
トピックス

華麗なる加齢の特徴：マウス生涯にわたる単一細胞トランスクリプトームアトラス Brilliant aging features: Mouse lifelong single-cell transcriptome atlas

老化は、加齢にともなう生理機能の低下であり、生物が避けることのできない現象である。その背景には、普遍的な老化メカニズムの存在が予想される。今までの老化研究では、組織や臓器をひとつの単位と見做し、老齢と若齢の動物を比較した実験がほとんどであった。しかし、組織や臓器を構成する細胞の種類はひとつではなく、多種類の細胞がネットワークを構築して、特異的な機能を営んでいる。そのため、老化メカニズムを解明するためには、組織や臓器をひとつの単位と見做すのではなく、組織や臓器を構成する1細胞単位での解析が必要である。

近年、生体内に存在する分子の網羅的な情報のまとまりをオミクス(omics)と呼び、その情報を用いた解析をオミクス解析と呼称するようになった。オミクスという言葉は、ギリシャ語の「すべて・完全」などを意味する接尾辞(ome)と「学問」を意味する接尾辞(-ics)を合わせた造語である。オミクスから派生する言葉として、遺伝子を対象とした研究分野ではゲノミクス、mRNAなど一次転写産物を対象とした研究分野ではトランスクリプトミクス、そしてタンパク質を対象とした研究分野ではプロテオミクスという言葉が生まれた。また、1細胞毎に発現しているmRNAの種類は異なり、細胞に存在する全てのmRNAの総体をトランスクリプトームと呼ぶ。他にも代謝物の総体はメタボローム、タンパク質の総体はプロテオームと呼ばれる。

1細胞単位でのトランスクリプトームを網羅的に解析できる技術として、2009年、Tangら¹⁾により単一細胞RNAシーケンシング(single cell RNA sequencing, scRNA-seq)が報告された。それ以降、scRNA-seqの技術発展はめざましく、近年では、発生、がん、免疫、老化研究など、幅広い分野でscRNA-seqが用いられるようになった。老化研究では、スタンフォード大学を中心としたThe Tabula Murisコンソーシアムが加齢にともなうマウス主要臓器のトランスクリプトームをscRNA-seqにより解析した²⁾。そして、マウス生涯にわたる単

一細胞トランスクリプトームアトラス(「*Tabula Muris Senis*」または「Mouse Ageing Cell Atlas」と呼称)(<https://tabula-muris-senis.ds.czbiohub.org/>) (図1)を*Tabula Muris* (<https://tabula-muris.ds.czbiohub.org/>)に追加した。*Tabula Muris*は、マウスの20の組織や臓器に由来するおよそ10万個の細胞から得られた単一細胞トランスクリプトームを収載したデータベースである³⁾。「*Tabula Muris Senis*」は、加齢にともなう幅広い組織や臓器を構成する細胞でのトランスクリプトームの変動を知る有益な情報となる。本トピックスでは、「*Tabula Muris Senis*」の解析から得られた加齢の特徴について概説する。

The Tabula Murisコンソーシアムは、寿命全体をカバーするように雄では1, 3, 18, 21, 24, 30月齢、雌では3, 18, 21月齢の6つの月齢グループのマウスから膀胱、骨髄、脳、脂肪、心臓、腎臓、大腸、筋肉、横隔膜、肝臓、肺、乳腺、脾臓、皮膚、脾臓、胸腺、舌、気管などを含む23の組織や臓器から単一細胞浮遊液を調製した。そして、35万個以上の細胞でscRNA-seqを実施した。得られた3月齢のデータをリファレンスにして、以前に作成した*Tabula Muris*を用いて半自動的に細胞種を決めるアノテーションを行い、どのような細胞種であるかを70%以上も明らかにできた。そして、マウス生涯にわたる単一細胞トランスクリプトームアトラス「*Tabula Muris Senis*」を作成した²⁾。「*Tabula Muris Senis*」は、特定の細胞種の加齢依存的な変動を調べることができる。また、単一細胞トランスクリプトームはバルクRNA-seq解析で見いだされた現象が、細胞集団としての変化なのか、それとも単一細胞のみの変化なのか、またはその両方なのか、を見極めることができる。The Tabula Murisコンソーシアムは、老化細胞のマーカーとして最も頻繁に用いられるp16のタンパク質をコードする*Cdkn2a*の加齢依存的な変動の解析を試みた。すると、老齢マウスの細胞では、若齢マウスの細胞に比べて全部の細胞で*Cdkn2a*の発現が高いのではなく、*Cdkn2a*の発現が2倍以上も高い細胞(つまり老化細胞と考えられる)の数が老齢マウスで

