

ニューロンエピゲノムが記録するストレス経験の解析

東京大学定量生命科学研究所分子神経生物学研究分野

岸 雄介

私たちは、加齢や病気、人間関係など、生きていの中で様々なストレスに曝される。それぞれのストレスは、その後長期にわたって脳の機能を変化させるが、そのメカニズムは必ずしも明らかではない。エピゲノムは、DNAやDNAがまきつくヒストンに施される化学修飾のようなナノメートルレベルの構造から、クロマチンの3次元構造や核構造といったマイクロメートルレベルの構造のマルチスケールな情報である、これらの化学修飾や構造は、最終的に遺伝子の転写状態の制御を介して細胞の機能を変化させる。そのため私は、生物が経験するストレスは、脳内で重要な役割を果たす細胞であるニューロンのエピゲノムを変化させ、それが遺伝子発現状態を変えることで、脳の機能の変化を引き起こすのではないかと考えた。本研究では、この仮説を検証することで、ストレスによる脳機能変化を理解することを目指した。

ニューロンの核は加齢ストレスによってダイナミクスが低下する

ストレス反応の一つである老化の過程では、様々な種類の細胞において、核の形態がいびつになることがわかってきており、現在では核の形態を指標に細胞の老化具合を評価するような研究も進んでいる。しかしながら、老化細胞において核の形態がいびつになるメカニズムや意義はほとんどわかっていない。これまでにニューロンの核の形態については、通常の状態外界から刺激を受けるとへこむこと、またパーキンソン病やハンチントン病のような神経変性疾患の患者でいびつになることがわかっていた。一方で、自然老化の過程で核の形態が変化するかどうかは不明であった。

そこで本研究ではまず、外界から刺激を受けたときのニューロンの核の形態変化の過程を、生体脳タイムラプスイメージング手法にて観察することを目指した。ニューロンにおいて核の形態を可視化できるマウス (*Nes-Cre^{+/+};SUN1-GFP^{+/+}*) を作製し、2ヶ月齢の若齢大脳皮質視覚野のニューロンを観察するための顕微鏡の窓を取り付け、マウスの眼に光を当てることでニューロンの生理的な刺激を実現した。その結果、2ヶ月齢の若齢マウスでは光照射後10分程度で核が徐々にへこんでいくことがわかった。

次に同様の実験を2年齢以上の老齢マウスを用いて実施した。その結果、老齢マウスではそもそも刺激を行う前からへこんだ核が多いこと、そして光照射を行っても核の形態がほとんど変化しないことが明らかとなった。この結果から、ニューロンでも加齢

に伴って核がいびつな形となり、さらに形態変化がしにくくなることが明らかとなった。

それでは、どうして老化したニューロン核は形態変化しにくいのだろうか？申請者らはその原因の一つとして核がかたくなっているのではないかと考えた。そこで原子間力顕微鏡を用いて、若齢マウスあるいは老齢マウスから抽出したニューロンの核のかたさを測定したところ、ニューロンの核は加齢に伴ってかたくなることがわかった。

以上の結果から、ニューロンの核は加齢に伴ってダイナミクスが低下する（形態が変化しにくく、かたい）ということがわかった¹⁾。

ニューロン可塑性には、外界からの刺激に対して適切に遺伝子発現を変化させることが重要である。遺伝子発現の調節にはクロマチン相互作用がフレキシブルに変化することが重要だが、かたくなった核ではそれが適切にできなくなっている可能性がある。すなわち、ニューロンの核がかたくなることは、老化ニューロンにおいて遺伝子発現が適切に調節できず、ニューロン可塑性が低下することのメカニズムの一つになっているかもしれない。今後は、核のダイナミクス低下の重要性を明らかにすることで、脳の老化の予防や治療に役立てたい。

加齢ストレスに伴い、ニューロンのエピゲノム状態が変化する

エピゲノムは、核に格納されている構造物である。上記の研究から明らかとなったニューロンでは加齢に伴って核のダイナミクスの変化は、核内のエピゲノム状態が大きく変化することを示唆する。そこで申請者らは次に、加齢ストレスによる海馬ニューロンのエピゲノム変化を解析した。2ヶ月齢と2年齢の野生型マウスの海馬から核を抽出し、遺伝子発現（RNA-seq）とクロマチンアクセシビリティ（ATAC-seq）を同一核から同時に測定できるシングルセルマルチオーム解析を実施した。遺伝子発現とクロマチンアクセシビリティの両方のデータを用いて、細胞をクラスタリングしたところ、興奮性ニューロン（CA1, CA2, CA3, 歯状回）、抑制性ニューロン（PV/Sst, Vipなど）、そしてオリゴデンドロサイトやアストロサイト、マイクログリアといったグリア細胞などの細胞種が同定できた。特に、遺伝子発現とクロマチンアクセシビリティの片方のデータではCA2のような領域が小さく、細胞数が少なく、CA1やCA3に性質の似ている集団は同定できなかったが、両方のデータを用いることでCA2のように同定しにくい集団も同定することができた。

