacological Sciences

**【doi】**

<https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.12.004>

**【URL】**

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1347861320301237>

**【お問い合わせ先】**

熊本大学大学院生命科学研究部附属  
グローバル天然物科学研究センター  
大学院薬学教育部 遺伝子機能応用学研究室  
担当:首藤剛 (准教授)  
電話:096-371-4407  
e-mail:tshuto@gpo.kumamoto-u.ac.jp