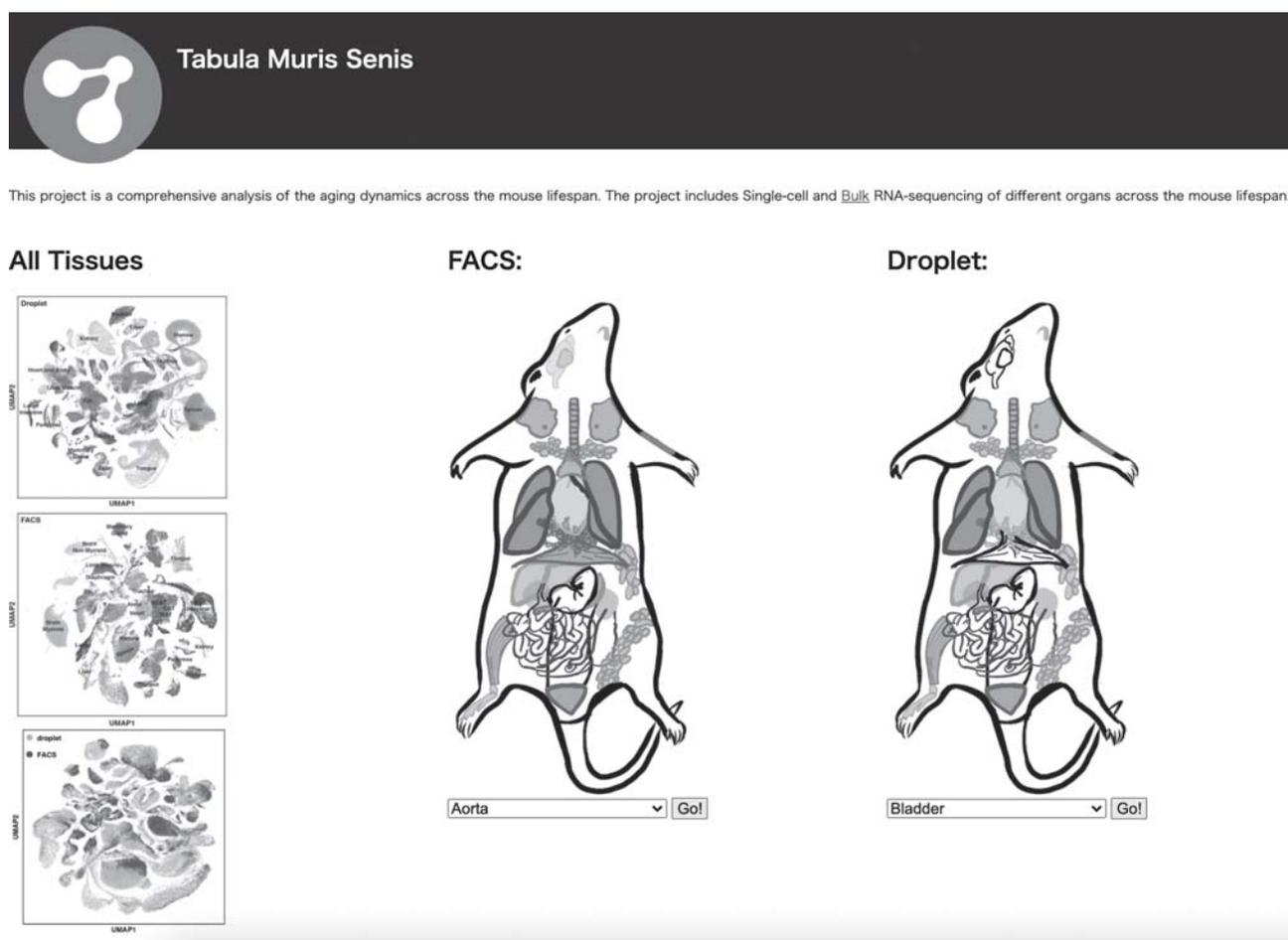


図1 マウス生涯にわたる単一細胞トランスクリプトームアトラス

Tabula Muris Senis (<https://tabula-muris-senis.ds.czbiohub.org/>)には、マウスの加齢にともなう幅広い組織や臓器における1細胞単位でのトランスクリプトームデータが含まれている。