次に、細胞種ごとにRNA-seqによって検出された発現変動遺伝子と、ATAC-seqによって検出されたクロマチンアクセシビリティ変化遺伝子領域の数を解析した。すると、オリゴデンドロサイトやアストロサイトといったグリア細胞に比べて、ニューロンにおいてはクロマチンアクセシビリティの変化が遺伝子発現の変化より大きいことがわかった。このことは、海馬においてニューロンではエピゲノムが大きく変化していることを示唆している。

では、ニューロンにおいてどういった遺伝子座でエピゲノムが変化しているのだろうか？興奮性ニューロンの各細胞集団にて、クロマチンアクセシビリティが変化した領

域に存在する遺伝子を解析してみたところ、いずれの細胞種でもシナプス形成や軸索伸長、樹状突起形成など、神経発生に関わる遺伝子のクロマチン状態が、主にオープンになっていることがわかった。すなわち、加齢ストレスにより海馬ニューロンのエピゲノム状態が発生期に似た状態になっていることが示唆された。最近の報告において、線維芽細胞を老化させるとやはり発生関連の遺伝子座のエピゲノム状態が活性化し、分化細胞としての特性が失われていることが示唆されている。今回海馬ニューロンの老化でも、発生期の遺伝子が活性化し、分化したニューロンとしての特性が損なわれている可能性が示唆された。

最後に、加齢ストレスによるエピゲノム状態の変化を担う分子の同定を目指した。特に遺伝子発現やクロマチンアクセシビリティの変化が大きかった歯状回のニューロンに着目した。老齢ニューロンでクロマチンがオープンになっている領域に頻繁に検出されるDNAモチーフを解析したところ、**Bach2**という転写因子モチーフを見出した。**Bach2**は転写を抑制する働きがあり、免疫系などで機能することがわかっているが、ニューロンでの機能は不明である。**Bach2**の発現量をRNA-seqと免疫染色により調べたところ、歯状回では若齢で発現が高く、老齢では減少していることがわかった。すなわち、若齢ニューロンでは**Bach2**が適切に抑制していたクロマチン領域が、老齢になると**Bach2**の発現が減少することでオープンになってしまう、という可能性が示唆された²⁾。

近年の老化研究では、細胞が老化すると、抑制すべき遺伝子座で活性化したエピゲノム状態になり、逆に活性化すべき遺伝子座で抑制性のエピゲノム状態になることがわかってきている。ニューロンでも、本来成熟ニューロンでは適切に抑制すべき神経発生関連の遺伝子座がオープンになっており、このことが加齢に伴ってニューロンの性質が変化し、様々な神経疾患のリスクが向上している原因になっている可能性がある。今後は、この加齢に伴うエピゲノム変化が脳機能の低下にどのように関わるかを明らかにしていきたい。

本研究により、ニューロンにおいて核の形態的・物理的性質やクロマチンアクセシビリティといったエピゲノム状態が加齢ストレスにより変化した、すなわちニューロンのエピゲノムが加齢ストレスを「記憶」していることがわかった。今後は、このエピゲノムの記憶がストレスによる脳機能変化にどのような役割を持っているかを明らかにしていきたいと考えている。

最後に、本研究の遂行にあたりご支援いただいた公益財団法人アステラス病態代謝研究会、共同研究者の方々および研究室のメンバーに心より感謝申し上げます。

- 1) Frey, T., Murakami, T., Maki, K., Kawaue, T., Tani, N., Sugai, A., Nakazawa, N., Ishiguro, K., Adachi, T., Kengaku, M., Ohki, K., Gotoh, Y., Kishi, Y. Age-associated reduction of nuclear shape dynamics in excitatory neurons of the visual cortex. *Aging Cell*, 2023, e13925
- 1) Bilgic M, Obata R, Panfil V-I, Zhu Z, Saeki M, Gotoh Y & Kishi Y. Age-associated transcriptomic and epigenetic alterations in mouse hippocampus. *Aging Cell*, 2025, e70233