増えていることがわかった。一方、長寿遺伝子または抗老化遺伝子として知られるサーチュイン遺伝子 (*Sirt3*, *Sirt4*, *Sirt5*) は、加齢依存的に発現陽性細胞が減少することもわかった。この結果は、サーチュイン遺伝子の活性化により合成されるタンパク質、ヒストン脱アセチル化酵素が老化の遅延に作用するという以前の報告と一致する。

組織や臓器を構成する細胞種は、加齢とともに変動する可能性がある。特にこの点に注目して解析したところ、膀胱では加齢依存的な細胞種の変動が顕著であった。すなわち、加齢依存的に膀胱では上皮細胞の割合が増加し、間質細胞の割合が減少した。差次的発現 (Differential gene expression) 解析でもケラチンなどの上皮関連遺伝子の発現が加齢で増加する一方、コラーゲンなど間質関連遺伝子の発現が減少し、細胞種の変動を裏付ける結果となった。

また腎臓では、メサンギウム細胞、毛細血管内皮細胞、ヘンレ上行枝ループ上皮細胞、ヘンレ厚行枝ループ上皮細胞の加齢依存的な減少が認められた。メサンギウム細胞と毛細血管内皮細胞はいずれも糸球体の中核を成す細胞であり、加齢によるこれらの細胞の減少は、糸球体の機能を衰退させることは容易に想像できる⁴⁾⁵⁾。脾臓では、加齢依存的にT細胞の割合が減少し、B細胞から由来する形質細胞の割合が増加していた。加齢依存的なT細胞の減少は、乳腺でも認められた。加齢依存的なT細胞の減少は、感染症やがんのリスク増加とも関連する⁶⁾。肝臓の細胞種も加齢依存的に変動した。肝臓の主要な機能を担う肝実質細胞は、加齢依存的に減少した。これは肝臓特異的な分泌タンパク質であるアルブミンの遺伝子発現の低下からも裏付けられた。

ゲノムの不安定性は、加齢の特徴として最も広く研

究されている。完全長の転写データを用いることで、加齢依存的な体細胞変異を解析することができる。The Tabula Muris コンソーシアムは Genome Analysis ToolKit39 を用いて、すべての蛍光活性化セルソーティング (FACS) サンプルの一塩基多型を同時に同定した。その結果、全ての臓器において加齢依存的に変異の増加が観察された。特に舌と膀胱が加齢による影響を受けていた。

このように「*Tabula Muris Senis*」は、幅広い組織や臓器での特定の細胞種の加齢依存的な変動を調べることができる。そして、生涯にわたる単一細胞の変動を理解するための証拠となる。

近年、世界的にも少子高齢化が進んでおり、人口は減少する一方である。老化を研究対象とする研究者は近年増加しており、健康寿命を延伸する方法を模索している。最近、東京大学の中西教授らが老化細胞を除去する薬剤「Glutaminase 1 (GLS1) 阻害剤」を開発したとの報告もあった⁷⁾。彼らは、GLS1 が過剰に発現することにより、老化細胞が維持されることを明らかにした。実際に老齢マウスに GLS1 阻害剤を投与すると、老化細胞が除去され、老化にともなう体力の衰えや生活習慣病が改善された。今後、このような若返りを目的とした薬剤や治療法がさらに開発されていくと考えられる。

今回紹介した「*Tabula Muris Senis*」では、マウスの主要臓器で加齢にともなう遺伝子発現の変動が明らかとなり、老化のメカニズム解明に一步近づいたといえるかも知れない。若返りを目的とした治療法の開発に応用される可能性も考えられる。若返りを目的とした治療法を実際にヒトに適用するには多くの課題を克服する必要がある。しかし、実用化されれば健康寿命が延伸するかもしれない。また、多くのビタミンは老化との関連性が指摘されており、近い将来、若返りを目的とした治療法に応用されるかもしれない。

Key words :aging, single-cell transcriptomic atlas, single cell RNA sequencing (scRNAseq), Tabula Muris Senis, omics

¹Molecular Regulation of Aging, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

²Molecular Cell Biology Laboratory, Department of Bioscience and Engineering, College of System Engineering and Sciences, Shibaura Institute of Technology

Yurika Niimura^{1,2}, Koji Fukui², Akihito Ishigami¹

¹ 東京都健康長寿医療センター研究所分子老化制御

² 芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科 分子細胞生物学研究室

新村 柚里香^{1,2}, 福井 浩二², 石神 昭人¹

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2021.10.1 受付)

参考文献

- 1) Tang F, Barbacioru C, Wang Y, Nordman E, Lee C, Xu N, Wang X, Bodeau J, Tuch BB, Siddiqui A, Lao K, Surani MA (2009) mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. *Nature Methods* **6**, 377-382
- 2) Almanzar N, Antony J, Baghel AS, Bakerman I, Bansal I, Barres BA, Beachy PA, Berdnik D, Bilén B, Brownfield D, Cain C, Chan CKF, Chen MB, Clarke MF, Conley SD, Darmanis S, Demers A, Demir K, de Morree A, Divita T, du Bois H, Ebadi H, Espinoza FH, Fish M, Gan Q, George BM, Gillich A, Gómez-Sjöberg R, Green F, Genetiano G, Gu X, Gulati GS, Hahn O, Haney MS, Hang Y, Harris L, He M, Hosseinzadeh S, Huang A, Huang KC, Iram T, Isobe T, Ives F, Jones Robert C, Kao KS, Karkanas J, Karnam G, Keller A, Kershner AM, Khoury N, Kim SK, Kiss BM, Kong W, Krasnow MA, Kumar ME, Kuo CS, Lam J, Lee DP, Lee SE, Lehallier B, Leventhal O, Li G, Li Q, Liu L, Lo A, Lu W-J, Lugo-Fagundo MF, Manjunath A, May AP, Maynard A, McGeever A, McKay M, McNerney MW, Merrill B, Metzger RJ, Mignardi M, Min D, Nabhan AN, Neff NF, Ng KM, Nguyen PK, Noh J, Nusse R, Pálovics R, Patkar R, Peng WC, Penland L, Pisco AO, Pollard K, Puccinelli R, Qi Z, Quake SR, Rando TA, Rulifson EJ, Schaum N, Segal JM, Sikandar SS, Sinha R, Sit RV, Sonnenburg J, Staehli D, Szade K, Tan M, Tan W, Tato C, Tellez K, Dulgeroff LBT, Travaglini KJ, Tropini C, Tsui M, Waldburger L, Wang BM, van Weele LJ, Weinberg K, Weissman IL, Wosczyzna MN, Wu SM, Wyss-Coray T, Xiang J, Xue S, Yamauchi KA, Yang AC, Yerra LP, Youngyungpipatkul J, Yu B, Zanini F, Zardneta ME, Zee A, Zhao C, Zhang F, Zhang H, Zhang MJ, Zhou L, Zou J, The Tabula Muris C (2020) A single-cell transcriptomic atlas characterizes ageing tissues in the mouse. *Nature* **583**, 590-595
- 3) Tabula Muris C, Overall c, Logistical c, Organ c, processing, Library p, sequencing, Computational data a, Cell type a, Writing g, Supplemental text writing g, Principal i (2018) Single-cell transcriptomics of 20 mouse organs creates a Tabula Muris. *Nature* **562**, 367-372
- 4) Zhang D, Zhang P, Yang P, He Y, Wang X, Yang Y, Zhu H, Xu N, Liang S (2017) Downregulation of ATP1A1 promotes cancer development in renal cell carcinoma. *Clin Proteomics* **14**, 15
- 5) Isaka Y (2016) Epidermal growth factor as a prognostic biomarker in chronic kidney diseases. *Ann Transl Med* **4**, S62

- 6) Palmer S, Albergante L, Blackburn CC, Newman TJ (2018) Thymic involution and rising disease incidence with age. *Proc Natl Acad Sci U S A* **115**, 1883-1888
- 7) Johmura Y, Yamanaka T, Omori S, Wang T-W, Sugiura Y, Matsumoto M, Suzuki N, Kumamoto S, Yamaguchi K, Hatakeyama S, Takami T, Yamaguchi R, Shimizu E, Ikeda K, Okahashi N, Mikawa R, Suematsu M, Arita M, Sugimoto M, Nakayama KI, Furukawa Y, Imoto S, Nakanishi M (2021) Senolysis by glutaminolysis inhibition ameliorates various age-associated disorders. *Science* **371**, 265